

**Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové**



Stanovení volných lehkých řetězců jako pomocného markeru v hodnocení prognózy a odpovědi na léčbu u nemocných s mnohočetným myelomem a monoklonální gamapatií nejasného významu

Jakub Radocha

Autoreferát disertační práce

Doktorský studijní program vnitřní nemoci

**Hradec Králové
2012**

Disertační práce byla vypracována v rámci kombinovaného studia doktorského studijního programu vnitřní nemoci na Katedře interních oborů Lékařské fakulty UK v Hradci Králové.

Autor: MUDr. Jakub Radocha, IV. interní hematologická klinika Lékařské fakulty UK v Hradci Králové a Fakultní nemocnice v Hradci Králové

Školitel: doc. MUDr. Vladimír Maisnar, Ph.D., IV. interní hematologická klinika Lékařské fakulty UK v Hradci Králové a Fakultní nemocnice v Hradci Králové

Oponenti: prof. MUDr. Roman Hájek, CSc., Ústav klinické hematologie Lékařské fakulty Ostravské Univerzity v Ostravě a Fakultní nemocnice Ostrava

doc. MUDr. Jaroslav Bačovský, CSc., III. interní klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice v Olomouci

Tato práce vznikla za podpory: výzkumného záměru MZO 00179906 a grantů IGA MZ NS 10387-3/2009, 10406-3/2009 a NT 12215-4/2011.

S disertační prací je možno se seznámit na studijním oddělení děkanátu Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy v Praze, Šimkova 870, 500 38 Hradec Králové (tel. 495 816 131).

prof. MUDr. Jan Bureš, CSc.
Předseda komise pro obhajoby disertačních prací
v doktorském studijním programu vnitřní nemoci

Obsah:

1. Souhrn v českém jazyce
2. Summary in English
3. Úvod do problematiky
4. Cíle disertační práce
 - 4.1. Význam stanovení volných lehkých řetězců pro stratifikaci rizika MGUS
 - 4.2. Význam stanovení volných lehkých řetězců pro posouzení hloubky kompletní remise u pacientů s MM
 - 4.3. Význam stanovení volných lehkých řetězců pro predikci odpovědi na terapii u pacientů s MM
 - 4.4. Vypracování doporučení pro použití analýzy FLC v rutinní praxi
5. Pacienti a metodika
6. Výsledky
7. Diskuse
8. Závěry
9. Použitá literatura
10. Přehled publikační činnosti autora:
 - 10.1. Monografie a kapitoly v monografiích
 - 10.2. Původní články (uvést výši IF, vyznačit tučně práce, kde je student 1. autor)
 - 10.3. Statě ve sbornících
 - 10.4. Přehledové články
 - 10.5. Přednášky na odborných setkáních, které přednesl autor DP

1. Souhrn v českém jazyce

Projekt byl zaměřen na analýzu možného využití stanovení volných lehkých řetězců (FLC) v séru jako nového markeru k posouzení aktivity monoklonálních gamapatií. Již dlouhou dobu zaměřujeme své úsilí na standardizaci základních diagnostických metod mnohočetného myelomu. Stanovení FLC není levným testem, proto vznikla potřeba vyhodnocení jeho spolehlivosti a přínosu. Cíle tohoto projektu byly formulovány na základě potenciálně nejvhodnějších indikací pro jeho použití v klinické praxi. V první řadě byl vyhodnocen jeho přínos pro stanovení prognózy pacientů s MGUS a dále pro sledování aktivity onemocnění u pacientů s mnohočetným myelomem. Pro analýzu séra, jsme použili standardní metodu FreeLite™ (The Binding Site, UK). Spolupracovali jsme s registrem monoklonálních gamapatií (dnes již více než 4000 pacientů). Potvrdili jsme platnost stratifikačního modelu MGUS Mayo Clinic. Současně s tím jsme identifikovali další potenciálně vhodné znaky, které plánujeme ověřit v rámci dalších analýz a případně je využít při přípravě podrobnějšího stratifikačního modelu. Při sledování aktivity onemocnění u většiny pacientů (s výjimkou pacientů s oligosekrečním myelomem) nepřináší podle nás stanovení FLC žádnou výhodu oproti standardnímu stanovení koncentrace M-Ig. Normalizace poměru FLC v kompletní remisi nebyla u našeho souboru nemocných spjata se signifikantně delší dobou do progresu.

2. Summary in English

This project was focused on verifying the usefulness of free light chain (FLC) analysis as the new marker for evaluation of the activity of monoclonal gammopathies. For a long time we have been dedicating our efforts for the standardisation of methods for determination of the basic parameters in myeloma patients. FLC evaluation is not a cheap method and thus there was a need to reconfirm the reliability of information provided by manufacturer for its use. Formulated goals of this project represented the most likely beneficial indications for FLC use in clinical practice. Therefore in the first place, we standardized FLC analysis, then we examined benefit of this analysis in patients with MGUS and also for monitoring of the disease activity in MM patients. For serum analysis we used standard FLC assay (The Binding Site, UK). We collaborated with Registry of Monoclonal Gammopathies database of the Czech Republic (today, more than 4.000 patients). We were able to confirm validity of the prognostic model of MGUS stratification originally developed by Mayo Clinic. Moreover several other independent prognostic factors not included in the mentioned model have been identified, which we plan to include in the further analysis and development of more detailed prognostic model. For most patients with monoclonal gammopathies, except of those with oligosecretory MM, measuring FLC is unlikely to have additional benefit for monitoring of disease activity. Normalization of FLC ratio was not connected to statistically significant prolongation of complete remission duration.

3. Úvod do problematiky – monoklonální gamapatie

Základní charakteristikou této skupiny onemocnění je přítomnost monoklonálního imunoglobulinu (MIG) v séru a/nebo v moči pacienta. První popis tohoto jevu pochází od Henryho Bence Jonese z roku 1847 (1). Jde buď o kompletní molekulu imunoglobulinu, nebo jen její část v podobě volných lehkých řetězců kappa či lambda. Nejčastěji jsou zastoupeny imunoglobuliny třídy IgG, IgA a vzácněji pak IgM. Velmi raritní je výskyt molekul IgD a IgE (2,3). Zdrojem produkce imunoglobulinů v lidském organismu jsou plazmatické buňky, tedy konečné diferenační stádium B-lymfocytární vývojové větve hematopoetických kmenových buněk. Za produkci monoklonálního imunoglobulinu zodpovídá patologický klon plazmatických buněk nejčastěji nacházený v kostní dřeni pacientů, bez něhož by přítomnost MIG prakticky nebyla možná. Jelikož jde o značně heterogenní skupinu onemocnění s velmi rozličným biologickým chováním, musela logicky vzniknout diagnostická kritéria, která charakterizují jednotlivé podjednotky z této rozsáhlé skupiny chorob. Jako již často v průběhu vývoje poznání docházelo v průběhu posledních desetiletí i k vývoji pohledu na monoklonální gamapatie a se stoupající znalostí o etiopatogenezi těchto onemocnění se nakonec ustálil systém jejich dělení z roku 2003 vzniklý z konsenzu IMWG (4). Zjednodušeně lze na tomto místě konstatovat, že gamapatie lze rozdělit na benigní a maligní, přičemž toto dělení se týká pouze gamapatií primárních, tedy nikoli asociovaných s jiným onemocněním (např. se systémovým onemocněním pojiva, chronickou infekcí, idiopatickým střevním zánětem apod.). Přehled onemocnění řazených do monoklonálních gamapatií je uveden v Tab. 3.1 (5).

Tab. 3.1. Klasifikace monoklonálních gamapatií (Kyle 2006)

Monoklonální gamapatie nejasného významu (MGUS)	
	Benigní (IgG, IgA, IgD, IgM, a vzácně lehké řetězce)
	Asociované s nádory z buněk neprodukcujících MIG
	Biklonální a triklonální gamapatie
	Idiopatická Bence-Jonesova proteinurie
Maligní monoklonální gamapatie	
	Mnohočetný myelom (IgG, IgA, IgD, IgE a free lambda nebo kappa)
	Symptomatický MM
	Asymptomatický MM
	Plazmocelulární leukémie
	Nesekreční myelom
	IgD myelom
	POEMS syndrom: polyneuropatie, organomegalie, endokrinopatie, M-protein, kožní změny (skin)
Plazmocytom	
	Solitární kostní plazmocytom
	Extramedulární plazmocytom
Maligní lymfoproliferace	
	Waldenströмова makroglobulinémie
	Maligní lymfomy
	Chronická lymfatická leukémie

Nemoci těžkých řetězců	
	μ Heavy-chain disease
	α Heavy-chain disease
	γ Heavy-chain disease
AL amyloidóza	

Jak již bylo řečeno, základním znakem monoklonálních gamapatií je přítomnost MIG. Jde přitom o nejstarší známý nádorový marker. Na jeho přítomnost mohou nepřímo upozornit některé základní vyšetřovací metody, bez toho aniž bychom nutně v první řadě sáhli po specializovaných vyšetřovacích metodikách. Jelikož jde o bílkovinu, pak již vysoká hladina sérové bílkoviny může upozornit na přítomnost MIG, nicméně v případě nízkých hodnot MIG nebo pouhé přítomnosti lehkých řetězců toto nemusí platit a MIG může zůstat skryt. Současně již historickým ukazatelem, který může upozornit na přítomnost MIG, je enormně zvýšená rychlost sedimentace erytrocytů, která může rovněž vést k podezření na přítomnost MIG.

K definitivnímu průkazu přítomnosti MIG pak slouží tradiční metody, a to jako základní vyšetření elektroforéza bílkovin s následnou imunofixací. Moderní doplňkovou metodou je pak stanovení volných lehkých řetězců v séru (FLC). Ačkoli by se na první pohled mohlo zdát vyšetření FLC zbytečné, tato nová metoda má již v současné době své jednoznačné uplatnění v diagnostice i dalším sledování monoklonálních gamapatií. Metodika stanovení FLC je v současné době již etablovanou metodou, kdy je celosvětově využíván převážně systém FreeLite™ (Binding Site, UK). Jde o imunoturbidimetrickou metodu, která využívá vazby epitopů řetězců kappa či lambda na protilátku, imunoprecipitáty jsou pak turbidimetricky stanoveny (6). Protilátky pro toto vyšetření jsou modifikovány tak, aby se vážaly pouze na epitopy FLC, které nejsou přístupné na kompletní molekule imunoglobulinu. Tato metoda je velmi rychlá a citlivá se senzitivitou detekce pod 1 mg/l, což suverénně překonává možnosti konvenčních elektroforetických metod. Donedávna byl celosvětově, ale i v ČR hlavní problém se standardizací tohoto vyšetření a proto byly recentně podniknuty kroky ke sjednocení metodiky vyšetřování FLC i v ČR (7). Další možností stanovení FLC je metoda ELISA, designovaná jako standardní „sandwich“ enzymová imunoanalýza s fotometrickou detekcí FLC (8). Referenční meze vyšetření pomocí FreeLite™ jsou pro úplnost uvedeny v Tab 3.2.

Tab. 3.2. Referenční meze vyšetření FreeLite™

Kappa	95% interval: 3,3–19,4 mg/L
Lambda	95% interval interval: 5,7–26,3 mg/L
Kappa/lambda poměr	95% interval: 0,3–1,2
	Normální poměr: 0,26–1,65

Využití FLC pro diagnostiku a monitoring monoklonálních gamapatií se ustálilo v několika rovinách. V rámci diagnostiky je doplňkovou metodikou pro posouzení efektu léčby pacientů s MM (9). Dále je klíčovým prognostickým nezávislým faktorem pro pacienty s MGUS (10). Nezastupitelné místo má v diagnostice tzv. nesekrečních myelomů, kdy díky této metodě počet skutečně nesekrečních myelomů výrazně klesl, neboť díky citlivosti metody lze detekovat i myelomy s malou produkcí FLC (11). Nezastupitelnou a klíčovou roli hraje v diagnostice AL

amyloidózy, kde často MIG chybí nebo je jen v malé kvantitě a tudíž nelze využít ke sledování léčebné odpovědi klasických metod (12).

Při sledování léčebné odpovědi pacientů s gamapatiemi může být stanovení FLC přínosem v několika rovinách. Především nově formulovaná kritéria léčebné odpovědi MM dle IMWG (13) zahrnují FLCr a jeho normalizaci za známku hloubky kompletní remise onemocnění. Posouzení vlastního přínosu FLCr v této indikaci je jedním z cílů této práce.

4. Cíle práce

4.1. Význam stanovení volných lehkých řetězců pro stratifikaci rizika MGUS

Existující stratifikační model Mayo Clinic (5) nebyl dosud validován na větším množství pacientů mimo pracoviště autorů. Naším primárním cílem tedy byl sběr dat od co největšího množství pacientů s MGUS v České republice zejména s ohledem na riziko progresu do maligního onemocnění. Současně jsme se pokusili vyšetřit FLCr u co největšího množství těchto pacientů a společně s ostatními dostupnými parametry ověřit platnost modelu v podmínkách České republiky, abychom event. v budoucnu mohli doplnit tento model o další dosud nezařazené faktory, které by přispěly ke zpřesnění stratifikace rizika pacientů s MGUS a my tak mohli vtipovat ty nejrizikovější nemocné.

4.2. Význam stanovení volných lehkých řetězců pro posouzení hloubky kompletní remise u pacientů s MM

Definice kompletní remise MM prošla během posledních dekad zásadními změnami. Tyto změny samozřejmě nedílně souvisejí s terapeutickými možnostmi této choroby. Vystává tedy otázka, zda mezi pacienty, kteří dosáhli kompletní remise, existují kvalitativní rozdíly v odpovědi na léčbu, tedy zda je u jedné části pacientů tato remise hlubší než u jiné části pacientů. Hledáme tedy známky reziduální choroby, které nejsou zřejmé při využití standardních vyšetřovacích metod, a to díky jejich nízké senzitivitě. Na jedné straně je tedy absence buněčného klonu jako takového, na straně druhé pak negativita produktů těchto klonálních plazmocytů. Dlouhou dobu bylo možné detekovat klon plazmatických buněk pouze na základě cytologického vyšetření kostní dřene. Senzitivita tohoto vyšetření je však obecně velmi nízká. Vyšetření FLC pak umožňuje detekci zbytkové produkce části monoklonálního imunoglobulinu s daleko větší senzitivitou než imunofixace. Tyto premisy vedly v roce 2006 k definici takzvané stringent kompletní remise (sCR), která kromě splnění základních parametrů vyžaduje i absenci klonu plazmatických buněk v kostní dřeni a současně normalizaci poměru kappa/lambda volných lehkých řetězců v séru. Rozdíly mezi kompletní remisí a stringent CR shrnuje Tab. 4.1. Tento krok však bohužel nebyl ověřen na prospektivních studiích, zatím tedy nikdo neví, zda skutečně pacienti dosahující sCR mají prognosticky lepší výhledy, co se týče celkového přežití či alespoň doby do relapsu. V poslední době se navíc objevují i studie, které význam dosažení sCR zpochybňují.

Cíle naší práce v této oblasti se zaměřují na pacienty s MM, kteří dosáhli kompletní remise na základě konvenčních analýz (tedy normální množství plazmatických buněk a negativní imunofixace). U těchto pacientů jsme analyzovali volné lehké řetězce v séru a na základě výsledku (tedy normální versus abnormální FLCr) je rozdělili do dvou skupin, u kterých jsme analyzovali dobu do relapsu choroby s cílem zjistit, zda je normalizace poměru FLCr spojena s delší dobou do progresu pacientů s myelomem a je tedy nezávislým prognostickým faktorem pro délku odpovědi těchto pacientů.

Tab. 4.1. Typy kompletní remise

	CR	sCR
ELFO séra	negativní imunofixace	negativní imunofixace
ELFO moči	negativní imunofixace	negativní imunofixace
FLCr v séru	nevyšetřeno	normální poměr
Dřeň	< 5 % plazmatických buněk	< 5 % plazmatických buněk, žádné klonální plazmatické buňky
Plazmocytom	žádný	žádný

4.3. Význam stanovení volných lehkých řetězců pro predikci odpovědi na terapii u pacientů s MM

Sérový poločas kompletní molekuly IgG je zhruba 20-25 dní, může ale klinicky dosahovat až několika měsíců u konkrétních pacientů (v závislosti na vazbě na Fc receptory). Na druhou stranu poločas volných lehkých řetězců se pohybuje od 2 do 6 hodin. Vzhledem k faktu, že po terapii klesá paralelně koncentrace jak intaktního imunoglobulinu, tak FLC, nabízí se tedy možnost využít FLCr k predikci časnější odpovědi na terapii u pacientů s MM. Respektive na druhou stranu možnost vytipovat ty pacienty, kteří nebudou na terapii reagovat a léčit je jinou léčebnou modalitou, což by vedlo jednak k lepší efektivitě léčby a samozřejmě také k šetření vysokých nákladů spojených s moderní terapií. Nejjednodušší situace potenciálně nastává u pacientů s refrakterní chorobou na danou léčbu. K neopodstatněným změnám terapie MM na základě stanovení FLC zatím chybí důkazy, nejsou k dispozici ani randomizované, ani větší množství retrospektivních analýz. Cílem našeho sledování v této oblasti bylo posouzení přínosu stanovení FLC s ohledem na možnost časně predikce odpovědi na léčbu jednotlivými preparáty. Za účelem jeho dosažení jsme sledovali pacienty konsekutivně léčené moderními léky thalidomidem, bortezomibem a lenalidomidem s využitím monitoringu efektu terapie pomocí stanovení jak kompletní molekuly imunoglobulinu, tak lehkých řetězců v séru.

4.4. Vypracování doporučení pro použití analýzy FLC v rutinní praxi

Na základě předchozích výstupů bylo naším konečným cílem stanovit, za jakých okolností je možné využít analýzu FLC v rutinní praxi a formulovat tak obecné doporučení s upozorněním na možné omyly v interpretaci výsledků FLC v klinickém použití.

5. Pacienti a metodiky

Analyzovaná data pocházejí z několika základních zdrojů. Hlavním zdrojem klinických dat je celorepublikový registr monoklonálních gamapatií (RMG) (14), který vznikl v roce 2007 a sdružuje základní klinická, demografická a epidemiologická data od všech pacientů s monoklonálními gamapatiemi nejasného významu a s mnohočetným myelomem. Pacienti, jejichž data jsou anonymně zadávána do registru, před využitím dat podepsali informovaný souhlas se zpracováním jejich dat v registru a pro následné výzkumné účely. Vzhledem k tomu, že jde o meziklinickou spolupráci v rámci celé České republiky, jednotlivá pracoviště musí udělit souhlas se zpracováním jejich dat v rámci registru monoklonálních gamapatií před případnou

analýzou a publikací. Data od pacientů s mnohočetným myelomem jsou zadávána prospektivně od roku 2007 do současnosti, data od pacientů s MGUS i retrospektivně, tzn. bez ohledu na rok diagnózy. Analýza cíle 4.1 byla provedena na základě těchto dat.

Pro analýzu cíle 4.2 byla nejprve pilotně zpracována data od pacientů z FN Hradec Králové a FN Brno a následně byla požádána pracoviště FN Olomouc, VFN Praha a FNKV Praha o doplnění dat pacientů s kompletními remisemi dle předem určených kritérií.

Pro analýzu dat pacientů cíle 4.3 byla použita data pacientů FN Hradec Králové a FN Brno dle předem určených kritérií.

Pro všechny analýzy FLC byla využita základní metoda stanovení FreeLite™ (Binding Site, UK). Současně jsme měli k dispozici novou metodiku stanovení FLC v séru, která je založena na principu ELISA. V rámci projektu byly pro měření koncentrace volných lehkých řetězců použity diagnostické soupravy Human Immunoglobulin Free Light Chains Kappa and Lambda ELISA (BioVendor Laboratory Medicine, Inc., Česká republika) a soupravy FreeLite Human Kappa Free kit a FreeLite Human Lambda Free kit (na Hitachi 911/912/917/Modular P) firmy The Binding Site (UK). Imunoturbidimetrická měření byla prováděna na analyzátoru Modular P firmy Roche (SRN). Metoda používá polyklonální monospecifické protilátky a měří vzniklý komplex antigenu a protilátky při vlnové délce 600 nm. Metoda ELISA představuje sendvičovou enzymoimunoanalýzu využívající monoklonální protilátky určené pro stanovení koncentrace volných lehkých řetězců. Reakce je vyhodnocována fotometricky přístrojem PowerWave XS (Biotek Instruments, SRN) při vlnové délce 450 nm. Naší studii předcházela fáze standardizace stanovení FLC v České republice provedená pod vedením Ústavem klinické biochemie a diagnostiky LF UK a FN Hradec Králové, tak aby bylo možné považovat výsledky stanovení FLC všech spolupracujících center na srovnatelné. Na našich souborech pacientů byly použity obě výše uvedené metodiky.

U všech cílů byla v rámci zpracování dat použita základní popisná statistická analýza dat, tedy medián, minimum, maximum a percentily. Pro srovnání spojitých proměnných mezi kategoriemi pacientů bylo použito Kruskal Wallisova testu, pro zjištění vztahů mezi kategoriálními daty Chi-kvadrát testu. Vztah spojitých proměnných byl hodnocen Spearmanovým korelačním koeficientem. Data přežití, incidence relapsů, incidence progresu a další takto souměřitelné veličiny ve všech souborech (dlouhodobé intervaly TTP, PFS, DOR a OS a čas do dosažení první léčebné odpovědi) byly popsány pomocí metodiky Kaplan-Meiera, pro srovnání přežití ve skupinách pacientů bylo použito log-rank testu. Veškeré testy byly provedeny na 5 % hladině významnosti. Pro analýzu bylo použito software SPSS 19.0.0.1 (IBM Corporation, 2010), MedCalc 9.5.2.0 (MedCalc Software, Belgie) a Microsoft Excel 2007 (Microsoft, USA). Pro hodnocení léčebné odpovědi byla použita kritéria International Myeloma Working Group (Kyle 2006). Statistická analýza souboru pacientů v rámci cílů 4.1 a 4.3 byla provedena ve spolupráci s Institutem biostatistiky a analýz Lékařské a Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity v Brně (IBA MU), v případě cíle 4.2 se jedná o výsledky vlastní statistické analýzy.

6. Výsledky

Analýza dat pacientů s monoklonální gamapatií nejasného významu (MGUS) proběhla na základě zpracování údajů zadaných do registru monoklonálních gamapatií (RMG). Na základě dostupných údajů byly vyhodnoceny postupně jednotlivé ukazatele dle stratifikačního systému Mayo Clinic. Nejprve byly izolovaně vyhodnoceny pouze základní prognostické faktory a jejich vliv na progresi pacientů s MGUS do malignity - tedy IgG versus non-IgG, množství MIG (nad 15 g/l) a abnormální poměr volných lehkých řetězců v séru. Poté byla ověřena platnost modelu Mayo Clinic na našem souboru pacientů s vyhodnocením stávajícího stratifikačního modelu. Následně byly analyzovány další dostupné ukazatele, které bylo možné z registru získat, tedy

infiltrace plazmatickými buňkami kostní dřeně, hladina LDH, základní parametry krevního obrazu, albumin a beta-2 mikroglobulin, jako další potenciální markery špatné prognózy MGUS. Statistické vyhodnocení bylo provedeno Log-rank testem a Coxovým modelem proporcionálních rizik. Celkem jsme byli schopni k říjnu 2011 vyhodnotit data od 1439 pacientů s MGUS, která byla k dispozici v době analýzy. Všechna zúčastněná centra souhlasila se zpracováním jejich údajů a data byla validována monitorem, který všechna centra zkontroloval. Z analyzovaných 1439 pacientů bylo 659 mužů (45,8 %) a 780 žen (54,2 %). Více než polovina nemocných byla starších 60 let, což v praxi potvrzuje vyšší výskyt MGUS ve vyšším věku udávaný ve většině dostupných literárních zdrojů (celkem 838 pacientů nad 60 let věku, 58,5 %). Z MIG jednoznačně převládá MIG IgG, který se vyskytl u 70,3 % analyzovaných jedinců. Tato hodnota prakticky přesně kopíruje dříve publikovaná data největší světové sestavy MGUS z Mayo Clinic a i zastoupení ostatních typů MIG bylo obdobné. Doba sledování jednotlivých pacientů (vzhledem k faktu, že pacienti jsou zadáváni do registru retrospektivně) varíovala v našem souboru od 6 měsíců až do 34 let. S ohledem na tento fakt se podařilo analyzovat volné lehké řetězce a jejich poměr celkem u 842 pacientů (celkem 58,5 % všech pacientů) a získat tak kompletní stratifikační model celkem u 823 pacientů. Za dobu sledování zprogredovalo do určitého typu maligního onemocnění celkem 96 pacientů, z čehož bylo 48 žen a 48 mužů. Medián doby do progresu u všech transformovaných pacientů byl 3 roky (0-15 let). Z 96 maligních onemocnění bylo 72 mnohočetných myelomů (75 %), 10 Waldenströmových makroglobulinémií (10,4 %), 5 onemocnění maligním lymfomem (5,2 %), 2 AL amyloidózy (2,1 %) a 7 jiných (7,3 %). Množství MIG (na diskriminační hladině 15 g/l) bylo jednoznačně spjato s vyšším rizikem progresu oproti pacientům s nižším MIG ($p < 0,001$). Na druhou stranu v univariátní analýze se nepodařilo prokázat význam typu MIG (IgG versus non-IgG) na riziko progresu do malignity ($p = 0,523$). Zde je zatím nejasné, proč tomu tak je, neboť předchozí práce poukazují na vyšší rizikovost non-IgG MGUS. Abnormální poměr volných lehkých řetězců se v našem souboru jeví jako silný nezávislý prediktor progresu onemocnění MGUS do malignity ($p < 0,001$), ze všech zprogredovaných mělo abnormální poměr FLC celkem 75,6 % pacientů, zatímco zastoupení abnormálních FLC u MGUS bez progresu je pouze 42,7 %. Totéž platí i pro subanalýzu provedenou pouze u pacientů s nově vzniklým mnohočetným myelomem z MGUS, kdy byla opět nalezena velmi silná závislost mezi abnormálním poměrem FLC a rizikem progresu ($p < 0,001$). Lze tedy říci, že i v našem souboru pacientů se potvrdil prognostický význam abnormálního poměru volných řetězců coby nezávislého indikátoru rizika MGUS z hlediska progresu do malignity.

V rámci analýzy kompletních remisí byla zpracována data celkem 125 pacientů s mnohočetným myelomem, u kterých byla dosažena dostatečná délka léčebné odpovědi k vyhodnocení kompletní remise dle standardních kritérií. Ve všech případech se tedy jednalo o nemocné, u nichž byla 2x negativní imunofixace a současně nebyly známky postižení mnohočetným myelomem v kostní dřeni při jejím cytologickém vyšetření. Data byla získána nejen od pacientů II. interní kliniky - oddělení klinické hematologie FNHK, ale i Interní hematologické kliniky FN Brno, III. interní kliniky FN Olomouc, I. interní kliniky VFN Praha a Hematoonkologické kliniky FNKV Praha. Údaje byly získány analýzou klinických dat z dokumentace pacientů, analýza FLC byla provedena jednotně u všech pacientů metodou FreeLite (The Binding Site). Podle výsledku poměru FLC (tedy normální versus abnormální poměr) byli pacienti rozděleni do dvou skupin a poté u nich byla sledována doba do relapsu. Vzhledem ke značné heterogenitě jednotlivých pacientů (tedy více linií léčby, různé terapie atd.) jsme poté vyčlenili homogenní skupinu pacientů v kompletní remisi po „up-front“ provedené autologní transplantaci periferních kmenových buněk a tuto analyzovali samostatně, abychom se vyhnuli

potenciální chybě při interpretaci výsledků. Statistické zpracování bylo provedeno pomocí programu MedCalc v. 9.5.2.0 pomocí log-rank testu na hladině významnosti $p < 0,05$.

Ze 125 analyzovaných pacientů bylo 67 žen a 58 mužů s mnohočetným myelomem ve věku od 24 do 84 let. Většina pacientů měla mnohočetný myelom IgG kappa a nacházela se ve stádiu II či III A. 66 pacientů (52,8 %) dosáhlo normalizace poměru volných lehkých řetězců. Follow-up pacientů byl v rozmezí od 1 do 204 měsíců. Z celkem 125 analyzovaných zrelabovalo za dobu observace 59 pacientů (47,2 %), a to 30 pacientů ve skupině s abnormálním poměrem FLC a 29 pacientů ve skupině s normalizací poměru FLC ($p=0,15$). Za dobu sledování pak byla v celé skupině provedena analýza kumulativní incidence relapsů, kdy mezi sledovanými skupinami nebylo dosaženo statisticky signifikantního rozdílu ($p=0,14$). Ačkoli rozdíly nedosáhly statistické signifikance, medián doby do relapsu u pacientů s normalizací FLCr byl 65 měsíců a u skupiny s abnormálním poměrem 40 měsíců, což lze označit jako slabý trend k delší době do relapsu u skupiny pacientů s normalizací FLCr. Delší follow-up a postupné rutinní vyšetřování všech pacientů v kompletní remisi umožní dále rozvíjet metodiku sledování pacientů v remisi choroby, současně s tím je ale třeba se zaměřit spíše na hledání klonu jako takového pomocí průtokové cytometrie nebo molekulární diagnostiky než pouze na sledování produktu nádorové populace.

V rámci cíle 4.3 bylo celkem vyhodnoceno 265 nemocných s MM v různých fázích onemocnění z FN Brno a z FN Hradec Králové. Všichni nemocní museli mít sekreční myelom s produkcí intaktní molekuly MIG a současně k dispozici výsledky analýzy FLC. Do hodnoceného souboru nebylo možné zařadit i 6% nemocných z důvodu negativního vstupního výsledku FLC při přítomnosti kompletní molekuly MIG. Nemocní byli léčeni režimy s lenalidomidem, thalidomidem nebo bortezomibem. Léčebné odpovědi byly vyhodnoceny dle IMWG kritérií (18). Z dostupných dat vyplývá, že pokles MIG a FLC při terapii všemi třemi analyzovanými léky spolu jednoznačně koreluje a to v průběhu celé terapie. Korelace poklesu FLCr a MIG je ve všech případech statisticky signifikantní ($p < 0,001$). Oproti očekávání dochází k časnějšímu poklesu MIG než FLC, a to u 13,2 - 16,9 % pacientů léčených lenalidomidem v průběhu 1.- 4. cyklu, u 9,7 - 16,8 % nemocných léčených thalidomidem a stejně tak u 9,1 - 14,7 % nemocných léčených bortezomibem. Lze tedy uzavřít, že u podskupiny nemocných (9,1 - 16,8%) byl zjištěn časnější pokles MIG než FLC. Ačkoli jde jen o 10-15 % pacientů, je toto zjištění alarmující a může ztěžovat využití FLC v této indikaci. Je nepopiratelný fakt, že FLC mají výrazně kratší sérový poločas než kompletní molekula MIG. Logicky tedy očekáváme delší čas do známek první léčebné odpovědi při sledování koncentrace MIG. Nutná kontrola i v práci samotné! Definujeme-li první léčebnou odpověď jako pokles min. o 25 % hodnoty (tedy minimal response – MR), můžeme pak porovnat rychlost clearance MIG versus FLC. Naše analýza ukazuje velmi podobné výsledky v obou skupinách. Tedy pokles o 25 % u FLC 1,2 měsíce (0,8-3,2) pro lenalidomid; 1,1 měsíce (0,8-8,0) pro thalidomid a 1,5 měsíce (0,5-4,4) pro bortezomib. V případě kompletní molekuly MIG pak 1,2 měsíce (0,9-3,7) pro lenalidomid; 1,2 (0,8-3,6) pro thalidomid a 1,1 měsíce (0,8-2,8) pro bortezomib. Rozdíly nejsou statisticky významné a toto platí pro všechny linie léčby. Srovnáme-li však rychlosti poklesu FLC a MIG u senzitivních pacientů, nenajdeme zde překvapivě žádné statisticky významné rozdíly ani v rychlosti poklesu FLC (84,9 % vs. 75,7 % vs. 70,5 %; $p=0,075$), ani v rychlosti poklesu MIG (72,6 % vs. 62,4 % vs. 62,3 %; $p=0,087$). Lze tedy konstatovat, že mezi jednotlivými léky není v rychlosti nástupu účinku žádný signifikantní rozdíl (všechny modalities fungují stejně rychle). Dle předpokladů z dostupných studií by měl pokles FLC na začátku terapie umožnit odhadnout celkovou hloubku léčebné odpovědi u daného pacienta. U jednotlivých léků byla pozorována závislost celkové léčebné odpovědi na poklesu kompletní molekuly MIG v průběhu 1.-4. cyklu (dle IMWG kritérií), a to u lenalidomidu od 2. cyklu, u thalidomidu od 2. cyklu

a u bortezomibu ve všech 4 cyklech. Co se týče FLC, u lenalidomidu nebyl pozorován vztah mezi vývojem FLC a léčebnou odpovědí, u thalidomidu a bortezomibu po 2. a 4. cyklu ano. Z výše uvedeného je patrné, že senzitivita tohoto vyšetření je natolik nízká, že až u 30 % pacientů nakonec dostáváme úplně jiný léčebný výsledek, než který je predikován na základě FLC. Asi nejzávažnějším problémem je pak ten fakt, že v řadě případů na základě monitoringu FLC dostáváme úplně jinou léčebnou odpověď než na základě sledování MIG. Současně je patrné, že pro naprostou většinu modalit nemá analýza FLC vliv ani na celkové přežití, ani na predikci doby do progresu pacientů podstupujících moderní terapii. Ve všech těchto ohledech je tedy nutné interpretovat výsledky vyšetření FLC s maximální opatrností a rozhodně neřídít léčbu pacientů pouze na jejich základě s výjimkou nemocných, kde není využití standardních postupů možné, tj. s nesekreční resp. nízcí sekreční formou mnohočetného myelomu.

7. Diskuse

Zavedení vyšetření FLC do rutinní praxe a inkorporace tohoto vyšetření do hodnocení léčebné odpovědi a prognózy pacientů vyvolalo možná až předčasné nadšení. Obdobně jako již v minulosti mnohokrát (např. jako v případě zavedení vyšetření troponinu při infarktu myokardu) naráží tato metoda na četná úskalí. Jednak jde o metodická úskalí, zejména co se týče úvodní nejednotnosti provádění metody a tedy nutnosti její standardizace, a poté především jde o absenci prospektivních studií, které by vyhodnocovaly prognostický přínos vyšetření pro dané skupiny pacientů. Zprvu tedy došlo až k nekritickému přijetí kritérií léčebné odpovědi IMWG, která byla sestavena na základě určení panelu expertů, a to i přesto, že prospektivní studie v době jejich vzniku chyběly. Naše práce, která mapovala situaci v České republice za posledních zhruba 5 let, se proto zaměřila na zpřesnění pozice stanovení FLC v jednotlivých indikacích.

Soubor pacientů s MGUS se díky aktivitám České myelomové skupiny od roku 2007, kdy byl vytvořen registr RMG, rozrostl již na více než 1200 sledovaných osob (15,16). Tato kohorta je jistě největší ve střední Evropě a jde o soubor srovnatelný s celosvětovými pracemi (na Mayo Clinic celkem 1510 pacientů). Díky robustnosti tohoto souboru a konzistentním údajům bylo možné získat relevantní data, která jsou pro praxi velmi signifikantní. Jak je možné vyčíst z výsledků naší předchozí analýzy, stratifikační model Mayo Clinic je beze zbytku platný i v našich podmínkách. Vyčleníme-li skupinu pacientů s nejvyšším rizikem, jejich riziko přechodu do malignity je více než 17x vyšší než je tomu u ostatních pacientů. Na druhou stranu, jako samostatný prognostický faktor nevychází v našich podmínkách non-IgG MIG, pro což v tuto chvíli neexistuje jednoznačné vysvětlení, neboť proporcionální zastoupení typů MIG je obdobné v naší studii stejně jako v původní sestavě Mayo Clinic (našich 70,3 % oproti 69,7 % IgG z Mayo Clinic). Nedostatkem naší studie je zejména fakt, že u pacientů s MGUS byla většina dat zadána retrospektivně, tudíž u pacientů, u kterých byl diagnostikován MGUS před zavedením FLC do vyšetřovacího panelu, bylo toto vyšetření doplněno až po mnoha letech trvání choroby. Toto může působit určitou chybu, přijmeme-li hypotézu, že v rámci přirozeného vývoje choroby se může vyšší FLCr objevit v průběhu let trvání choroby, zatímco na počátku byl FLCr normální. Určitou dávkou jistoty o správnosti stratifikace můžeme tedy mít u těchto pacientů v případě, že jejich poměr FLC je normální (tedy lze předpokládat, že byl normální i v době diagnózy), zatímco v případě abnormálního FLCr toto s jistotou tvrdit nelze. Na toto téma prozatím nebyly provedeny žádné prospektivní studie, zejména proto, že doba sledování po zavedení FLCr do rutinní praxe je zatím příliš krátká. I tak ale můžeme uzavřít, že FLCr je užitečným nástrojem pro stratifikaci pacientů s MGUS a kumulace rizikových faktorů vede jednoznačně ke zvýšení rizika transformace MGUS do malignity. Jako vedlejší produkt naší analýzy, na který je třeba upozornit, je prognostický význam množství klonálních plazmatických buněk v kostní dřeni. Tento doposud

ne zcela jednoznačně definovaný parametr je jedním z důležitých ukazatelů prognózy (17,18,19). Z logiky věci vyplývá, že čím více tumoru, tím horší bude prognóza a tím kratší bude doba do progresu. Se zpřesňujícími se metodikami pro určení klonality (8-barevná flowcytometrie) (20) budeme schopni identifikovat stále více pacientů s přítomností většího či menšího klonu v kostní dřeni. Považuji cílení našeho dalšího snažení na buňku jako takovou, nikoli tedy na vlastní produkt, v tuto chvíli za daleko důležitější parametr. Podle posledních poznatků je nutné uvažovat o MGUS jako o prekanceróze a pacienty s ohledem na to také sledovat. Toho času neexistuje žádné evidence-based doporučení o frekvenci sledování pacientů s MGUS. Je jasné, že kromě laboratorního vyšetření musí být sledován i klinický stav pacienta (zejména lymfadenopatie), protože transformace se může odehrát nejen do MM, ale i do jiných lymfoproliferativních chorob. Samozřejmě všechna tato opatření vedou k časně identifikaci malignity a v neposlední řadě nyní stále více diskutované preemptivní terapii pacientů s MGUS. Existují práce (21,22), které prokazují, že bisfosfonáty podané před progresí do MM mohou snížit riziko patologických fraktur, avšak doba do progresu MGUS do MM není prodloužena. Další mnohokrát diskutovanou alternativou je protinádorová vakcinace dendritickými buňkami, která byla využita s jen sporným efektem (23, 24, 25). Nejčastěji diskutované je dnes použití lenalidomidu v léčbě vysoce rizikových pacientů s MGUS. Data z probíhajících studií ale nejsou k dispozici a především je nutné upozornit na možná rizika dlouhodobého užívání lenalidomidu především z hlediska vzniku sekundárních malignit. Také je nutné pečlivě vytipovat nejrizikovější pacienty pro léčbu, kde můžeme očekávat progresi kratší než za 1-2 roky, což je i v současném stavu poznání velmi obtížné. Prozatím tedy platí, že jediným opravdu účelným opatřením je dlouhodobé sledování pacientů a včasná léčba symptomatické choroby.

Další etablovanou indikací je využití FLC k posouzení hloubky kompletní remise, jak bylo již publikováno dříve (26,27,28). Vycházíme-li z předpokladu, že čím menší je reziduální klon, tím menší bude i produkce volných lehkých řetězců v séru pacientů, pak zavedení metodiky má svůj smysl. Takto bylo pravděpodobně uvažováno i při sestavování nových kritérií léčebné odpovědi. Ale realita je bohužel poněkud jiná. Naše data jednoznačně ukazují, že redukce FLC na normální hodnoty sama o sobě zcela nereflektuje dobu do relapsu pacientů. Toto pozorování není v žádném případě v kontradikci s dosud publikovanými daty. V malé studii Krögera sice abnormální FLCr předcházelo relapsu v MIG, ale neprokázal se přínos v hodnocení hloubky kompletní remise (29). K obdobným závěrům došli i v italské studii, kdy u 203 pacientů nebyl prokázán žádný prognostický přínos normalizace FLCr (30). Zatím asi nejdůležitější je zcela recentní práce Paiva (31), která dospěla k velmi podobným závěrům jako my. Zde v analýze 102 pacientů s MM zkoumali vliv normalizace FLC na délku trvání odpovědi a současně vliv přítomnosti reziduálního klonu imunofenotypizací. U FLC nebyl, obdobně jako tomu bylo v naší studii, prokázán signifikantní rozdíl v délce doby do progresu ($p=0,2$), zatímco pro imunofenotypizační vyšetření byla zjištěna silná asociace ($p=0,02$). Samozřejmě existují práce, které podporují delší dobu do relapsu pacientů s normalizací FLCr, např. ve studii Sirohiho (26) byl u 107 pacientů pozorován statisticky signifikantně kratší čas do progresu u pacientů s vysoce abnormálními hodnotami FLCr. Jiná menší studie (27) také potvrdila delší dobu do progresu při normalizaci FLCr, zde ale byli selektováni pouze pacienti s myelomem z lehkých řetězců, kde nebylo žádné jiné sledování léčebné odpovědi možné. Musíme se tedy logicky zabývat otázkou, proč v této indikaci FLCr v rutinní praxi selhává. Možných vysvětlení tohoto faktu může být více. Známým faktem je, že biologie choroby se pod selekčním tlakem jednotlivých léků v čase mění (viz klonálně selekční teorie MM v úvodní kapitole práce). Tedy i přes kvalitní léčebnou odpověď z hlediska biochemického můžeme dojít do situace, kdy jsme léčbou potlačili sekreční klon a zbyly nám pouze buňky, které nesecernují nic, popř. jiný typ lehkých řetězců či MIG. Zde nám opět může být nápomocna např. průtoková cytometrie nebo molekulárně genetické metody cílící přímo na

klon jako takový, nikoli na jeho produkt (32, 33). Dalším neméně důležitým zjištěním je fakt, že abnormální poměr FLC je často spojen s produkcí tzv. oligoklonálních páسů a ovlivňuje tak zásadně interpretaci výsledku FLC. Oligoklonalita nemá nic společného s původním klonem, je projevem rekonstituce imunity po proběhlé terapii a vyskytuje se u značné části pacientů - 14 ze 34 (tedy 41,2 %) v italské studii a 15,5 % pacientů s brazilské studii (34, 35, 36). V našem souboru nemocných s MM po autologní transplantaci byla oligoklonalita zastižena u 14 z 27 pacientů, tedy u 52 % (nepublikovaná data). I z tohoto důvodu pak není překvapením, že právě přítomnost klonu rozhoduje o hloubce remise, nikoli přítomnost produktů plazmatických buněk, které mohou jevit značnou biologickou variabilitu. Opět je zde nutné zdůraznit, že využití metod detekce buněčného rezidua považujeme za daleko přínosnější a stanovení FLC je potřeba chápat jen jako doplňkovou metodu v této indikaci.

Poslední a asi nejvíce kontroverzní kapitolou využití FLC je predikce léčebné odpovědi na podanou chemoterapii u pacientů s MM (37). Ačkoli byla publikována řada studií, které dokladují, že na základě FLC lze predikovat léčebnou odpověď dříve než na základě MIG, praktický význam této aplikace je kontroverzní. Např. ve studii Mösbauera (38), která ale mapovala pouze 26 pacientů s MM, bylo dosažení léčebné odpovědi dle FLC zaznamenáno v průměru o 128 dní dříve než negativní imunofixace. Asi největší studie na toto téma pochází od Orłowského (39), kdy u 487 pacientů byla sledována léčebná odpověď na bortezomib a doxorubicin. Nejdůležitějším pozorováním v této studii byl fakt, že normalizace FLC po 1. cyklu léčby predikovala delší dobu do progresu (345 vs. 225 dní, $p < 0,0005$). Stejně tak jejich data prokázala vyšší procento kompletních remisí u pacientů s časnou normalizací FLC. Obdobné výsledky lze vysledovat např. ve studii Nakorna (40). Britská data (41) potvrdila predikci dosažení kompletní remise na základě sledování FLC, ale tato studie v zásadě neřeší žádný klinický přínos tohoto jevu ani nepopisuje délku přežívání či dobu do progresu pacientů. Zcela recentní práce Moriové (42) zabývající se obdobnou problematikou porovnávala význam výsledku stanovení FLC a MIG pomocí imunofixace ve vztahu k nádorové náloži (dle biopsie a aspirátu dřeně) u 73 pacientů s neléčeným mnohočetným myelomem. Autoři nenalezli signifikantní korelaci mezi množstvím plazmocytů v kostní dřeni a koncentrací FLC, zatímco MIG predikoval tumorovou nálož lépe. Stejně tak kompletní MIG lépe než FLC predikoval i celkovou léčebnou odpověď. Souhrnně tedy tato studie uzavírá, že reziduální tumor je lépe charakterizován pomocí MIG než FLC. Při pohledu na naše data, i když jde o méně homogenní skupinu pacientů než v uvedené studii, můžeme dojít k velmi obdobným závěrům. Ani v jednom případě jsme neprokázali, že by koncentrace FLC klesala signifikantně časněji než MIG, protože terapie je tak účinná, že k poklesu MIG dochází stejně rychle. Stejně tak nelze odhadnout hloubku léčebné odpovědi dle poklesu a normalizace FLC. Navíc existuje signifikantní skupina (až 30 % pacientů), u kterých dostáváme zcela opačný výsledek léčby, než by byl predikován na základě stanovení FLC. V tom tkví největší zrádnost interpretace poklesu FLC při terapii moderními léky. Současné recentní práce tyto naše závěry podporují. Stejně tak zůstává i nutnost vyšetření kostní dřeně, které nelze při hodnocení léčebné odpovědi vynechat (42). Hodnocení léčebné odpovědi na základě samotného FLC je tak možné pouze u AL amyloidózy (43).

Výsledky, ke kterým jsme dospěli u všech 3 cílů, jsou víceméně očekávané. Z klinické praxe víme, že biologické chování MM i MGUS je velmi variabilní a hledání jednoho nástroje k posouzení ať už vývoje choroby či odpovědi na terapii je velmi problematické. Jak z našich dat, tak i z dat celosvětových je jasné, že pozice FLC není zdaleka dořešena a že více než o významný faktor se bude jednat o faktor pomocný. Toto beze zbytku platí zejména pro MM, v případě MGUS jde o užitečnou pomůcku ke stanovení rizikovitosti onemocnění. Další směřování výzkumu v oblasti MM a MGUS povede k buněčnému základu choroby, nikoli k produktům plazmatických

buněk, což podporují i naše data. V blízké době bude posuzování remise MM pravděpodobně jasně vévodit imunofenotypizační vyšetření, v budoucnu se snad dočkáme i dopracování molekulárně biologických metod včetně GEP, která se ukazuje opakovaně jako velmi silný prognostický faktor, což dokazují i zcela recentní práce (44).

8. Závěr

Vyšetření FLC v séru má nezpochybnitelný význam ve sledování monoklonálních gamapatií, zejména pak oligosekrečních forem myelomu a AL amyloidózy. Dále má zásadní přínos pro určení prognózy pacientů s MGUS. Tato práce byla zaměřena na ověření platnosti dosud uznávaných dogmat v našich podmínkách. Na základě našich výsledků byla vypracována doporučení pro využití FLC, která již byla zveřejněna v rámci nových Guidelines pro diagnostiku a léčbu mnohočetného myelomu v České republice.

Analýza FLCr u monoklonální gamapatie nejasného významu přinesla očekávaná zjištění. Na velkém vzorku pacientů se podařilo prokázat platnost stratifikačního modelu Mayo Clinic, který je využitelný i v našich podmínkách. Při sledování rizika progresu u jednotlivých kategorií pacientů vytvořených na základě tohoto stratifikačního systému byl prokázán statisticky signifikantní rozdíl v době do progresu mezi jednotlivými podskupinami pacientů ($p < 0,001$). Na základě velkého množství dat bude pravděpodobně možné identifikovat další prognostické faktory transformace MGUS a stávající modely tak postupně dále zpřesňovat s cílem odhalit nejvíce rizikové skupiny pacientů.

Výsledky druhé části projektu, tedy analýza pacientů v kompletní remisi onemocnění mnohočetným myelomem potvrdila skutečnost, že úloha FLCr ve stanovení hloubky kompletní remise bude zřejmě muset být do budoucna přehodnocena. Objevují se nové práce, které jsou v plném souhlasu s našimi daty. Nepodařilo se prokázat statisticky signifikantní rozdíl v době trvání léčebné odpovědi u pacientů s normalizací FLCr. Delší follow-up a rutinní využívání moderních flowcytometrických metod pomůže dále zpřesnit diagnostiku kompletní remise myelomu a FLCr zůstane v budoucnu pravděpodobně pouze doplňkovou metodou bez stěžejního významu pro osud pacientů.

Na základě výsledků poslední části, ve které jsme se zabývali problematikou reakce FLC na moderní léčbu, je možné konstatovat, že přínos stanovení FLC versus MIG se v současné době stírá. Reakce choroby na tyto moderní preparáty je tak rychlá, že neexistuje rozdíl mezi oběma sledovanými veličinami. Ani na základě časné odpovědi FLC či naopak refrakternosti z hlediska FLC nelze dopředu odhadovat léčebný výsledek u konkrétního pacienta. Mnohdy může naopak dojít k chybné interpretaci výsledků. Na základě FLC tedy nelze pacienta diskvalifikovat od dané terapie, stanovení FLC v této indikaci tedy nemá žádný ekonomický přínos.

U dobře sledovatelných pacientů s MM s detekovatelnou hladinou MIG je tedy přínos sledování FLC obecně doplňkový. Základní a jednoznačnou indikaci pro využití stanovení FLC v rutinní praxi tak dnes představují pouze nemocní s oligosekreční formou MM a MGUS.

Všechny cíle práce se podařilo naplnit na datech od velkého množství pacientů ve všech třech analýzách a naše výsledky budou mít přínos pro rutinní klinickou práci vzhledem k jejich využití v rámci nových Guidelines pro diagnostiku a léčbu MM v České republice.

9. Literatura

1. BENICE JONES, H. Papers on chemical pathology. *Lancet*, 1847, vol. 50, no 1245, s. 32–35.
2. KINOSHITA, T., NAGAI, H., MURATE, T., SAITO H., FUKATSU, T., HOTTA, T. IgD monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Int J Hematol*, 1997, vol. 65, no. 2, s. 169-172.
3. JAKO, JM., GESZTESI, T., KASZAS, I. IgE lambda monoclonal gammopathy and amyloidosis. *Int Arch Allergy Immunol*, 1997, vol. 112, no. 4. s. 415-421.
4. INTERNATIONAL MYELOMA WORKING GROUP. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group, *Br J Haematol*, 2003, vol. 121, no. 5, s. 749-757.
5. KYLE, RA., RAJKUMAR, SV. Monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Br J Haematol*, 2006, vol. 134, no. 6, s. 573-589.
6. BRADWELL, AR., CARR-SMITH, HD., MEAD, GP., TANG, LX., SHOWELL, PJ., DRAYSON, MT., DREW, R. Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin Chem*, 2001, vol. 47, no. 4, s. 673-680.
7. VÁVROVÁ, J., MAISNAR, V., TICHÝ, M., FRIEDECKÝ, B., ČERMÁKOVÁ, Z., DASTYCH, M., GOTTWALDOVÁ, J., KUČERA, P., KROTKÁ, J., RACEK, J., ŽENKOVÁ, J., SCHNEIDERKA, P., LOCHMAN, P., ZIMA, T., BENÁKOVÁ, H., BÜCHLER, T., SPÁČILOVÁ, J., HÁJEK, R., PALIČKA, V. Interlaboratory study of free monoclonal immunoglobulin light chain quantification. *Clin Chem Lab Med*, 2011, vol. 49, no. 1, s. 89-92.
8. VÁVROVÁ, J., FRIEDECKÝ, B., TICHÝ, M., HOLEČKOVÁ, M., MAISNAR, V., HÁJEK, R. Stanovení volných lehkých řetězců imunoturbidimetrií a metodou ELISA. *Klin Biochem Metab*, 2008, vol. 16, no. 2, s. 97-101.
9. CAVALLO, F., RASMUSSEN, E., ZANGARI, M., TRICOT, G., FENDER, B., FOX, M. Serum free-light chain (sFLC) assay in Multiple Myeloma (MM): Clinical correlates and prognostic implications in newly diagnosed MM patients treated with Total Therapy 2 or 3 (TT2/3). *Blood*, 2005, vol. 106, s. 3490(Abstract).
10. RAJKUMAR, SV., KYLE, RA., THERNEAU, TM., MELTON, LJ 3RD., BRADWELL, AR., CLARK, RJ., LARSON, DR., PLEVAK, MF., DISPENZIERI, A., KATZMANN, JA. Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood*, 2005, vol. 106, no. 3, s. 812-817.
11. DRAYSON, M., TANG, LX., DREW, R., MEAD, GP., CARR-SMITH, H., BRADWELL, AR. Serum free light-chain measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma. *Blood*, 2001, vol. 97, no. 9, s. 2900-2902.
12. LACHMANN, HJ., GALLIMORE, R., GILLMORE, JD., CARR-SMITH, HD., BRADWELL, AR., PEPYS, MB., HAWKINS, PN. Outcome in systemic AL amyloidosis in relation to changes in concentration of

circulating free immunoglobulin light chains following chemotherapy. *Br J Haematol*, 2003, vol. 122, no. 1, s. 78-84.

13. DURIE, BG., HAROUSSEAU, JL., MIGUEL, JS., BLADÉ, J., BARLOGIE, B., ANDERSON, K., GERTZ, M., DIMOPOULOS, M., WESTIN, J., SONNEVELD, P., LUDWIG, H., GAHRTON, G., BEKSAC, M., CROWLEY, J., BELCH, A., BOCCADARO, M., CAVO, M., TURESSON, I., JOSHUA, D., VESOLE, D., KYLE, R., ALEXANIAN, R., TRICOT, G., ATTAL, M., MERLINI, G., POWLES, R., RICHARDSON, P., SHIMIZU, K., TOSI, P., MORGAN, G., RAJKUMAR, SV, International Myeloma Working Group. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*, 2006, vol. 20, no. 9, s. 1467-1473.
14. MAISNAR, V., KLIMEŠ, D., HÁJEK, R. RMG – Registr monoklonálních gamapatií. *Klin Biochem Metab*, 2009, vol. 38, no. 2, s. 72–74.
15. RADOCHA, J., KLINCOVÁ, M., MAISNAR, V., SANDECKÁ, V., VÁVROVÁ, J., ŠPIČKA, I., ŠČUDLA, V., GREGORA, E., MACHÁLKOVÁ, K., TICHÝ, M., MALÝ, J., HÁJEK, R. Význam stanovení FLC u nemocných MGUS a v kompletní remisi u mnohočetného myelomu *Klin Biochem Metab*, 2012, vol. 41, no. 1, p. 84–87.
16. RADOCHA, J., MAISNAR, V., KLINCOVÁ, M., VÁVROVÁ, J., KAISAROVÁ, P., HÁJEK, R., TICHÝ, M., MALÝ, J. Výsledky prvních analýz z registru RMG - význam volných lehkých řetězců v prognóze MGUS a hodnocení kompletní remise MM *Klin Biochem Metab*, 2011, vol. 40, no. 2, s. 82–84.
17. LÓPEZ-CORRAL, L., GUTIÉRREZ, NC., VIDRIALES, MB., MATEOS, MV., RASILLO, A., GARCÍA-SANZ, R., PAIVA, B., SAN MIGUEL, JF. The progression from MGUS to smoldering myeloma and eventually to multiple myeloma involves a clonal expansion of genetically abnormal plasma cells. *Clin Cancer Res*, 2011, vol. 17, no. 7, s. 1692-1700.
18. PAIVA, B., PÉREZ-ANDRÉS, M., VÍDRIALES, MB., ALMEIDA, J., DE LAS HERAS, N., MATEOS, MV., LÓPEZ-CORRAL, L., GUTIÉRREZ, NC., BLANCO, J., ORIOL, A., HERNÁNDEZ, MT., DE ARRIBA, F., DE COCA, AG., TEROL, MJ., DE LA RUBIA, J., GONZÁLEZ, Y., MARTÍN, A., SUREDA, A., SCHMIDT-HIEBER, M., SCHMITZ, A., JOHNSEN, HE., LAHUERTA, JJ., BLADÉ, J., SAN-MIGUEL, JF, ORFAO A; GEM (Grupo Español de MM)/PETHEMA (Programa para el Estudio de la Terapéutica en Hemopatías Malignas); Myeloma Stem Cell Network (MSCNET). Competition between clonal plasma cells and normal cells for potentially overlapping bone marrow niches is associated with a progressively altered cellular distribution in MGUS vs myeloma. *Leukemia*, 2011, vol. 25, no. 4, s. 697-706.
19. PAIVA, B., ALMEIDA, J., PÉREZ-ANDRÉS, M., MATEO, G., LÓPEZ, A., RASILLO, A., VÍDRIALES, MB., LÓPEZ-BERGES, MC., MIGUEL, JF., ORFAO, A. Utility of flow cytometry immunophenotyping in multiple myeloma and other clonal plasma cell-related disorders. *Cytometry B Clin Cytom*, 2010, vol. 78, no. 4, s. 239-252.
20. KOVAROVA, L., BURESOVA, I., BUCHLER, T., SUSKA, R., POUR, L., ZAHRA DOVA, L., PENKA, M., HAJEK, R. Phenotype of plasma cells in multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Neoplasma*, 2009, vol. 56, no. 6, s. 526-532.

21. BERENSON, JR., YELLIN, O., BOCCIA, RV., FLAM, M., WONG, SF., BATUMAN, O., MOEZI, MM., WOYTOWITZ, D., DUVIVIER, H., NASSIR, Y., SWIFT, RA. Zoledronic acid markedly improves bone mineral density for patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance and bone loss. *Clin Cancer Res*, 2008, vol. 14, no. 19, s. 6289-6295.
22. PEPE, J., PETRUCCI, MT., MASCIA, ML., PIEMONTE, S., FASSINO, V., ROMAGNOLI, E., MINISOLA, S. The effects of alendronate treatment in osteoporotic patients affected by monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Calcif Tissue Int*, 2008, vol. 82, no. 6, 418-426.
23. YI, Q., DESIKAN, R., BARLOGIE, B., MUNSHI, N. Optimizing dendritic cell-based immunotherapy in multiple myeloma. *Br J Haematol*, 2002, vol. 117, no. 2, 297-305.
24. HÁJEK, R., BUTCH, AW. Dendritic cell biology and the application of dendritic cells to immunotherapy of multiple myeloma. *Med Oncol*, 2000, vol. 17, no. 1, s. 2-15.
25. ZHRADOVA, L., MOLLOVA, K., OCADLIKOVA, D., KOVAROVA, L., ADAM, Z., KREJCI, M., POUR, L., KRIVANOVA, A., SANDECKA, V., HAJEK, R. Efficacy and safety of Id-protein-loaded dendritic cell vaccine in patients with multiple myeloma--phase II study results. *Neoplasma*, 2012, vol. 59, no. 4, s. 440-449.
26. SIROHI, B., POWLES, R., KULKARNI, S., CARR-SMITH, HD., PATEL, G., DAS, M. Serum free light chain assessment in myeloma patients who are in complete remission (CR) by immunofixation predicts early relapse. *Blood*, 2003, vol. 102, s. 5195 (Abstract).
27. REID, SD., DRAYSON, MT., MEAD, GP., AUGUSTSON, B., BRADWELL, AR. Serum free light chains are a more sensitive marker of serological remission in multiple myeloma patients. *Clin Chem*, 2004, vol. 50, s. C34 (Abstract).
28. OWEN, RG., CHILD, JA., RAWSTRON, AC., BELL, S., COCKS, K., DAVIES, FE., JACKSON, J., MORGAN, GJ., DRAYSON, MT. Defining Complete Response in Multiple Myeloma: Role of the Serum Free Light Chain Assay and Multiparameter Flow Cytometry. Defining complete response in multiple myeloma: Role of the serum free light chain assay and multiparameter flow cytometry. *Blood*, 2007, vol. 110, s. 1479 (Abstract).
29. KRÖGER, N., ASENOVA, S., GERRITZEN, A., BACHER, U., ZANDER, A. Questionable role of free light chain assay ratio to determine stringent complete remission in multiple myeloma patients. *Blood*, 2010, vol. 115, no. 16, s. 3413-3414.
30. GIARIN, MM., GIACCONE, L., SORASIO, R., SFILIGOI, C., AMOROSO, B., CAVALLO, F., CIPRIANI, A., PALUMBO, A., BOCCADORO, M. Serum free light chain ratio, total kappa/lambda ratio, and immunofixation results are not prognostic factors after stem cell transplantation for newly diagnosed multiple myeloma. *Clin Chem*, 2009, vol. 55, no. 8 s. 1510-1516.
31. PAIVA, B., MARTINEZ-LOPEZ, J., VIDRIALES, MB., MATEOS, MV., MONTALBAN, MA., FERNANDEZ-REDONDO, E., ALONSO, L., ORIOL, A., TERUEL, AI., DE PAZ, R., LARAÑA, JG., BENGOCHEA, E., MARTIN, A., MEDIAVILLA, JD., PALOMERA, L., DE ARRIBA, F., BLADÉ, J., ORFAO, A., LAHUERTA, JJ., SAN MIGUEL, JF. Comparison of immunofixation, serum free light chain, and

immunophenotyping for response evaluation and prognostication in multiple myeloma. *J Clin Oncol*, 2011, vol. 29, no. 12, s. 1627-1633.

32. CORRADINI, P., CAVO, M., LOKHORST, H., MARTINELLI, G., TERRAGNA, C., MAJOLINO, I., VALAGUSSA, P., BOCCADORO, M., SAMSON, D., BACIGALUPO, A., RUSSELL, N., MONTEFUSCO, V., VOENA, C., GAHRTON, G.; Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). Molecular remission after myeloablative allogeneic stem cell transplantation predicts a better relapse-free survival in patients with multiple myeloma. *Blood*, 2003, vol. 102, no. 5, s. 1927-1929.
33. PAIVA, B., VÍDRIALES, MB., MONTALBÁN, MA., PÉREZ, JJ., GUTIÉRREZ, NC., ROSIÑOL, L., MARTÍNEZ-LÓPEZ, J., MATEOS, MV., CORDÓN, L., ORIOL, A., TEROL, MJ., ECHEVESTE, MA., DE PAZ, R., DE ARRIBA, F., PALOMERA, L., LA RUBIA, JD., DÍAZ-MEDIAVILLA, J., SUREDA, A., GOROSQUIETA, A., ALEGRE, A., MARTIN, A., LAHUERTA, JJ., BLADÉ, J., ORFAO, A., SAN MIGUEL, JF. Multiparameter Flow Cytometry Evaluation of Plasma Cell DNA Content and Proliferation in 595 Transplant-Eligible Patients with Myeloma Included in the Spanish GEM2000 and GEM2005<65y. *Am J Pathol*, 2012, doi: 10.1016/j.ajpath.2012.07.020. [Epub ahead of print].
34. DE LARREA, CF., CIBEIRA, MT., ELENA, M., AROSTEGUI, JI., ROSIÑOL, L., ROVIRA, M., FILELLA, X., YAGÜE, J., BLADÉ, J. Abnormal serum free light chain ratio in patients with multiple myeloma in complete remission has strong association with the presence of oligoclonal bands: implications for stringent complete remission definition. *Blood*, 2009, vol. 114, no. 24, s. 4954-4956.
35. ALEJANDRE, ME., MADALENA, LB., PAVLOVSKY, MA., FACIO, ML., CORRADO, C., MILONE, G., BRESCIANI, PD., FRAIND, SA., PAVLOVSKY, S., PIZZOLATO, MA. Oligoclonal bands and immunoglobulin isotype switch during monitoring of patients with multiple myeloma and autologous hematopoietic cell transplantation: a 16-year experience. *Clin Chem Lab Med*, 2010, vol. 48, no. 5, s. 727-731.
36. ALEJANDRE, ME., PAVLOVSKY, MA., REMAGGI, G., CORRADO, C., FERNANDEZ, I., MILONE, G., PAVLOVSKY, A., MADALENA, L., PANDOLFO, M., FACIO, ML., BRESCIANI, P., PAVLOVSKY, S., PIZZOLATO, MA. Serum free light chains and oligoclonal bands in patients with multiple myeloma and autologous stem cell transplantation. *Clin Chem Lab Med*, 2012, vol 50, no. 6, s. 1093-1097.
37. DISPENZIERI, A., ZHANG, L., KATZMANN, JA., SNYDER, M., BLOOD, E., DEGOEY, R., HENDERSON, K., KYLE, RA., OKEN, MM., BRADWELL, AR., GREIPP, PR. Appraisal of immunoglobulin free light chain as a marker of response. *Blood*, 2008, vol. 111, no. 10, s. 4908-4915.
38. MÖSBAUER, U., AYUK, F., SCHIEDER, H., LIOZNOV, M., ZANDER, AR., KROGER, N. Monitoring serum free light chains in patients with multiple myeloma who achieved negative immunofixation after allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica*, 2007, vol. 92, no. 2, s. 275-276.
39. ORLOWSKI, R., SUTHERLAND, H., BLADE, J., MIGUEL, JS., HAJEK, R., NAGLER, A., SONNEVELD, P., SPENCER, A., SUTHERLAND, HJ., ROBAK, T., MUNDLE, SD., ZHUANG, SH., HAROUSSEAU, JL., ORLOWSKI, RZ. Early normalization of serum free light chains is associated with prolonged time

to progression following bortezomib {+/-} pegylated liposomal doxorubicin treatment of relapsed/ refractory multiple myeloma. *Blood*, 2007, vol. 110, s. 2735 (Abstract).

40. NAKORN, TN., WATANABOONYONGCHAROEN, P., SUWANNABUTRA, S., THEERASAKSILP, S., PARITPOKEE, N. Early reduction of serum free light chain can predict therapeutic responses in multiple myeloma. *Blood*, 2007, vol. 110, s. 4742 (Abstract).
41. OWEN, RG., CHILD, JA., RAWSTRON, AC., BELL, S., COCKS, K., DAVIES, FE., JACKSON, GH., MORGAN, GJ., DRAYSON, MT. Defining complete response in multiple myeloma: Role of the serum free light chain assay and multiparameter flow cytometry. *Blood*, 2007, vol. 110, s. 1479 (Abstract).
42. MORI, S., CRAWFORD, BS., RODDY, JV., PHILLIPS, G., ELDER, P., HOFMEISTER, CC., EFEBERA, Y., BENSON, DM JR. Serum free light chains in myeloma patients with an intact M protein by immunofixation: potential roles for response assessment and prognosis during induction therapy with novel agents. *Hematol Oncol*, 2012, vol. 30, no. 3, s. 156-162.
43. CHEE, CE., KUMAR, S., LARSON, DR., KYLE, RA., DISPENZIERI, A., GERTZ, MA., COLBY, CL., RAJKUMAR, SV. The importance of bone marrow examination in determining complete response to therapy in patients with multiple myeloma. *Blood*, 2009, vol. 114, no. 13, s. 2617-2618.
44. KUMAR, SK., DISPENZIERI, A., LACY, MQ., HAYMAN, SR., BUADI, FK., ZELDENRUST, SR., TAN, T., SINHA, S., LEUNG, N., KYLE, RA., RAJKUMAR, SV., GERTZ, MA. Changes in serum-free light chain rather than intact monoclonal immunoglobulin levels predicts outcome following therapy in primary amyloidosis. *Am J Hematol*, 2011, vol. 86, no. 3, s. 251-255.
45. CHEN, T., BERNO, T., ZANGARI, M. Low-risk identification in multiple myeloma using a new 14-gene model. *Eur J Haematol*, 2012, vol. 89, no. 1, s. 28-36.

10. Přehled publikační aktivity autora

10.1. Kapitoly v monografiích:

MAISNAR, V., TICHÝ, M., **RADOCHA, J.** Monitorování aktivity monoklonálních gamapatií. In MAISNAR, V., TICHÝ, M. *Monoklonální imunoglobuliny – výskyt, význam a možnosti jejich průkazu*. 1. vyd. Hradec Králové: Nucleus, 2012. 129s. ISBN 978-80-87009-87-1, s. 39-42.

VÁVROVÁ, J., TICHÝ, M., MAISNAR, V., **RADOCHA, J.** Stanovení volných lehkých řetězců a Hevylite™ u monoklonálních gamapatií. In MAISNAR, V., TICHÝ, M. *Monoklonální imunoglobuliny – výskyt, význam a možnosti jejich průkazu*. 1. vyd. Hradec Králové: Nucleus, 2012. 129s. ISBN 978-80-87009-87-1, s. 55-60.

MAISNAR, V., TICHÝ, M., **RADOCHA, J.** Změna izotypu a výskyt oligoklonality monoklonálního imunoglobulinu po léčbě mnohočetného myelomu. In MAISNAR, V., TICHÝ, M. *Monoklonální imunoglobuliny – výskyt, význam a možnosti jejich průkazu*. 1. vyd. Hradec Králové: Nucleus, 2012. 129s. ISBN 978-80-87009-87-1, s. 108-111.

ŽÁK, P., **RADOCHA, J.**, ZAVŘELOVÁ, A. Úspěšná léčba invazivní plicní aspergilózy diagnostikované při alogenní transplantaci krvetvorných buněk – kazuistika. In CETKOVSKÝ, P., KOUBA, M. *Diferenciální diagnostika plicních infiltrátů*. 1. vyd. Praha: Triton, 2009. 259 s. ISBN 978-80-7387-343-1, s. 181-183.

10.2. Původní články:

RADOCHA, J., KLINCOVÁ, M., MAISNAR, V., SANDECKÁ, V., VÁVROVÁ, J., ŠPIČKA, I., ŠČUDLA, V., GREGORA, E., MACHÁLKOVÁ, K., TICHÝ, M., MALÝ, J., HÁJEK, R. Význam stanovení FLC u nemocných MGUS a v kompletní remisi u mnohočetného myelomu *Klin Biochem Metab*, 2012, vol. 20, no. 1, s. 84–87.

RADOCHA, J., MAISNAR, V., KLINCOVÁ, M., VÁVROVÁ, J., KAISAROVÁ, P., HÁJEK, R., TICHÝ, M., MALÝ, J. Výsledky prvních analýz z registru RMG - význam volných lehkých řetězců v prognóze MGUS a hodnocení kompletní remise MM *Klin Biochem Metab*, 2011, vol. 19, no. 2, s. 82–84.

GABALEC, F., ZAVŘELOVÁ, A., HAVEL, E., CERMÁN, JR. J., **RADOCHA, J.**, SVILIAS, I., ČÁP, J. Pneumocystis pneumonia during medicamentous treatment of cushing's syndrome--a description of two cases. *Acta medica (Hradec Králové)*, 2011, vol. 54, no. 3, s. 127-130.

MACHÁLKOVÁ, K., **RADOCHA, J.**, MAISNAR, V. Vyšetření viskozity u nemocných s MG – kazuistiky. *Klin Biochem Metab*, 2011, vol. 19, no. 2, s. 93-95.

SANDECKÁ, V., ŠPIČKA, I., GREGORA, E., ŠČUDLA, V., MAISNAR, V., KREJČÍ, M., STRAUB, J., PAVLÍČEK, P., MINAŘÍK, J., **RADOCHA, J.**, ADAM, Z., POUR, L., ZHRADOVÁ, L., HÁJEK, R. Zkušenosti s používáním bortezomibu (Velcade) v České republice od roku 2004. *Onkologie*, 2011, vol 5., no. 3, s. 141-145.

MAISNAR V., PELCOVÁ J., KLIMEŠ D., SANDECKÁ V., **RADOCHA J.**, KLINCOVÁ M., HÁJEK R. RMG - Registr Monoklonálních Gamapatií. *Onkologie*, 2011, vol. 5, no. 3, s. 138-140.

ZAVŘELOVÁ, A., **RADOCHA, J.**, CERMANOVÁ, M., ŠTĚPÁNOVÁ, E., PATEROVÁ, P., ŽÁK, P. Specifika cílené antibiotické léčby u hematologických nemocných. *Postgrad Med*, 2011, vol. 13, no. 5, s. S30-S34.

ALMASI, M., SEVCIKOVA, S., SLABY, O., KAISAROVA, P., MAISNAR, V., PENKA, M., PIKA, T., POUR, L., **RADOCHA, J.**, SCUDLA, V., SVACHOVA, H., HAJEK, R. Association study of selected genetic polymorphisms and occurrence of venous thromboembolism in patients with multiple myeloma who were treated with thalidomide. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2011, vol. 11, no. 5, s. 414-420. **IF 1,601**

RADOCHA, J., MAISNAR, V., SANDECKÁ, V., VÁVROVÁ, J., SPÁČILOVÁ, J., TICHÝ, M., HÁJEK, R., FRIEDECKÝ, B., MALÝ, J. Projekt MGUS 2010 – průběžná analýza. *Klin Biochem Metab*, 2010, vol. 18, no. 2, s. 80-82.

SANDECKÁ, V., **RADOCHA, J.**, MAISNAR, V., HÁJEK, R. MGUS 2010 – výzkumný projekt zaměřený na identifikaci vysoce rizikové prekancerózy *Klin Biochem Metab*, 2009 vol. 17, no. 2, s. 75-76.

ŠOLCOVÁ, L., FRIEDECKÝ, B., **RADOCHA, J.**, TICHÝ, M., MAISNAR, V., HOLEČKOVÁ, M., VÁVROVÁ, J. Abnormální hyperbilirubinémie u pacientky s mnohočetným myelomem. *Klin Biochem Metab*, 2008, vol. 16, no., s. 3202-3203.

MAISNAR, V., HÁJEK, R., ŠČUDLA, V., GREGORA, E., BÜCHLER, T., TICHÝ, M., KOTOUCEK, P., KAFKOVÁ, A., FORRAIOVÁ, L., MINARÍK, J., **RADOCHA, J.**, BLÁHA, V., MALÝ, J. High-dose chemotherapy followed by autologous stem cell transplantation changes prognosis of IgD multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant.*, 2008 vol. 41, no. 1, 51-54. **IF 3,746**

MAISNAR, V., TICHÝ, M., SMOLEJ, L., ŽÁK, P., **RADOCHA, J.**, PALIČKA, V., MALÝ, J., BLÁHA, V. Isotype class switching after transplantation in multiple myeloma. *Neoplasma*, 2007, vol. 54, no. 3, s. 225-228. **IF 1,44**

RADOCHA, J., MAISNAR, V. Solitární kostní plazmocytom - kazuistika. *Klin Biochem Metab*, 2007, vol. 15, no. 2, s. 89-90.

MAISNAR, V., HÁJEK, R., ŠČUDLA, V., GREGORA, E., TICHÝ, M., MINARÍK, J., **RADOCHA, J.**, HAVLÍKOVÁ, K., MALÝ, J. IgD mnohočetný myelom – retrospektivní analýza léčebných výsledků 4 center České republiky za posledních 7 let. *Klin Biochem Metab*, 2007, vol. 15, no. 2, s. 70-73.

MAISNAR, V., **RADOCHA, J.**, BÜCHLER, T., BLÁHA, V., MALÝ, J., HÁJEK, R. MONOTHERAPY with low-dose thalidomide for relapsed or refractory multiple myeloma: Better response rate with earlier treatment. *Eur J Haematol*, 2007, vol. 79, no. 4, s. 305-309. **IF 2,614**

RADOCHA, J., MAISNAR, V. Nízkodávkovaný talidomid u refrakterního a relabujícího mnohočetného myelomu. *Vnitr Lek*, 2007, vol. 53, no. 2, s. 129-134.

ŠEVČÍK, R., DOMINIK, J., BIS, J., DĚDEK, V., MĚŠŤAN, M., **RADOCHA, J.**, TUNA, M. Trombembolizácia obrovského trombu z pravej predsiene a vetiev arteria pulmonalis. *Interv Akut Kardiol*, 2007, vol. 6, no. 2, s. 70-72.

RADOCHA, J., VOGLOVÁ, J. Úspěšné ovlivnění anémie a trombocytopenie u idiopatické myelofibrózy Thalidomidem a Prednisonem. *Lek Zpravy*, 2006, vol. 51, no. 2, s. 191-192.

RUDOLF, E., **RADOCHA, J., ČERVINKA, M., CERMAN, J.** Combined effect of sodium selenite and camptotecin on cervical carcinoma cells. *Neoplasma*, 2004, vol. 51, no. 2, s. 127-135. **IF 1,44**

RUDOLF, E., RUDOLF, K., **RADOCHA, J., PEYCHL, J., ČERVINKA, M.** The role of intracellular zinc in modulation of life and death of hep-2 cells. *Biometals*, 2003, vol. 16, no. 2, s. 295-309. **IF 2,823**

10.3. Statě ve sbornících z konferencí:

LANSKA, M., FATOROVA, I., BLAHA, M., ZAK, P., ZAVRELOVA, A., **RADOCHA, J., MALY, J.** Haematopoietic progenitor cells assessment for optimisation of peripheral blood progenitor cells harvest. 38th Annual Meeting of the European-Group-for-Blood-and-Marrow-Transplantation (EBMT), Geneva, 1.-4.4.2012 *Bone Marrow Transplant*, 2012, vol. 47, S1, s. S252. **IF 3,746**

MAISNAR, V., **RADOCHA, J. ZAK, P., LANSKA, M., ZAVRELOVA, A., CERMANOVA, M., KMONICEK, M., JEBAVY, L., MALY, J.** 15 years of single-centre experience with stem cell transplantation for multiple myeloma. 37th European Group for Bone and Marrow Transplantation Paris, 3.-6.4. 2011 *Bone Marrow Transplant*, 2011, vol. 46, S1, s. S258. **IF 3,746**

ZAVRELOVA, A., ZAK, P., **RADOCHA, J., CERMANOVA, M., LANSKA, M., JEBAVY, L., MALY, J.** To perform or not to perform T-cell depletion in unrelated stem cell transplantation? 37th European Group for Bone and Marrow Transplantation Paris, 3.-6.4. 2011 *Bone Marrow Transplant*, 2011, vol. 46, S1, s. S113. **IF 3,746**

RADOCHA, J., ZAVRELOVA, A., CERMANOVA, M., ZAK, P. Combination of voriconazole plus echinocandin as salvage treatment for invasive pulmonary aspergillosis - review of 4 cases. 16th Symposium on Infections in Immunocompromised Host. *CMI*, 2010, Vol. 16, S3, s. S3. **IF 4,54**

MAISNAR, V., VAVROVA, J., MACHALKOVA, K., TICHY, M., **RADOCHA, J., FRIEDECKY, B., HAJEK, R., PALICKA, V., MALY, J.** The significance of two different free light chain immunoassays for monitoring of disease activity in multiple myeloma patients. 15th Annual Meeting of the European Hematology Association, Barcelona, 10.-13.6.2010, *Haematologica*, 2010 vol. 95, S2, s. S591. **IF 6,532**

BELOHLAVKOVA, P., ZAK, P., ZAVRELOVA, A., **RADOCHA, J., LANSKA, M., HORACEK, J., VOGLOVA, J., JEBAVY, L., MALY, J.** Prognostic influence of elevated pretransplant serum ferritin on the results after allogenic hematopoietic stem cell transplantation. 15th Annual Meeting of the European Hematology Association, Barcelona, 10.-13.6.2010, *Haematologica*, 2010, vol. 95, S2, s. S651. **IF 6,532**

LANSKA, M., MAISNAR, V., **RADOCHA, J., ZAK, P., ZAVRELOVA, A., BLAHA, M., HORACEK, J., DOSKOCILOVA, K., MALY, J.** Impact of thalidomide-based induction regimens on PBSC harvest in multiple myeloma patients. 36th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplant, Vienna, 21.-24.3.2010, *Bone Marrow Transplant*, 2010, vol. 45m S2, s. S151. **IF 3,746**

RADOCHA, J. MAISNAR, V., ZAK, P., ZAVRELOVA, A., CERMANOVA, M., KMONICEK, M., JEBAVY, L., MALY, J. 11 years of single-centre experience with stem cell transplantation for multiple myeloma. 36th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplant, Vienna, 21.-24.3.2010, *Bone Marrow Transplant*, 2010, vol. 45m S2, s. S151. **IF 3,746**

MAISNAR, V., MACHÁLKOVÁ, K., **RADOCHA, J.**, ŠIROKÝ, O., MALÝ, J. Monoterapie nízkodávkovaným thalidomidem – možnost indukční léčby mnohočetného myelomu u seniorů. XXIV. olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí 24.–27.6.2010. *Transfuze Hematol Dnes*, 2010, vol. 16, S2, s. 55.

KLINCOVÁ, M., **RADOCHA, J.**, STRAUB, J., ŠČUDLA, V., KLÁSKOVÁ, K., WALTEROVÁ, L., ŠTEFÁNIKOVÁ, Z., OBERNAUEROVÁ, J., ŠILEROVÁ, V., NOVOSADOVÁ, L., TÓTHOVÁ, E., WRÓBEL, M., PLONKOVÁ, H., ADAMOVÁ, D., SCHÜTZOVÁ, M., MAISNAR, V., HÁJEK, R., GREGORA, E. Sledovanie pacientov s monoklonálnou gamapatiou nejasného významu pomocou medzinárodného registra RMG (Register of Monoclonal Gammopathy), spoluprácia centier ČR a SR. XXIV. olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí 24.–27.6.2010. *Transfuze Hematol Dnes*, 2010, vol. 16, S2, s. 92.

MACHÁLKOVÁ, K., MAISNAR, V., ŠPIČKA, I., MINAŘÍK, J., POUR, L., PAVLÍČEK, P., KAISAROVÁ, P., ŠČUDLA, V., STRAUB, J., GREGORA, E., SCHÜTZOVÁ, M., HÁJEK, R., **RADOCHA, J.** Polyneuropatie při léčbě lenalidomidem. XXIV. olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí 24.–27.6.2010. *Transfuze Hematol Dnes*, 2010, vol. 16, S2, s. 97.

RADOCHA, J., ŠPIČKA, I., MINAŘÍK, J., POUR, L., PAVLÍČEK, P., KAISAROVÁ, P., MACHÁLKOVÁ, K., ŠČUDLA, V., STRAUB, J., GREGORA, E., SCHÜTZOVÁ, M., MAISNAR, V., HÁJEK, R. Lenalidomid v terapii relapsu mnohočetného myelomu – porovnání účinnosti při časnějším použití. XXIV. olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí 24.–27.6.2010. *Transfuze Hematol Dnes*, 2010, vol. 16, S2, s. 98.

MAISNAR, V., **RADOCHA, J.**, JEBAVY, L., ZAK, P., KMONICEK, M., MALY, J. Stem Cell Transplantation in Multiple Myeloma: One Center Experience. 12th International Myeloma Workshop, Washington D.C., 26.2.-1.3.2009. *Clin Lymphoma Myeloma*, 2009, vol. 9, S2, s. S63-S64. **IF 1,601**

MAISNAR, V., VAVROVA, J., FRIEDECKY, B., TICHY, M., **RADOCHA J.**, HAJEK, R. The Evaluation of Free Light Chains Using the ELISA Method. 12th International Myeloma Workshop, Washington D.C., 26.2.-1.3.2009. *Clin Lymphoma Myeloma*, 2009, vol. 9, S2, s. S131. **IF 1,601**

RADOCHA, J., FRIEDECKY, B., SOLCOVA, L., VAVROVA, J., MAISNAR, V., TICHY, M. Paraprotein Interference During Clinical Chemistry Analysis: 4 Case Reports. 12th International Myeloma Workshop, Washington D.C., 26.2.-1.3.2009. *Clin Lymphoma Myeloma*, 2009, vol. 9, S2, s. S134. **IF 1,601**

RADOCHA J., MAISNAR V., ŽÁK P., ZAVŘELOVÁ A., CERMANOVÁ M., KMONÍČEK M., JEBAVÝ L., MALÝ J. 11 years of single-centre experience with stem cell transplantation for multiple myeloma. 35th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation, Göteborg, 29.3.-1.4.2009. *Bone Marrow Transpl*, 2009, vol. 43, S1, s. 151. **IF 3,746**

RADOCHA, J., DULÍČEK, P., KALOUSEK, I. Překlenutí závažného krvácení bez nutnosti přerušení OAT. *Trombóza a hemostáza 2009 – sborník abstrakt*. Olga Čermáková: Hradec Králové, 2009. ISBN 978-80-86703-32-9. s. 57.

RADOCHA, J., ŠOLCOVÁ, L., MAISNAR, V., TICHÝ, M. Arteficiální hyperbilirubinémie při mnohočetném myelomu – kazuistika. XV. Česko-slovenský hematologický a transfuziologický kongres s mezinárodní účastí 5.-9.9.2008. *Transfuze Hematol Dnes*, 2008, vol. 14, S2, s. 23

HOLÁNEK, M., ŠČUDLA, V., MINAŘÍK, J., STRAUB, J., ŠPIČKA, I., GREGORA, E., SCHÜTZOVÁ, M., MAISNAR, V., **RADOCHA, J.**, ADAM, Z. Účinnost a toxicita revlimidu u pacientů s relabovaným mnohočetným myelomem. XV. Česko-slovenský hematologický a transfuziologický kongres s mezinárodní účastí 5.-9.9.2008. *Transfuze Hematol Dnes*, 2008, vol. 14, S2, s. 39.

MAISNAR, V., **RADOCHA, J.**, KMONÍČEK, M., ŽÁK, P., JEBAVÝ, L., MALÝ, J. 10 let transplantační léčby mnohočetného myelomu v Hradci Králové. XV. Česko-slovenský hematologický a transfuziologický kongres s mezinárodní účastí 5.-9.9.2008. *Transfuze Hematol Dnes*, 2008, vol. 14, S2, s. 68.

RADOCHA, J., MAISNAR, V., KMONÍČEK, M., ŽÁK, P., JEBAVÝ, L., MALÝ, J. Plazmocelulární leukémie – soubor 7 případů. XV. Česko-slovenský hematologický a transfuziologický kongres s mezinárodní účastí 5.-9.9.2008. *Transfuze Hematol Dnes*, 2008, vol. 14, S2, s. 79.

HAJEK, R., SPICKA, I., SCUDLA, V., GREGORA, E., MAISNAR, V., SCHUTZOVA, M., TOTHOVA, E., MISTRÍK, M., KREJCI, M., STRAUB, J., MINARIK, J., **RADOCHA, J.**, KOZA, V., PAVLICEK, P., NOVOSADOVA, L., FRANKOVA, H., STAVAROVA, Y., KESSLER, P., WALTEROVA, L., GUMULEC, J., SVOBODNIK, A., KRALOVA, D., ADAM, Z. Consolidation therapy based on conventional chemotherapy and corticoids do not provide therapeutic advantage for newly diagnosed patients after autologous transplantation. 49th Annual Meeting of the American Society of Hematology, Atlanta, 8.-11.12.2007 *Blood*, 2007, vol. 110, no. 11, s. S163. **IF 9,898**

RADOCHA, J., MAISNAR, V., BUCHLER, T., MALY, J., HAJEK, R. Monotherapy with low-dose thalidomide for relapsed or refractory multiple myeloma - Is 100 mg daily enough? 11th International Myeloma Workshop/4th International Workshop on Wlodenestroms Macroglobulinemia, Kos, 25.-30.6.2007, *Haematologica*, 2007, vol. 92, S2, s. S167. **IF 6,532**

MAISNAR, V., HAJEK, R., SCUDLA, V., GREGORA, E., TICHY, M., KOTOUCEK, P., KAFKOVA, A., FORRAIOVA, L., MINARIK, J., **RADOCHA, J.**, MALY, J. IgD multiple myeloma - The therapeutical results of CMG. 11th International Myeloma Workshop/4th International Workshop on Wlodenestroms Macroglobulinemia, Kos, 25.-30.6.2007, *Haematologica*, 2007, vol. 92, S2, s. S189. **IF 6,532**

10.4. Přehledové články:

RADOCHA, J. Profylaxe infekčních komplikací MM, *Transfuze Hematol Dnes*, vol. 18, S1, s. S85-S86.

KLINCOVÁ, M., MIKULÁŠOVÁ, A., KOVÁŘOVÁ, L., SANDECKÁ, V., **RADOCHA, J.**, MAISNAR, V., ADAM, Z., KREJČÍ, M., POUR, L., ZHRADOVÁ, L., KŘIVANOVÁ, A., SZTURZ, P., HÁJEK R. Prognóza vysoko rizikovej skupiny monoklonálnej gamapatie nejasného významu (MGUS) a asymptomatického mnohopočetného myelómu. *Onkooogiel*, 2011, vol. 5, no. 3, s. 146-150.

KLINCOVÁ, M., SANDECKÁ, V., MIKULÁŠOVÁ, A., **RADOCHA, J.**, MAISNAR, V., HÁJEK, R. Monoclonal gammopathy of undetermined significance: introduction and current clinical issues. *Klin Onkol*, 2011, vol. 24, S1, S14-S17.

KRIŽALKOVIČOVÁ, V., MAISNAR, V., POUR, L., **RADOCHA, J.**, HÁJEK, R. Monoclonal gammopathies of undetermined significance. *Klin Onkol*, 2008, vol. 21, no 4., s. 160-164.

RADOCHA, J., MAISNAR, V. Tromboprofylaxe u monoklonálních gamapatií. *Česká geriatrická revue*, 2007, vol. 5, no. 3, s. 129-133.

RUDOLF, E., PEYCHL, J., **RADOCHA, J.**, CERVINKA, M. Zinek a jeho role v regulaci buněčné smrti. *Cesk Fysiol*, 2001, vol. 50, no. 4, s. 201-210.

10.5. Přednášky na odborných fórech:

RADOCHA, J., KLINCOVÁ, M., PIKA, T., ŠPIČKA, I., GREGORA, E., VÁVROVÁ, J., MAISNAR, V., HÁJEK, R. Význam stanovení FLC u nemocných v kompletní remisi MM. XI. *Pracovní konference na téma monoklonálních gamapatií*, Hradec Králové 16. 10. 2012.

RADOCHA, J., KLINCOVÁ, M., MAISNAR, V., ZHRADOVÁ, L., VÁVROVÁ, J., PIKA, T., ŠPIČKA, I., GREGORA, E., ŠČUDLA, V., STRAUB, J., TICHÝ, M., HÁJEK R. Význam FLC pro posouzení hloubky kompletní remise mnohočetného myelomu. XVI. *Česko – Slovenský hematologický a transfuziologický sjezd*, Brno 5. – 8. 9. 2012.

RADOCHA, J., MAISNAR, V., KLINCOVÁ, M., SANDECKÁ, V., HÁJEK, R. Analýza RMG registru I. X. *národní workshop Mnohočetný myelom*, Mikulov 12. – 14. 4. 2012.

RADOCHA J., ZAVŘELOVÁ, A., ŽÁK, P., CERMANOVÁ, M., VEJRAŽKOVÁ, E., MALÝ, J. Pneumonie imunokompromitovaných nemocných. 14. *Postgraduální kurz SEPSE a MODS*, Ostrava 24.-27.1.2012.

RADOCHA, J., KLINCOVÁ, M., MAISNAR, V., SANDECKÁ, M., VÁVROVÁ, J., MACHÁLKOVÁ, K., TICHÝ, M., MALÝ, J., HÁJEK, R. Význam stanovení FLC u nemocných MGUS a v kompletní remisi u mnohočetného myelomu. X. *Pracovní konference na téma monoklonálních gamapatií*, Hradec Králové 18. 10. 2011.

RADOCHA, J., MAISNAR, V., ŽÁK, P., ZAVŘELOVÁ, A., CERMANOVÁ, J., JEBAVÝ, L., MALÝ, J. 15 let autologních transplantací u mnohočetného myelomu – zkušenosti jednoho centra. XXV. *Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí*, Olomouc 22. – 25. 6. 2011.

RADOCHA J. Infekční komplikace a použití vakcín u MM. IX. *národní workshop Mnohočetný myelom a roční setkání CMG*, Mikulov 15. - 16. 4. 2011.

RADOCHA, J., MAISNAR, V. Myelom u nemocných mladšího věku. *Regionální hematologická konference*, Mladé Buky 25. 2. 2011.

RADOCHA, J., MAISNAR, V., KLINCOVÁ, M., KAISAROVÁ, P., HÁJEK, R., MALÝ, J. Výsledky prvních analýz z registru MG. *IX. Pracovní konference na téma monoklonálních gamapatií*, Hradec Králové 26. 10. 2010.

RADOCHA, J., MAISNAR, V. Maximalizace efektu léčby Velcade (bortezomibem). *VIII. národní workshop Mnohočetný myelom*, Mikulov 22. – 25. 4. 2010.

RADOCHA, J., MAISNAR, V., SANDECKÁ, V., VÁVROVÁ, J., SPÁČILOVÁ, J., TICHÝ, M., HÁJEK, R., FRIEDECKÝ, B., MALÝ J. Projekt MGUS 2010 – průběžná analýza. *VIII. konference na téma monoklonálních gamapatií - „FLC“*, Hradec Králové 20. 10. 2009.

RADOCHA, J., DULÍČEK, P., KALOUSEK, I. Překlenutí závažného krvácení bez nutnosti přerušení OAT. *XVI. Česko-Slovenská konference o hemostáze a trombóze*, Hradec Králové 21.-23.5. 2009.

RADOCHA, J., ŠOLCOVÁ, L., FRIEDECKÝ, B., TICHÝ, M., MAISNAR, V., HOLEČKOVÁ, M., VÁVROVÁ, J. Abnormální hyperbilirubinémie u pacientky s mnohočetným myelomem. *VII. konference na téma monoklonálních gamapatií - „MGUS“*, Hradec Králové 14. 10. 2008.

RADOCHA, J., MAISNAR, V. Nežádoucí účinky nových léků mnohočetného myelomu. *Setkání pacientů a lékařů II. interní kliniky – OKH LF UK a FN Hradec Králové u příležitosti 10. výročí otevření Bašteckého pavilonu*, Hradec Králové 18. 1. 2008.

RADOCHA, J., MAISNAR, V. Jsou protidestičkové léky dostatečnou profylaxí TEN u paraproteinémií ve vyšším věku? *XIV. česko-slovenská konference o trombóze a hemostáze s mezinárodní účastí*, Hradec Králové 17. – 19. 5. 2007.

RADOCHA, J., MAISNAR, V. Jsou protidestičkové léky dostatečnou profylaxí TEN u paraproteinémií ve vyšším věku? *XIV. česko-slovenská konference o trombóze a hemostáze s mezinárodní účastí*, Hradec Králové 17. – 19. 5. 2007.

RADOCHA, J., MAISNAR, V. Nízkodávkovaný Thalidomid v léčbě refrakterního a relabujícího mnohočetného myelomu. *II. Bratislavské hematologické a transfuziologické dni s mezinárodní účastí*, Bratislava 26. - 27. 10. 2006.

RADOCHA J., MAISNAR V. Solitární plamocytom. *Konference „Méně časté monoklonální gamapatie“*, Hradec Králové 10. 10. 2006.

RADOCHA, J., VOGLOVÁ, J. Úspěšné ovlivnění anémie a trombocytopenie u idiopatické myelofibrózy Thalidomidem a Prednisonem. *Regionální hematologický seminář*, Horní Albeřice, 21.4.2006.