

Definice stringent CR a použitelné metody pro její stanovení

Pika T., Lochman P., Heřmanová Z., Ščudla V.

III. interní klinika, LF UP a FN Olomouc

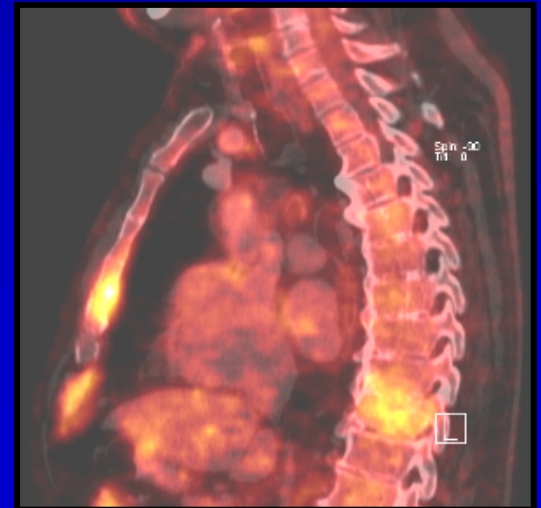
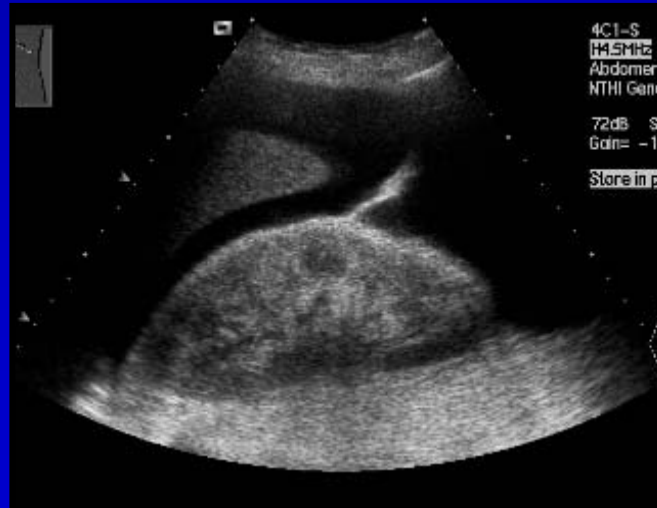
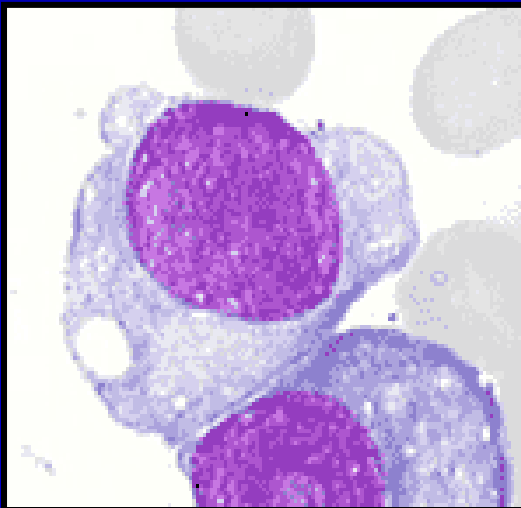
Oddělení klinické biochemie, LF UP a FN Olomouc

Ústav imunologie, LF UP a FN Olomouc

2010

Mnohočetný myelom (MM)

- Klonální proliferace a **akumulace** neoplasticky transformovaných elementů konečných vývojových stádií B – lymfocytární linie
- Produkce monoklonálního **imunoglobulinu v séru a/nebo v moči**
- **Orgánové postižení (ROTI) – CRAB(I)**



EBMT, IBMTR a ABMTR kritéria

Kompletní remise (CR)

- negativní IFIX séra a moči/ 6 týdnů
- < 5% PB v kostní dřeni (aspirát, TB), u NSMM nutné zopakovat ≥ 6 týdnů k potvrzení CR
- bez nových či nárůstu velikosti stávajících osteolytických lézí
- vymizení plazmocytomů měkkých tkání
- SPE negat., ale neprovedena IFIX \rightarrow PR

Později: SPE negat., pozit. IFIX \rightarrow **nCR** (blízká CR)

IMWG kritéria 2006

Kompletní remise (CR)

- negativní IFIX séra a moči
- < 5% PB v kostní dřeni (aspirát, TB)
- vymizení plazmocytomů měkkých tkání

Stringentní kompletní remise (sCR) = CR +

- normální index volných lehkých řetězců v séru (κ/λ index)
- absence přítomnosti klonálních buněk KD při imunohistochemickém či imunofluorescenčním vyšetření

IMWG kritéria 2006

Velmi dobrá parciální remise (VGPR)

- $\geq 90\%$ redukce MIG v séru a MIG v moči $< 100\text{mg}/24$ hod
- SPE negat., IFIX pozit. (dříve nCR)

Doplněná IMWG kritéria 2008

Stringentní kompletní remise (sCR) = CR +

- normální index volných lehkých řetězců v séru (κ/λ index)
- absence přítomnosti klonálních buněk KD při imunohistochemickém či imunofluorescenčním vyšetření, **ale lépe však užití multiparametrické průtokové cytometrie (≥ 4 barvy)**

Molekulární kompletní remise (mCR) = sCR +

- negativní ASO-PCR (senzitivita 10^{-5})

Kompletní remise u MM - východiska

- Dosažení a udržení je jedním z nejsilnějších prognostických faktorů
- Vliv na **TTP, TFI, TNT, OS, EFS, PFS**
- Vliv na **kvalitu života**
- → s příchodem HD-T + ASCT a posléze nové terapie s dosažením vyššího počtu CR vyvstává otázka podrobnější subklasifikace CR

Complete response correlates with long-term survival and progression-free survival in high-dose therapy in multiple myeloma. *van de Velde H.J.K. Haematologica 2007; 92: 1399-1406.*

Ludwig *et al.* IMW 2007; (Abstract 1103)

The role of complete response in multiple myeloma. *Harousseau J-L et al. Blood 2009;114: 3139-3146.*

Complete remission sustained 3 years from treatment initiation is a powerful surrogate for extended survival in multiple myeloma. *Barlogie B. et al. Cancer 2008;113:355-9.*

Serum M-spike and transplant outcome in patients with multiple myeloma. *Dingli D. et al. Cancer Sci 2007;98: 1035-1040.*

Stringentní CR - východiska

Sérové hladiny volných lehkých řetězců (FLC):

- **screening monoklonálních gamapatií (+SPE, IFE, UPE)**
- **prognostický význam – MGUS, SMM, MM (mimo ASCT), solitární plasmocytom, AL amyloidóza**
- **hodnocení léčebné odpovědi – NSMM, oligosekreční, AL amyloidóza, LCDD**

→ abnormální hladiny FLC a zejména κ/λ indexu = indexu klonality → přítomnost klonální produkce/populace ← detekce v KD

International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. Dispenzieri A. *Leukemia* 2009; 23: 215 – 224.

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. *Giarin MM. Clin Chem* 2009; 55(8):1510-6.

Stringentní CR (Mayo)

- n = 84, IFIX séra, moči negat.
- 46 nemocných (55%)
abnormální index κ/λ

OS od dg. nebyl dosažen vs. 76 měsíců u nemocných s abnormálním indexem (p= 0,02)

OS od doby dosažení IFIX negativity nebyl dosažen vs. 46,5 měsíců u nemocných s abnormálním indexem (p=0,03)

Metody stanovení

- IFIX séra a moči (2x)
- Stanovení volných lehkých řetězců (2x)
- Imunohistochemie, imunofluorescenční vyšetření KD
- Multiparametrická průtoková cytometrie KD

Stanovení VLŘ v séru

System FREELITE – immunoassay

- Vysoce **specifická** detekční protilátka
- Exkluzivní vazba na vnitřní epitop molekul LŘ
- Odlišení VLŘ od LŘ v molekule MIG
- Vysoká specifita, senzitivita
- Kvantifikace VLŘ v séru, moči
- 100x citlivější než SPE, IFE
- K/L index „monoklonality“ LŘ a Pb

Závislost hladin S-VLŘ:

- Masa maligního klonu B-bb.
- Funkce ledvin – exkrece dist. úseky
- Polymerizace VLŘ - ↓ ren. clearance
- Polyklonální LŘ – nadhodnocení

Kappa – 7,3 (3,3 – 19,4) mg/l

Lambda – 12,7 (5,7 – 26,3) mg/l

K/L index – 0,6 (0,26 – 1,65)

Poločas: κ 2-4, λ 3-6 hodin

(IgG 20, IgA 6 dní)

Imunohistochemie, Imunofluorescence KD

- přítomnost/absence klonálních buněk dle indexu κ/λ
- minimum 100 PB pro analýzu
- patologický index značící přítomnost abnormálního klonu $> 4:1$ nebo $< 1:2$
- vyšetření KD pro stanovení CR, sCR nelze vynechat

The role of complete response in multiple myeloma. *Harousseau J-L et al. Blood 2009;114: 3139-3146.*

The importance of bone marrow examination in determining complete response to therapy in patients with multiple myeloma. *Chee Ch.E. et. al. Blood 2009;114: 2617-2618.*

International uniform response criteria for multiple myeloma. *Durie B.G.M. et al. Leukemia 2006, 1-7.*

Multiparametrická průtoková cytometrie

- absence fenotypizačně aberantních PB v KD
- minimální celkové množství 3000 analyzovaných Pb
- ≥ 4 znaky
- pouze aspirace, menší zátěž pro pacienta

Report of the European Myeloma Network on multiparametric flow cytometry in multiple myeloma and related disorders. *Rawstron A.C. et. al. Haematologica 2008; 93(3): 431-438.*

Multiparameter flow cytometric remission is the most relevant prognostic factor for multiple myeloma patients who undergo autologous stem cell transplantation. *Paiva B. et. al. Blood 2008;112: 4017-4023.*

sCR – možné limitace

Asenova S. et al.: n= 87

- 52 CR vs. 35 VGPR
- CR: 100% normální κ/λ index
- VGPR: 63% normální κ/λ index

Allen S. et. al.: n= 122, 2648 vzorků (v průběhu terapie)

- IFE pozit. (88%): 34% normální κ/λ index
- IFE negat.: 69% normální κ/λ index

→ nutnost dalších prospektivních studií k ověření dodatečného přínosu stanovení FLC k posouzení hloubky remise a rovněž i převahy sCR nad CR

Role of free light chain assay ratio to distinguish between CR according EBMT criteria or stringent complete remission (sCR) according IMWG in multiple myeloma patients. *Asenova S. et al. Blood 2009; 114: Abstract 1787.*

The relationship between serum free light chain levels and serum immunofixation electrophoresis: implication for the definition of stringent CR in myeloma. *Allen S. et al. Blood 2008; 112: Abstract 2724.*

The relationship between the serum free light chain assay and serum immunofixation electrophoresis, and the definition of concordant and discordant free light chain ratios. *Singhal S. et al. Blood 2009;114: 38-39.*

sCR – možné limitace

Přítomnost atypických mono/oligoklonálních proužků

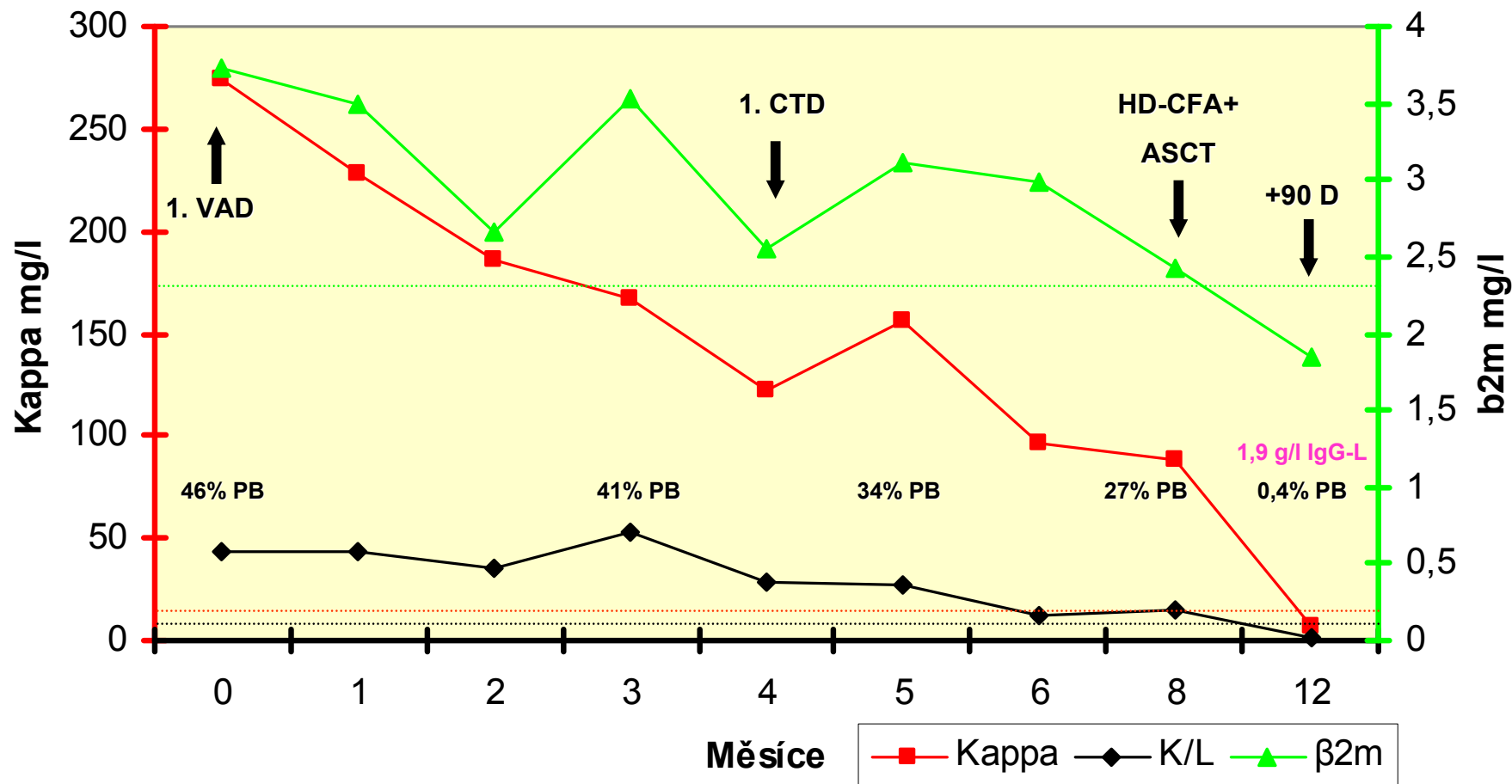
- ↑ při dosažení CR (ASCT, biologická terapie)
- transientní, restituce imunitní parézy
- nesignalizují incipientní progresi
- ↑ prognostický potenciál, často značí robustní remisi
- **až 72% abnormální index κ/λ**

Significance of abnormal protein bands in patients with multiple myeloma following autologous stem cell transplantation. *Hall S.L. et al. Clin Biochem Rev 2009; 30: 113 – 118.*

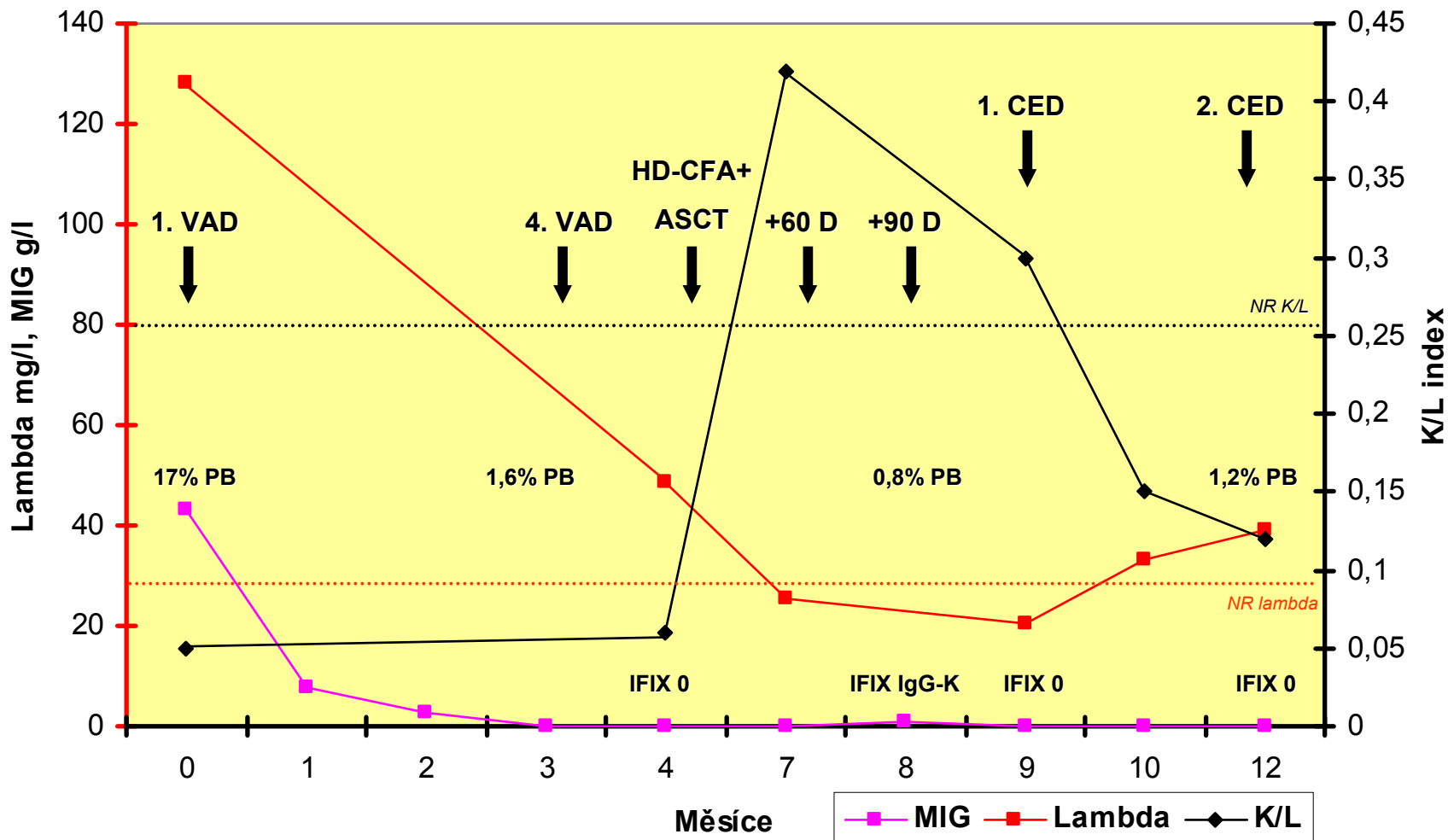
Atypical serum immunofixation patterns frequently emerge in immunomodulatory therapy and are associated with a high degree of response in multiple myeloma. *Mark T. et al. Brit J Haematol 2008; 143: 654-660.*

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. *de Larrea C.F. et al. Blood 2009;114: 4954-4956.*

B.D. 1948 – MM NSMM „kappa free“, IIIA, IPI II



F.P. 1944 – MM IgA-L, IIIB, IPI III, 4x VAD, ASCT, random. CED +IFN



sCR – možné limitace

~ 5% MM s intaktní M- komponentou vykazuje normální hladiny VLŘ i κ/λ indexu

→ stanovení sCR:

- pouze u nemocných s pozitivitou VLŘ a κ/λ indexu při dg.
- stejná metoda (Freelite, ...), stejná laboratoř ev. stejný přístroj
- nutnost opakovaného stanovení – IFIX, Freelite, zejména při přítomnosti mono/oligoklonálních proužků
- vyšetření KD dle zvyklostí pracoviště, nejlépe však multiparametrickou průtokovou cytometrií

sCR – možné perspektivy

System HevyLite

- stanovení koncentrací M-proteinu, založený na užití dvojice specifických protilátek proti junkčním epitopům mezi doménami těžkého a lehkého řetězce imunoglobulinu
- Stanovení koncentrací Ig- κ a Ig- λ , výpočet poměru Ig- κ /Ig- λ
- \uparrow citlivost než SPE, IFE



Děkuji za pozornost...