



X. Multiple Myeloma Workshop  
Mikulov, 14. dubna 2012



**Grant IGA MZ NS/10387-3/2009**

# **STANOVENÍ FLC JAKO POMOCNÉHO MARKERU V HODNOCENÍ PROGNÓZY A ODPOVĚDI NA LÉČBU U NEMOCNÝCH S MM A MGUS**

MAISNAR V.<sup>1</sup>, TICHÝ M.<sup>2</sup>, RADOCHA J.<sup>1</sup>, VÁVROVÁ J.<sup>2</sup>, ZAHRADOVÁ L.<sup>3</sup>,  
HOLEČKOVÁ M.<sup>2</sup>, HÁJEK R.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>II. INTERNÍ KLINIKA – ODD. KLINICKÉ HEMATOLOGIE, LF UK A FN HK

<sup>2</sup>ÚSTAV KLINICKÉ BIOCHEMIE A DIAGNOSTIKY, LF UK A FN HK

<sup>3</sup>INTERNÍ HEMATOONKOLOG. KLINIKA, LF MU A FN BRNO - BOHUNICE

# **Grant IGA MZ NS/10387-3/2009**

**celkové prostředky: 3.982 tis. Kč**

**doba trvání: 3 roky, zahájen 1. 9. 2009**

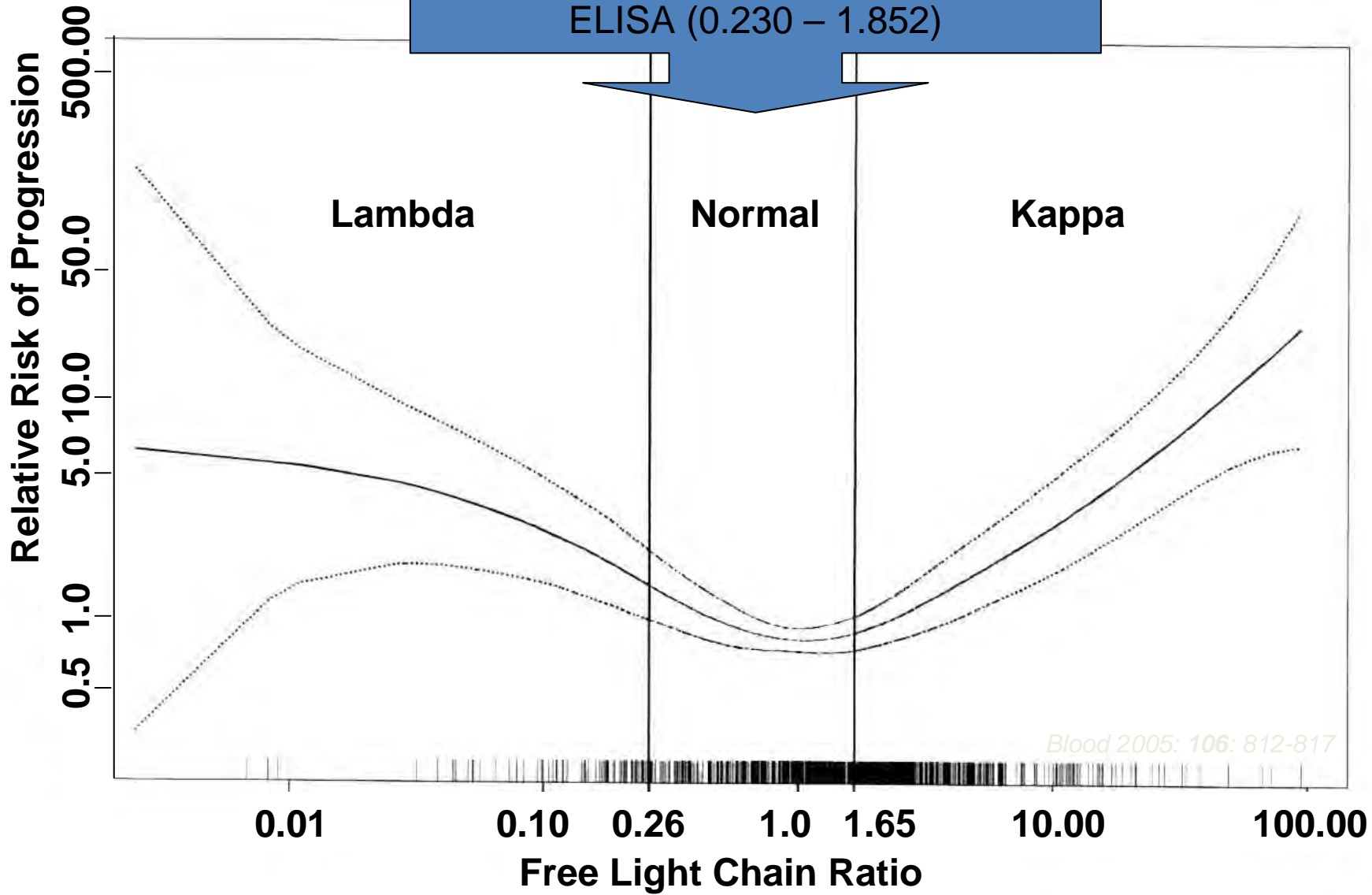
- Ověření nové metody stanovení FLC
- Využití FLC pro časnou predikci rezistence na drahé léky
- Analýza přínosu FLC u nemocných s MGUS
- Stanovení FLC jako markeru sCR u MM

# Význam stanovení FLC

- **nová doporučení IMWG** = FLC je nově doporučovaným vyšetřením v rámci dg. i sledování léčebné odpovědi u MG
- **Cíl**: ověřit přínos stanovení FLC v rámci určení prognózy a sledování aktivity MGUS a mnohočetného myelomu
- Přináší použití různých metod stanovení (**FreeLite** a **ELISA**) významné difference v jejich diagnostické účinnosti ?

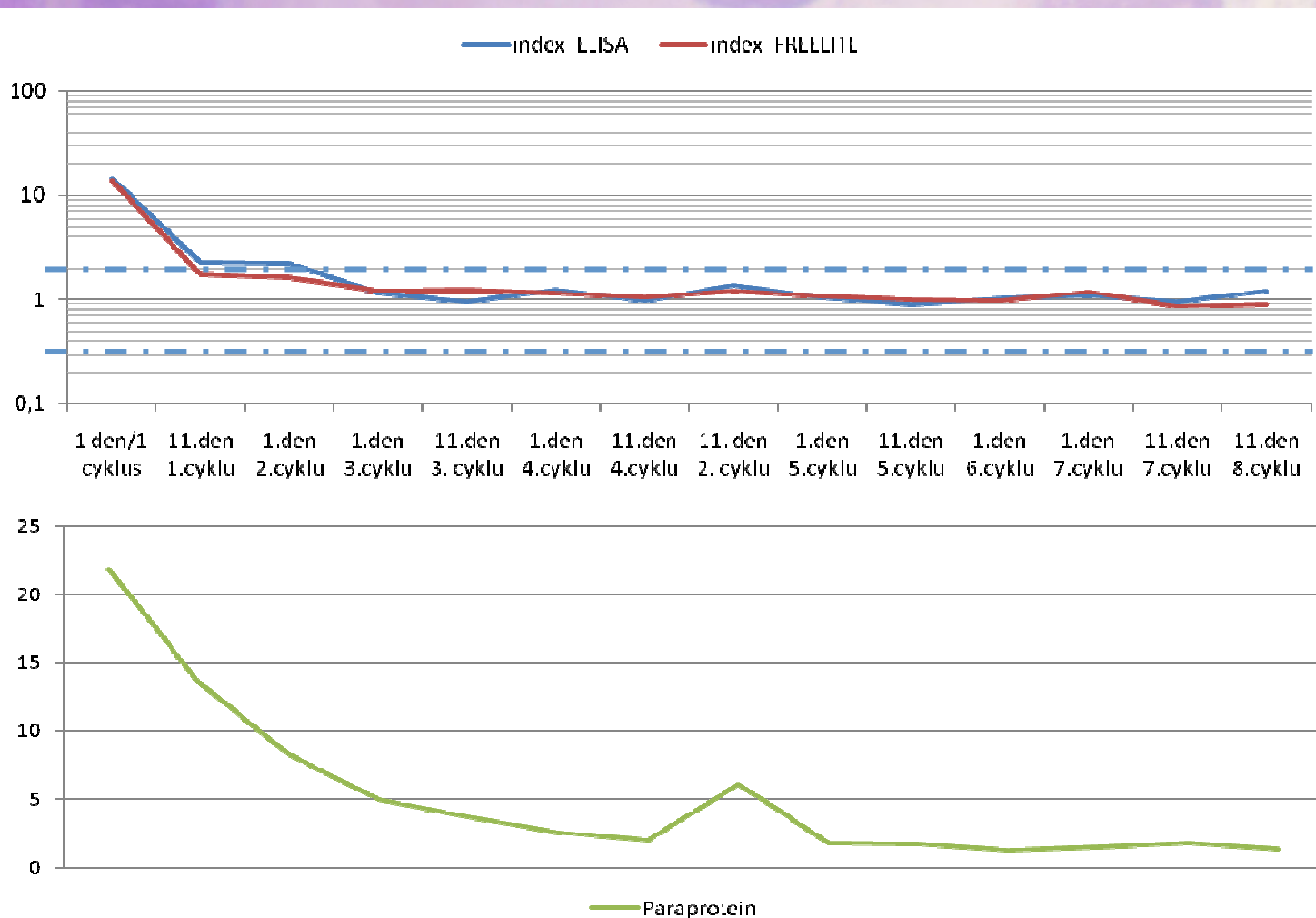
# Současné možnosti stanovení FLC

- Prakticky veškerá doporučení pro diagnostické a terapeutické využití FLC jsou založena na použití jediné diagnostické soupravy FreeLite firmy The Binding Site Ltd., UK (Drayson a Bradwell, 2001)
- Na ÚKBD FN HK proběhlo testování nově vyvinuté ELISA soupravy firmy BioVendor Inc. k stanovení FLC
  - již v roce 2003 publikoval kolektiv japonských autorů práci zabývající se metodou stanovení FLC v séru založenou na principu ELISA  
**Nakano, T., Nagata, A.** ELISA for free light chains of human immunoglobulin using monoclonal antibodies: improvementcomparison of their specificity with available polyclonal antibodies. *J Immunol Methods* 2003; 275: 9-17.



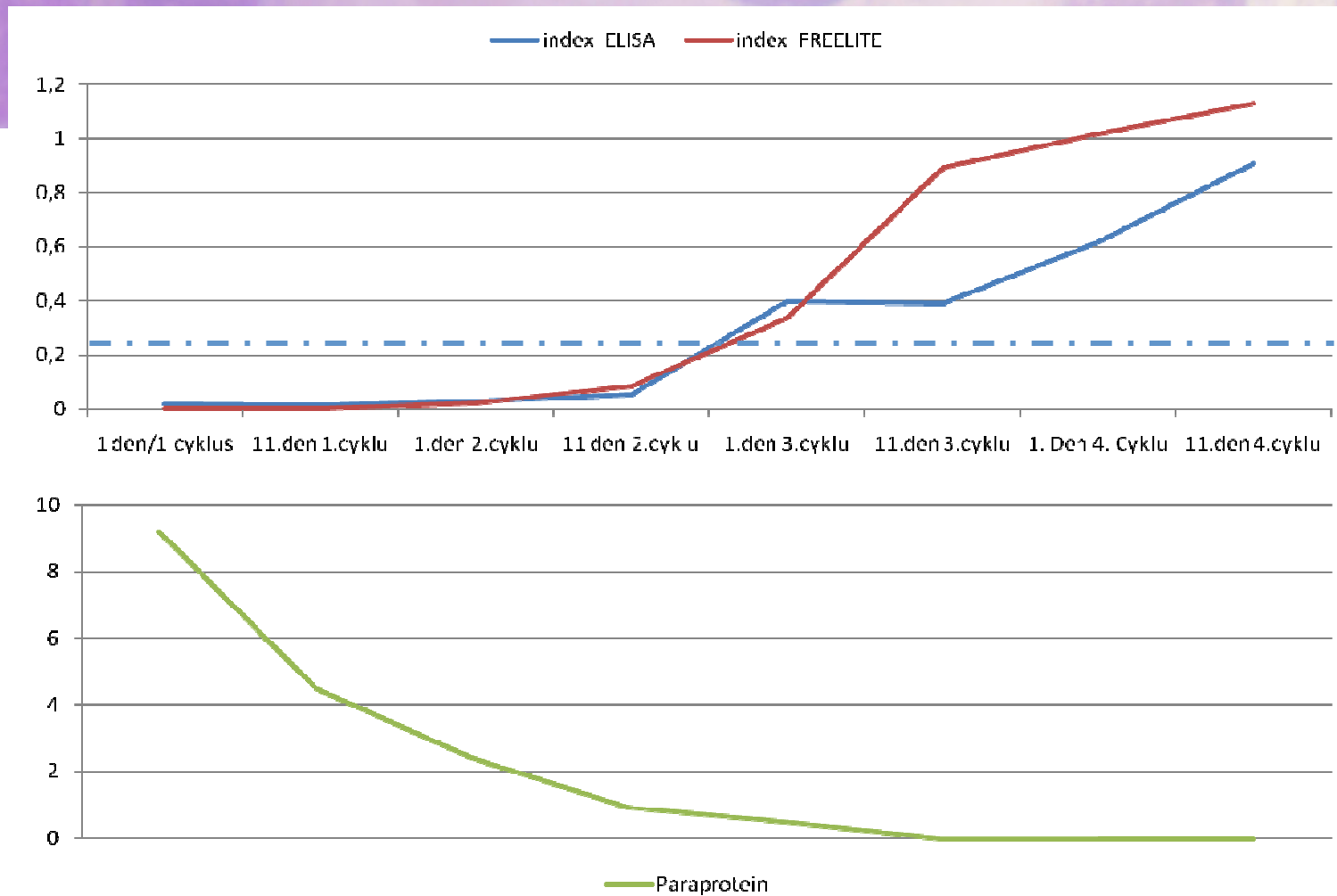
index kappa/lambda - základ pro interpretaci

# Nemocná D.S., \*1948, PP IgG-kappa



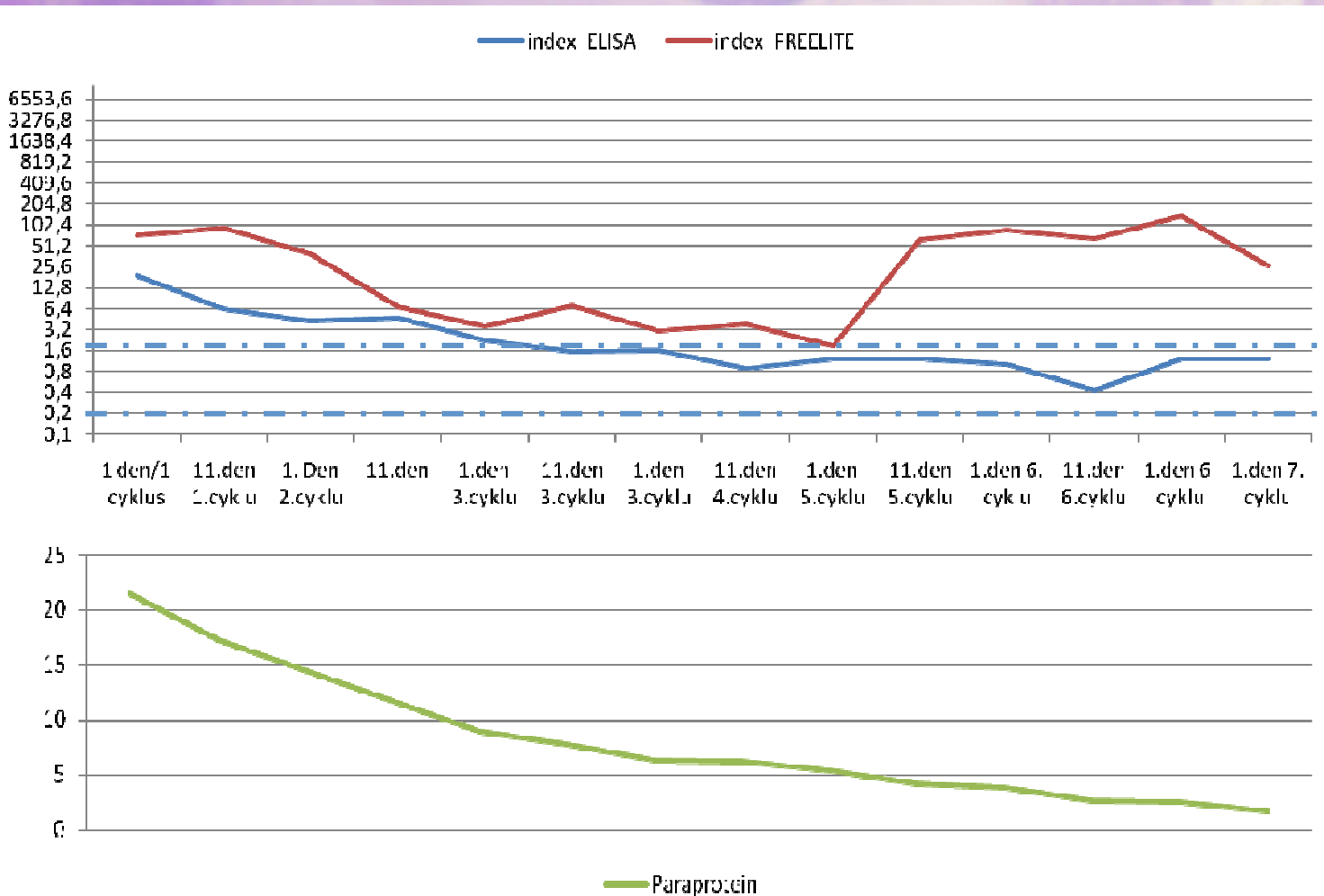
8 cyklů VELCADE/Dexa s dosažením VGPR, časná progrese po 6M

# Nemocný L.M., \*1956, PP lambda-free



4 cykly VELCADE/Dexa s dosažením CR  $\Rightarrow$  autoTx, progrese po 9M

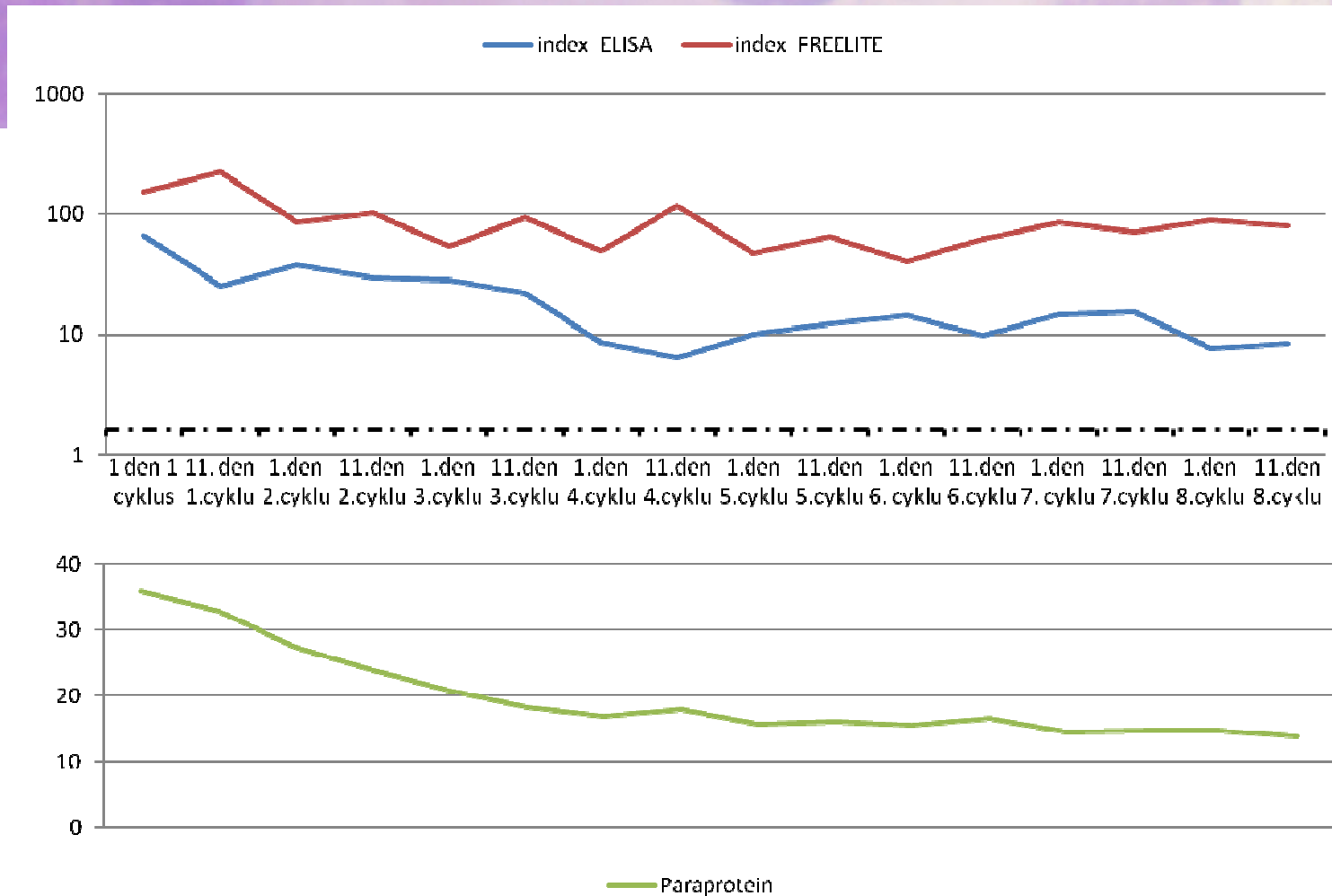
# Nemocná J.E., \*1929, PP IgG-kappa



6 cyklů VELCADE/Dexa s dosažením VGPR, po 4M † bez progresu



# Nemocný M.C., \*1942, PP IgG-kappa



8 cyklů VELCADE/Dexa s dosažením PR, časná progrese po 6M

# ZÁVĚRY:

## Ověření metod stanovení FLC

- nutná pečlivá **příprava vzorků v laboratoři**
  - zejména problémy s optimalizací ředění vzorků, standardizací metod stanovení a používáním různých technologií
  - **provedena standardizace stanovení FLC v ČR**
  - **vyšetření bylo nově od roku 2010 zařazeno do SEKK !**
- různé metody stanovení, případně i stejné metody, ale prováděné na různých platformách nemusí poskytovat stejné závěry při sledování léčby
  - **použité metody FreeLite i ELISA jsou srovnatelné**
  - **neměnit zvolenou metodu v průběhu sledování pacienta !**

# ZÁVĚRY:

## Využití FLC pro monitoring léčby

- **základním vyšetřením** pro sledování aktivity MM dnes nadále zůstává **EFB a imunofixace séra**
- **výpovědní hodnota FLC nemá přidanou hodnotu !**  
**x přitom cena vyšetření je výrazně vyšší**
- **interpretace výsledků** vyžaduje zkušenost oš. lékaře
- **FLC = doplňková metoda** doporučená guidelines IMWG
  - vhodné využití v situaci, kdy nelze použít standardní postup
    - ⇒ pro **sledování aktivity oligo- a nesecernující formy MM**
  - vhodnější než použití indexu je **koncentrace příslušného FLC**

# Prognostická klasifikace MGUS

**Definice MGUS** ( $\Rightarrow$  vždy předchází MM, Landgren, 2009)

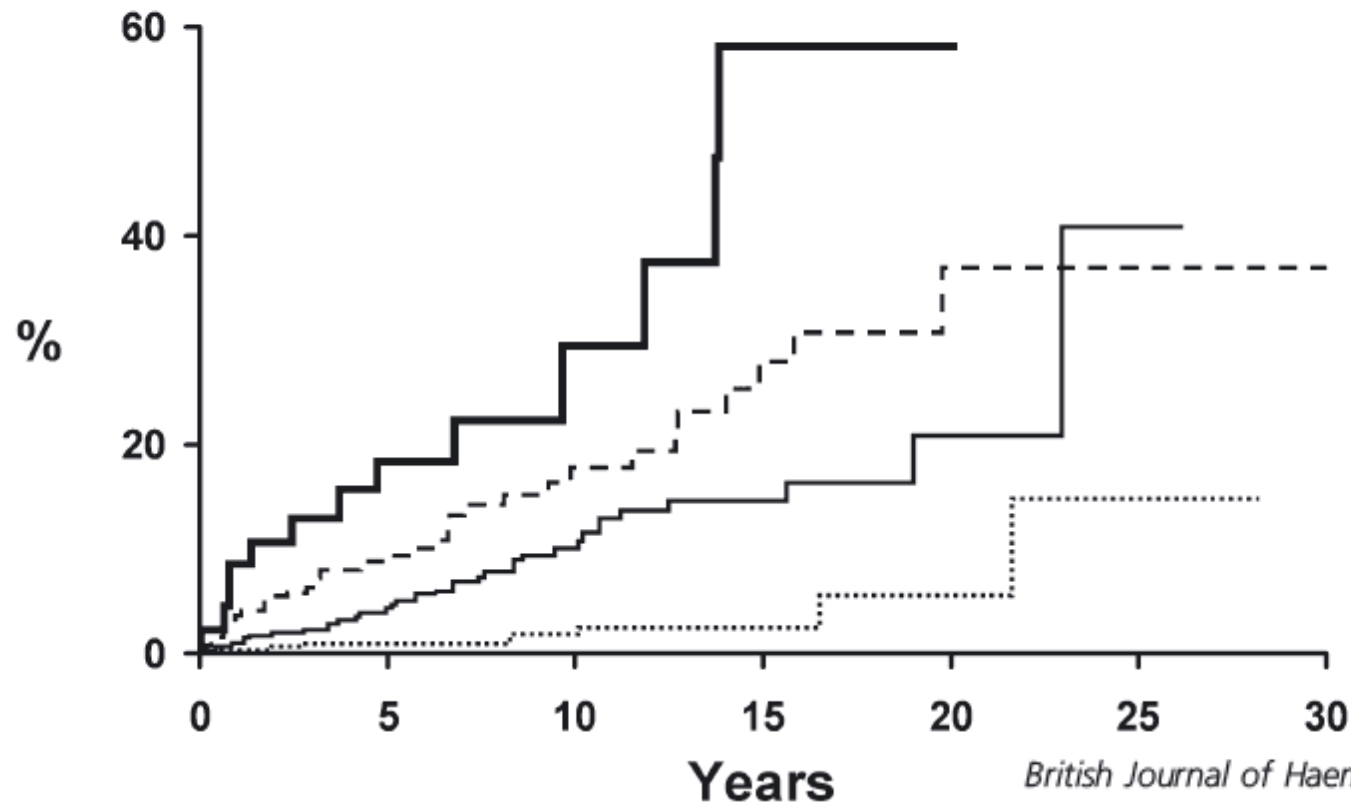
- v roce 2006 představena nová Mayo stratifikace MGUS

<b>Low-risk</b>	PP <15 g/l, IgG a FLC v normě
<b>Low-intermediate-risk</b>	1 podmínka nesplněna
<b>High-intermediate-risk</b>	2 podmínky nesplněny
<b>High-risk</b>	nesplněna žádná podmínka

$\Rightarrow$  postupný **nárůst rizika** přechodu do obrazu maligní MG  
(do 20 let 5 % low-risk x 58 % high-risk)

# Prognostická klasifikace MGUS

- All 3 factors abnormal
- - - Any 2 factors abnormal
- Any 1 factor abnormal
- ..... Serum M-spike <1.5 gm/dl, IgG subtype and normal FLC ratio



# Aktuální stav RMG k 24. 11. 2011

## RMG - Registry of Monoclonal Gammopathies

 Clinic	Number of patients		 Centre	Number of patients	
	MM	MGUS		MM	MGUS
FN Brno - IHOK Brno	683	308	FN Banská Bystrica - Hematologie Banská Bystrica	0	0
ČB - OKH České Budějovice	18	11	FN Bratislava - Klinika hematologie Bratislava	207	65
Havířov - Hematologické odd. Havířov - město	34	39	FNLP Košice - Klinika hematologie Košice	85	10
FNHK - OKH Hradec Králové	231	151	FN Martin - Klinika hematologie Martin	0	0
Kyjov - Transfuzní odd. Kyjov	0	0	FN Prešov - OKH Prešov	0	0
KN Liberec - OKH Liberec	69	87			
Mladá Boleslav - HTD Mladá Boleslav	17	50			
Nový Jičín - Onkologické centrum, HO Nový Jičín	31	16			
FN Olomouc - III. interní klinika Olomouc	273	180			
Opava - Hematologické odd. Opava	27	48			
FN Ostrava - UKH Ostrava-Poruba	37	27			
Pelhřimov - QHT Pelhřimov	23	76			
FN Pízeň - HOK Pízeň	0	0			
VFN Praha - I. Interní klinika Praha	315	234			
FNKV Praha - OKH Praha 10	275	135			
FTN - OKH Praha 4	0	37			

**ČR: 2033 MM a 1399 MGUS**

**SR: 292 MM a 75 MGUS**

**celkový stav k 24. 11. 2011:  
2325 MM a 1474 MGUS**

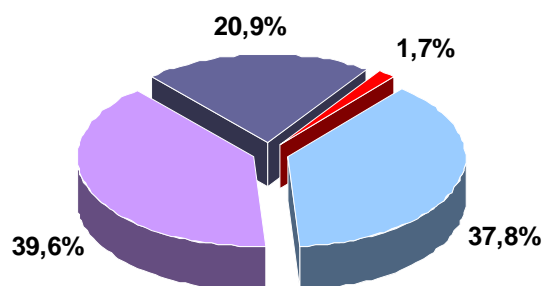
**= 3799 nemocných s MG !**

# Soubor 1439 MGUS pacientů z RMG

<b>Pohlaví</b>	n=1439	
Muži	659 (45.8%)	659
Ženy	780 (54.2%)	780
<b>Věk (při stanovení diagnózy)</b>	n=1431	
<40	71 (5.0%)	71
40-49	140 (9.8%)	140
50-59	382 (26.7%)	382
60-69	424 (29.6%)	424
>69	414 (28.9%)	414
<b>Typ paraproteinu</b>	n=1417	
IgG	996 (70.3%)	996
IgM	193 (13.6%)	193
IgA	169 (11.9%)	169
IgD	1 (0.1%)	1
IgE	1 (0.1%)	1
biklonální	44 (3.1%)	44
nesekreční	3 (0.2%)	3
LC	10 (0.7%)	10
<b>Rizikové skupiny</b>	n=823	
nízké riziko	311 (37.8%)	311
nízké-střední riziko	326 (39.6%)	326
vysoké-střední riziko	172 (20.9%)	172
vysoké riziko	14 (1.7%)	14
<b>FLC test</b>	n=1439	
měřeno	842 (58.5%)	842
neměřeno	597 (41.5%)	597

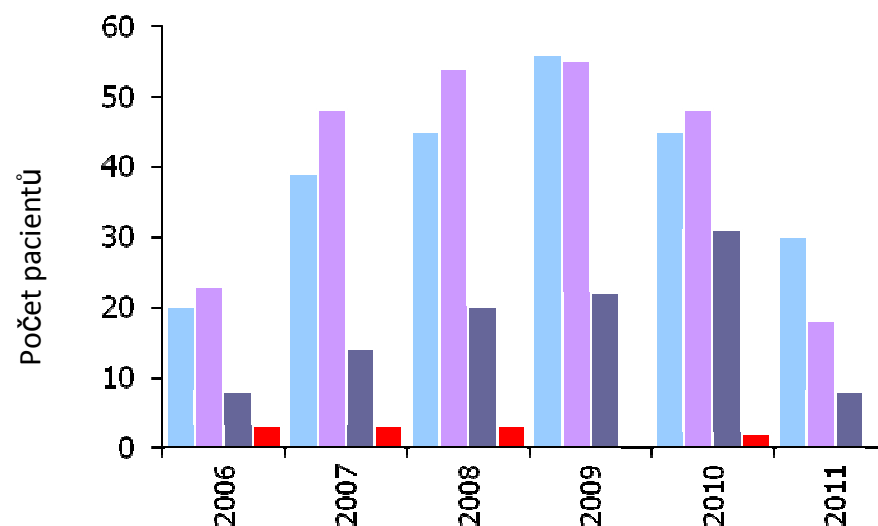
# Stratifikace souboru dle rizika

Rizikové skupiny  
(n=823)



- nízké riziko (n=311)
- nízké-střední riziko (n=326)
- vysoké-střední riziko (n=172)
- vysoké riziko (n=14)

Rizikové skupiny  
podle roku stanovení diagnózy



	2006	2007	2008	2009	2010	2011
<b>Celkem</b>	n=54	n=104	n=122	n=133	n=126	n=56
nízké riziko	20 (37.0%)	39 (37.5%)	45 (36.9%)	56 (42.1%)	45 (35.7%)	30 (53.6%)
nízké-střední riziko	23 (42.6%)	48 (46.2%)	54 (44.3%)	55 (41.4%)	48 (38.1%)	18 (32.1%)
vysoké-střední riziko	8 (14.8%)	14 (13.5%)	20 (16.4%)	22 (16.5%)	31 (24.6%)	8 (14.3%)
vysoké riziko	3 (5.6%)	3 (2.9%)	3 (2.5%)	0 (0.0%)	2 (1.6%)	0 (0.0%)

Rizikové faktory: koncentrace M-Ig >15g/l; typ paraproteinu - jiný než IgG; abnormální FLC index (<0.26 nebo >1.65)



# Progrese MGUS do malignity

n (%)	progrese do nádoru	bez progrese
<b>Celkem</b> (n=1356)	n=96	n=1260
<b>Pohlaví</b>		
muži (n=617)	48 (50.0%)	569 (45.2%)
ženy (n=739)	48 (50.0%)	691 (54.8%)
<b>Věk</b> (při stanovení dg.)		
<40	5 (5.3%)	63 (5.0%)
40-49	9 (9.5%)	124 (9.9%)
50-59	31 (32.6%)	328 (26.1%)
60-69	22 (23.2%)	385 (30.6%)
>69	28 (29.5%)	357 (28.4%)

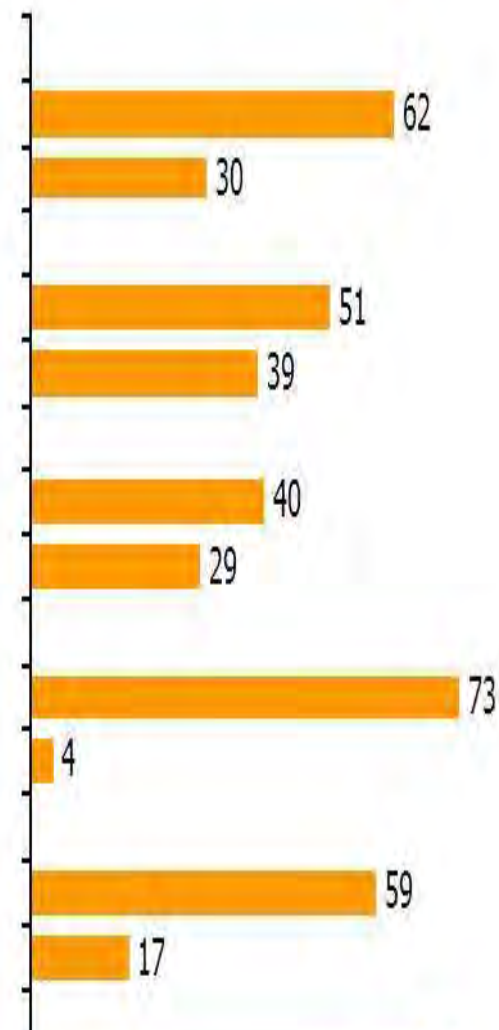
# Progrese MGUS do malignity

Typ paraproteinů		
IgG (n=941)	62 (67.4%)	879 (70.5%)
IgM (n=185)	10 (10.9%)	175 (14.0%)
IgA (n=154)	18 (19.6%)	136 (10.9%)
IgD (n=1)	0 (0.0%)	1 (0.1%)
IgE (n=1)	0 (0.0%)	1 (0.1%)
biklonální (n=44)	2 (2.2%)	42 (3.4%)
nesekreční (n=3)	0 (0.0%)	3 (0.2%)
LC (n=9)	0 (0.0%)	9 (0.7%)

Typ malignity	n=96
MM	72 (75.0%)
WM	10 (10.4%)
lymfom	5 (5.2%)
AL amyloidosa	2 (2.1%)
jiný	7 (7.3%)

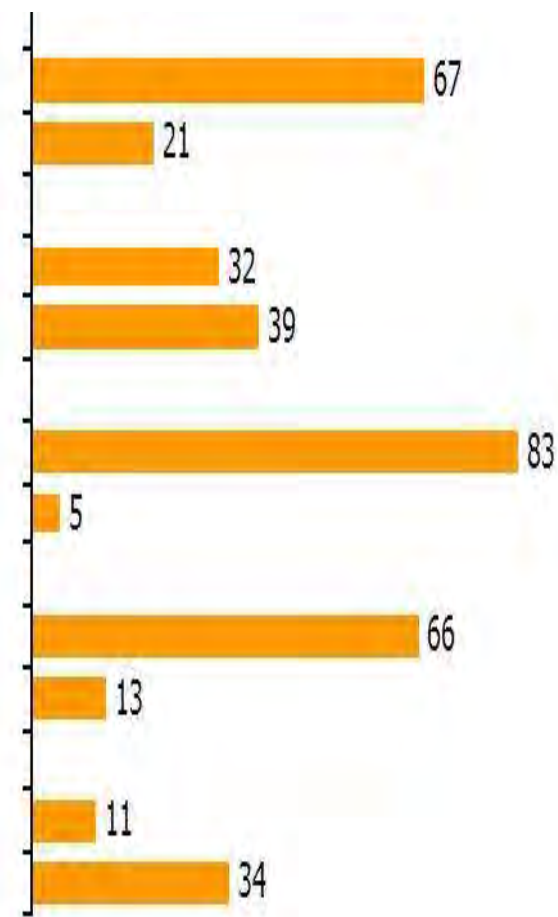
# Progrese MGUS do malignity

n (%)	progrese do nádoru	bez progrese	p
Celkem (n=1356)	n=96	n=1260	
Typ paraproteinu			
normální	62 (67.4%)	879 (70.5%)	0.523
abnormální (non-IgG)	30 (32.6%)	367 (29.5%)	
<b>M-Ig v séru</b>			
normální	51 (56.7%)	1088 (87.8%)	<b>&lt;0.001</b>
abnormální (>15 g/l)	39 (43.3%)	151 (12.2%)	
<b>Infiltrace dřeně plazmocyty</b>			
normální	40 (58.0%)	701 (87.4%)	<b>&lt;0.001</b>
abnormální (>5 %)	29 (42.0%)	101 (12.6%)	
Albumin			
normální	73 (94.8%)	1104 (95.7%)	0.721
abnormální (<35 g/l)	4 (5.2%)	50 (4.3%)	
Beta <sub>2</sub> -mikroglobulin			
normální	59 (77.6%)	886 (81.9%)	0.355
abnormální (>3 mg/l)	17 (22.4%)	196 (18.1%)	



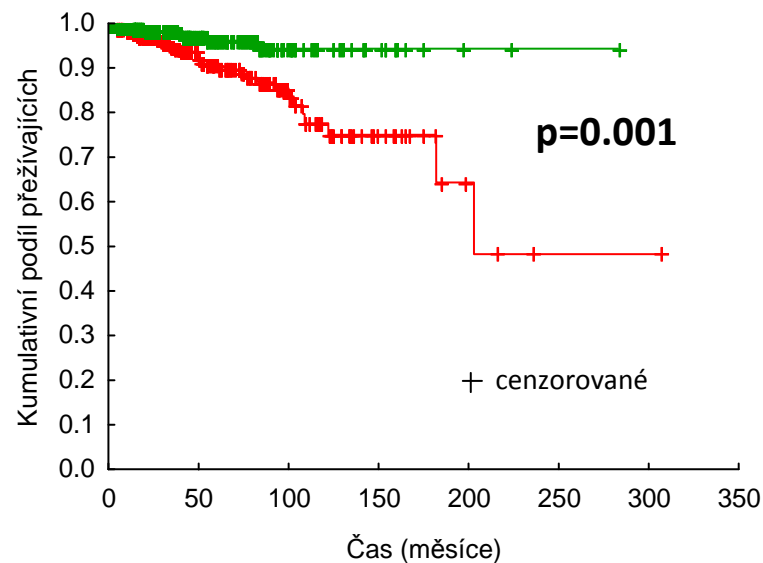
# Progrese MGUS do malignity

<b>Hemoglobin</b>			
normální	67 (76.1%)	1070 (85.7%)	<b>0.014</b>
abnormální ( $<120$ g/l)	21 (23.9%)	178 (14.3%)	
<b>LDH</b>			
normální	32 (45.1%)	660 (58.9%)	<b>0.022</b>
abnormální ( $>3.75$ $\mu$ kat/l)	39 (54.9%)	460 (41.1%)	
Trombocyty			
normální	83 (94.3%)	1158 (92.9%)	0.623
abnormální ( $<150 \times 10^9/l$ )	5 (5.7%)	88 (7.1%)	
Kreatinin			
normální	66 (83.5%)	1075 (88.0%)	0.237
abnormální ( $>115$ $\mu$ mol/l)	13 (16.5%)	146 (12.0%)	
<b>FLC index</b>			
normální	11 (24.4%)	428 (57.3%)	<b>&lt;0.001</b>
abnormální ( $<0.26$ nebo $>1.65$ )	34 (75.6%)	319 (42.7%)	



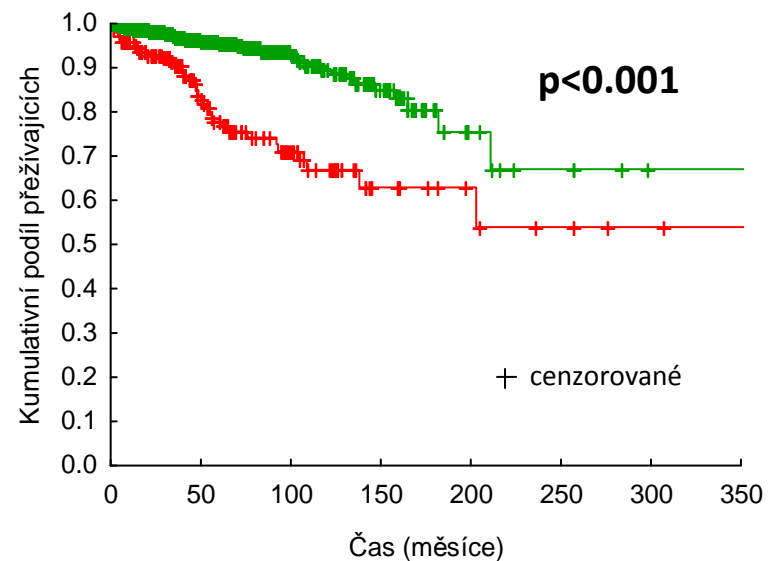
# Analýza doby do progresu

FLC index (n=792)



■ Normální  
■ Abnormální (<0.26 nebo >1.65)

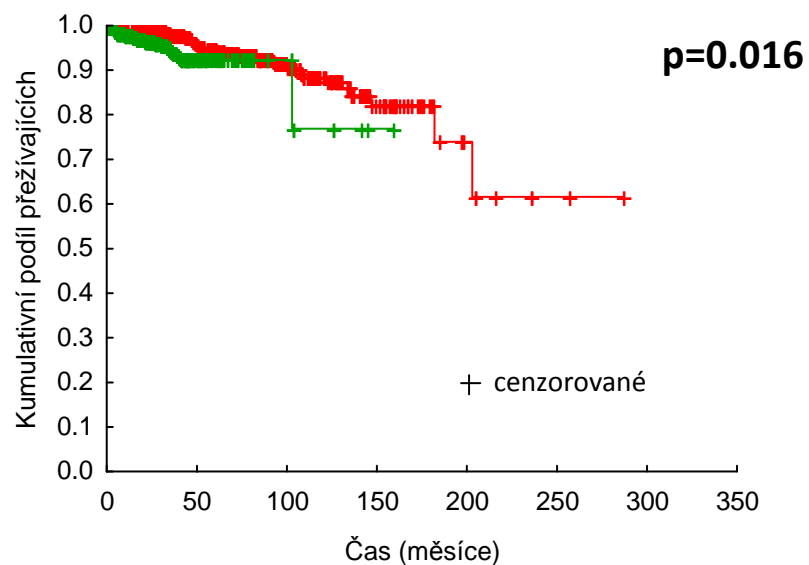
M-Ig v séru (n=1328)



■ Normální  
■ Abnormální (>15 g/l)

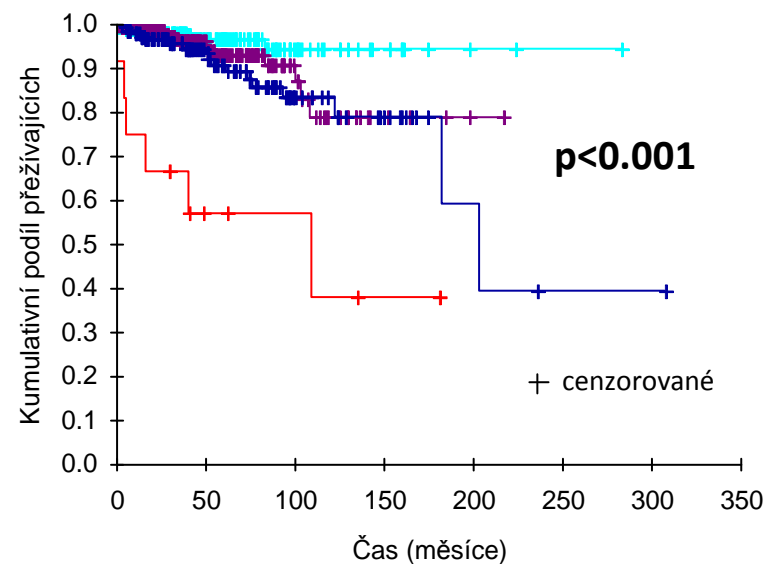
# Analýza doby do progresu

LDH ( $\mu\text{kat/l}$ ) (n=1190)



- Normální
- Abnormální (>3.75  $\mu\text{kat/l}$ )

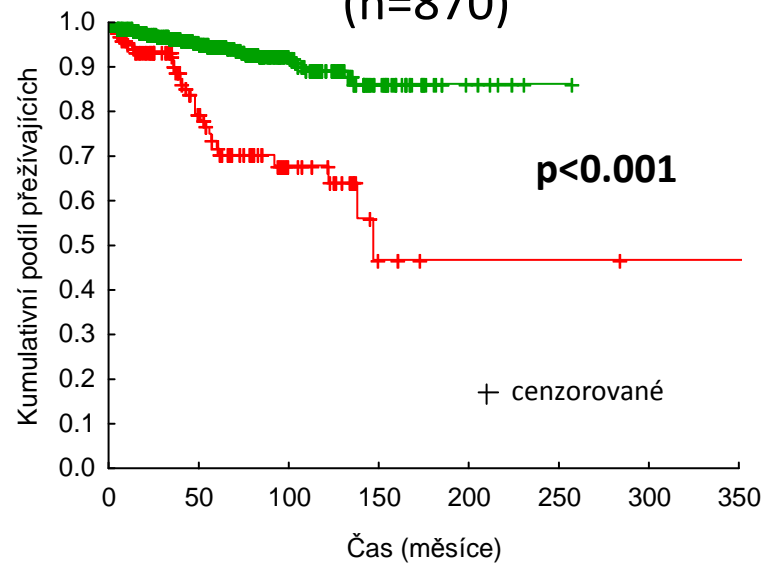
Rizikové skóre (n=775)



- nízké riziko (n=311)
- nízké-střední riziko (n=326)
- vysoké-střední riziko (n=172)
- vysoké riziko (n=14)

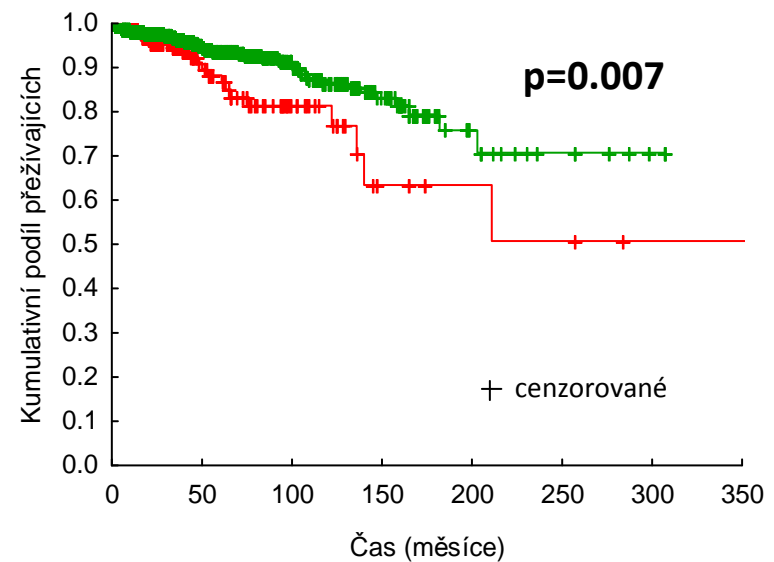
# Analýza doby do progresu

Infiltrace dřeně plazmocyty [%]  
(n=870)



■ Normální  
■ Abnormální (>5 %)

Hemoglobin [g/l] (n=1335)



■ Normální  
■ Abnormální (<120 g/l)

# ZÁVĚRY:

## Analýza přínosu FLC u MGUS

- na našem souboru nemocných z RMG jsme **potvrdili prognostický význam:**
  - nově zavedené „**Mayo clinic**“ **stratifikace**
    - index FLC v séru
    - kvantita a typ M-Ig
  - + **počet plazmocytů** v kostní dřeni (>5 %)
  - + **koncentrace LDH** v séru (>3.75  $\mu$ kat/l)
  - + **koncentrace hemoglobinu** (<120 g/l)
- do budoucna **plánujeme přípravu vlastního prognostického systému** s využitím uvedených faktorů
  - databáze RMG patří mezi 10 největších na světě !



# Index FLC = marker „stringent“ CR

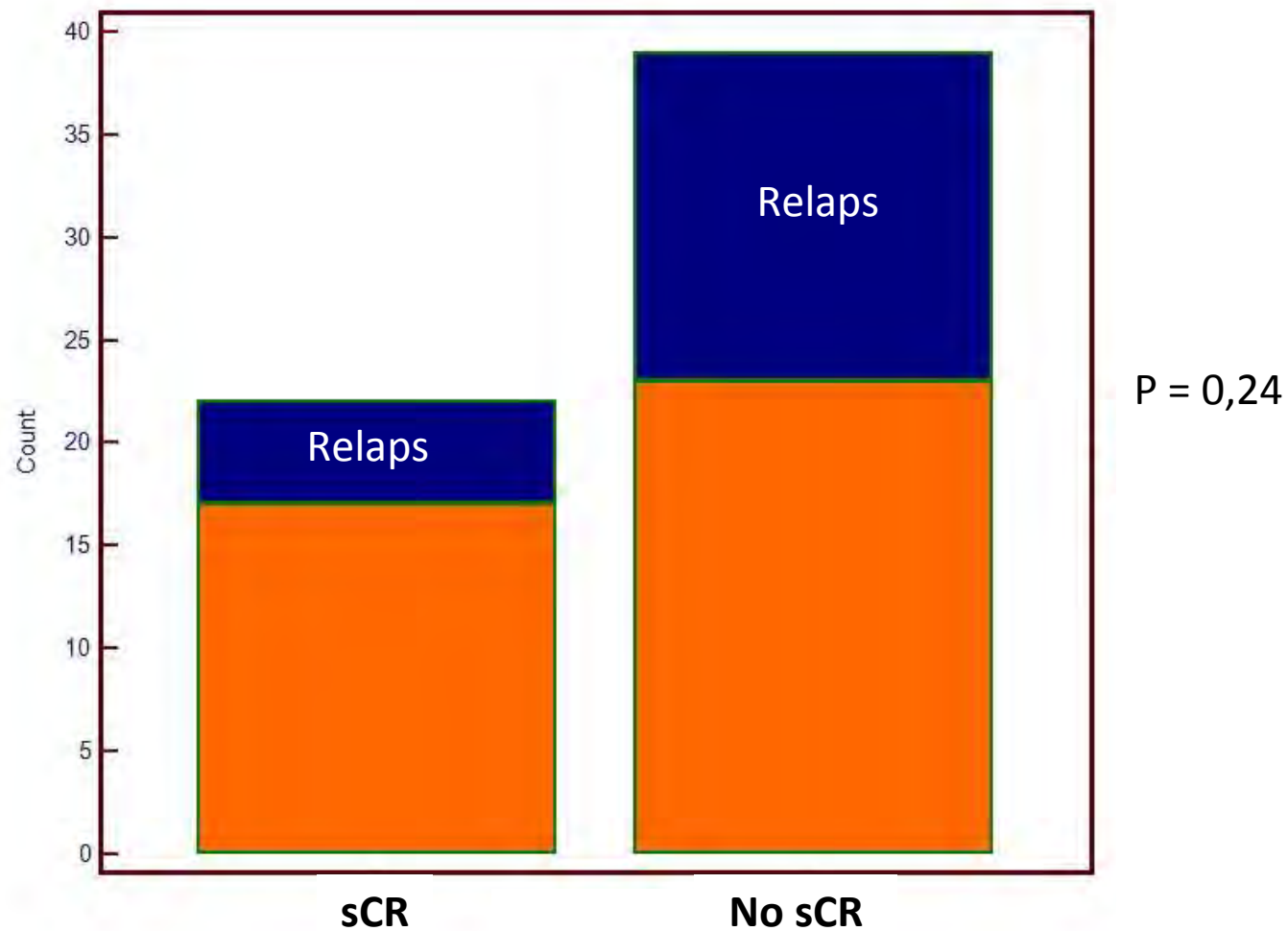
- výsledky léčby mnohočetného myelomu se v posledních 10 letech významně zlepšily
  - díky novým lékům stoupá podíl CR i dlouhodobé přežití
- **„stringent“ kompletní remise je definována jako absence klonálních plazmocytů v kostní dřeni + normální FLC index v séru**
- **PŘEDČASNÉ NADŠENÍ ?** nově se objevují práce zpochybňující význam normalizace indexu FLC z hlediska délky trvání léčebné odpovědi
  - např. GAIRIN M. CLINICAL CHEMISTRY 2009; 55: 1510–1516
  - naším cílem tedy bylo **ověření významu na vlastním souboru**

# Hodnocený soubor nemocných

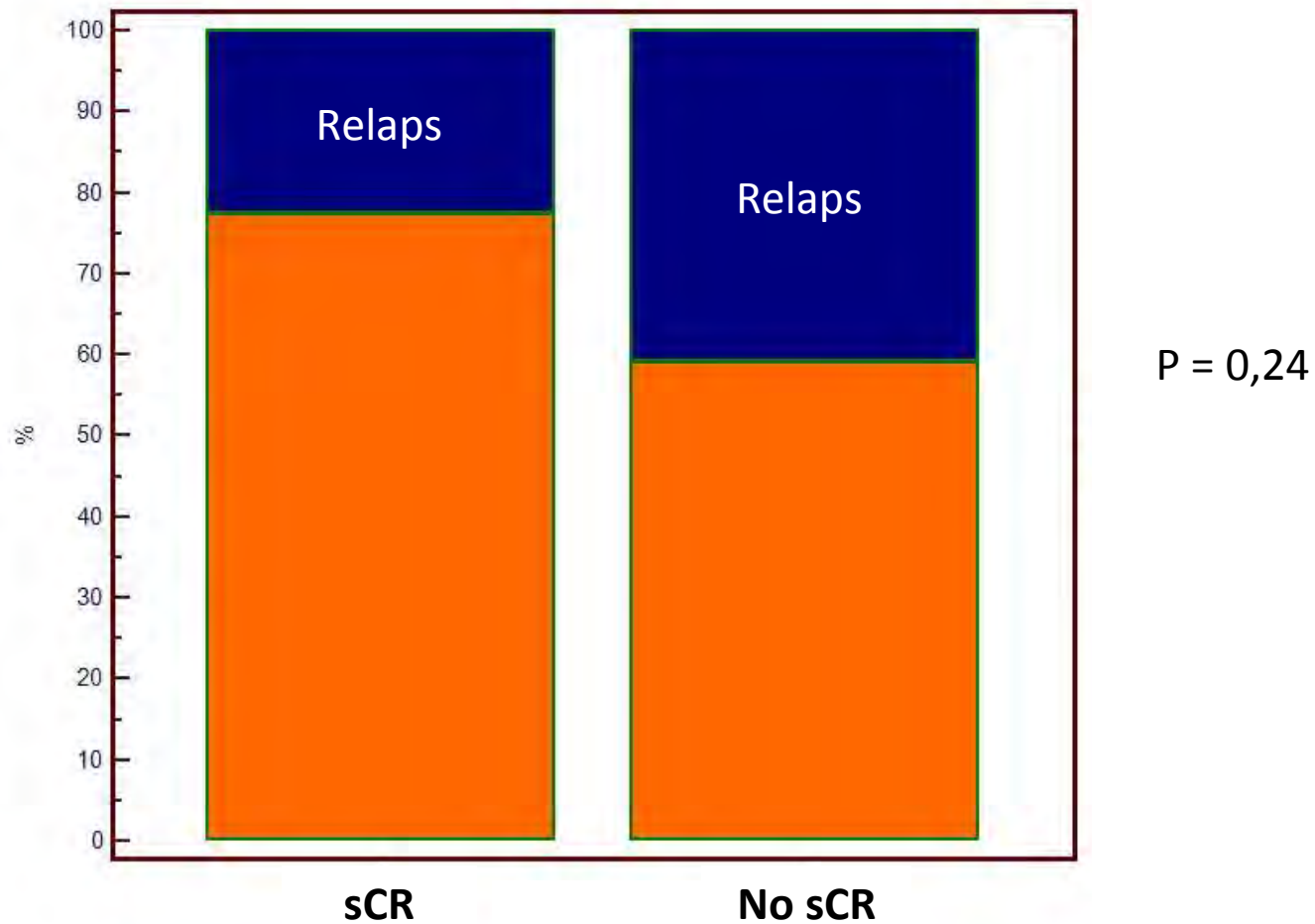
- pacienti s MM, u nich bylo léčbou dosaženo kompletní remise a měli stanovený FLC index
  - celkem 61 nemocných z FN HK a FN Brno-Bohunice

<b>N</b>	61 pacientů
<b>Věk</b>	35-83 (med 64)
<b>Pohlaví</b>	
Muži	26 (42 %)
Ženy	35 (58 %)
<b>FLCr</b>	
Normální	22 (36 %)
Abnormální	39 (64 %)
<b>Follow-up (měsíce)</b>	3,6-391 (med 81)

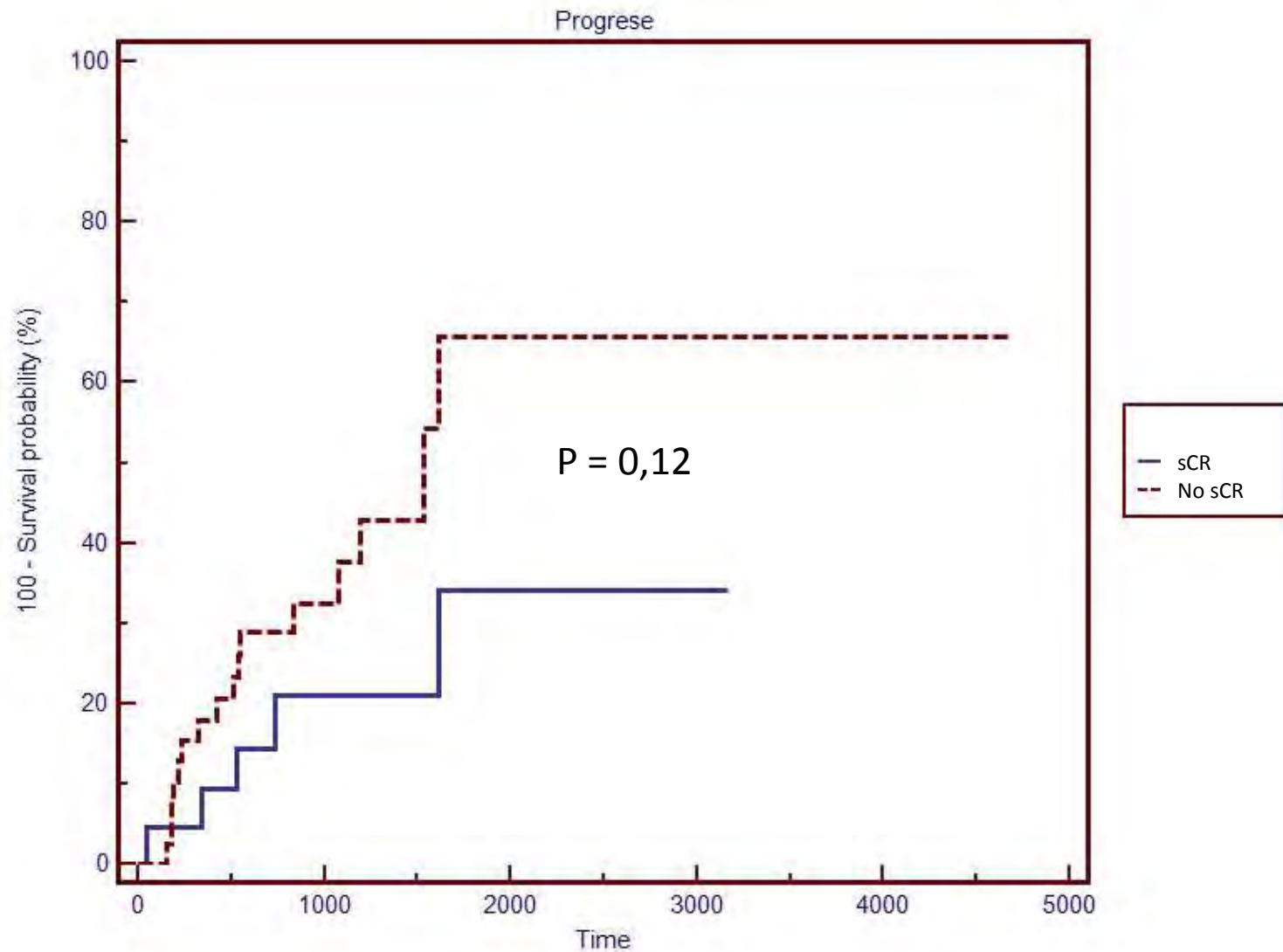
# Četnost relapsů MM (n)



# Četnost relapsů MM (%)



# Kumulativní incidence relapsů



# ZÁVĚRY:

## Ověření rFLC jako markeru sCR

- **index FLC** jako marker hloubky remise onemocnění v našem souboru jeví pouze trend k delšímu trvání remise
  - důvodem může být zatím malý soubor nemocných, který plánujeme dále rozšiřovat
- do budoucna chceme **zdokonalením imunofenotypizační techniky** využívat hodnocení sCR i v HK
- pro sledování léčebné odpovědi chceme nově využít i **metodu Hevylite<sup>®</sup>**
- se zlepšováním léčebných výsledků MM je snaha najít vhodnou metodu pro stanovení **molekulární remise**

# Děkuji za pozornost !

Poděkování všem mým spolupracovníkům, ať už v rámci vlastního pracoviště, tak i center CMG.

= jmenovitě prof. Tichému, ing. Vávrové a prof. Hájkovi

- výsledky opakovaně prezentovány na domácích i zahraničních akcích (EHA, MM workshop, OHD, setkání CMG)
- pravidelné podzimní konference MG v Hradci Králové
- 10 publikací v domácích a 3 v časopisech s impact faktorem
- vydána kniha Monoklonální imunoglobuliny, ve které jsou použity výsledky grantu, z kterého byla čerpána podpora