

Problematika stanovení monoklonálního imunoglobulinu u nemocných s AL amyloidózou

Pika T.¹, Lochman P.², Látalová P.³, Minařík J.¹, Puščíznová P.¹, Bačovský J.¹, Ščudla V.¹

¹Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

²Oddělení klinické biochemie, FN Olomouc

³Ústav klinické a molekulární patologie, LF UP Olomouc

SOUHRN

Úvod: AL amyloidóza je vzácné onemocnění patřící do skupiny monoklonálních gamapatií, přičemž podkladem choroby je depozice fibril tvořených molekulami monoklonálních lehkých řetězců imunoglobulinů ve formě amyloidu – amorfního bílkovinného materiálu. Detekce a kvantifikace monoklonálního imunoglobulinu (MIg), resp. lehkých řetězců imunoglobulinu představuje stěžejní aspekt v diagnostice a sledování nemocných s AL amyloidózou.

Cíl: Náplní předloženého sdělení jsou vlastní zkušenosti se stanovením MIg u pacientů s AL amyloidózou.

Soubor a metody: Soubor zahrnoval 27 nemocných se systémovou AL amyloidózou. U všech nemocných byla provedena detekce a kvantifikace monoklonálního imunoglobulinu v séru a v moči užitím elektroforézy a imunofixace, hladiny volných lehkých řetězců byly stanovovány systémem FreeLite™. U 13 nemocných bylo provedeno stanovení párů těžkých/lehkých řetězců (HLC) imunoglobulinu v séru systémem HevyLite™.

Výsledky: Elektroforetické a imunofixační vyšetření séra prokázalo přítomnost molekul MIg u 17/27 (63 %) nemocných, medián koncentrací byl 3,8 g/l (0,3 – 14,2 g/l). Typičtě se jednalo v pěti případech o kompletní molekuly izotypu IgG (1x IgG-κ, 4x IgG-λ), ve čtyřech případech IgA-λ a v jednom případě IgD-λ. U sedmi nemocných byla v séru zjištěna přítomnost pouze lehkých řetězců λ. Při analýze moči byla exkrece Bence - Jonesovy bílkoviny zjištěna u 15 (56 %) nemocných, ve všech případech v kvantitě nad 200 mg/24 hodin, přičemž u tří nemocných byla navíc prokázána přítomnost kompletních molekul MIg v moči (1x IgA-λ, 2x IgG-λ). Analýza sérových hladin volných lehkých řetězců prokázala u všech nemocných abnormální hodnoty s mediánem 310 mg/l (53,6 – 1562 mg/l), patologie indexu κ/λ byla zjištěna u 25 nemocných (92,5 %). Analýza hladin HLC byla provedena u 13 nemocných. V případě IgA izotypu byla zjištěna patologie hladin IgA-λ HLC spolu se změnou HLC indexu u 3/4 nemocných. V případě IgG izotypu byla zjištěna patologie hladin IgG-λ HLC i indexu u 2/2 nemocných. V případě λ a imunofixačně negativních sér nebyla zjištěna elevace HLC hladin v jednotlivých izotypech. Naopak u 5/7 nemocných byla zjištěna suprese hladin HLC IgG-κ spolu se změnou HLC indexu. Ve třídách IgA a IgM suprese izotypových párů zjištěna nebyla.

Závěr: Detekce, kvantifikace a komplexní analýza monoklonálního imunoglobulinu patří mezi stěžejní aspekty péče o nemocné s AL amyloidózou. Kombinace standardních technik elektroforézy a imunofixace spolu se stanovením hladin VLŘ umožňuje monitorování naprosté většiny nemocných s AL amyloidózou. Pro objasnění významu HLC analýzy je potřeba dalších výsledků na obsáhlejších souborech nemocných.

Klíčová slova: AL amyloidóza, monoklonální imunoglobulin, volné lehké řetězce imunoglobulinu, páry těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinu.

SUMMARY

Pika T., Lochman P., Látalová P., Minařík J., Puščíznová P., Bačovský J., Ščudla V.: Problems of determination of monoclonal immunoglobulin in patients with AL amyloidosis

Introduction: AL amyloidosis is a rare disease belonging to the group of monoclonal gammopathies. The basis of the disease is the deposition of fibrils formed by molecules of monoclonal immunoglobulin light chains into the form of amyloid - amorphous proteinaceous material. Detection and quantification of monoclonal immunoglobulin (MIg) or immunoglobulin light chains is a key aspect in the diagnosis and monitoring of patients with AL amyloidosis.

Aim: The content of this paper is our own experience with the determination of MIg in patients with AL amyloidosis.

Patients and methods: The analyzed group included 27 patients with systemic AL amyloidosis. In all patients we performed the detection and quantification of monoclonal immunoglobulins in serum and urine using electrophoresis and immunofixation, serum free light chain levels were determined by FreeLite™ system. In 13 patients we performed determination of heavy / light chain pairs (HLC) of immunoglobulins, using HevyLite™ system.

Results: Immunofixation and electrophoresis of samples showed the presence of molecules MIg in 17/27 (63 %) patients and the median concentration was 3.8 g/l (0.3 to 14.2 g/l). By immunofixation there were 5 cases of complete molecules of the IgG isotype (1x IgG-κ, 4x IgG-λ), in 4 cases IgA-λ and in one case IgD-λ. In 7 patients we detected only λ light chains in serum. When analyzing the urine excretion, Bence - Jones protein was detected in 15 (56 %) patients. In all cases the quantity was over 200 mg/24 hours, while in 3 patients we found the presence of complete molecules of MIg in urine (IgA λ 1x, 2x IgG-λ). Analysis of serum free light chains showed abnormal values in all patients with median of 310 mg/l (53.6 - 1562 mg/l), pathology of κ/λ ratio was found in 25 patients (92.5 %). Analyses of the HLC levels were performed in 13 patients. In the case of IgA isotype we detected pathology of IgA-λ HLC levels along with the change in HLC ratio in 3/4 patients. In IgG isotype, pathology of IgG-λ levels and HLC ratio was detected in 2/2 patients. In the case of λ and immunofixation negative sera there was no elevation of HLC levels in any of the isotypes. Conversely, in 5/7 patients we observed suppression of IgG-κ HLC combined with the change of HLC ratio. IgA and IgM isotype pair suppression was not observed.

Conclusion: Detection, quantification and complex analysis of monoclonal immunoglobulin belongs to the key aspects of care for patients with AL amyloidosis. The combination of standard techniques of electrophoresis and immunofixation together with determination of serum free light chains allows monitoring of majority of the patients with AL amyloidosis. To clarify the contribution of HLC test, analysis of more extensive group of patients is needed.

Key words: AL amyloidosis, monoclonal immunoglobulin, serum free light chains, immunoglobulin heavy/light chain pairs.

Úvod

Amyloidózy představují heterogenní skupinu onemocnění, jejichž společným rysem je depozice insolubilních fibril patologického či fyzikálně-chemicky pozměněného fyziologického proteinu ve formě amyloidových depozit, zaujímajících strukturu β – skládaného listu. Doposud bylo identifikováno přibližně 30 amyloidogenních proteinů [1]. AL amyloidóza (light chain amyloidosis) je systémové nebo orgánově limitované onemocnění patřící do skupiny monoklonálních gamapatií. Jedná se o vzácné onemocnění, přičemž incidence představuje přibližně 5-12 nemocných na milion obyvatel za rok. U části nemocných (10-20%) bývá onemocnění asociováno s mnohočetným myelomem nebo Waldenströmovou makroglobulinémií [2 - 5]. AL amyloidóza je charakterizovaná extracelulární depozicí amyloidových mas tvořených fragmenty nebo kompletními molekulami monoklonálních lehkých řetězců imunoglobulinů produkovaných klonálními plazmocyty. Imbibice tkání amyloidem vede k úbytku buněčných elementů, tkáňové dezorganizaci a následné poruše funkce postižených orgánů – nejčastěji ledvin, srdce, jater a periferního nervového systému [6, 7]. Kromě detailní typizace amyloidových mas, identifikace plazmocytárního klonu a posouzení funkce postižených orgánů, patří mezi stěžejní vyšetření stanovení monoklonálního imunoglobulinu (Mlg), jako sekrečního produktu klonálních plazmocytů. Identicky jako u ostatních monoklonálních gamapatií, slouží stanovení Mlg nejen k diagnostice, ale i pro sledování nemocných s AL amyloidózou [2 - 4, 8]. Náplní předloženého sdělení jsou vlastní zkušenosti se stanovením hladin Mlg u nemocných s AL amyloidózou.

Soubor a metody

Vyšetřený soubor zahrnoval 27 nemocných s biopticky verifikovanou a typizovanou systémovou AL amyloidózou, u kterých byla vyloučena asociace s jiným hematologickým onemocněním (mnohočetný myelom, Waldenströmova makroglobulinémie) a kteří byli diagnostikováni a léčeni ve Fakultní Nemocnici Olomouc v letech 2004 – 2014. Věkový medián činil 62 let (48 – 92 let), poměr mužů a žen činil 18:9, zastoupení amyloidogenního lehkého řetězce kappa:lambda bylo 4:23. Stanovení hladin Mlg bylo prováděno elektroforeticky na přístroji Sebia Hydrasys s užitím souprav Sebia Hydragel 30 Protein(e) s následnou denzitometrickou kvantifikací monoklonálního gradientu pomocí skeneru Epson 1680 Pro a softwarového vybavení Phoresis. Pro typizaci Mlg imunofixační analýzou bylo použito souprav Hydragel 4 IF na identické platformě. K detekci a kvan-

tifikaci odpadu monoklonálního imunoglobulinu, resp. Bence-Jonesovy bílkoviny v moči bylo použito stejného vyšetřovacího postupu a souprav, kdy byla moč pacienta vyšetřena pomocí elektroforézy s následnou imunofixací paralelně s jeho sérem. Hodnoty celkových bílkovin v séru, resp. v moči pro výpočet kvantitativního zastoupení frakcí se stanovily na analytické lince Cobas 8000 firmy Roche pomocí souprav TP2, resp. TPUC3. Sérové hladiny volných lehkých řetězců (VLŘ) byly stanovovány systémem FreeLite™ (The Binding Site) s užitím platformy nefelometru Radim Delta (Radim Diagnostics) a od roku 2010 turbidimetru SPAplus (The Binding Site). Normální rozmezí sérových hladin bylo 3,3 – 19,4 mg/l v případě lehkého řetězce kappa (κ), v případě lambda (λ) pak 5,7 – 26,3 mg/l. Vzájemný poměr lehkých řetězců kappa/lambda (index κ/λ) byl určen výpočtem s normálním rozmezím 0,26 – 1,65, v případě renální nedostatečnosti pak 0,37 – 3,1. Pro analýzu hladin párů těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinu (HLC) u 13 nemocných bylo použito souprav HevyLite Human IgG kappa (NR: 3,84 – 12,07 g/l), IgG lambda (NR: 1,91 – 6,74 g/l), IgA kappa (NR: 0,57 až 2,08 g/l), IgA lambda (NR: 0,44 – 2,04 g/l), IgM kappa (NR: 0,19 – 1,63 g/l) a IgM lambda kit for the use on the SPA Plus (NR: 0,12 – 1,01 g/l), vzájemný poměr párů izotypů imunoglobulinu byl zjištěn výpočtem. Analýza byla provedena opět na turbidimetru SPAplus (The Binding Site).

Výsledky

Elektroforetické a imunofixační vyšetření séra prokázalo přítomnost molekul Mlg u 17/27 (63%) nemocných, přičemž medián koncentrací hladin činil 3,8 g/l (0,3 – 14,2 g/l). Typizačně se jednalo v pěti případech o kompletní molekuly izotypu IgG (1x IgG- κ , 4x IgG- λ), ve čtyřech případech IgA- λ a u jednoho nemocného byl zjištěn izotyp IgD- λ . U sedmi nemocných byla v séru zjištěna přítomnost pouze lehkých řetězců λ . Koncentrace Mlg přesahovaly hranici 10 g/l pouze u dvou nemocných (12,8 a 14,2 g/l) (Obr. 1). Při proteinové analýze moči byla exkrece Bence-Jonesovy bílkoviny zjištěna u 15 (56%) nemocných, ve všech případech v kvantitě nad 200 mg/24 hodin, přičemž u tří nemocných byla navíc prokázána přítomnost kompletních molekul Mlg v moči (1x IgA- λ , 2x IgG- λ). Samotná zjištěná kvantita proteinurie přesahovala u 17 nemocných hodnotu 3,5 g/den, tedy nefrotického typu, přičemž klinicky vyjádřený nefrotický syndrom byl zjištěn u 15 pacientů (Obr. 2). Analýza sérových hladin volných lehkých řetězců prokázala u všech nemocných abnormální hodnoty s mediánem 310 mg/l (53,6 – 1562 mg/l), přičemž patologie indexu κ/λ byla zjištěna u 25 nemocných (92,5%) (Obr. 3).

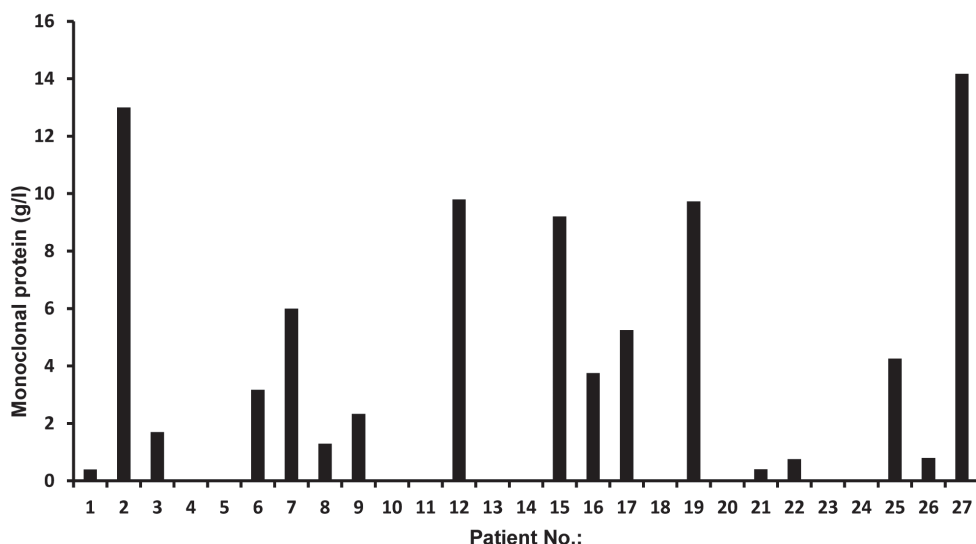


Fig. 1. Serum monoclonal immunoglobulin levels in patients with AL amyloidosis (n = 27).

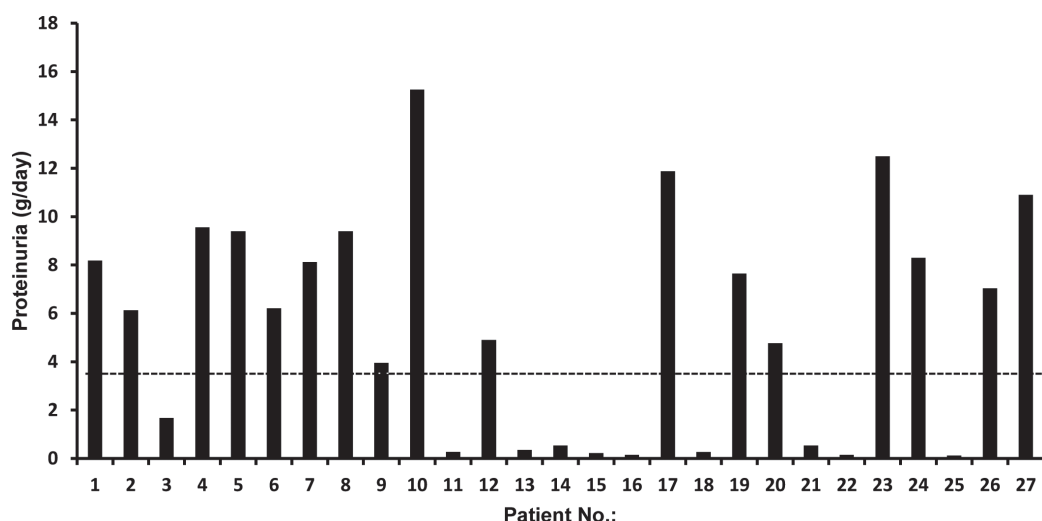


Fig. 2. Quantification of 24-hour proteinuria in patients with AL amyloidosis (n = 27).

U dvou nemocných s normálními hodnotami indexu κ/λ , byla zjištěna současně elevace obou lehkých řetězců při pokročilé renální nedostatečnosti. Z 25 nemocných s abnormálními hladinami VLŘ a současně s patologií indexu κ/λ mělo 23 (85%, z celkového počtu 27) pacientů hladiny dVLŘ (dVLŘ – rozdíl hladin dominantního a alternativního VLŘ) > 50 mg/l, což je v současnosti všeobecně akceptovaný limit definující měřitelné onemocnění. Analýza hladin párů těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinu a imunoglobulinových podtříd byla provedena u 13 nemocných (dle imunofixace: 4x IgA- λ , 2x IgG- λ , 3x λ , 4x negativní). V případě IgA- λ izotypu byla zjištěna patologie hladin IgA HLC spolu se změnou HLC indexu u 3/4 nemocných, kteří rovněž vykazovali výraznou elevaci podtřídy imunoglobulinu IgA1. V případě IgG- λ izotypu byla zjištěna patologie hladin IgG HLC i indexu u obou nemocných. U jednoho nemocného byl Mlg identifikován jako izotyp podtřídy IgG1, u druhého IgG4. V případě λ a imunofixací negativních sér nebyla zjištěna elevace HLC hladin v jednotlivých izotypech. Naopak u 5/7 nemocných byla zjištěna suprese hladin

HLC IgG- κ (u 2/7 současně i IgG- λ) spolu se změnou HLC indexu. Ve třídě IgA a IgM suprese izotypových párů zjištěna nebyla.

Diskuse

Vyšetření proteinového spektra, zejména pak detekce, typizace a kvantifikace hladin Mlg patří mezi stěžejní aspekty v diagnostice a sledování nemocných s monoklonálními gamapatiemi [9 až 11]. V případě mnohočetného myelomu představuje standardní přístup stanovení a monitorování kvantity Mlg pomocí agarózové/kapilární elektroforézy séra a následné denzitometrie elektroforetické stopy s určením typu imunoglobulinu imunofixací a/nebo průkaz Bence-Jonesovy bílkoviny v moči s určením jejího typu pomocí imunofixace zahuštěné moči z 24 hodinového sběru [11, 12]. V případě méně obvyklých variant myelomu (nesekretorický, Bence-Jonesův či oligosekreční typ) a pro určení hloubky remise je navíc využíváno stanovení sérových

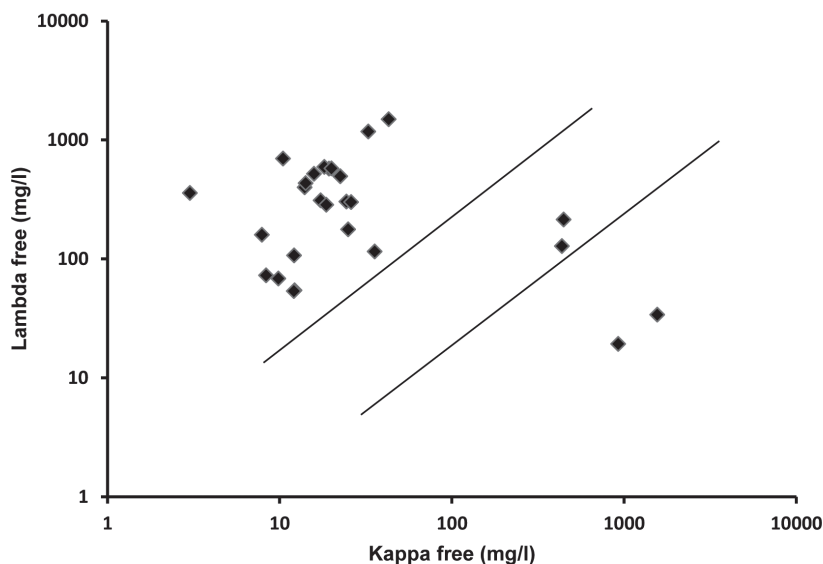


Fig. 3. Serum free light chain levels in patients with AL amyloidosis (n = 27).

hladin volných lehkých řetězců imunoglobulinu [13]. Podobně je postupováno i v případě AL amyloidózy, avšak s určitými specifiky. Kombinace zvyklé analýzy (elektroforéza a imunofixace) séra a moči sice umožňuje detekovat Mlg u ~ 94 % nemocných s AL, nicméně u velké části nemocných však získané výsledky nedovolují účinně hodnotit míru léčebné – tzv. hematologické odpovědi nebo naopak progresi onemocnění, z důvodu obvykle velmi nízkých hladin Mlg v séru (<10 g/l) či moči (<200 mg/den) či jen pouhé imunofixační pozitivitu [9,14 až 16]. V našem souboru byly hladiny Mlg v séru detekovány u 63 % nemocných, avšak medián koncentrací byl velmi nízký a pouze u dvou nemocných hladiny Mlg přesahovaly 10 g/l, definující měřitelné onemocnění. Exkrece Bence – Jonesovy bílkoviny do moči byla zjištěna u 63 % nemocných, u tří nemocných byly detekovány i kompletní molekuly Mlg v moči, přičemž ve všech případech se jednalo o nemocné s těžkou formou nefrotického syndromu. Samotné sledování odpadů Bence – Jonesovy bílkoviny do moči bylo využíváno pro monitorování onemocnění u dvou pacientů s nepřítomností Mlg v séru a absencí sérových hladin VLŘ jako měřitelného parametru. Kvantifikace celkové proteinurie za 24 hodin mimo jiné slouží i jako diagnostický ukazatel orgánového postižení ledvin u AL amyloidózy. U nemocných s AL amyloidózou a postižením ledvin nacházíme povětšinou neselektivní proteinurii s dominantní albuminurií. Jako diagnostické kritérium platí přítomnost proteinurie > 0,5 g/den při absenci jiné příčiny nefropatie (např. diabetická nefropatie). Stejně tak i kritérii orgánové léčebné odpovědi/progrese jsou redukce resp. nárůst proteinurie o 50 % a změny v hladinách kreatininu a kreatininové clearance [17 až 19]. Postižení ledvin bývá přítomno až u 60 % nemocných, což ilustruje i náš soubor. Proteinurie nefrotického typu byla zaznamenána u 17 nemocných, přičemž u 15 pacientů byl plně vyvinut nefrotický syndrom.

V současnosti je již zcela běžně dostupné stanovení sérových hladin volných lehkých řetězců (VLŘ) se vzájemným výpočtem poměru obou řetězců – tzv. κ/λ

index, poskytující informaci o míře produkce VLŘ klonálními plazmocytami [20, 21]. Samotné stanovení VLŘ bývá pozitivní u 88-92 % nemocných s AL a při kombinaci s výše uvedenými standardními technikami detekce paraproteinu dochází k pozitivnímu záchytu Mlg až u 98 % nemocných s AL [14 - 16]. Nespornou výhodou stanovení VLŘ je právě získání měřitelného parametru u velké části nemocných s oligosekrečním onemocněním či jen pouhou imunofixační pozitivitou, umožňující pravidelné sledování nemocných a hodnocení efektu terapie. V současnosti platí revidovaná IMWG (International Myeloma Working Group) a ISA (International Society for Amyloidosis) kritéria, kdy za měřitelné onemocnění je pokládán stav s absolutní hodnotou rozdílu dominantního - alternativního VLŘ (dVLŘ) >50 mg/l, přičemž dosažení parciální remise odpovídá >50 % redukce vstupních hodnot, velmi dobrá parciální remise je definována jako absolutní hodnota dVLŘ <40 mg/l a naopak progresi stavu definuje nárůst VLŘ o >50 % (a to alespoň o 100 mg/l) [13, 17 - 19]. Kompletní remise je definována jako negativní imunofixační elektroforéza séra i moči, absence klonálních plazmocytů v kostní dřeni a normální index κ/λ . Vzhledem k výše uvedenému je hodnocení léčebné odpovědi pomocí stanovení VLŘ preferováno a pouze u nemocných s absencí patologických hladin či velmi nízkými hladinami VLŘ by se mělo užít klasického hodnocení pomocí elektroforézy séra a/nebo moči. V našem případě byla pozitivita testu včetně patologie indexu κ/λ zjištěna u 92,5 % nemocných, přičemž pro sledování onemocnění bylo pravidelné stanovení sérových hladin VLŘ užito u 85 % nemocných.

Nejnovějším testem využívaným pro analýzu proteinového spektra je stanovení izotypových párů těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinu (HLC). Jedná se o perspektivní metodu, která jak se zdá, obohatí spektrum vyšetření užívaných u mnohočetného myelomu a monoklonální gamapatie nejistého významu [20, 21]. Analýza HLC byla provedena v našem souboru u 13 nemocných, přičemž u pacientů s přítomnou komplet-

ní molekulou imunoglobulinu (IgG- λ , IgA- λ) byly zjištěny patologické hladiny identických izotypových HLC párů se změnou HLC indexu, ve všech případech s výhodou citlivěji měřitelného parametru nežli v případě užití elektroforézy. V případě dvou nemocných s elektroforetickou typizací a kvantifikací jako lehké řetězce λ a u tří nemocných s negativitou elektroforetického a imunofixačního vyšetření séra byla zajímavým nálezem zjištěna suprese HLC hladin u izotypových párů třídy IgG. Je nutno podotknout, že u těchto pěti nemocných byl zjištěn těžký nefrotický syndrom, jakožto možná příčina ztrát monomerních molekul IgG močí. Možný přínos stanovení hladin HLC u AL amyloidózy pro klinickou praxi však stále není objasněn a teprve závěry prací na rozsáhlejších souborech tuto otázku zodpoví.

Závěr

Detekce, kvantifikace a komplexní analýza monoklonálního imunoglobulinu patří mezi stěžejní aspekty péče o nemocné s AL amyloidózou. Kombinace standardních technik elektroforézy a imunofixace spolu se stanovením hladin VLŘ umožňuje monitorování naprosté většiny nemocných s AL amyloidózou. Vzhledem k mnohdy obtížné interpretaci výsledků vyšetření je těsná spolupráce ošetřujícího lékaře a laboratorních expertů nezbytná. Pro objasnění významu HLC analýzy je potřeba dalších výsledků na obsáhlejších souborech nemocných.

Literatura

1. **Sipe, J. D., Benson, M. D., Buxbaum, J. N. et al.** Amyloid fibril protein nomenclature: 2012 recommendations from the nomenclature committee of International Society of Amyloidosis. *Amyloid*, 2012; 19, p. 167-70.
2. **Ščudla, V., Pika, T.** Současné možnosti diagnostiky a léčby systémové AL-amyloidózy. *Vnitř. Lék.*, 2009, 55, p. 77-87.
3. **Bird, J., Cavenagh, J., Hawkins, P. et al.** Guidelines on the diagnosis and management of AL amyloidosis. *Brit. J. Haematol.*, 2004, 125, p. 681-700.
4. **Gertz, M. A.** Immunoglobulin light chain amyloidosis: 2011 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am. J. Hematol.*, 2011, 86, p. 181-186.
5. **Santhorawala, V., Blanchard, E., Seldin, D. C., O'Hara, C., Skinner, M., Wright, D. G.** AL amyloidosis associated with B-cell lymphoproliferative disorders: frequency and treatment outcomes. *Am. J. Hematol.*, 2006, 81, p. 692-695.
6. **Merlini, G., Bellotti, V.** Molecular mechanisms of amyloidosis. *N. Engl. J. Med.*, 2003, 349, p. 583-596.
7. **Merlini, G., Seldin, D. C., Gertz, M. A.** Amyloidosis: pathogenesis and new therapeutic options. *J. Clin. Oncol.*, 2011, 29, p. 1924-1933.

8. **Pika, T., Lochman, P., Flodr, P. et al.** Význam stanovení vybraných laboratorních parametrů v diagnostice, stratifikaci a sledování nemocných s AL amyloidózou. *Klin. Biochem. Metab.*, 2013, 21, p. 79 – 82.
9. **Katzmann, J. A., Kyle, R. A., Benson, J. et al.** Screening panels for detection of monoclonal gammopathies. *Clin. Chem.*, 2009, 55, p. 1517-22.
10. **Tichý, M., Maisnar, V.** Laboratorní průkaz monoklonálních imunoglobulinů. *Vnitř. Lék.*, 2006, 52, p. 41-45.
11. **Kyle, R. A., Rajkumar, S. V.** Multiple myeloma. *Blood*, 2009, 111, p. 2962-2972.
12. **Česká myelomová skupina.** Diagnostika a léčba mnohočetného myelomu. *Trans. Hemat. Dnes*, 2009, 15, p. 3-80.
13. **Dispenzieri, A., Kyle, R. A., Merlini, G. et al.** International myeloma working group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia*, 2009, 23, p. 215-224.
14. **Abraham, R. S., Katzmann, J. A., Clark, R. J., Bradwell, A. R., Kyle, R. A., Gertz, M. A.** Quantitative analysis of serum free light chains. A new marker for the diagnostic evaluation of primary systemic amyloidosis. *Am. J. Clin. Pathol.*, 2003, 119, p. 274-8.
15. **Palladini, G., Russo, P., Bosoni, T. et al.** Identification of amyloidogenic light chains requires the combination of serum-free light chain assay with immunofixation of serum and urine. *Clin. Chem.*, 2009, 55, p. 499-504.
16. **Akar, H., Seldin, D. C., Magnani, B. et al.** Quantitative serum free light chain assay in the diagnostic evaluation of AL amyloidosis. *Amyloid*, 2005, 12, p. 210-215.
17. **Gertz, M. A., Comenzo, R., Falk, R. H. et al.** Definition of organ involvement and treatment response in immunoglobulin light chain amyloidosis (AL): a consensus opinion from the 10th International Symposium on Amyloid and Amyloidosis. *Am. J. Hematol.*, 2005, 79, p. 319-328.
18. **Gertz, M. A., Merlini, G.** Definition of organ involvement and response to treatment in AL amyloidosis: an updated consensus opinion. *Amyloid*, 2010, 17, p. 48-49.
19. **Comenzo, R. L., Reece, D., Palladini, G. et al.** Consensus guidelines for the conduct and reporting of clinical trials in systemic light-chain amyloidosis. *Leukemia*, 2012, 26, p. 2317 – 2325.
20. **Bradwell, A. R., Harding, S., Fourrier, N. J. et al.** Assessment of monoclonal gammopathies by nephelometric measurement of individual immunoglobulin kappa/lambda ratios. *Clin. Chem.*, 2009, 55, p. 1646-55.
21. **Ščudla, V., Pika, T., Heřmanová, Z.** Hevylite – nová analytická metoda v diagnostice a hodnocení průběhu monoklonálních gamapatií. *Klin. Biochem. Metab.*, 2010, 18, p. 62-68.

S podporou grantu NT 12451/5, NT 14400.

Do redakce došlo 16. 2. 2015

Adresa pro korespondenci:
MUDr. Tomáš Pika, Ph.D.
Hemato-onkologická klinika,
Fakultní nemocnice Olomouc
I. P. Pavlova 6, 775 20, Olomouc
Email: tomas.pika@seznam.cz