

## Stanovení párů těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinu u nemocných s nově diagnostikovanou Waldenströmovou makroglobulinémií

Pika T.<sup>1</sup>, Lochman P.<sup>2</sup>, Kušnierová P.<sup>3</sup>, Heřmanová Z.<sup>4</sup>, Zapletalová J.<sup>5</sup>, Puščíznová P.<sup>1</sup>, Minařík J.<sup>1</sup>, Ščudla V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hemato-onkologická klinika, LF UP a FN Olomouc

<sup>2</sup>Oddělení klinické biochemie, FN Olomouc

<sup>3</sup>Oddělení klinické biochemie, Ústav laboratorní diagnostiky, FN Ostrava

<sup>4</sup>Ústav imunologie, LF UP a FN Olomouc

<sup>5</sup>Ústav lékařské biofyziky a statistiky, LF UP Olomouc

### SOUHRN

**Úvod:** Waldenströmova makroglobulinémie (WM) je vzácné onemocnění, které je charakterizované infiltrací kostní dřeně nádorovými buňkami lymfoplazmocytárního lymfomu a produkcí monoklonálního imunoglobulinu (Mlg) IgM izotypu. Nejnovějším testem ve spektru vyšetření Mlg je systém HevyLite™, principiálně založený na užití dvojice specifických protilátek proti junkčním epitopům mezi doménami těžkého a lehkého řetězce (HLC) v konstantní oblasti řetězců imunoglobulinu.

**Cíl:** Cílem studie je porovnání stanovení hladin Mlg IgM izotypu u nemocných s nově diagnostikovanou WM s využitím konvenčních elektroforetických technik a s použitím stanovení hladin párů těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinu.

**Soubor a metody:** Vyšetřený soubor zahrnoval 15 vzorků sér od nemocných s WM s izotypem IgM kappa. Vzorky byly vyšetřeny konvenční gelovou a kapilární elektroforézou. Stanovení Mlg gelovou elektroforézou bylo provedeno systémem Sebia Hydrasys s pomocí souprav Sebia Hydragel 30 Protein(e). Pro imunofixační analýzu byly využity soupravy Hydragel 4 IF. Pro vyšetření hladin Mlg kapilární elektroforézou bylo použito systému Sebia MiniCap a souprav MINICAP PROTEIN(E) 6, imunofixace byla provedena na analyzátoru Hydrasys za použití souprav Hydragel. Pro turbidimetrickou analýzu hladin HLC párů bylo použito souprav HevyLite Human Ig, IgM kappa kit for the use on the SPAplus s využitím platformy turbidimetru SPAplus. Pro nefelometrickou analýzu HLC párů bylo použito nefelometru BN II a souprav HevyLite™ IgMk. Statistická analýza byla provedena pomocí Pearsonovy korelační analýzy.

**Výsledky:** Při srovnání hladin Mlg stanovených pomocí gelové (5 – 60 g/l) a kapilární (7,5 – 62,5 g/l) elektroforézy byla zjištěna silná korelace ( $r = 0,937$ ,  $p < 0,0001$ ) s mediánem difference 13 %. Medián koncentrace celkové bílkoviny séra činil 95,3 (73,4 – 131,6 g/l). Při srovnání hladin IgM Mlg stanovených gelovou elektroforézou a hladin IgMk stanovených systémem SPAplus (9 – 155 g/l) resp. BN II (9,3 – 262 g/l) byly zjištěny pozitivní korelace ( $r = 0,928$ ,  $p < 0,0001$ ) resp. ( $r = 0,803$ ;  $p < 0,001$ ), avšak s mediánem diferencí 144 % resp. 156 % (ICC 0,213). Při srovnání hladin Mlg definovaných kapilární elektroforézou a IgMk stanovených systémem SPAplus (9 – 155 g/l) resp. BN II (9,3 – 262 g/l) byly zjištěny pozitivní korelace ( $r = 0,959$ ,  $p < 0,0001$ ) resp. ( $r = 0,830$ ;  $p < 0,001$ ) s mediánem difference 144 % a 133 % (ICC 0,225). Míra difference byla vzrůstající s koncentrací Mlg.

**Závěr:** Výsledky provedené analýzy potvrzují, že stanovení vysokých koncentrací IgM imunoglobulinu pomocí analýzy HLC párů je spojeno s výrazným nadhodnocením koncentrací. Ačkoliv byly zjištěny poměrně silné korelace mezi konvenčními elektroforetickými technikami a stanovením HLC, výsledky měření s pomocí HevyLite™ metody přesahují nejen hladiny Mlg, ale i koncentrace celkové bílkoviny séra. Stanovení HLC v současné podobě nelze využít v diagnostice a monitorování nemocných s WM a vysokými hladinami Mlg.

**Klíčová slova:** Waldenströmova makroglobulinémie, monoklonální imunoglobulin, elektroforéza, páry těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinu.

### SUMMARY

**Pika T., Lochman P., Kušnierová P., Heřmanová Z., Zapletalová J., Puščíznová P., Minařík J., Ščudla V.: The assessment of heavy/light chain pairs of immunoglobulin in patients with newly diagnosed Waldenström's macroglobulinemia**

**Introduction:** Waldenström's macroglobulinemia (WM) is a rare malignant B-lymphoproliferative disorder, characterized by bone marrow infiltration by tumor cells of lymphoplasmocytic lymphoma (LPL) with production of IgM monoclonal immunoglobulin (Mlg). The newest test for Mlg is the HevyLite system, based on the assessment using the pair of specific antibodies against junction epitopes between the domains of heavy and light chain (HLC) of the constant region of immunoglobulin chains.

**Aim:** The aim of our paper was the comparison of detection methods for serum levels of Mlg of IgM isotype in patients with newly diagnosed WM using conventional electrophoresis and with the use of the levels of heavy/light chain pairs of the immunoglobulin.

**Patients and methods:** Our cohort consisted of 15 sera of WM patients with IgM kappa isotype. The samples were assessed using conventional gel and capillary electrophoresis. The assessment of Mlg using gel electrophoresis was carried out using Sebia Hydrasys system, for capillary electrophoresis we used Sebia MiniCap system. For turbidimetry analysis of

HLC pairs we used HevyLite Human Ig sets, IgM kappa kit for the use on the SPAplus with the use of turbidimetry SPAplus. For nephelometric analysis of HLC pairs we used nephelometer BN II and HevyLite IgMk.

**Results:** Within the comparison of the levels of Mlg using gel (5 – 60 g/l) and capillary (7.5 – 62.5 g/l) electrophoresis we found strong correlation ( $r = 0.937$ ,  $p < 0.0001$ ) with median difference 13%. Median total serum protein concentration was 95.3 g/l (73.4 – 131.6 g/l). Comparison of Mlg detected using gel electrophoresis and IgMk levels detected using SPAplus system (9–155 g/l) and BN II (9.3 – 262 g/l) we found positive correlations ( $r = 0.928$ ,  $p < 0.0001$ ), and ( $r = 0.803$ ;  $p < 0.001$ ) but with median difference 144% and 156% (ICC 0.213). Within the comparison of Mlg levels defined by capillary electrophoresis and IgMk detected by SPAplus system (9 – 155 g/l) and BN II (9.3 – 262 g/l) we found positive correlations ( $r = 0.959$ ,  $p < 0.0001$ ) and ( $r = 0.830$ ;  $p < 0.001$ ) with median difference 144% and 133% (ICC 0.225). The difference rate was increasing with Mlg concentration.

**Conclusions:** The results of our analysis confirm that the assessment of high IgM concentrations using HLC pairs is accompanied with significant overestimation of the values. Despite relatively strong correlations between conventional electrophoretic methods and HLC assessment, the results exceed not only Mlg levels but even total protein levels. The assessment of HLC at this time cannot be reliably used for the diagnostics and monitoring of patients with active WM and high levels of Mlg.

**Keywords:** Waldenström's macroglobulinemia, monoclonal immunoglobulin, electrophoresis, heavy/light chain immunoglobulin pairs.

## Úvod

Waldenströmová makroglobulinémie (WM) je vzácné maligní, avšak relativně indolentní B-lymfoproliferativní onemocnění, které je charakterizované infiltrací kostní dřeni nádorovými buňkami lymfoplazmocytárního lymfomu a produkcí monoklonálního imunoglobulinu (Mlg) IgM izotypu. WM bývá v rozvinuté fázi spojena s lymfadenomegalií, hepatosplenomegalií a anémií resp. trombocytopenií z důvodu neoplastické infiltrace kostní dřeni s deplecí normální krevtvorby. Na rozdíl od mnohočetného myelomu nebývá přítomno osteolytické postižení skeletu. Časté jsou B-symptomy, nemocný rovněž může trpět příznaky hyperviskózního syndromu z důvodu vysokých koncentrací IgM Mlg či jinými syndromy, které mají vztah k IgM paraproteinémii (nefropatie, neuropatie, amyloidóza, kryoglobulinémie či autoimunitní hemolytická anémie). IgM molekuly jsou z 80% přítomny v organismu intravaskulárně, často jsou glykosylovány a mívají také kryoprecipitační vlastnosti. Vzhledem k těmto skutečnostem a konformaci molekuly IgM mají poměrně významné onkotické vlastnosti, což v případě vysokých koncentrací ovlivňuje intravaskulární tlak a může být i příčinou hyperviskózního syndromu snáze nežli v případě molekul IgG či IgA [1 - 8]. Pro stanovení hladin polyklonálních molekul IgM se využívá nefelometrických či turbidimetrických technik, principem reakce polyvalentních antisér se specificitou vůči těžkým řetězcům třídy M. Pro detekci a kvantifikaci Mlg IgM je nejčastěji využívána gelová či kapilární zónová elektroforéza, pro typizaci imunofixační elektroforéza [9, 10]. Nejnovějším testem ve spektru vyšetření Mlg je systém HevyLite™, principiálně založený na užití dvojice specifických protilátek proti junkčním epitopům mezi doménami těžkého a lehkého řetězce (HLC) v konstantní oblasti řetězců imunoglobulinu, nicméně praktické využití pro izotyp IgM je zatím předmětem studií [11].

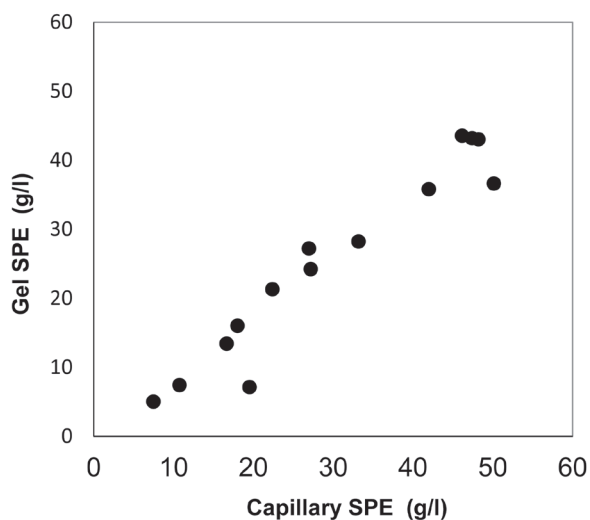
Cílem studie je porovnání stanovení hladin Mlg izotypu IgM u nemocných s nově diagnostikovanou Waldenströmovou makroglobulinémií s využitím konvenčních elektroforetických technik a s použitím stanovení hladin párů těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinu.

## Soubor a metody

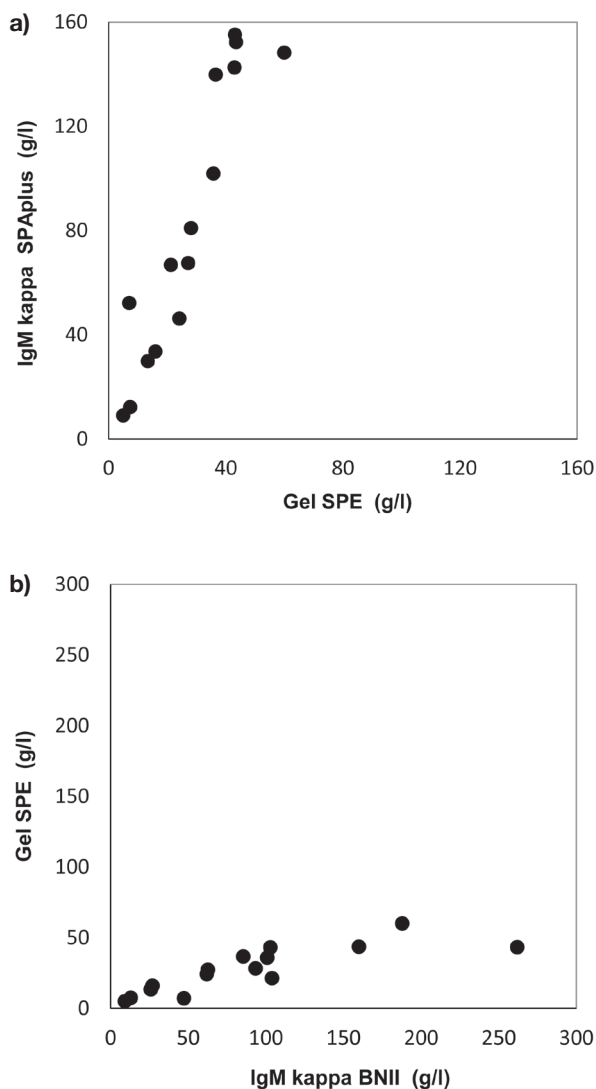
Vyšetřený soubor zahrnoval 15 vzorků sér od nemocných s nově diagnostikovanou Waldenströmovou makroglobulinémií s izotypem IgM kappa bez kryoprecipitačních vlastností. Jednotlivé vzorky byly vyšetřeny pomocí konvenční gelové a kapilární elektroforézy, pro stanovení hladiny HLC IgM párů bylo užito nefelometrických a turbidimetrických technik. Stanovení hladin Mlg gelovou elektroforézou bylo provedeno systémem Sebia Hydrasys s užitím souprav Sebia Hydragel 30 Protein(e) s následnou kvantifikací monoklonálního gradientu pomocí skeneru Epson 1680 Pro. Pro imunofixační analýzu bylo užito souprav Hydragel 4 IF. Pro vyšetření hladin Mlg kapilární elektroforézou bylo užito systému Sebia MiniCap a souprav MINICAP PROTEIN(E) 6, imunofixace byla provedena na analyzátoru Hydrasys za použití souprav Hydragel. Pro turbidimetrickou analýzu hladin HLC párů bylo užito souprav HevyLite Human Ig, 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) s využitím platformy turbidimetru SPAplus (The Binding Site). Hladiny polyklonálních imunoglobulinů IgM byly stanovovány soupravami Human IgM kit for SPA Plus (0,4 – 2,3 g/l). Pro nefelometrickou analýzu HLC párů bylo užito nefelometru BN II (Siemens Healthcare Diagnostics) a souprav HevyLite™ IgMk a IgMλ (The Binding Site). Celkové hladiny imunoglobulinu IgM byly stanovovány s užitím diagnostického antiséra N antiserum to Human IgM (Siemens) (NR: 0,4 – 2,3 g/l). Statistická analýza byla provedena pomocí Pearsonovy korelační analýzy.

## Výsledky

Při srovnání hladin Mlg stanovených pomocí gelové (5 – 60 g/l) a kapilární (7,5 – 62,5 g/l) elektroforézy byla zjištěna silná korelace ( $r = 0,937$ ,  $p < 0,0001$ ) s mediánem diference 12,8% (Obr. 1). Medián koncentrace celkové bílkoviny séra činil 95,3 g/l (73,4 – 131,6 g/l). Při srovnání hladin Mlg stanovených gelovou elektroforézou a hladin IgMk stanovenými systémy SPAplus

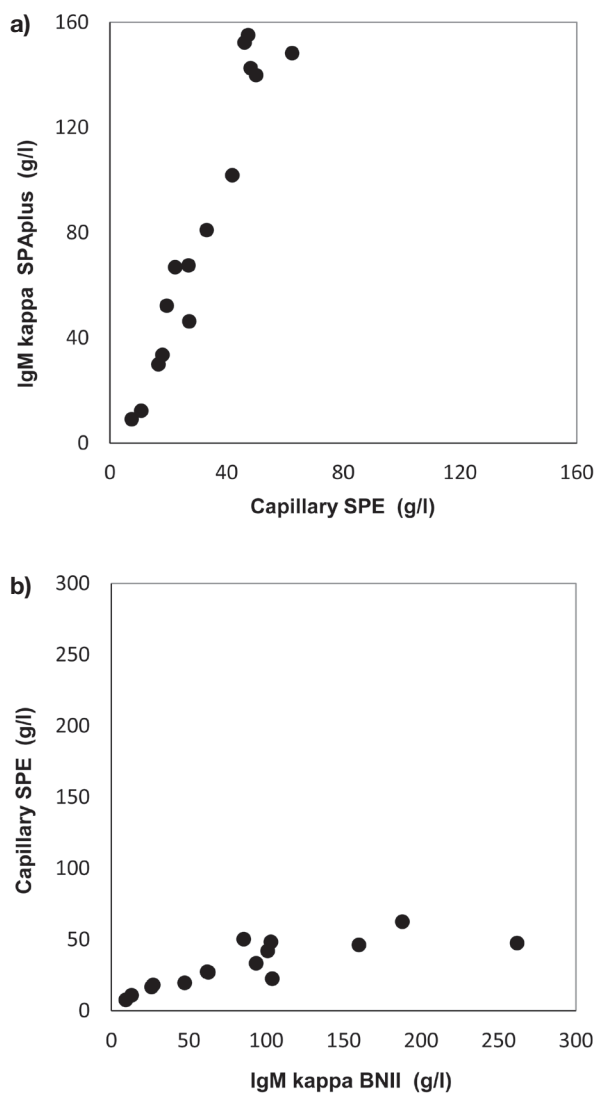


**Fig. 1.** Correlation of levels of IgM monoclonal immunoglobulin examined by gel and capillary electrophoresis (SPE) ( $r = 0.937$ ,  $p < 0.0001$ ).



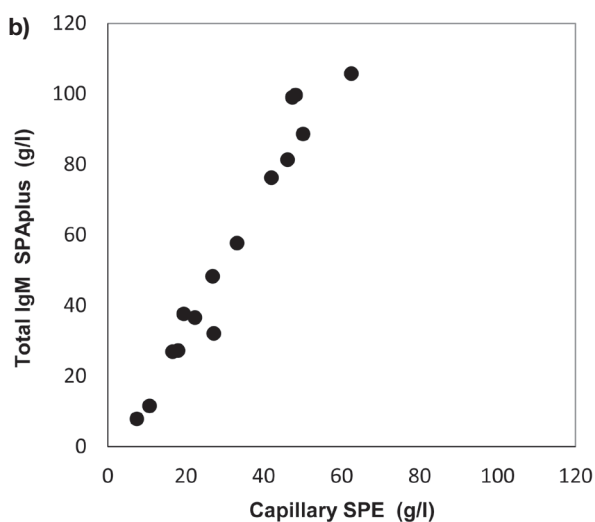
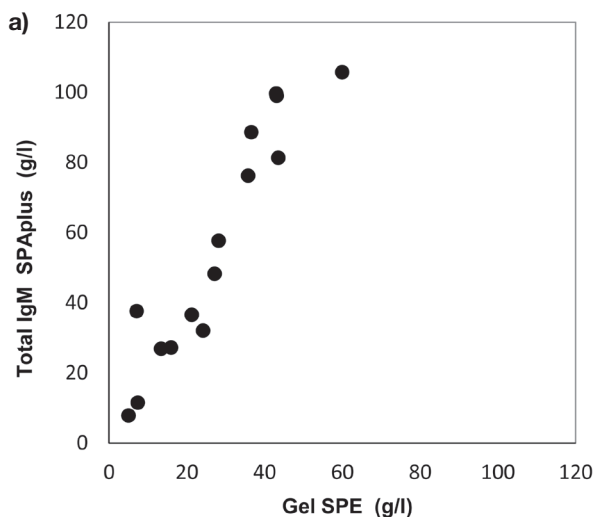
**Fig. 2.** Correlation of IgM monoclonal immunoglobulin levels examined by gel electrophoresis (SPE) and IgM kappa HLC levels set on the platform SPAplus (a) and BN II (b) ( $r = 0.928$ ,  $p < 0.0001$  resp.  $r = 0.803$ ;  $p < 0.001$ ).

(9 – 155 g/l) a BN II (9,3 – 262 g/l) byly zjištěny pozitivní korelace hodnot ( $r = 0,928$ ,  $p < 0,0001$ ) a ( $r = 0,803$ ;  $p < 0,001$ ), avšak s mediánem diferencí 184 % resp. 156 % (ICC 0,213) (Obr. 2a,b). Při srovnání hladin MIg definovaných kapilární elektroforézou a IgMκ stanovenými systémy SPA Plus (9 – 155 g/l) a BN II (9,3 – 262 g/l) byly zjištěny pozitivní korelace ( $r = 0,959$ ,  $p < 0,0001$ ) resp. ( $r = 0,830$ ;  $p < 0,001$ ) s mediánem difference 144 % a 133 % (ICC 0,225) (Obr. 3a, b).

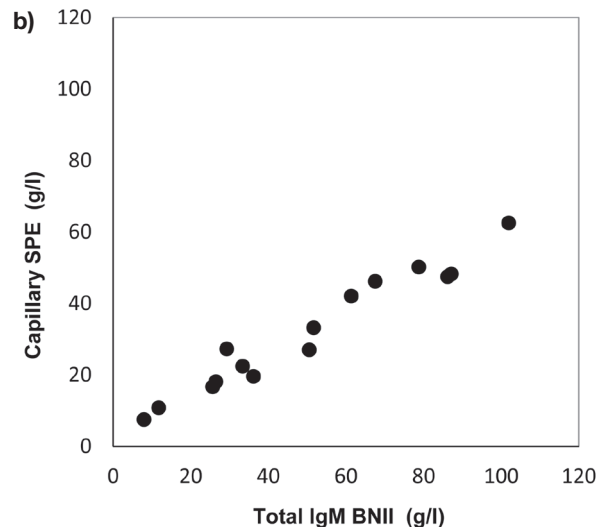
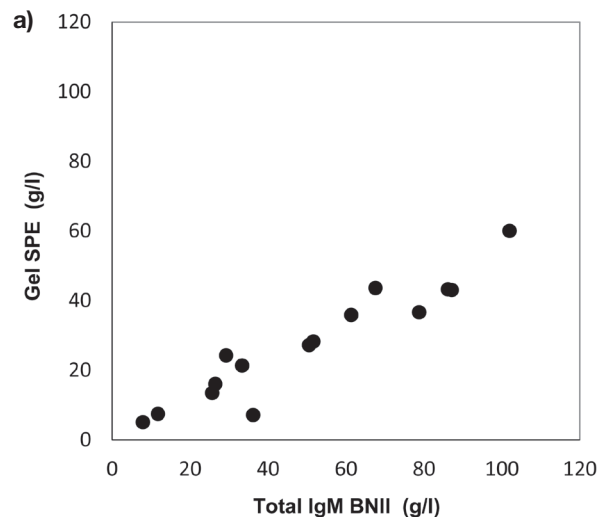


**Fig. 3.** Correlation of IgM monoclonal immunoglobulin levels examined by capillary electrophoresis (SPE) and IgM kappa HLC levels set on the platform SPAplus (a) and BN II (b) ( $r = 0.959$ ,  $p < 0.0001$  resp.  $r = 0.830$ ;  $p < 0.001$ ).

Míra difference hladin byla vzrůstající s koncentrací MIg. Při srovnání hladin MIg detekovanými gelovou a kapilární elektroforézou a turbidimetricky stanovených hladin celkového IgM (7,8 – 105,7 g/l) byly zjištěny pozitivní korelace ( $r = 0,942$ ,  $p < 0,0001$ ) resp. ( $r = 0,978$ ,  $p < 0,0001$ ) s mediánem diferencí 87 % a 73,6 % (Obr. 4a, b). Identicky, v případě srovnání výsledků gelové a kapilární elektroforézy a nefelometricky stanovených celkových koncentrací IgM (8 – 102 g/l) byly zjištěny pozitivní korelace ( $r = 0,946$ ,  $p < 0,0001$ ) a ( $r = 0,946$ ,  $p < 0,0001$ ) s mediánem diferencí 72 % a 54 %



**Fig. 4.** Correlation of the total IgM levels determined by turbidimetry (SPAplus) and the levels of monoclonal immunoglobulin IgM set by gel (a) and capillary (b) electrophoresis (SPE).



**Fig. 5.** Correlation of the total IgM levels determined by nephelometry (BN II) and the levels of monoclonal immunoglobulin IgM set by gel (a) and capillary (b) electrophoresis (SPE).

(Obr. 5a, b). Samotné srovnání celkových hladin IgM stanovených nefelometricky a turbidimetricky vykazovalo velmi silnou pozitivní korelaci ( $r = 0,992$ ,  $p < 0,0001$ , ICC 0,970). Stejně tak vyznělo i srovnání hladin HLC IgMk stanovených turbidimetrickou a nefelometrickou metodou ( $r = 0,857$ ,  $p < 0,0001$ , ICC 0,831).

## Diskuse

Přítomnost Mlg IgM izotypu patří mezi základní charakteristiky Waldenströmovy makroglobulinémie. Na rozdíl od jiných monoklonálních gamapatií, však nejsou vyžadovány konkrétní hladiny a diagnostické kritérium je splněno při zjištění jakékoliv koncentrace spolu s přítomností lymfoplazmocytárního lymfomu potvrzeného imunohistochemicky či průtokovou cytometrií [1 – 8, 12]. Hladiny IgM Mlg nekorelují s celkovým počtem monoklonálních B-lymfocytů, ale s podílem míry infiltrace kostní dřeně klonálními plazmocytami [13]. Stanovení přesných koncentrací IgM imunoglobulinu a IgM Mlg bývá často problematické. Molekuly IgM se vysky-

tují jako pentamerické struktury, jsou často chemicky modifikovány (glykosylace), mají pozměněné fyzikálně - chemické vlastnosti (kryoprecipitace) či v případě Mlg často i atypickou molekulární strukturu [7, 9, 10]. Molekuly IgM tedy mají často tendenci tvořit komplexy vyššího řádu, což pro většinu analýz představuje problém. Při užití elektroforézy jsou sérové proteiny separovány dle velikosti a náboje, elektroforeogram je vytvořen optickým skenem, samotná kvantifikace Mlg je většinou prováděna manuálně odborníky laboratoře. Typ těžkého a lehkého řetězce je určován imunofixací. Elektroforéza je náročnější na laboratorní zpracování, ale dokáže odlišit Mlg od polyklonálního pozadí. Nefelometrické či turbidimetrické stanovení celkových hladin IgM je naopak automatizováno s menšími nároky na zpracování vzorků. Principem metody je analýza míry rozptylu či průchodu světla v závislosti na koncentraci komplexů protilátka - antigen. Nevýhodou je nemožnost odlišení hladin IgM Mlg od polyklonálního pozadí a variabilní reaktivita s Mlg produkovanými odlišnými neoplastickými klony. Známou problematikou je častá tendence k nadhodnocení skutečných hladin imunoglobulinů,

zejména v případě IgM a při vysokých koncentracích, což je z části dáno výše zmíněnými fyzikálně - chemickými vlastnostmi [9, 10, 14, 15].

Nyní nově dostupné stanovení sérových hladin párů těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinu umožňuje stanovení izotypových párů současně s použitím nefelometrické či turbidimetrické techniky [11]. Některé prvotní práce naznačovaly možné perspektivní využití i u nemocných s Waldenströmovou makroglobulinémií vzhledem k těsné korelaci výsledků s hladinami Mlg [16, 17]. Nicméně výsledky naší analýzy toto nepotvrzují. Při srovnání dvou typů elektroforetických technik (gelová a kapilární) ze dvou pracovišť bylo dosaženo srovnatelných výsledků, což odpovídá vysokým standardům laboratoří a zavedených metod. K samotnému stanovení hladin HLC a polyklonálních IgM bylo užito dvou technik nefelometrické (BNII) a turbidimetrické (SPAplus). Výsledky potvrdily vysokou míru korelace hladin Mlg a hladin HLC resp. hladin polyklonálního IgM. Nicméně detailní analýza poukázala vysokou míru diferencí hladin, která byla výraznější se vzrůstající koncentrací Mlg. Vcelku uspokojivá míra shody byla v případě hodnot Mlg do 20 g/l, což je patrné z ilustrujících grafů. Hladiny HLC a polyklonálního IgM navíc mnohdy přesahovaly hladiny celkové bílkoviny séra. Lze tedy říci, že ačkoliv bylo dosaženo vysoké míry korelace metod, v případě vysokých koncentrací Mlg dochází k výraznému nadhodnocení výsledků nefelometrie i turbidimetrie, a tudíž stanovení hladin HLC a polyklonálního IgM nelze využít v diagnostice a sledování nemocných s Waldenströmovou makroglobulinémií.

## Závěr

Stanovení hladin Mlg IgM izotypu je často problematické, metody narážejí na četná úskalí. Zatím, v souladu se zavedenou praxí, zůstává standardní metodou stanovení IgM Mlg elektroforetické vyšetření séra. Nově dostupné stanovení HLC je spojeno s nadhodnocením výsledků ve vysokých koncentracích a elektroforézu nemůže nahradit. V souladu se zkušenostmi s analýzou jiných izotypů (IgG, IgA) se předpokládá využití systému HLC v oblasti nízkých koncentrací Mlg, zejména pak k posouzení hloubky dosažené remise či časnému zachytu relapsu/progrese onemocnění. Nicméně k definitivnímu určení využití systému HLC ve třídě IgM je potřeba dalších prací na rozsáhlejších souborech nemocných, a to zejména v podmínkách hodnocení hloubky léčebné odezvy, stability resp. nastupující progrese nemoci.

## Literatura

1. **Owen, R. G., Treon, S. P., Al-Katib, A. et al.** Clinico-pathological definition of Waldenström's macroglobulinemia: Consensus panel recommendations from the second international workshop on Waldenström's macroglobulinemia. *Semin. Oncol.*, 2003, 30, p. 110 - 115.
2. **Vijay, A., Gertz, M. A.** Waldenström macroglobulinemia. *Blood*, 2007, 109, p. 5096 - 5103.
3. **Gertz, M. A.** Waldenström macroglobulinemia: 2013 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am. J. Hematol.*, 2013, 88, p. 704 - 711.
4. **Ansell, S. M., Kyle, R. A., Reeder, C. B. et al.** Diagnosis and management of Waldenström macroglobulinemia: Mayo stratification of macroglobulinemia and risk-adapted therapy (mSMART) guidelines. *Mayo. Clin. Proc.*, 2010, 85, p. 824 - 833.
5. **Buske, C., Leblond, V.** How to manage Waldenström's macroglobulinemia. *Leukemia*, 2013, 27, p. 762 - 772.
6. **Kyle, R. A., Treon, S. P., Alexanian, R. et al.** Prognostic markers and criteria to initiate therapy in Waldenström's macroglobulinemia: consensus panel recommendations from the second international workshop on Waldenström's macroglobulinemia. *Semin. Oncol.*, 2003, 30, p. 116 - 120.
7. **Pika, T., Flodr, P., Novák, M. et al.** Klinická problematika IgM monoklonálních gamapatií. *Klin. Biochem. Metab.*, 2014, 22, p. 61 - 64.
8. **Kyle, R. A., Dispenzieri, A., Kumar, S., Larson, D., Therneau, T., Rajkumar, S. V.** IgM monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering Waldenström's macroglobulinemia (SWM). *Clin. Lymph. Myeloma*, 2011, 11, p. 74 - 76.
9. **Salkie, M. L.** A retrospective study of the relative utility of electrophoresis, immunoelectrophoresis, immunofixation, and nephelometry in the investigation of serum proteins. *Clin. Biochem.*, 1996, 29, p. 39 - 42.
10. **Bailey, D., Lem-Ragosnig, B., Chan, P. C.** Challenges in identifying some IgM monoclonal proteins by capillary serum protein electrophoresis. *Clin. Biochem.*, 2013, 46, p. 1776 - 1777.
11. **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.
12. **Paiva, B., Montes, M. C., Garcia-Sanz, R. et al.** Multiparameter flow cytometry for the identification of the Waldenström's clone in IgM-MGUS and Waldenström's macroglobulinemia: new criteria for differential diagnosis and risk stratification. *Leukemia*, 2014, 28, p. 166 - 173.
13. **De Tute, R. M., Rawstron, A. C., Owen, R. G.** Immunoglobulin M concentration in Waldenström macroglobulinemia: correlation with bone marrow B cells and plasma cells. *Clin. Lymph. Myeloma*, 2013, 13, p. 211 - 213.

14. **Tripsas, C. K., Patterson, C. J., Uljon, S. N., Lindenman, N. I., Turnbull, B., Treon, S. P.** Comparative response assessment by serum immunoglobulin M M-protein and total serum immunoglobulin M after treatment of patients with Waldenström macroglobulinemia. *Clin. Lymph. Myeloma*, 2013, 13, p. 250 – 252.
15. **Uljon, S. N., Treon, S. P., Tripsas, C. K., Lindenman, N. L.** Challenges with serum protein electrophoresis in assessing progression and clinical response in patients with Waldenström macroglobulinemia. *Clin. Lymph. Myeloma*, 2013, 13, p. 247 – 249.
16. **Koulieris, E., Kyrtsolis, M-C, Maltezas, M. et al.** Quantification of serum IgMκ and IgMλ in patients with Waldenström's macroglobulinemia (WM) at diagnosis and during disease course; clinical correlations. *Blood*, 2010, 116, Abstract 3004.
17. **Leleu, X. Koulieris, E., Maltezas, D. et al.** Novel M-component based biomarkers in Waldenström's macroglobulinemia. *Clin. Lymph. Myeloma*, 2011, 11, p. 164 – 167.

*S podporou grantu IGA ČR 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  
E-mail: tomas.pika@seznam.cz*