

Hodnocení proliferačního a apoptotického indexu plazmatických buněk v průběhu mnohočetného myelomu

J. Minařík¹, V. Ščudla¹, M. Ordeltová², J. Bačovský¹, M. Zemanová¹, T. Pika¹

¹ III. interní klinika Lékařské fakulty UP a FN Olomouc, přednosta prof. MUDr. Vlastimil Ščudla, CSc.

² Oddělení alergologie a klinické imunologie Lékařské fakulty UP a FN Olomouc, přednosta doc. MUDr. Jaromír Bystroň, CSc.

Souhrn: Úvod: Proliferační a apoptotický index patří mezi významné prognostické faktory mnohočetného myelomu (MM). Cílem studie bylo jejich hodnocení v průběhu MM z hlediska aktivity onemocnění a možného klinického využití. **Metodika:** Hodnocen byl soubor 120 nemocných, 49 při diagnóze, 36 v progresi a 35 ve fázi remise MM. Proliferační a apoptotický index byly posuzovány dle dosažené léčebné odezvy a u nemocných v remisi v porovnání s následnou progresí. Proliferační potenciál byl měřen pomocí propidium-jodidového indexu (PC-PI/CD₁₃₈), apoptóza pomocí anexinu-V (PC-AI/CD₁₃₈), vyhodnocených metodou průtokové cytometrie. **Výsledky:** V souboru 49 nově diagnostikovaných nemocných došlo při dosažení remise k poklesu PC-PI (M 2,9–2,1, $p < 0,0001$) a vzestupu PC-AI (M 4,7–8,6, $p < 0,0001$). U nemocných bez léčebné odezvy nebyl rozdíl v PC-PI ($p = \text{NS}$), zatímco PC-AI poklesl (M 6,2–3,9, $p = 0,004$). U 36 nemocných v progresi MM s léčebnou odezvou došlo k poklesu PC-PI (M 2,9–2,2, $p < 0,0001$) a nárůstu PC-AI (M 4,6–8,8, $p = 0,019$). Při nedosažení léčebné odezvy nebyl rozdíl v žádném z ukazatelů ($p = \text{NS}$). U 35 nemocných v remisi s rozvojem progresie narůstá PC-PI (M 2,3–2,7, $p < 0,0001$) a klesá PC-AI (M 8,3–4,2, $p < 0,0001$). **Závěr:** Ze studie vyplynulo, že sledování PC-PI a PC-AI v průběhu různých fází MM je přínosné z hlediska posouzení změn proliferační aktivity a stupně apoptózy myelomových buněk. Sledování obou parametrů umožňuje včas předvídat nastupující progresi onemocnění.

Klíčová slova: mnohočetný myelom – myelomové plasmocyty – proliferační index – apoptotický index – aktivita myelomu

Assessment of plasmatic cell proliferation and apoptosis indexes in the course of multiple myeloma

Summary: *Introduction:* The proliferation and apoptosis indexes are a significant prognostic factor in multiple myeloma (MM). The objective of the study was to assess the indexes in the course of MM from the point of view of the disease activity and potential clinical use. *Method:* A sample of 120 patients was studied, of which 49 at diagnosis, 36 in progression and 35 in remission. The proliferation and apoptosis indexes were assessed according to the achieved treatment response and were compared with subsequent progression in patients in remission. The proliferation potential was measured with the propidium-iodide index (PC-PI/CD₁₃₈), apoptosis was measured with annexin-V (PC-AI/CD₁₃₈), assessed by the method of flow cytometry. *Results:* The sample of 49 newly diagnosed patients recorded a decrease in PC-PI (M 2.9–2.1, $p < 0.0001$) and an increase in PC-AI (M 4.7–8.6, $p < 0.0001$) at remission. Patients without treatment response showed no difference in PC-PI ($p = \text{NS}$), while PC-AI decreased (M 6.2–3.9, $p = 0.004$). The sample of 36 patients in MM progression with treatment response recorded a decrease in PC-PI (M 2.9–2.2, $p < 0.0001$) and an increase in PC-AI (M 4.6–8.8, $p < 0.019$). There was no difference in any of the indicators ($p = \text{NS}$) in cases with zero treatment response. 35 patients in remission with developing progression recorded an increase in PC-PI (M 2.3–2.7, $p < 0.0001$) and a decrease in PC-AI (M 8.3–4.2, $p < 0.0001$). *Conclusion:* The study has shown that monitoring PC-PI and PC-AI in the course of different phases of MM is beneficial from the point of view of the assessment of changes in the proliferation activity and the degree of apoptosis of myeloma cells. Monitoring the two parameters allows for timely prediction of disease progression.

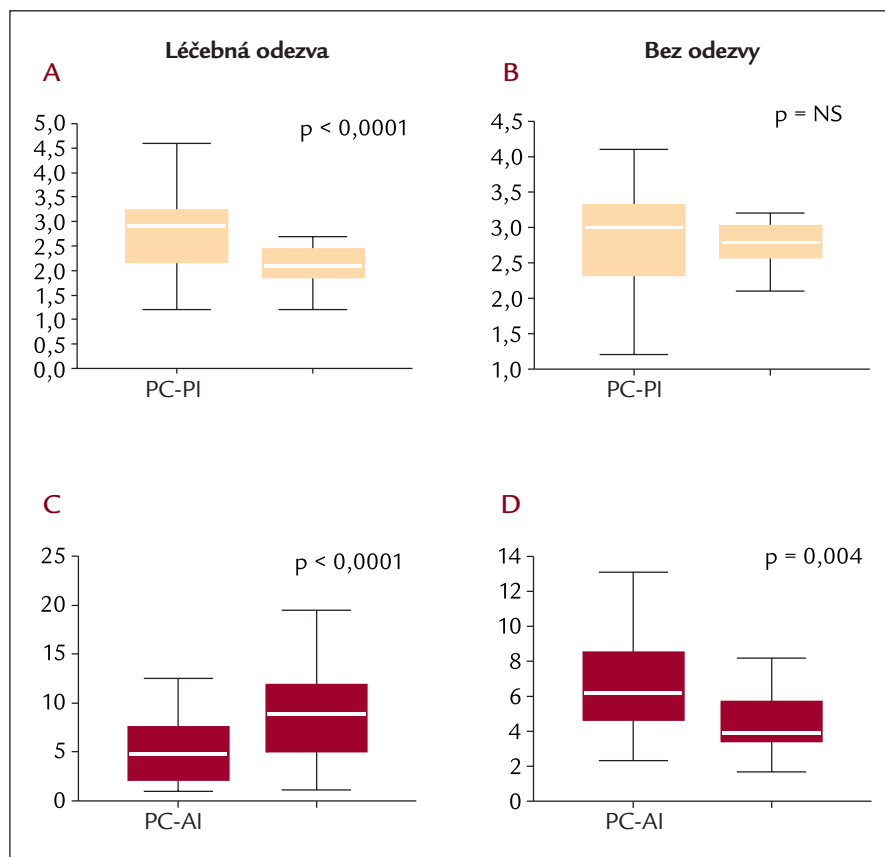
Keywords: multiple myeloma – myeloma plasmocytes – proliferation index – apoptosis index – myeloma activity

Úvod

Hodnocení prognostických faktorů hraje u mnohočetného myelomu (MM) stěžejní roli při stanovení závažnosti onemocnění a umožňuje bližší posouzení individuálního charakteru a tíže nemoci. Standardně používané prognostické faktory (sérové hodnoty β -2-mikroglobulinu, ty-

midinkinázy, albuminu, cytogenetické změny aj) odrážejí především aktuální stav onemocnění, tj. velikost nádorové masy, agresivitu nemoci, případně rozsah poškození tkání, méně však vypovídají o vlastním průběhu onemocnění a změnách růstových nebo proliferačních vlastností nádorové tkáně [1–3].

Předložená studie je zaměřena na hodnocení dvou biologických parametrů plazmatických buněk, proliferačního indexu (propidium-jodidového, PC-PI/CD₁₃₈) a indexu apoptózy (anexin-V index, PC-AI/CD₁₃₈) myelomových plasmocytů. Oba parametry přispívají k hodnocení vnitřních biologických vlastností nádorového klonu a zejména



Graf 1. Srovnání proliferačního (PC-PI) a apoptotického (PC-AI) indexu plazmatických buněk při diagnóze mnohočetného myelomu. Ve skupině nemocných s mnohočetným myelomem při diagnóze onemocnění ($n = 49$) dochází u nemocných s léčebnou odezvou ($n = 30$) k signifikantnímu poklesu proliferační (A) spolu s vzestupem apoptózy (C), zatímco u nemocných s chybějící léčebnou odezvou ($n = 19$) nedochází ke změně proliferačního indexu (B), zatímco apoptóza významně klesá (D).

PC-PI – propidium jodidový (proliferační) index plazmatických buněk, PC-AI – annexin-V (apoptotický) index plazmatických buněk

proliferační index je v současnosti považován za stěžejní prognostický faktor MM [4–17], zatímco o výpovědní schopnosti apoptotických vlastností myelomové populace je prozatím jen omezený počet zpráv [11–13,16,17]. Předností obou hodnocených parametrů je okolnost, že nejsou pouze stacionárními ukazateli, ale odrážejí dynamiku vnitřních změn myelomové populace. Bezprostřední náplní studie bylo zhodnocení změn obou uvedených indexů v různých fázích MM, s posouzením jejich vztahu ke klinické aktivitě onemocnění.

Soubor nemocných a metodika

Byla hodnocena sestava 120 nemocných s MM ve věku 44–85 let (me-

dián 66 let), 58 mužů (48 %) a 62 žen (52 %), splňujících EBMT kritéria nemoci [18]. V aktivní fázi MM bylo 85 pacientů (71 %), z toho 49 vyšetřených při diagnóze a 36 v období progresu a/nebo relapsu onemocnění. Dle výsledku léčby byli nemocní rozděleni na skupinu s léčebnou odezvou (dosažení alespoň parciální remise dle EBMT kritérií [20]) a na skupinu bez dosažení léčebné odezvy. Skupina 35 nemocných byla vyšetřena ve fázi remise onemocnění dosažené předchozí chemoterapií a v období progresu/relapsu nemoci.

V analyzovaném souboru byla použita jednak konvenční chemoterapie (režimy VAD, MP, VBMCP, CyVAD

a CIDex) u 66 nemocných (55 %) a jednak vysokodávkovaná chemoterapie s podporou autologní transplantace periferních kmenových buněk (54 nemocných, 45 %). Nemocní léčení nově zavedenými léky s biologickým účinkem (talidomid, bortezomib) nebyli do souboru zařazeni z důvodu mechanismu účinku těchto léků, který na rozdíl od standardních režimů zahrnuje významný podíl indukce apoptózy a působení přes kaskádu cytokinů, které ovlivňují i proliferační charakteristiky myelomových plazmocytů [2,21–23]. Tato skupina bude ještě předmětem bližšího zkoumání.

Proliferační aktivita plazmatických buněk byla hodnocena z aspirátu kostní dřeně pomocí propidium-jodidového indexu, měřeného metodou průtokové cytometrie (DNA – Prep Reagents Kit, Coulter, software Multicycle firmy Phoenix), při níž naměřené hodnoty odrážejí procentuální zastoupení plazmatických buněk v S-fázi buněčného cyklu. Byla využita technika dvojího barvení, přičemž plazmatické buňky byly identifikovány pomocí monoklonální protilátky proti syndekanu-1 (CD_{138}) a S-fáze vyhodnocena po inkorporaci propidium-jodidu do jaderné DNA. Průměrný počet buněk hodnocených s pomocí průtokové cytometrie byl 2 000–4 000. Stupeň apoptózy myelomových buněk byl měřen pomocí indexu annexinu-V metodou průtokové cytometrie. Po separaci aspirátu kostní dřeně a identifikaci plazmatických buněk s pomocí monoklonální protilátky anti- CD_{138} (CD_{138} PE, Biotec), byly buňky inkubovány, promyty PBS (phosphate-buffered saline) a resuspendovány v roztoku. K detekci exprese molekul fosfatidylserinu na povrchu apoptotických buněk byl následně použit annexin-V FITC kit (Immunotech, Marseille).

Ke statistickému vyhodnocení byl použit Studentův t-test, ANOVA a ne-parametrický test dle Manna-Whitneye, na hladině statistické významnosti $p < 0,05$.

Výsledky

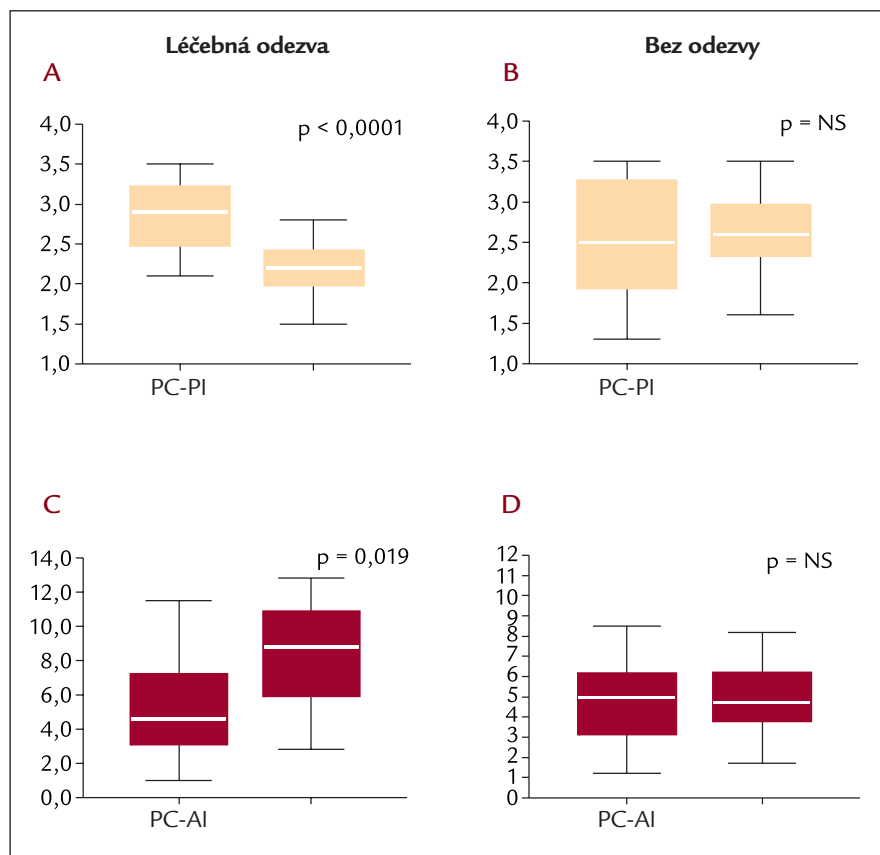
Ve skupině nemocných hodnocených při diagnóze MM ($n = 49$) došlo v souboru pacientů s léčebnou odezvou ($n = 30$) ke statisticky významnému poklesu hodnoty indexu PC-PI ($M\ 2,9-2,1$, $p < 0,0001$) a současně k vzestupu PC-AI ($M\ 4,7-8,6$, $p < 0,0001$). Ve skupině 19 nemocných, u nichž nedošlo k dosažení léčebné odezvy, zůstala hodnota indexu PC-PI vysoká ($M\ 2,5-2,6$, $p = 0,756$), zatímco index PC-AI statisticky významně poklesl ($M\ 6,2-3,9$, $p = 0,004$), graf 1.

Ve skupině 36 nemocných vyšetřených v období progresu a/nebo relapsu onemocnění byl zaznamenán v souboru 17 nemocných s léčebnou odezvou pokles PC-PI ($M\ 2,9-2,2$, $p < 0,0001$) spolu se vzestupem PC-AI ($M\ 4,6-8,8$, $p = 0,019$). U zbývajících 19 nemocných, kteří nedosáhli léčebné odezvy, nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl v hodnotách indexu PC-PI ($M\ 3,0-2,8$, $p = 0,730$) ani PC-AI ($M\ 5,0-4,7$, $p = 0,497$), graf 2.

Ve skupině 35 nemocných hodnocených ve stabilní/plateau fázi onemocnění byl zaznamenán při vyšetření v období následné progresu opačný trend, tj. při přechodu z remise do aktivní fáze MM došlo k významnému vzestupu indexu PC-PI ($M\ 2,3-2,7$, $p < 0,0001$) a současněmu poklesu indexu PC-AI ($M\ 8,3-4,2$, $p < 0,0001$), graf 3.

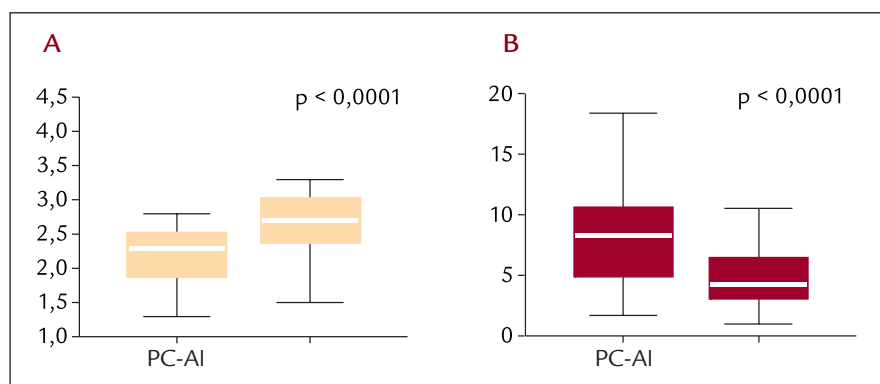
Diskuse

Hodnocení proliferačního potenciálu plazmatických buněk u MM je dlouhodobě uznávanou, ale v klinické praxi všeobecně málo využívanou charakteristikou, a to i přes její jednoznačný a významný vztah k prognóze onemocnění [5–19]. V řadě prací byl prokázán vztah vysokých hodnot proliferačního potenciálu při diagnóze MM a nepříznivé prognózy, naopak nízké hodnoty proliferace značily prognózu příznivou [7,8,10,11,13]. Teprve zavedení propidium-jodidového indexu (PC-PI) přineslo technicky poměrně



Graf 2. Srovnání proliferačního (PC-PI) a apoptotického (PC-AI) indexu plazmatických buněk při progresi/relapsu mnohočetného myelomu. Ve skupině nemocných s mnohočetným myelomem při progresi/relapsu onemocnění ($n = 36$) dochází u nemocných s léčebnou odezvou ($n = 17$) k signifikantnímu poklesu proliferace (A) spolu s vzestupem apoptózy (C), zatímco u nemocných s chybějící léčebnou odezvou ($n = 19$) nedochází ke změně proliferačního indexu (B), ani indexu apoptózy (D).

PC-PI – propidium jodidový (proliferační) index plazmatických buněk. PC-AI – annexin-V (apoptotický) index plazmatických buněk



Graf 3. Srovnání proliferačního (PC-PI) a apoptotického (PC-AI) indexu u nemocných s mnohočetným myelomem v remisi a následně progresi onemocnění. Ve skupině nemocných hodnocených nejprve ve stabilní fázi (v dlouhodobé remisi) a následně při progresi/relapsu mnohočetného myelomu dochází k současněmu vzestupu proliferace (A) a poklesu apoptózy (B) myelomových plazmocytů.

PC-PI – propidium jodidový (proliferační) index plazmatických buněk, PC-AI – annexin-V (apoptotický) index plazmatických buněk

snadnou, rychlou a ekonomicky dostupnou metodu hodnocení proliferační aktivity myelomových buněk [12, 14, 15].

Některá z předchozích sdělení kladla proliferační potenciál na přední místo mezi ostatními prognostickými faktory [10, 24, 25], byly dokonce navrženy i stážovací systémy MM založené na hodnotě proliferačního potenciálu [9, 26]. Nárůst proliferačního potenciálu byl v souladu se závěry vyplývajícími z předložené studie spojován se ztrátou plateau fáze onemocnění a jako odraz aktivity MM [10], nebo jako faktor progresse onemocnění u chemorezistentní nádorové populace [6]. Na rozdíl od většiny konvenčních ukazatelů však vykazuje PC-PI právě dynamiku odpovídající aktuální biologické aktivitě onemocnění, jeho sledování proto přispívá k posouzení budoucího průběhu MM. U původně aktivní formy onemocnění lze při poklesu PC-PI předpokládat dobrou léčebnou odpověď, naopak přetrvávající vysoké hodnoty signalizují nedostatečný léčebný efekt a nepříznivý průběh choroby. Vzestup PC-PI v období stabilní fáze MM napomáhá k podchycení nastupující progresse a/nebo relapsu onemocnění.

Hodnocením apoptotického indexu myelomových plazmocytů se doposud zabývalo poměrně málo klinicky orientovaných studií [11–17]. Byl zaznamenán vztah k prognóze onemocnění, při němž odlišovala nízká hodnota apoptózy skupinu s nepříznivou prognózou a vysoká hodnota oddělovala nemocné s prognózou příznivou [11, 13, 16]. Dosud však nebyla cíleněji diskutována otázka kinetiky PC-AI ve vztahu ke klinické aktivitě MM. V předložené studii byl obdobně jako v případě hodnocení indexu proliferace prokázán také u indexu PC-AI význam pro hodnocení změn aktivity MM v průběhu onemocnění. Bylo zjištěno, že v případě dosažení léčebné odezvy PC-AI narůstá, zatímco u refrakterní formy choroby zůstávají hodnoty

nízké a v případě vzestupu aktivity MM dochází naopak k poklesu PC-AI.

Stejně jako v předchozích sděleních vzešlých z našeho pracoviště byla ověřena koncepce inverzního recipročního vztahu mezi stupněm proliferace a apoptózy myelomových plazmocytů [12]. Nutno ovšem poznamenat, že uvedený vztah má platnost všeobecnou, a nikoliv pro všechny vyšetřené jedince. Byli pozorováni i nemocní, u nichž docházelo izolovaně k významné změně pouze jednoho parametru, nebo se oba indexy chovaly dokonce souhlasně – tedy nemocní, u nichž narůstal index proliferace myelomových buněk bez poklesu, či dokonce s nárůstem indexu apoptózy, nebo nemocní, u nichž docházelo ke změně hodnoty apoptotického indexu bez očekávané změny ve výši indexu proliferace. Je nasnadě, že tato podskupina nemocných bude po dostatečném rozšíření souboru blíže analyzována.

Srovnání grafického vyjádření indexů proliferace a apoptózy prokázalo jisté překrývání mezních hodnot obou parametrů v různých fázích průběhu MM, a to zřetelnější u indexu apoptózy. Příčinou je zřejmě okolnost, že v procesu apoptózy se uplatňuje řada vnitřních i vnějších vlivů, nezávislých na kinetických vlastnostech myelomových plazmocytů, podílejících se na zahájení programované buněčné smrti myelomových buněk [27]. Nelze opomenout ani vliv podané chemoterapie, kdy „radikálnější“ léčba více potlačí aktivní maligní klon než léčba „mírná“, u které přežívá vyšší procento aktivních buněk (tedy buněk s vysokou proliferací a nízkou apoptózou) [2, 25].

Za významný přínos hodnocení stupně proliferace a apoptózy myelomových plazmocytů lze považovat posouzení tzv. „hraničních stavů“, kdy konvenční kritéria nepostačují k definitivnímu hodnocení aktivity nemoci. Využití PC-PI a PC-AI v rámci prognostické, případně i terapeutické rozvahy podstatně přispívá k posouzení vnitřní biologické aktivity ma-

linního klonu. V případě dlouhodobého sledování nemocných, kteří dosáhli částečné remise, může hodnocení kinetiky myelomových plazmocytů významně přispět k podchycení incipientní progresse MM.

Propidium-jodidový a anexin-V index jsou samozřejmě pouze jednou z mnoha metod hodnocení stupně proliferace a apoptózy myelomových buněk. K hodnocení buněčné proliferace byl v minulosti používán např. H3-tymidinový a/nebo bromdeoxyuridinový index či index Ki-67, v posledních letech stupeň exprese cyklinu D1, v případě apoptózy například hodnocení pomocí 7-AAD, TUNEL, buněčné exprese kaspáz [5–7, 10, 17, 27, 28]. V podmínkách klinické praxe se ale jeví jako velmi efektivní, dostupná, rychlá a technicky poměrně nenáročná metoda hodnocení indexů PC-PI a PC-AI pomocí průtokové cytometrie.

Z předložené studie vyplývá, že vyšetřování PC-PI a PC-AI v různých fázích MM významně obohacuje dosavadní škálu používaných testů a přispívá i k posouzení průběhu z pohledu aktivity či stability nemoci. Jedná se tedy o metodiky, které mají reálné předpoklady, aby se staly součástí standardního vyšetřovacího algoritmu nemocných vyšetřených na specializovaných pracovištích pro diagnostiku a léčbu MM [29].

Longitudinální sledování proliferačních a apoptotických vlastností myelomových plazmocytů v různých fázích mnohočetného myelomu prokázalo intimní vztah obou sledovaných kinetických charakteristik mezi klinickým obrazem a vývojem nemoci. Prokázalo, že procesy proliferace a apoptózy patří k zásadním vnitřním vlastnostem myelomových buněk, uplatňujících se rozhodujícím způsobem na vývoji MM. Jejich bližší sledování umožňuje širší pohled na chování myelomové populace v průběhu MM, čímž přispívá k posouzení charakteru nádorového procesu v dané fázi průběhu onemocnění.

Hodnocení obou parametrů má reálný předpoklad pro uplatnění v klinické praxi. Z předložené práce vyplývá, že pravidelné sledování obou kinetických parametrů významně napomáhá k posouzení aktivity MM, je tedy vhodným doplňkovým vyšetřením zejména při posuzování nastupující progresse onemocnění. Jeho rutinní sledování v úvodu léčby navíc může potenciálně přispívat k hodnocení efektu podané chemoterapie a tak ke stanovení následného terapeutického plánu.

Podpořeno grantem IGA MZ ČR 9500-3.

Literatura

- Caligaris-Cappio F. Biology of the malignant plasma cell. In: Wiernik PH, Goldman JM, Dutcher JP et al. Neoplastic Diseases of the Blood. 4th ed. Cambridge: University Press 2003: 58–73.
- Desikan R, Jagannath S, Richardson P et al. Multiple myeloma and other plasma cell dyscrasias. In: Pazdur R, Coia LR, Hoskins WJ et al (eds). Cancer Management: A Multidisciplinary Approach. 8th ed. Manhasset (NY): CMP Healthcare Media 2004: 727–745.
- Greipp PR, Kyle RA Staging, Kinetics and Prognosis in Multiple myeloma. In: Wiernik PH, Goldman JM, Dutcher JP et al. Neoplastic Diseases of the Blood. 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press 2003: 488–501.
- Vacca A, Ribatti D, Roncali L et al. Angiogenesis in B Cell Lymphoproliferative Diseases. Biological and Clinical Studies. Leuk Lymphoma 1995; 20: 27–38.
- Boccadoro M, Gavarotti P, Fossati G et al. Low plasma cell 3(H) thymidine incorporation in monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS), smoldering myeloma and remission phase myeloma: a reliable indicator of patients not requiring therapy. Brit J Haematol 1984; 58: 689–96.
- Girino M, Riccardi A, Luoni R et al. Monoclonal antibody Ki-67 as a marker of proliferative activity in monoclonal gammopathies. Acta Haematol 1991; 85: 26–30.
- Greipp PR, Katzmann JA, O'Fallon M et al. Value of β -2-microglobulin level and plasma cell labeling indices as prognostic factors in patients with newly diagnosed myeloma. Blood 1988; 72: 219–223.
- San Miguel JF, García-Sanz R Multiple myeloma: differential diagnosis and prognosis. In: Wiernik PH, Goldman JM, Dutcher JP et al. Neoplastic Diseases of the Blood. 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press 2003: 179–199.
- Greipp PR, Kyle RA. Clinical, morphological and cell kinetic differences among multiple myeloma, monoclonal gammopathy of undetermined significance, and smoldering multiple myeloma. Blood 1983; 62: 166–171.
- Joshua D, Petersen A, Brown R et al. The labeling index of primitive plasma cells determines the clinical behaviour of patients with myelomatosis. Brit J Haematol 1996; 94: 76–81.
- Minařík J, Ščudla V, Ordeltová M et al. Evaluation of plasma cell propidium iodide and annexin-V indices: their relation to prognosis in multiple myeloma. Biomed Pap 2005; 34: 81–84.
- Scudla V, Ordeltova M, Bacovsky J et al. The relationship between proliferation and apoptosis in patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance or multiple myeloma. Haematologica 2005; 90: 1713–1714.
- Scudla V, Ordeltova M, Minarik J et al. Prognostic significance of plasma cell propidium iodide and annexin-V indices and their mutual ratio in multiple myeloma. Neoplasma 2006; 53: 199–205.
- Ščudla V, Ordeltová M, Bačovský J et al. Vyšetření bromdeoxyuridinového indexu u mnohočetného myelomu. I. Vztah k vybraným laboratorním ukazatelům nemoci. Vnitř Lék 1996; 42: 458–463.
- Ščudla V, Ordeltová M. Vyšetření proliferčních charakteristik u mnohočetného myelomu. II. Vztah ke klinickým a laboratorním ukazatelům nemoci. Hematolgia a transfuziologie 1998; 4: 22–28.
- Witzig TE, Timm M, Larson D et al. Measurement of apoptosis and proliferation of bone marrow plasma cells in patients with plasma cell proliferative disorders. Brit J Haematol 1999; 104: 131–137.
- Xu JL, Lai R, Kinoshita T et al. Proliferation, apoptosis, and intratumoral vascularity in multiple myeloma: correlation with the clinical stage and cytological grade. J Clin Pathol 2002; 55: 530–534.
- Maisnar V, Toušková M, Malý J et al. Význam vybraných laboratorních ukazatelů pro diferenciální diagnostiku a sledování aktivity mnohočetného myelomu. Vnitř Lék 2002; 48: 290–297.
- Fabian P, Křen L, Nenutil R. Assessment of proliferative activity of plasma cells in multiple myeloma. Čes Slov Patol 2004; 39: 46–49.
- Blade J, Samson D, Reece D et al. Criteria for evaluating disease response and progression in patients with multiple myeloma treated by high-dose therapy and haemopoietic stem cell transplantation. Myeloma Subcommittee of the EBMT. European Group for Blood and Marrow Transplant. Brit J Haematol 1998; 102: 1115–1123.
- Davies FE, Anderson KC. Novel therapeutic targets in multiple myeloma. Eur J Hematol 2000; 64: 359–367.
- Špička I, Hájek R, Vytřasová M et al. Inhibitor proteazomu – bortezomib (Velcade) – v léčbě refrakterního mnohočetného myelomu. První zkušenosti v České republice. Čas Lék Čes 2005; 144: 636–640.
- Hájek R, Pour L. Bortezomib. Farmakoterapie 2005; 1: 19–21.
- Greipp PR, Witzig TE, Gonchoroff NJ et al. Immunofluorescence labeling indices in myeloma and related monoclonal gammopathies. Mayo Clin Proc 1987; 62: 969–977.
- San Miguel JF, Garcia-Sanz R, Gonzales M et al. DNA Cell Content Studies In Multiple Myeloma. Leuk Lymphoma 1996; 23: 33–41.
- San Miguel JF, Garcia-Sanz R, Gonzales M et al. A New Staging System for Multiple Myeloma Based on the Number of S-Phase Plasma Cells. Blood 1995; 85: 448–455.
- Greipp PR, Lust JA, O'Fallon WM et al. Plasma cell labeling index and β -2-microglobulin predict survival independent of thymidine kinase and C-reactive protein in multiple myeloma. Blood 1993; 18: 3382–3387.
- Durie BGM, Salmon SE, Moon TEP Pretreatment tumor mass, cell kinetics, and prognosis in multiple myeloma. Blood 1980; 55: 364–371.
- Adam Z, Bednařík J, Neunauer J et al. Mnohočetný myelom a diferenciální diagnostika bolestí páteře. Doporučení České myelomové skupiny pro včasné vyslovení podezření na mnohočetný myelom a pro včasnou diagnostiku této choroby. Prakt Lék 2006; 86: 396–410.

MUDr. Jiří Minařík

www.fnol.cz

e-mail: abretina@email.cz

Doručeno do redakce: 30. 7. 2007

Přijato po recenzi: 30. 9. 2007