

Srovnání sérových hladin párů těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinu (Hevylite™) a analýza parametrů kostního metabolismu u nemocných s mnohočetným myelomem

Krhovská P.¹, Heřmanová Z.², Petrová P.³, Zapletalová J.⁴, Pika T.¹, Bačovský J.¹, Ščudla V.¹, Minařík J.¹

¹Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

²Ústav imunologie, LF UP a FN Olomouc

³Oddělení klinické biochemie FN a LF UP Olomouc

⁴Ústav lékařské biofyziky, LF UP Olomouc

SOUHRN

Cíl studie: Cílem hodnocení bylo srovnání sérových hladin párů těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinu (HLC) s parametry signálních drah myelomové kostní nemoci (MKN) u nemocných s mnohočetným myelomem (MM).

Materiál a metody: Analyzovaný soubor sestával z 55 pacientů s nově diagnostikovaným mnohočetným myelomem, z toho 37 s přítomností M-proteinu IgG a 18 s přítomností M-proteinu IgA. U všech pacientů byly v době diagnózy hodnoceny sérové hladiny párů těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinu (metodou Hevylite™) a poměr dominantního/nedominantního těžkého řetězce (HLC-r) ve vztahu k sérovým hladinám ukazatelů myelomové kostní nemoci (MKN) a mikroprostředí kostní dřene: hepatocytárnímu růstovému faktoru (HGF), zánětlivému makrofágovému faktoru 1 α (MIP-1 α), syndekanu-1/CD138 (SYN), Dickkopf-1-proteinu (DKK-1), osteoprotegerinu (OPG), Activinu A, Annexinu A2, nukleárnímu faktoru kappa B (NF- κ B) a také ve vztahu k rozsahu choroby hodnocenému dle Durie-Salmon stážovacího systému (D-S).

Výsledky: Sérové hladiny párů těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinu pozitivně korelovaly se dvěma parametry mikroprostředí kostní dřene. Byl zjištěn vztah mezi hodnotami HLC IgG- κ i HLC-r a HGF (korelační koeficient - $r=0,424$, $p=0,044$) a dále vztah mezi hodnotami HLC IgA- κ i HLC-r a OPG ($r=0,697$, $p=0,025$). Ostatní ukazatele MKN byly na hladinách HLC nezávislé a nebyl prokázán ani vztah k rozsahu onemocnění hodnocenému dle D-S.

Závěr: Metoda Hevylite™ patří mezi perspektivní pomocná diagnostická vyšetření u mnohočetného myelomu. Naše výsledky dokladují vztah sérových hladin HLC k vybraným ukazatelům kostního metabolismu nezávislé na rozsahu onemocnění. Stanovení HLC se proto jeví i jako vhodný doplňkový parametr se vztahem k myelomové kostní nemoci.

Klíčová slova: mnohočetný myelom, hladiny párů těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinu, páry těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinu, Hevylite, myelomová kostní nemoc, ukazatele mikroprostředí kostní dřene.

SUMMARY

Krhovská P., Heřmanová Z., Petrová P., Zapletalová J., Pika T., Bačovský J., Ščudla V., Minařík J.: Comparison of the serum levels of heavy/light chain pairs of immunoglobulin (Hevylite™) and analysis of parameters of bone metabolism in patients with multiple myeloma.

Objective: Our aim was to assess serum levels of heavy/light chain pairs of immunoglobulin (HLC) and to compare them with the parameters of myeloma bone disease (MBD) signaling in patients with multiple myeloma (MM).

Materials and methods: Our 55 patients cohort consisted of patients with newly diagnosed multiple myeloma, 37 with the presence of M-protein IgG and 18 with the presence of M-protein IgA. At the time of diagnosis we measured serum levels of heavy/light chain pairs of immunoglobulin (using Hevylite™ technique) and involved/uninvolved heavy chain ratio (HLC-r) in comparison with serum levels of parameters of MBD signaling and bone marrow microenvironment: Hepatocyte growth factor (HGF), Macrophage inflammatory factor 1 (MIP-1), syndecan-1/CD138 (SYN), Dickkopf-1-related protein (DKK-1), osteoprotegerin (OPG), Activin A, Annexin A2, Nuclear factor kappa B (NF- κ B). We also investigated the relationship between the level of HLC and the extent of MM evaluated by Durie-Salmon staging system (D-S).

Results: Serum levels of heavy/light chain pairs of immunoglobulin were found to correlate with some parameters of bone microenvironment: We found significant relationship of HLC IgG- κ and HLC-r to HGF (correlation coefficient - $cc=0.424$, $p=0.044$) and also the relationship between HLC IgA- κ and HLC-r to OPG ($cc=0.697$, $p=0.025$). All the other parameters of MBD were independent of HLC levels, and there was no relationship of HLC levels to the extent of MM assessed by D-S.

Conclusion: Hevylite™ method is a perspective auxiliary diagnostic test in multiple myeloma. Our results document the relationship of serum levels of HLC and selected indicators of MBD independent of the extent on the disease. The assessment of HLC therefore seems to be a promising tool also for the assessment of the relationship to myeloma bone disease.

Keywords: multiple myeloma, levels of heavy/light chains of immunoglobulin, pairs of heavy/light chains of immunoglobulin, Hevylite, myeloma bone disease, bone marrow microenvironment.

Úvod

Mnohočetný myelom (MM) je zhoubné onemocnění způsobené nekontrolovanou proliferací a akumulací patologicky změněných plazmatických buněk (terminálně diferencovaných B-lymfocytů) s produkcí monoklonálního imunoglobulinu (Mlg) detekovatelného v séru a/nebo v moči, doprovázené MDE (myeloma defining events), mezi něž patří příznaky orgánového postižení CRAB (C-hyperkalcémie, R-renální postižení, A-anémie, B-postižení skeletu resp. „bone disease“) a nově též tři tzv. „biomarkery malignity“ (zastoupení klonálních plazmatických buněk v kostní dřeni ≥ 60 , poměr dominantního a nedominantního lehkého řetězce >100 , >1 fokální léze větší než 5 mm na magnetické rezonanci) [1].

Jedním z hlavních projevů onemocnění je myelomová kostní nemoc (MKN), projevující se v různém rozsahu od osteoporózy, až po výrazné rozsáhlé postižení skeletu osteolytickými ložisky, případně i s přítomností patologických fraktur. MKN je způsobená nerovnováhou mezi osteoresorpcí a kostní novotvorbou a má zásadní vztah k morbiditě i mortalitě pacientů s mnohočetným myelomem [2,3].

V současnosti se mezi perspektivní metodiky při posuzování MM začíná řadit stanovování sérových hladin párů těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinu. Hevylite™ je nová pomocná nefelometrická, popřípadě turbidimetrická metoda, která využívá specifické polyklonální protilátky zaměřené na junkční epitopy umístěné mezi konstantními oblastmi těžkých a lehkých řetězců molekul imunoglobulinu. To umožňuje přesnou kvantifikaci jak dominantního monoklonálního imunoglobulinu (involved), tak polyklonálního „nenádorového“ imunoglobulinu (non-involved) a tedy i určení míry imunoparézy [4-6]. Stejně jako u ukazatelů MKN byl i při hodnocení HLC prokázán vztah mezi sérovými hladinami HLC a celkovou dobou přežití [7,8]. Cílem našeho hodnocení bylo posoudit potenciální vztah mezi hladinami HLC a rozsahem onemocnění a také mezi hladinami HLC a parametry signálních drah MKN.

Pacienti a metody

Analýzovaným souborem bylo 55 pacientů s nově diagnostikovaným mnohočetným myelomem splňujících IMWG kritéria nemoci [1]. Celkem bylo 37 jedinců s monoklonálním imunoglobulinem (Mlg) IgG a 18 s Mlg typu IgA. Věkový medián nemocných byl 67 (41-85) let, poměr M:Ž 1,03:1,0. Rozsah onemocnění byl hodnocen pomocí stážovacího systému dle Durie-Salmona [9]. Z hlediska pokročilosti MM dle stážovacího systému Durie-Salmon bylo stádium I zastoupeno v 16 % (N=9) pacientů, stádium II ve 20 % (N=11) a stádium III v 64 % (N=35), podstádium B bylo zastoupeno v 15 % (N=8) (Tabulka 1). Vzhledem k výsledkům předešlých studií, kdy byly srovnávány zvláště hladiny Hevylite™ u pacientů s Mlg IgA a IgG především z důvodu odlišného biologického chování jednotlivých typů parapro-

Table 1: Basic characteristics of the analyzed group of patients with multiple myeloma

Age (Years)	67 (41 - 85)
Sex (M/F)	1.03 : 1.0
Mlg Type (IgG/IgA)	37 : 18
Durie-Salmon Stage:	
1	9 (16.36 %)
2	11 (20 %)
3	35 (63.64 %)
Substage: B	8 (14.54 %)

M – men, F – female

Mlg – monoclonal immunoglobulin

teinu, jsme i v našem sledování jednotlivě Mlg hodnotili zvlášť [10].

U všech pacientů byly v době diagnózy hodnoceny sérové hladiny párů těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinu metodou Hevylite™ a sérové ukazatele myelomové kostní nemoci.

Sérové hladiny HLC byly analyzovány použitím turbidimetru SPA plus firmy Binding Site a soupravy Hevylite™ Human IgG kappa (normální rozmezí-NR: 3,84 až 12,07 g/l), IgG lambda (NR: 1,91 – 6,74 g/l), IgA kappa (NR: 0,57 – 2,08 g/l) a IgA lambda (NR: 0,44 – 2,04 g/l). Vzájemný poměr párů těžkých řetězců izotypů IgG a IgA Ig byl určen výpočtem.

Ze sérových ukazatelů myelomové kostní nemoci byly posuzovány:

hepatocytární růstový faktor (HGF), zánětlivý makrofágový faktor 1 α (MIP-1 α), syndekan-1/CD138 (SYN), Dickkopf- related protein 1 (DKK-1), nukleární faktor kappa B (NF- κ B), activin A a annexin A2 metodou kvantitativní sendvičové enzymatické imunoeseje, osteoprotegerin (OPG) metodou enzymoimunoeseje. K hodnocení byl použit přístroj Evolis firmy BIO-RAD. K analýze dat byl použit statistický software IBM SPSS Statistics 22 (USA). Závislost mezi Hevylite™ a kostními markery byla analyzována pomocí Spearmanovy korelační analýzy. Závislost mezi Hevylite™ a stádiem DS byla posouzena pomocí Kruskal-Wallisova testu, na hladině statistické významnosti $p < 0,05$.

Výsledky

V rámci korelace sérových hladin HLC k ukazatelům MKN byla zjištěna pozitivní korelace mezi hodnotami HLC IgG kappa a HLC- r ve třídě IgG k parametru HGF (korelační koeficient - $r=0,424$, $p=0,044$), (obr. 1). Ve třídě IgA byla zjištěna pozitivní korelace mezi hodnotami HLC IgA kappa i HLC-r k OPG ($r=0,697$, $p=0,025$), (obr. 2). U ostatních ukazatelů MKN nebyl prokázán statisticky signifikantní vztah k hladinám HLC v žádném z posuzovaných izotypů (IgG ani IgA) včetně poměru HLC-r.

Mezi rozsahem choroby hodnoceným dle D-S stážování a sérovými hladinami HLC nebyl prokázán statisticky signifikantní vztah, a to včetně posouzení korelace HLC třídy IgG kappa a stážováním dle Durie-Salmon klasifikace ($p=0,446$) a IgG lambda a stážováním dle Durie-Salmon ($p=0,360$), ani mezi stážováním Durie-Salmon a IgA κ a IgA λ ($p=0,293$, resp. $p=0,100$).

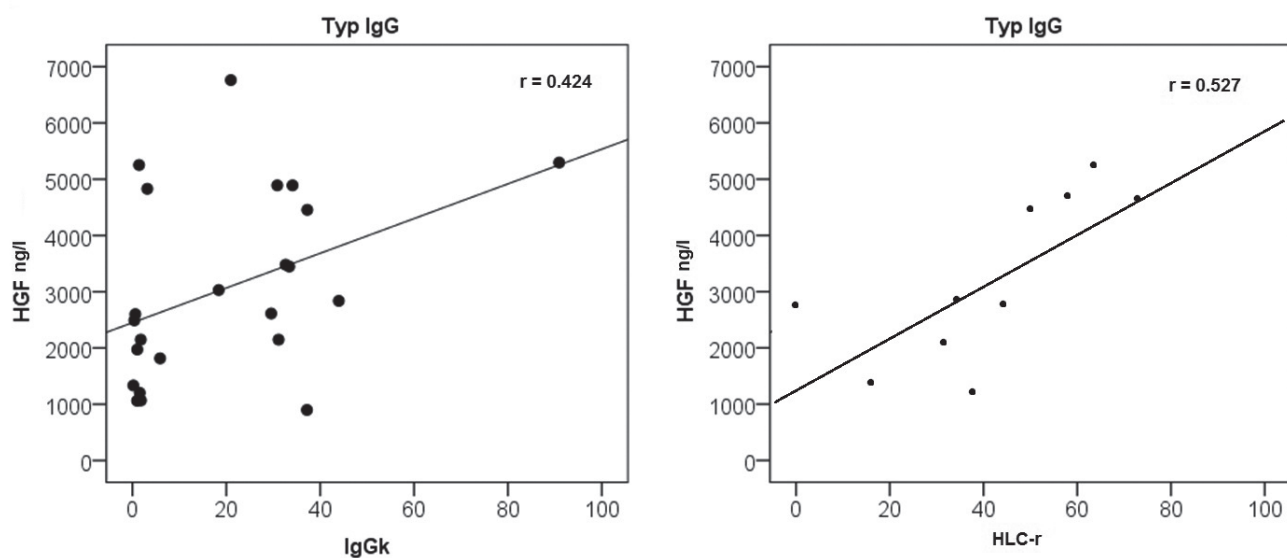


Fig. 1 Graphical display of the relationship between HLC IgG-k and HGF ($r=0.424$, $p=0.044$) and HLC-r ($r=0.527$, $p=0.023$) in patients with IgG multiple myeloma

HLC: Hevylite

HGF: Hepatocyte Growth Factor

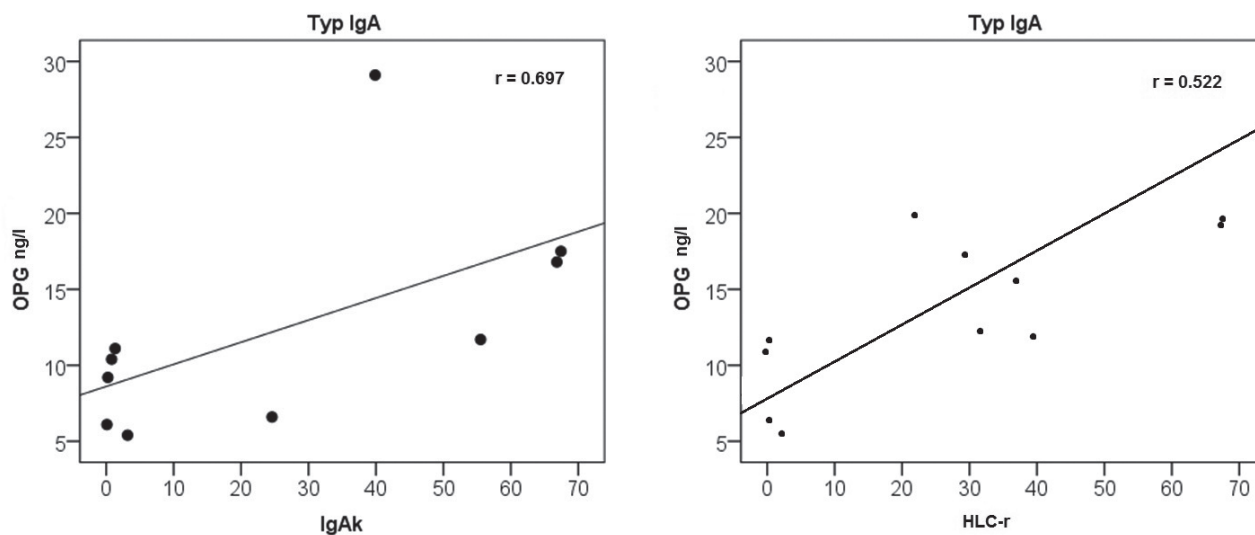


Fig. 2 Graphical display of the relationship between HLC IgA-k and OPG ($r=0.697$, $p=0.025$) and HLC-r and OPG ($r=0.522$, $p=0.0395$) in patients with IgA multiple myeloma

HLC: Hevylite

OPG: Osteoprotegerin

Diskuse

Stanovení hladiny monoklonálního imunoglobulinu (Mlg), který je produkován patologicky změněnými plazmocytami, pomocí elektroforézy, případně imuno-elektroforézy, patří mezi základní diagnostické metody u monoklonálních gamapatií. Je součástí diagnostických kritérií a také stážovacího systému MM dle Durieho a Salmona [1,9]. Je používán pro monitorování léčebné odpovědi i stanovení relapsu onemocnění. Mezi základní metody stanovení Mlg patří: standardní elektroforéza séra (SPE) a/nebo moči, imunofixační elektroforéza (IFE), nefelometrické vyšetření bílkovin séra (NEF) a vyšetření hladin volných lehkých řetězců imunoglobulinu (VLŘ) kappa a lambda metodou Free-lite™, včetně výpočtu indexu κ/λ [11,12]. Určení Mlg

pomocí IFE je limitováno jednak jeho hladinou, imunochemickým typem (u IgA typu Mlg tzv. fenomén překrytí, kdy oblast alfa u SPE interferuje s haptoglobinem, oblast beta s transferinem a C3 složkou komplementu), objemem plazmy a hodnotou hematokritu [13].

Metoda Hevylite™ patří mezi nové, principiálně odlišné vyšetřovací metody, které umožňují další zpřesnění diagnostiky monoklonálních gamapatií, především detekci a kvantifikaci monoklonálního imunoglobulinu. Přínos této nové techniky byl potvrzen hlavně v případě nízkých či nulových hladin Mlg s pouhou pozitivitou/negativitou imunofixace [14].

Další přínos byl prokázán u IgA typu Mlg, kde byla popsána pozitivita, resp. nadhraniční hodnoty HCL-r u jedinců s negativními IFE a SPE [15-17]. Ve světovém písemnictví byl nalezen vztah mezi celkovým přežitím

a hladinou HLC, kdy pacienti s vysokými hladinami HLC měli signifikantně kratší přežití než pacienti s hladinami nižšími [16].

Myelomová kostní nemoc patří mezi hlavní příčiny morbidity, ale i mortality u pacientů s mnohočetným myelomem [2]. Časná diagnostika a stanovení rozsahu postižení myelomové kostní choroby jsou důležité jak z hlediska zahájení léčby MKN, tak ke stanovení prognózy onemocnění. Je znám vliv rozsahu choroby na celkové přežití nemocných, kdy pacienti s patologickými frakturami mají kratší medián celkového přežití [18].

K posouzení rozsahu kostního postižení přispívá hodnocení parametrů kostního metabolismu a mikroprostředí kostní dřene. Rozeznáváme tři základní signální dráhy, podílející se na vzniku MKN: První je dráha RANK/RANKL, která hodnotí poměr mezi aktivátorem receptoru nukleárního faktoru kappa B (receptor activator of nuclear factor kappa B, RANK) a jeho ligandem (ligand aktivátoru nukleárního faktoru kappa B, RANKL). Dále se jedná o dráhu makrofágového zánětlivého proteinu (macrophage inflammatory protein, MIP), která souvisí především s buněčnou adhezí a migrací a také indukuje efekt RANK tím, že posiluje jeho navázání na ligand, což vede k aktivaci osteoklastů. Poslední je tzv. „Wingless“ (Wnt) dráha, což je hlavní signální dráhou osteoblastů. Za fyziologických podmínek se Wnt glykoproteiny vážou na Wnt receptor, čímž stimulují osteoblastickou přestavbu. Tato dráha je inhibována proteiny ze skupiny Dickkopf (DKK) [2,3].

V naší předchozí práci byl popsán především vliv HGF, osteopontinu a syndecanu-1 na celkové přežití nemocných [8]. Cílem nynější analýzy bylo zhodnocení vzájemného vztahu hladin HLC a parametrů signálních drah u MKN. Výsledky našeho hodnocení potvrdily předběžný vztah sérových hladin HLC k některým ukazatelům MKN. Signifikantní korekce byla zjištěna v případě HLC ve třídě IgA a OPG a také mezi HLC ve třídě IgG a HGF. Hepatocytární růstový faktor (HGF) je cytokin schopný stimulovat růst epiteliálních buněk a je také potentním induktorem neovaskularizace [19]. Kromě toho také potencuje osteoklastogenezi. HGF je za fyziologických podmínek produkován mesenchymálními buňkami včetně stromálních buněk kostní dřene [20]. Monoklonální gamapatie nejasného významu se od mnohočetného myelomu liší také hustotou kapilární sítě v kostní dřeni, HGF jakožto významný proangiogenní působek se jeví být slibným markerem při stanovení rozsahu myelomové kostní nemoci.

Osteoprotegerin (OPG) je solubilní receptor patřící do rodiny receptorů TNF-alfa. Jeho hlavní funkcí je zabraňovat navázání RANKL na svůj RANK receptor a tedy spuštění jedné z hlavních osteoklastogenních drah [21]. Již v předchozích studiích bylo potvrzeno, že hladina OPG jednoznačně nesouvisí s mírou postižení u mnohočetného myelomu [10, 22]. Tento fakt je zřejmě dán skutečností, že OPG není tvořen pouze v mikroprostředí kostní dřene, nýbrž i v kapilární síti [10].

Náš výsledek korelace pouze ve třídě IgA může být dán faktem, že monoklonální IgG má delší poločas rozpadu (21 dní). Také je známo, že plazmocyty produkující IgG Mlg suprimují polyklonální imunoglobuliny intenzivněji než klony IgA a IgM typu [23].

Absence korelace mezi hladinami HLC a dalšími ukazateli MKN není tolik překvapivá. HLC spíše odrážejí vnitřní vlastnosti myelomových plazmocyty, zatímco parametry MKN jsou odvozeny od aktivace mikroprostředí KD. Přesto zjištěný vztah k OPG a HGF potvrzuje vzájemné sprážením procesů vedoucích k aktivitě myelomových plazmocyty a procesů aktivace buněčného mikroprostředí.

Možnou limitací našeho hodnocení je omezený počet pacientů a také případný vliv renální insuficience u osmi nemocných (15 %) na sérové hladiny porovnávaných ukazatelů. Naše dřívější hodnocení nicméně dokladují jen omezený vliv renální insuficience na sérové hladiny posuzovaných ukazatelů MKN [24].

Využití Hevylite™ v reálné praxi je v současnosti předmětem zkoumání, definitivní indikace se stále hledá. Výsledky dosud provedených analýz nelze jednoznačně doporučit k rutinnímu použití, přesto je průkaz vztahu HLC a vybraných ukazatelů MKN slibný. Ve vztahu k MKN a prognóze se metoda Hevylite™ jeví jako potenciálně přínosná, o jejím využití v diagnostice MKN napoví rozšíření stávajících souborů a zhodnocení v rámci dlouhodobých sledování nemocných.

Literatura

1. **Rajkumar, S. V., Dimopoulos, M. A., Palumbo, A. et al.** International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Onc.*, 2014, 15, p. 538-548.
2. **Roodman, G. D.** Pathogenesis of myeloma bone disease. *Leukemia*, 2009, 23, p. 35-441.
3. **Mundy, G. R., Raisz, L. G., Cooper, R. A. et al.** Evidence for the secretion of an osteoclast stimulating factor in myeloma. *N Engl. J Med.*, 1974, 291, p. 1041-1046.
4. **Bradwell, A. R., Harding, S. J., Fourrier, N. J. et al.** Assessment of monoclonal gammopathies by nephelometric measurement of individual immunoglobulin kappa/lambda ratios. *Clin. Chem.*, 2009, 55, p. 1646-1655.
5. **Študla, V., Pika, T., Heřmanová, Z. et al.** Hevylite – nová analytická metoda v diagnostice a hodnocení průběhu monoklonálních gamapatií. *Klin. Biochem. Metabol.*, 2010, 18, p. 62-68.
6. **Bradwell, A. R.** Analysis of immunoglobulin heavy chain/light chain pairs (Hevylite™). In: *Bradwell AR. Serum free light chain analysis (plus Hevylite). 6th edition, UK, The Binding Site Ltd.* 2010, p. 301-320. ISBN: 978-0-9932196-0-3
7. **Ludwig, H., Milosavljevic, D., Zojer, N. et al.** Immunoglobulin heavy/light chain ratios improve paraprotein detection and monitoring, identify residual disease and correlate with survival in multiple myeloma patients. *Leukemia*, 2013, p. 213-219.
8. **Minařík, J., Pika, T., Bačovský, J. et al.** Prognostic value of hepatocyte growth factor, syndecan-1, and osteopontin in multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Scien. W. J.*, 2012, p. 356128.
9. **Durie, B. G., Salmon, S. E.** A clinical staging system for multiple myeloma, Correlation of Measured Myeloma Cell Mass with Presenting. *Cancer*, 1975, 36, p. 842-854.
10. **Študla, V., Budíková, M., Pika, T. et al.** Srovnání sérových hladin vybraných biologických působků u monoklonální gamapatie nejistého významu a mnohočetného myelomu. *Čas. Lek. Čes.*, 2009, 148, p. 315-322.

11. **Hájek, R., Adam, Z., Ščudla, V. et al.** Souhrn doporučení CMG 2012 „Diagnostika a léčba mnohočetného myelomu“. *Transfuzní Hematol. Dnes.*, 2012, 18, p. 5-89.
 12. **Vávrová, J.** Stanovení volných lehkých řetězců a Hevylite™ u monoklonálních gamapatií. In: *Maisnar V, Tichý M, et al. Monoklonální imunoglobuliny – výskyt, význam a možnosti jejich průkazu. Hradec Králové: Nucleus, 2012, p. 55-60, ISBN: 978-80-87009-87-1.*
 13. **Keren, D. F.** Heavy/Light-chain analysis of monoclonal gammopathies. *Clin. Chem.*, 2009, 55, p. 1606-1608.
 14. **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. 1646–1655.
 15. **Wolff, F., Debaugnies, F., Rozen, L. et al.** Assessment of the diagnostic performance of IgA heavy and light chain pairs in patients with IgA monoclonal gammopathy. *Clin. Biochem.*, 2013, 46, p. 79–84.
 16. **Koulieris, E., Panayiotidis, P., Harding, S. J. et al.** Ratio of involved/uninvolved immunoglobulin quantification by Hevylite™ assay: clinical and prognostic impact in multiple myeloma. *Experimental Hematol and Oncology*, 2012, 1, p. 9-16.
 17. **Lakomy, D., Lemaire – Ewing, S., Denimal, D. et al.** Evaluation of the new Hevylite™ IgA assay for the diagnosis and follow – up of monoclonal gammopathies. *Ann. Biol. Clin.*, 2013, 71, p. 157–163.
 18. **Saad, F., Lipton, A., Cook, R. et al.** Pathologic fractures correlate with reduced survival in patients with malignant bone disease. *Cancer*, 2007, 110, p. 1860-1867.
 19. **Bussolino, F., Di Renzo, M. F., Ziche, M. et al.** Hepatocyte growth factor is a potent angiogenic factor which stimulates endothelial cell motility and growth. *J Cell. Biol.*, 1992, 119, p. 629-641.
 20. **Sato, T., Hakeda, Y., Yamaguchi, Y. et al.** Hepatocyte growth factor is involved in formation of osteoclast-like cells mediated by clonal stromal cells (MC3T3-G2/PA6). *J Cell Physiol.*, 1995, 164, p. 197-204.
 21. **Lacey, D. L., Timms, E., Tan, H. L. et al.** Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell.*, 1998, 93, p. 165-176.
 22. **Ščudla, V., Budíková, M., Pika, T. et al.** Srovnání sérových hladin vybraných biologických ukazatelů u monoklonální gamapatie nejistého významu a mnohočetného myelomu. *Vnitř. Lek.*, 2006, 52, p. 232-240.
 23. **Katzmann, J., Clark, R., Kyle, R. A. et al.** Suppression of uninvolved immunoglobulins defined by heavy/light chain pair suppression is a risk factor for progression of MGUS. *Leukemia*, 2013, 27, p. 208–212.
 24. **Minařík, J., Golová, Z., Petrová, P. et al.** Serum levels of the selected parameters of bone microenvironment predict overall survival in multiple myeloma patients regardless of treatment regimen used. *Haematologica*, 2014, p. 631-631.
- Za podpory grantu IGA_LF_2016_001, IGA NT14 393, IGA NT 12451-5*
- Do redakce došlo 15. 7. 2016

*Adresa pro korespondenci
MUDr. Petra Krhováská
Hemato-onkologická klinika
Fakultní nemocnice Olomouc
I. P. Pavlova 6
779 00 Olomouc
e-mail: petra.krhovska@fnol.cz*