

PROGNOSTICKÉ FAKTORY A KLINICKÉ STÁŽOVACÍ SYSTÉMY U MNOHOČETNÉHO MYELOMU V SOUBORU 237 NEMOCNÝCH LÉČENÝCH V OBDOBÍ 1991-2002 KONVENČNÍ CHEMOTERAPIÍ I. PROGNOSTICKÝ VÝZNAM VYBRANÝCH KLINICKÝCH A LABORATORNÍCH UKAZATELŮ

PROGNOSTIC FACTORS AND CLINICAL STAGING SYSTEMS IN MULTIPLE MYELOMA IN THE GROUP OF 237 PATIENTS FROM THE YEARS 1991-2002 TREATED WITH CONVENTIONAL CHEMOTHERAPY I. PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF SELECTED CLINICAL AND LABORATORY MARKERS

V. ŠCUDLA¹, J. BAČOVSKÝ¹, M. VYTRÁSOVÁ¹, M. ORDELTOVÁ², T. PAPAJÍK³, D. OPICALOVÁ¹, V. FARBIAKOVÁ⁴, K. SROVNALÍK⁵, E. ŠUMNÁ⁶, B. KUČA⁶, J. ŠLEZAR⁷, V. HEINCOVÁ⁸, J. ŽIVNÁ⁹, E. LAUTNEROVÁ¹⁰, I. KRAJSOVÁ¹¹, M. KUBEČKOVÁ¹², P. SCHLEMMER¹³, J. GUMULEC¹⁴, M. VRANOVÁ¹⁵, M. MÍČANIKOVÁ¹⁵, L. NOVOSADOVÁ¹⁶, Z. LASOTA¹⁷, K. ČÍHAL¹⁸, A. MARTINEK¹⁹

¹III. INTERNÍ KLINIKA LF UP A FN OLOMOUC

²ODDĚLENÍ KLINICKÉ IMUNOLOGIE LF UP A FN OLOMOUC

³HEMATO-ONKOLOGICKÁ KLINIKA LF UP A FN OLOMOUC
HEMATOLOGICKÁ A INTERNÍ ODDĚLENÍ OBLASTI STŘEDNÍ A SEVERNÍ
MORAVY PODÍLEJÍCÍ SE NA ČINNOSTI ČESKÉ MYELOMOVÉ SKUPINY
(CMG);

⁴ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE NEMOCNICE TRINEC

⁵ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE NEMOCNICE VSETÍN

⁶ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE FN S POLIKLINIKOU
OSTRAVA

⁷ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE NEMOCNICE PROSTĚJOV

⁸ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE SLEZSKÉ NEMOCNICE OPAVA

⁹ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE NEMOCNICE HRANICE

¹⁰ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE NEMOCNICE PŘEROV

¹¹ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE NEMOCNICE BRUNTÁL

¹²ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE NEMOCNICE FRÝDEK-MÍSTEK

¹³ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE NEMOCNICE JESENÍK

¹⁴HEMATOLOGICKÁ AMBULANCE NOVÝ JIČÍN

¹⁵ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE MĚSTSKÉ NEMOCNICE
OSTRAVA-FIFEJDY

¹⁶ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE NEMOCNICE HAVÍŘOV

¹⁷ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE NEMOCNICE KARVÍNÁ

¹⁸INTERNÍ ODDĚLENÍ NEMOCNICE ŠTERNBERK

¹⁹INTERNÍ KLINIKA FN OSTRAVA

Souhrn: Výhodiska: Současná renezanace zájmu o prognostické faktory (PF) u mnohočetného myelomu (MM) je vyvolána rozšířením možnosti a intenzity léčby vyžadujících individuální stratifikaci nemocných s pomocí nezávislých, prognosticky vysoce prediktivních faktorů.

Typ studie a soubor: V souboru 237 nemocných s MM léčených v období 1991-2002 konvenční terapií byla vyhodnocena prognostická významnost ukazatelů sloužících jako stážovací kritéria 7 vybraných stratifikačních systémů a některých cytokinů i cytoadhezivních molekul.

Metody a výsledky: Prognostická významnost byla hodnocena s pomocí křivek přežívání dle Kaplan-Meiera a log rank testu ($p < 0.05$). Byl prokázán prognostický význam věku (při rozmezí 65 let $p = 0.0005$). Vysoká prognostická predikce ($p = 0.0000$) s významně odlišnými mediány přežití vyčleněných skupin byla zjištěna v případě Hb, S-kreatininu, S-albuminu, S-beta₂-mikroglobulinu, S-thymidinkinázy a zastoupení plazmocytů v kostní dřeni. V případě propidium-jodidového indexu tj. PI/CD₁₃₈ (procentuální výskyt myelomových buněk v S-fázi buněčného cyklu s identifikací plazmocytů s pomocí anti-CD₁₃₈) byl zjištěn prognostický význam při použití mezní hodnoty 3.0% ($p = 0.0023$) s mediány celkového přežití 48 vs. 15 měsíců. Nebyl zjištěn prognostický význam sérových hladin cytokinů IL-6, IL-2 a jejich receptorů, TNF- α i cytoadhezivních molekul VCAM-1 a ICAM-1 vyšetřených metodou ELISA při diagnóze MM ($p = 0.15-0.84$) i když v případě sIL-6R byly mediány celkového přežití nemocných s normální vs. zvýšenou hladinou dosti rozdílné (30 vs. 11 měsíců). **Závěry:** Předložená studie potvrdila prognostický význam nejen klasických PF (věk, Hb, kreatinin, beta₂-mikroglobulin a plazmocyty v kostní dřeni), ale i velmi dobrou prognostickou významnost a praktickou klinickou použitelnost hodnot PI/CD₁₃₈ indexu, hladin S-albuminu a S-thymidinkinázy. Prognostická analýza námí vyhodnocených cytokinů a cytoadhezivních molekul vyzněla záporně.

Klíčová slova: prognostické faktory - mnohočetný myelom - thymidinkináza - propidium-jodidový proliferací index plazmocytů - cytokiny - cytoadhezivní molekuly

Summary: Backgrounds: The current renaissance of the interest in prognostic factors (PF) in multiple myeloma (MM) is determined by the extended possibilities of intensive treatment regimes, which require individual stratification of patients with a need of independent highly predictive prognostic factors. **Design and Subjects:** The prognostic significance of 7 selected staging systems and some cytokines and adhesive molecules was evaluated in the group of 237 patients with MM treated between 1991-2002 by conventional therapy. **Methods and results:** The prognostic significance was assessed using survival curves (according to Kaplan-Meier) and log rank test ($p < 0.05$). The prognostic meaning of the age was proved (with borderline for 65 years $p = 0.0005$). The high predictive power ($p = 0.0000$) with significant differences in overall survival medians of defined subgroups was found for Hb, S-creatinin, S-albumin, S-beta₂-microglobulin, S-thymidinkinase and plasmocytes count in the bone marrow. In the case of propidium-iodide index PI/CD₁₃₈ (percentage of myeloma cells in S-phase of the cell cycle) with identification of plasmocytes using anti-CD₁₃₈ monoclonal antibody the prognostic „turning point“ was set for the values of 3.0% with survival medians 48 vs. 15 months ($p = 0.0023$). Serum levels of cytokines IL-6, IL-2 and their receptors, TNF- α and adhesive molecules VCAM-1 and ICAM-1 measured by ELISA method at the time point of MM diagnosis did not show any prognostic significance ($p = 0.15-0.84$), just the normal and increased sIL-6R serum levels predicted quite different medians of overall survival (30 vs. 11 months). **Conclusions:** This study proved the prognostic meaning of classical PF (age, Hb, creatinin, beta₂-mikroglobulin and bone marrow plasmocytes) and also a very good predictive significance and practical clinical utility of PI/CD₁₃₈ index and S-albumin and S-thymidinkinase serum levels. The analysis of prognostic significance of cytokines and cytoadhesive molecules was disappointing.

Key words: prognostic factors - multiple myeloma - thymidinkinase - propidium-iodide proliferative index of plasmocytes - cytokines - cytoadhesive molecules

VÝSLEDKY STUDIE BYLY PŘEDNESENÝ NA XV. HEMATOLOGICKÝCH DNECH, OLOMOUC, 2001.

Úvod

Mnohočetný myelom (MM) je neobyčejně heterogenní onemocnění vyznačující se výraznou individuální proměnlivostí klinického obrazu, citlivostí k léčbě a rozdílností celkového přežití kolísajícího od několika týdnů do více nežli 10 let. Renezanace zájmu o hlubší poznání prognostických faktorů (PF) u MM, patrná v posledních 10 letech vyplývá z následujících okolností: a) změna klinického obrazu s úbytkem pokročilých

a komplikovaných stavů s nárůstem asymptomatických forem nemoci setrvávajících v bezpříznakové-stabilní fázi po mnoho let (26,27,72); b) zlepšení výsledků léčby a prognózy s prodloužením života zejména v důsledku částečné náhrady konvenční terapie (KT) vysokodávkovanou chemoterapií (HD-terapie) s transplantací autologních, případně alogenních kmenových křetvorných buněk („autologous stem cell transplantation“, ASCT (8,24)); c) zvýšení nároků na roli PF, neboť

vedle prognostické predikce jsou žádoucí i informace přispívající k rozhodnutí o zahájení, načasování a volbě terapie s predikcí remise (26,27); d) potřeba nových PF umožňujících již při diagnóze rozpoznání pravděpodobnosti stability nemoci („wait and see“), nebo rizika časně progresy vyžadující okamžité zahájení indukční léčby a potřebu následné konzolidační terapie (6,7); e) odstranění dosavadní praxe, kdy o bezprostředním zahájení chemoterapie rozhoduje především přítomnost jednoho „hrozivě“ vyjádřeného ukazatele (např. hyperkalcémie, renální insuficience, závažné anémie nebo intenzivní bolesti skeletu) a nikoliv výsledek prognostické stratifikace (24); f) oslabení prognostické významnosti klasických PF majících především vztah k velikosti nádorové masy (8,65). Ačkoliv v posledních 30 letech byla zveřejněna široká škála faktorů vyjadřujících dílčí okolnosti prognózy nemocných s KT, šlo většinou o PF vedlejší, závislé na hlavních PF a vyznačující se nezářidka i omezenou metodickou a ekonomickou dostupností. Nutno připustit, že doposud neexistuje ucelený a vyhraněný systém všeobecně uznávaných PF (22,24,31,65).

Cíl práce

Náplní předložené studie je zhodnocení významnosti PF ve vlastní sestavě konvenčně léčených nemocných, jejichž výběr odpovídá spektru stážovacích kritérií námi analyzovaných stratifikačních systémů (Durie-Salmon, Bataille, Hussein, Corrado, San Miguel, Simonson, Pulkki, viz II. část studie). V případě thymidinkinázy séra (S-TK), propidium-jodidového indexu (PI/CD₁₃₈), některých cytokinů (IL-6, sIL-6R, IL-2, sIL-2R a TNF- α) a cytoadhezivních molekul VCAM-1 („vascular cell adhesion molecule-1“) a ICAM-1 („intercellular cell adhesion molecule-1“) jde o doplnění všeobecného pohledu prezentovaného v předchozích námi zveřejněných studiích o aspekt prognostický (55,56, 58,59,60,61,63,64,66). Bezprostředním impulzem k uskutečnění předložené studie je především završení éry bezvýhradné KT a tím tedy i období s přirozenou „homogenitou“ souboru soustředěného na našem pracovišti v předchozích letech.

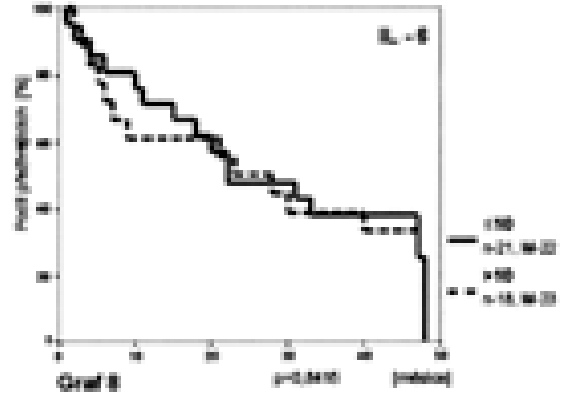
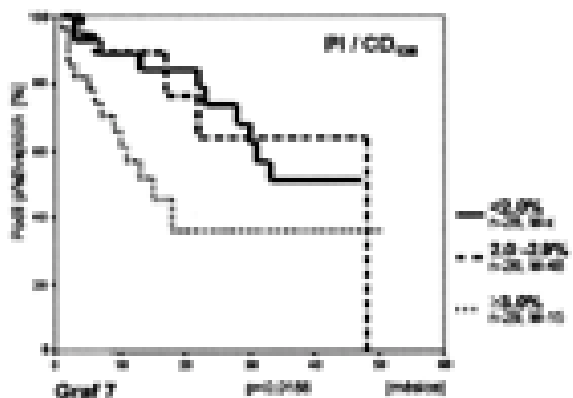
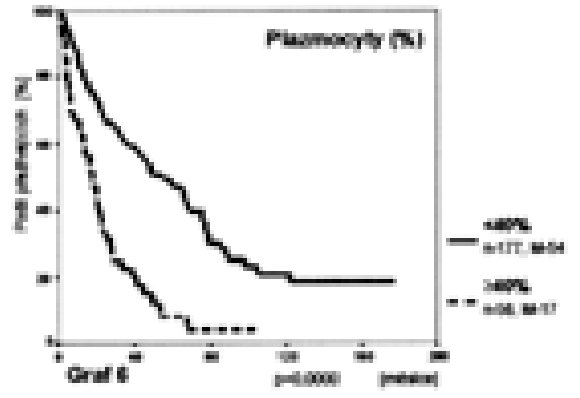
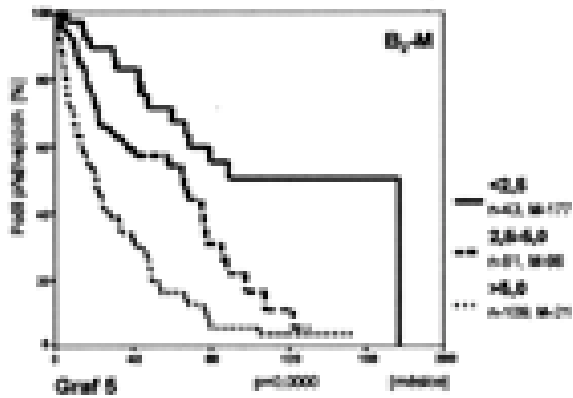
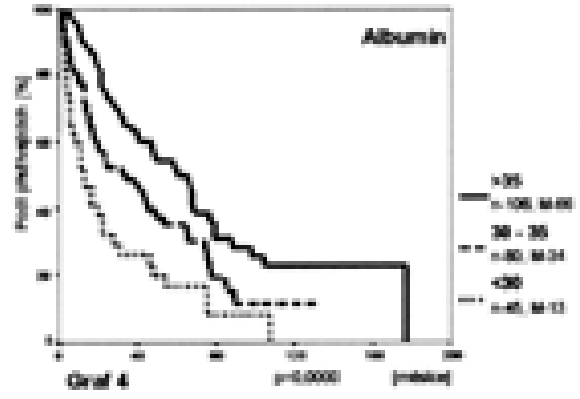
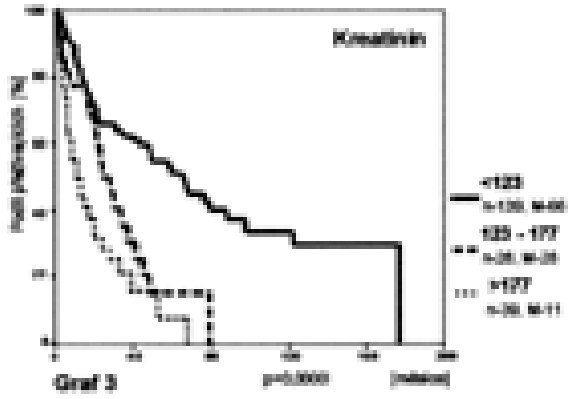
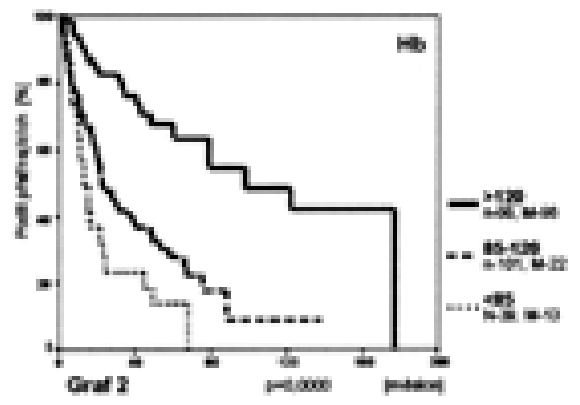
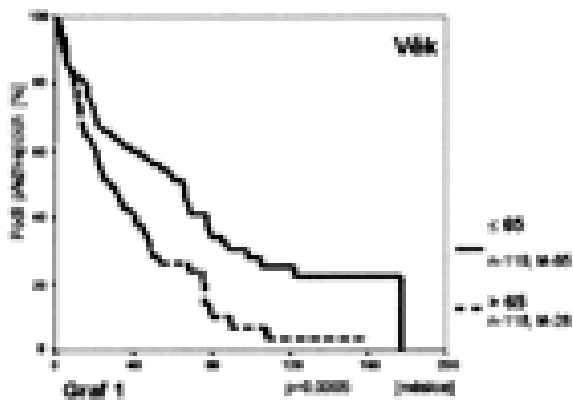
Soubor nemocných a metody vyšetření

Analyzovaná sestava 237 nemocných splňujících SWOG kritéria MM (13,37,45) byla prvotně vyšetřena, dispenzarizována a léčena na III. interní klinice LF UP a FN v Olomouci v rozmezí 1991-2002 ve spolupráci s hematologickými a interními odděleními zdravotnických zařízení střední a severní Moravy participujícími v současnosti na činnosti CMG. Věkový medián celé sestavy byl 63 (33-91) let, poměr mužů a žen byl 0.9:1.0, imunochemický typ IgG byl zastoupen u 155 (65%), IgA u 53 (22%), Bence-Jonesův u 23 (10%), nesekreční u 5 (2%), IgD u 1 (0.5%) a biklonální u 1 (0.5%) nemocného, přičemž 133 (58%) jedinců mělo lehký řetězec typu kappa a 98 (42%) typu lambda. Všichni nemocní byli léčeni v indukční fázi konvenční terapií standardně dávkovanými chemoterapeutickými režimy, převážně charakteru VCMCP (M2-protokol s výměnou BCNU za CCNU), případně VMCP a MP, nemocní s kumulací nepříznivých prognostických faktorů nebo v období progresy či relapsu nemoci byli léčeni režimem VAD a jeho modifikacemi (Cy-VAD, VAMP, NOP), vysokými – pulzními dávkami Dexametazonu, případně i středně-vysokými nitrožilně podávanými dávkami Melfalanu, výběrově i režimem CIDEK s eventuální náhradou Idarubicinu Vepesidem (1,62). V rámci podpůrné léčby byla individuálně používána ložisková aktinoterapie, akutní a chronická hemodialyzační léčba, při závažné febrilní neutropenii i leukocytární růstové působky (G-CSF, GM-CSF) případně i s nitrožilně podávanými imunoglobuliny. Prakticky všichni nemocní byli v posledních letech léčeni perorální formou bisfosfonátů zejména Clodronátem. Rozsah hodnocených ukazatelů byl omezen na spektrum kritérií, tvořících součást 7 námi analyzovaných stážovacích systémů, případně jejich modifikací (viz II. část studie). K vyšetření sérových hladin thymidinkinázy (normální roz-

mezí 0-5 U/l, hraniční 5-10 U/l), a beta₂-mikroglobulinu (S-B2M, 0.9-2.3 mg/l) bylo použito metody radioimunoeseje (RIA kit fy. ADICO Praha). Hladiny cytokinů byly měřeny metodou ELISA (kity fy. IMMUNOTECH International, Marseille) v heparinové plazmě s rozmezím normálních hodnot pro IL-6 0-10 pg/ml, sIL-6R 10-90 ng/ml, IL-2 0-5 ng/ml, sIL-2R 25-115 pg/ml, TNF- α 0-5 pg/ml, sVCAM-1 395-714 ng/ml a sICAM-1 269-631 ng/ml. Propidium-jodidový index (PI) myelomových plazmocytů byl určován s pomocí průtokové cytometrie metodou dvojího značení, umožňující vyhodnocení stupně inkorporace propidium-jodidu do jaderné DNA (46,64). Ke stanovení PI-indexu se používal aspirát kostní dřevě, k rozpoznání plazmocelulárních elementů byla po předchozí separaci buněk s pomocí hustotního gradientu používána MoAb proti syndecanu-1 tj. CD₁₃₈ (73). Obsah DNA v buňce byl hodnocen pomocí intracelulárního barvení s použitím kitu DNA-Prep. Reagents (fy. Coulter Corporation, Miami) obsahující propidium-jodid. Analýza vzorků byla prováděna na průtokovém cytometru Coulter Epics XL fy. Coulter Corporation, k vyhodnocení buněk nalézajících se v S-fázi buněčného cyklu byl používán speciální software (64). Hodnoty monoklonálního imunoglobulinu (MIG) a albuminu v séru byly vyšetřovány elektroforézou na acetátcelulóze, k hodnocení ostatních ukazatelů (Hb, S-kreatinin, S-Ca a procentuálního zastoupení myelomových plazmocytů v kostní dřevě) byly použity standardní postupy. Ke statistickému hodnocení celkového přežití byly využity křivky přežití dle Kaplan-Meiera a „log-rank“ test na hranici významnosti $p < 0.05$.

Výsledky

Předložená analýza potvrdila statisticky významnou predikci převážně většiny ukazatelů představujících kritéria stážovacích systémů, analyzovaných ve II. části studie. Ukázalo se, že v námi hodnocené sestavě je z prognostického hlediska, ale i z hlediska proporcionality vhodnějším dělicím kritériem věk 65 nežli 69 let (**tab. 1, graf 1**). Byl ověřen prognostický význam tře anémie s použitím hodnoty Hb 85 g/l vyskytující se u 1/5 nemocných (**tab. 1**), ale i prognostický rozdíl v případech středně závažného (85-120 g/l) a závažného (< 85 g/l) poklesu hodnoty Hb oproti jedincům bez přítomné chudokrevnosti (**tab. 1, graf 2**). Byla rovněž potvrzena vysoce významná prognostická predikce vysokých hodnot S-kreatininu ($\geq 177 \mu\text{mol/l}$), vyskytující se při diagnóze u 20% nemocných, ale s chyběním prognosticky významného rozdílu při srovnání lehkého (123-177 $\mu\text{mol/l}$) a výrazného (> 177 $\mu\text{mol/l}$) zvýšení S-kreatininu (**tab. 1, graf 3**). Bylo ověřeno, že přítomnost hypoalbuminémie s hodnotou < 30 g/l vyskytující se u 19% nemocných, ale i středně závažné snížení albuminu na hodnotu 30-35 g/l (**tab. 1, graf 4**) stejně jako různě zvýšené hodnoty S-B₂M (2.5-5.0, > 5.0 a $\geq 6.0 \text{ mg/l}$) mají neobyčejný přínos pro hodnocení prognózy doložené významnou rozdílností mediánů i křivek celkového přežití (**tab. 1, graf 5**). Nutno podotknout, že normální hodnoty S-B₂M se vyskytovaly pouze u 18% nemocných, zatímco enormně zvýšené hodnoty ($\geq 6.0 \text{ g/l}$) u 39% jedinců. Významně nepříznivý prognostický výhled s krátkým mediánem celkového přežití měla 1/4 nemocných s úvodně závažnou, $\geq 40\%$ infiltrací kostní dřevě myelomovými buňkami (**tab. 1, graf 6**). Ukázalo se, že hodnota PI/CD₁₃₈ indexu $\geq 3.0\%$ v souladu s doporučením San Miguela (46) umožňuje rozdělení nemocných do dvou, prognosticky značně odlišných skupin s významně odlišnou délkou mediánů i křivek celkového přežití (**tab. 1, graf 7**). Bylo zjištěno, že vysoký proliferací index ($\geq 3\%$) se vyskytoval u 35% nemocných. Hlubší analýza ukázala, že nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl v prognóze nemocných s nízkou hodnotou PI/CD₁₃₈ (< 2.0%) oproti nemocným se středně vysokou hodnotou (2.0-2.9% (**tab. 1, graf 7**)), přičemž medián celkového přežití nemocných s nízkou hodnotou PI/CD₁₃₈ (< 2.0) byl pro nadpoloviční část přežívajících jedinců zatím nevyhodnotitelný. Při analýze pří-



Grafy 1-16.

Křivky přežití (dle Kaplan-Meiera), počty nemocných (n) a mediány přežívání (M) vyčleněných skupin a souhrnné zhodnocení prognostické významnosti jednotlivých ukazatelů s pomocí log rank testu ($p < 0.05$) v souborech 39-237 nemocných s mnohočetným myelomem. Hb – hemoglobin, B₂-M – β₂-mikroglobulin séra, PI/CD₁₃₈ – propidium-jodidový index myelomových plazmocytů vyhodnocený s pomocí monoklonální protilátky proti CD₁₃₈; IL-6 – interleukin-6 v séru, IL-2R – solubilní receptor IL-2 v séru, TNF-α – faktor nekrotizující tumory-α v séru, PK – periferní krev, KD – kostní dřevě, VCAM-1 – „vascular cell adhesion molecule-1“, ICAM-1 – „intercellular cell adhesion molecule-1“, TK – thymidinkináza séra.

padného prognostického významu sérových hladin některých působků cytokinové sítě typu IL-6, sIL-6R, IL-2 a sIL-2R nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly v délce celkového přežití mezi nemocnými s normální a se zvýšenou hodnotou některého z uvedených cytokinů, neboť jak mediány, tak i křivky celkového přežití byly velmi podobné (tab. 1, grafy 8-10). V případě TNF-α byl vzhledem k nízkému výskytu nemocných s normální hladinou tohoto cytokinu použit za limitní hodnotu medián sérové hodnoty zjištěné při diagnóze MM (37 pg/ml). Takto získané skupiny se rovněž nevyznačovaly statisticky významně odlišnou prognózou (**tab. 1, graf 11**). Přes nepřítomnost statisticky vyjádřené rozdílnosti je ale patrné, že nemocní s normální hodnotou sIL-6R v séru periferní krve měli delší medián přežití (30 měs.), nežli 25% nemocných s hodnotou sIL-6R zvýšenou (11 měs., **tab. 1**), rovněž průběhy křivek přežití se zřetelně lišily (graf 12). Neobyčejně překvapivým pozorováním byl inverzní delší medián přežití u 36% nemocných se zvýšenou hladinou sIL-6R v séru apirátu kostní dřevě (33 měs.), oproti nemocným s normální hodnotou (23 měs.). Samotné zjištění, případně i odhalení rozdílů však nebyly statisticky významné a jejich hodnocení bylo zřejmě zatíženo chybou malých čísel (**tab. 1, graf 13**). Ukázalo se, že výše hladiny solubilních cytoadhezivních molekul typu VCAM-1 a ICAM-1 v séru, pokud byly za dělicí rozhraní použity mediány hodnot získaných v analyzované sestavě při diagnóze, neměly vztah k prognóze choroby (**tab. 1, graf 14 a 15**). Je zajímavé, že polovina nemocných s nadprůměrně vysokou hodnotou ICAM-1 v séru měla medián přežití paradoxně delší nežli nemocní s hodnotou nízkou (33 vs. 21 měs., **tab. 1, graf 15**). I naše analýza jednoznačně potvrdila, že zvýšení sérových hladin thymidinkinázy při diagnóze má nesporný vztah k prognóze, a to jak při překročení limitní hodnoty 10.0 U/l zjištěné u 40% nemocných, tak i hodnoty > 20.0 U/l přítomné u 20% nemocných (tab. 1, graf 16). Ukázalo se, že prognostický význam má i středně výrazný vzestup sérových hladin S-TK 10-20 U/l (**tab. 1, graf 16**).

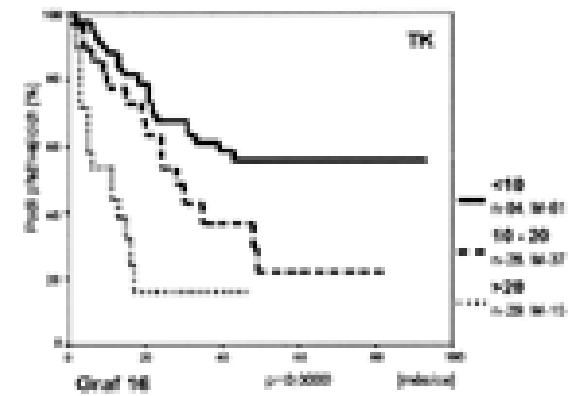
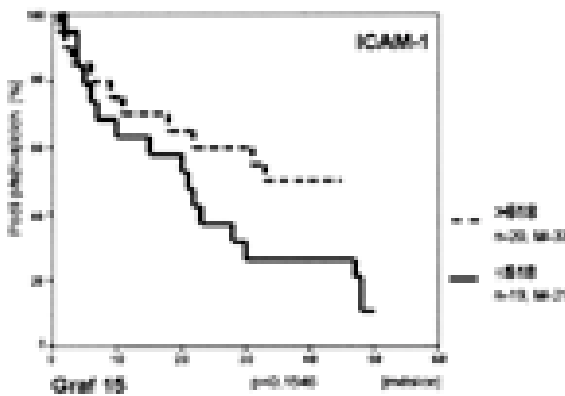
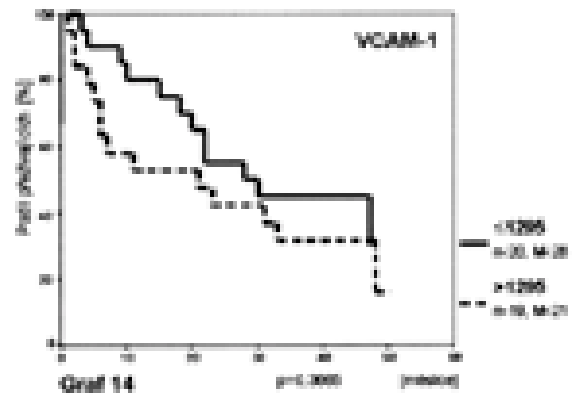
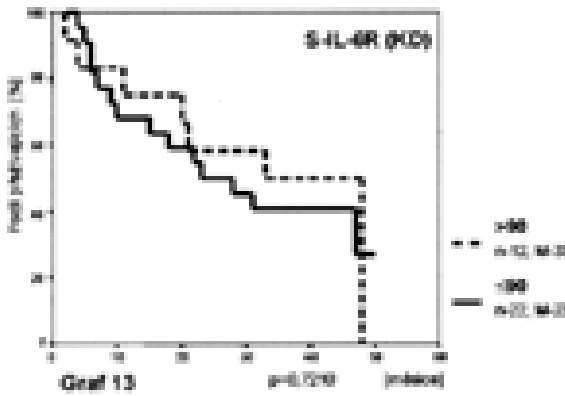
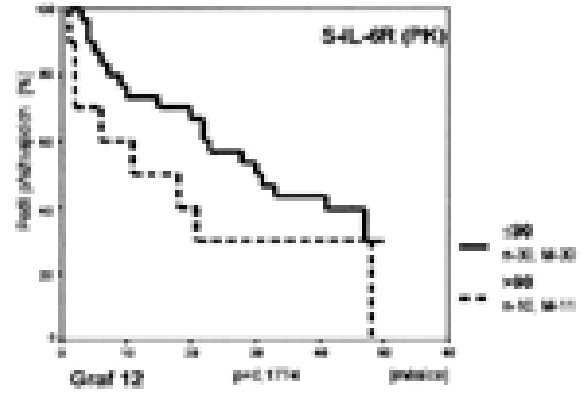
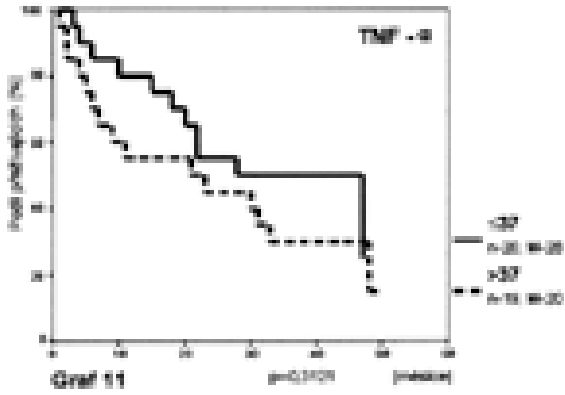
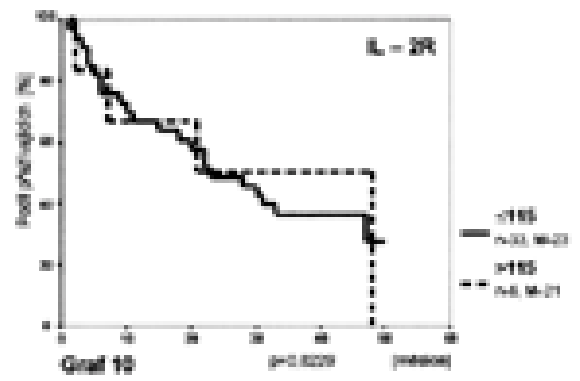
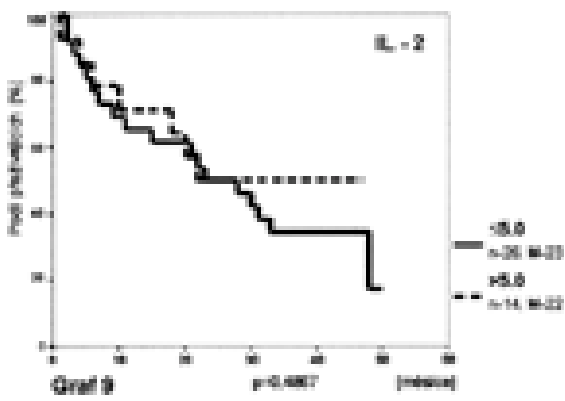
Diskuze

Naše studie potvrdila, že i u MM je věk významným PF, uplatňujícím se bez ohledu na ostatní PF, majícím nepochybně vztah k narůstající komorbiditě a klesající toleranci intenzivní chemoterapie ve vyšším věku (44,46,47). Z obdobně zaměřených studií vyplývá, že životní prognóza jedinců <40, případně i <50 let je podstatně příznivější, nežli nemocných vyšších věkových skupin (5,11) a zhoršuje se plynule s narůstajícím věkem (14,17,30,71). V souladu se závěry studie GATLA („A Grupo Argentino de Tratamiento de la Leucemia Aguda Study“) se přikláname k hranici 65 let jakožto vhodného rozmezí věkové podmíněné rozdílné prognózy (10). V souladu s naprosto jednotným závěrem značného počtu předchozích studií byl ověřen významný vztah tíže anémie k prognóze MM (10,23,52,55,68) a navíc i s plynulým zkracováním mediánu celkového přežití (OS - „overall survival“) s klesající hodnotou Hb (32). Hodnota Hb je klasickým PF, sloužícím nepřímo k odhadu rozsahu nádorové masy (37,65). Z moderních stra-

Tab. 1. Výsledky statistické analýzy vybraných prognostických faktorů u MM v souboru 237 nemocných s mnohočetným myelomem v období 1991-2002, léčených konvenční terapií.

Prognostické faktory	n (%)	Medián přežití (měsíce)	Log rank test (p < 0.05)
Věk:	(237)		
< 69	142 (60)	53	0.0091
≥ 69	95 (40)	31	
≤ 65	119 (50)	65	0.0005
> 65	118 (50)	28	
Hb (g/l):	(205)		
≥ 85	166 (81)	48	0.0000
< 85	39 (19)	13	
> 120	66 (32)	98	0.0000
85-120	101 (49)	22	
< 85	39 (19)	13	
Kreatinin μmol/l):	(237)		
< 177	190 (80)	49	0.0000
≥ 177	47 (20)	13	
Albumin (g/l):	(206)		
< 123	139 (67)	66	0.0009
123-177	28 (14)	28	
> 177	39 (19)	11	
B2-M (mg/l):	(231)		
≤ 2.5	43 (18)	177	0.026
2.5-5.0	81 (35)	66	
> 5.0	109 (47)	21	0.0000
≤ 6.0	142 (61)	68	
≥ 6.0	91 (39)	20	0.0000
Plazmocyty (%):	(235)		
< 40	177 (75)	54	0.0000
≥ 40	58 (25)	17	
PI/CD₁₃₈ (%):	(83)		
< 3.0	54 (65)	48	0.0023
≥ 3.0	29 (35)	15	
< 2.0	28 (34)	*	0.718
2.0-2.9	26 (31)	48	
≥ 3.0	29 (35)	15	
IL-6 (pg/ml):	(39)		
≤ 10	21 (54)	22	0.8415
> 10	18 (46)	23	
sIL-6R (ng/ml):	(40)		
Sérum: ≤ 90	30 (75)	30	0.1774
> 90	10 (25)	11	
KD: ≤ 90	22 (64)	23	0.7210
> 90	12 (36)	33	
IL-2 (pg/ml):	(40)		
≤ 5	26 (65)	23	0.486
> 5	14 (35)	22	
sIL-2R (pg/ml):	(39)		
≤ 115	33 (85)	23	0.8229
> 115	6 (15)	21	
TNF-α (pg/ml):	(39)		
≤ 37	20 (51)	28	0.3121
> 37	19 (49)	20	
VCAM-1 (ng/ml):	(39)		
≤ 1295	20 (51)	28	0.3665
> 1295	19 (49)	21	
ICAM-1 (ng/ml):	(39)		
≤ 518	19 (49)	21	0.1546
> 518	20 (51)	33	
TK (U/l):	(141)		
≤ 10	84 (60)	61	0.0000
> 10	57 (40)	17	
≤ 20	112 (79)	48	0.0000
> 20	29 (21)	11	
< 10	84 (60)	61	0.0283
10-20	28 (20)	37	
> 20	29 (20)	15	

B₂M – β₂-mikroglobulin, PI/CD₁₃₈ – propidium-jodidový index s použitím monoklonální protilátky typu CD₁₃₈ k identifikaci plazmocytů, IL-6 – interleukin 6, sIL-6R – solubilní receptor IL-6, KD – kostní dřevě, TNF-α – faktor nekrotizující tumory α, VCAM-1 – vaskulární cytoadhezivní molekula – 1, ICAM-1 – mezibuněčná cytoadhezivní molekula – 1, TK – thymidinkináza séra



tifikačních systémů však vymizel, neboť jde o PF vedlejší, závislý na PF stěžejního typu a byl stejně, jako ostatní ukazatelé se vztahem k velikosti myelomové masy a renálního postihu nahrazen hodnotou S-B₂M. Přítomnost chronické renální insuficience (CHRI) patří i v současnosti k nejzávažnějším PF u MM, hodnota S-kreatininu patřila již před 30 lety ke kritériím používaným k rozpoznání nemocných s vysokým stupněm rizika („poor risk“) a stupně pokročilosti nemoci tj. klinického stádia v prvotních stážovacích systémech (6, 37, 45, 56, 65). Přestože nemocní s reverzibilní hodnotou S-kreatininu mají podstatně příznivější prognostický výhled nežli nemocní s trvale zvýšenou hodnotou (25,67,68), záporný vztah k prognóze do jisté míry přetrvává i nadále (24). Bylo zjištěno, že reverzibilita renálního selhání, dosažená v prvním roce od diagnózy je významnějším ukazatelem prognózy nežli odezva k chemoterapii, přičemž nejméně příznivou prognózu mají nemocní, jejichž stav vyžaduje trvalou hemodialyzační léčbu (25). V naší sestavě nebyl zachycen statisticky významný rozdíl v prognóze nemocných s lehcí (123-177 μmol/l) a závažně (> 177 μmol/l) zvýšenou hodnotou S-kreatininu při diagnóze myelomu, přestože mediány OS byly zřetelně rozdílné (28 vs. 11 měs.). V této studii ověřený vztah mezi stupněm hypoalbuminémie a prognózou MM je v souladu se zkušeností přijímanou již více nežli 25 let. Je známo, že nízké hodnoty S-albuminu se vyskytují v akcelerované - preterminální fázi MM, u nemocných v pokročilém stádiu nemoci (st. III-A - III-B) a u nemocných s neobyčejně vysokou hodnotou M-komponenty (3,17,19,32). Za příčinu byly původně považovány procesy související s udržením onkotické homeostázy při hyperproteinémii, v současnosti spíše vystupňovaný katabolismus albuminu s užitím uvolněných, snadno dostupných aminokyselin myelomovými buňkami, ale i pokles jeho syntézy v důsledku zvýšených hladin a aktivace mnoha působků cytokinové sítě (3,32). Prognostický význam i jistá nezávislost tohoto ukazatele vedla k jeho využití v řadě stratifikačních systémů (3,14,32,58).

Z naší analýzy vyplynul rovněž souhlas s všeobecně a konsenzuálně přijímaným názorem, že hladina S-B₂M, vyšetřená při diagnóze MM je velmi významným a nezávislým PF s vysokým předpovědním potenciálem zejména v prvních 2 letech nemoci (3, 4, 5, 8, 14, 16, 17, 30, 32, 41, 58). K vzestupu hladiny S-B₂M dochází nejen v důsledku zvýšené syntézy a obratu na úrovni buněčných membrán, ale i v rámci vystupňovaného zániku buněk, oba mechanismy tedy mají vztah k velikosti nádorových buněk (31). Výsledná hodnota S-B₂M nemá vztah pouze ke stupni pokročilosti MM a stavu renální funkce, ale pravděpodobně i k aktivitě nemoci, k vnitřním – biologickým vlastnostem myelomových buněk, ale i ke stupni aktivace T i B-buněčného systému (24). V souladu se zkušenostmi ostatních autorů se i v naší studii ukázalo, že délka mediánů OS se zkracuje úměrně s mírou vzestupu hladin S-B₂M nad normální mez, což dokládají i rozdílné limity hodnot S-B₂M použité v různých studiích, např. 2.7 (17), 3.0 (8,30), 4.0 (68) nebo dokonce 6.8 mg/l (71), přičemž nejčastěji je ale používána hodnota ≥ 6.0 mg/l (3, 4, 14, 19, 32, 46, 47). Nepochybným, i námi pozorovaným nedostatkem tohoto ukazatele, snižujícím jeho praktickou použitelnost je určitá ztráta schopnosti prognostické predikce v průběhu dlouhodobého sledování, a to zejména při udržovací léčbě INF-α (24). Pravděpodobnou příčinou tohoto jevu je ztráta syntézy nebo sekrece B₂M v důsledku vystupňované neoplastické dediferenciace myelomových buněk v průběhu a vývoji MM, ale i vliv podávaného INF-α na uvolňovací buněčné procesy (16,31). Přestože byly ojediněle popsány i falešně vysoké hladiny S-B₂M bez známek klinické nebo laboratorní progresie nemoci (16), jsou vysoké hodnoty S-B₂M obvykle považovány za projev vysoké rizikovosti, umožňující další podrozdělení nemocných III. stádia do prognosticky odlišných skupin (3,31). Výrazem v současnosti již nezastupitelné role tohoto ukazatele je skutečnost, že hladina S-B₂M je základním kritériem většiny moderních stratifikač-

ních systémů MM (viz tab. 2 ve II. části studie). V uvedených souvislostech nelze ovšem opomenout ani ojedinělé studie, které nezávislou prognostickou roli hladin S-B₂M nepotvrdily (38), např. recentní skórovací systém dle Grignaniho tento ukazatel zcela postrádá (23).

Vzhledem k rozdílnému hodnocení prognostického významu stupně infiltrace KD myelomovými plazmocytami v dřívějších studiích, ale i dobře známé a význačné variabilitě výsledků získaných z různých částí téhož odběru se až na výjimky (10,23) nestal tento ukazatel kritériem stratifikačním, ale pouze diagnostickým (24). V naší sestavě prokázáný prognostický význam zřejmě vyplývá z poměrně vysoké, vhodné nastavené dělicí hranice v kostní dřeni (40% plazmocytů). Na pracovištích s výborným odborným zázemím lze využít i opakovaně prokázáného prognostického významu plazmoblastické morfolgie myelomových buněk nezávislé na jiných PF (20,23,32,42), elektromikroskopicky vyhodnoceného stupně jádro-cytoplazmatické maturationi asynchronie plazmocytů (57) i charakteru myelomové infiltrace a morfologického „gradingu“ vyhodnoceného histologicky (2).

Pravděpodobně nejpodstatnějším výstupem předložené studie v podmínkách České republiky je jednoznačné potvrzení prognostického významu hodnocení procentuálního zastoupení myelomových buněk v S-fázi buněčného cyklu vyšetřeného s pomocí PI/CD₁₃₈ indexu. Hranice ≥ 3.0%, nikoliv ale ≤ 2.0 nebo 2.0-2.9% umožňuje rozčlenění nemocných do dvou prognosticky zcela odlišných skupin. Potvrzení výborného prognostického významu PI/CD₁₃₈ je zcela v souladu se závěry studií, považujících „labeling index“ plazmatických buněk (PCLI) za jeden z nejméně významných, na ostatních PF nezávislých ukazatel (6,8,17,19,41,46, 51,70,74,75), odrážející proliferativní „náboj“ maligního klonu a předpovídající rovněž i délku trvání léčebné odezvy (46). Vysoký PCLI reziduální myelomové populace zjištěný v období „stabilní“ fáze nemoci po předchozí chemoterapii je nejméně významným ukazatelem predikce relapsu, případně i fatálního vyústění nemoci (46). Bylo prokázáno, že hodnota PCLI má vztah ke stupni buněčné „nezralosti“ (2,51) resp. plazmoblastické morfologii (20,42). Na některých pracovištích rovněž napomáhá i k rozhodnutí o použití HD-terapie s ASCT (75), i když podle některých předběžných výsledků se po vysoce intenzivním způsobu léčby schopnost prognostické predikce vytrácí (8). Závažným nedostatkem hodnocení proliferativních vlastností myelomových buněk je nepochybně dosavadní značně omezená dostupnost v běžné klinické praxi.

Interleukin-6, nejméně významný růstový faktor myelomových buněk byl s rozdílnými výsledky hodnocen i z hlediska vztahu jeho sérových koncentrací k prognóze MM (24,68). V naší předchozí studii byl zaznamenán určitý vztah sérových koncentrací ke stupni pokročilosti a aktivitě nemoci (60), nynější analýza ale neprokázala vztah k délce celkového přežití. Příznivý vztah k prognóze, prokázáný v některých dřívějších studiích byl pravděpodobně podmíněn mimo jiné i rozdílnou laboratorní metodikou stanovení (4,39,71). V případě jeho metodické nedostupnosti byl některými autory nahrazen s variabilním úspěchem hodnotou CRP (69,71). Zvýšené hladiny sIL-6R v séru se v řadě studií vyznačovaly dobrým vztahem k nástupu progresu a k nepříznivé prognóze nemoci (19,28,39,54,68,71), případně i k nedostatečné odezvě na léčbu (28), dále remise a průběžné aktivitě nemoci (34). Zajímavým zjištěním byl popis vztahu S-sIL-6R a PCLI k plazmoblastické morfologii a k výskytu ras mutace, spojených s krátkým celkovým přežitím (16). Hladina S-sIL-6R byla spolu se S-B₂M (39) nebo i PCLI (19) použita jako jedno z kritérií dvou stratifikačních systémů, vyjadřujících především rozdílné biologické vlastnosti nádorových buněk. Zatímco v naší předchozí analýze byl prokázán vztah sérových hladin s-IL-6R k S-B₂M, S-TK a k aktivitě nemoci v průběhu MM, nebyl v nynější studii prokázán statisticky významný vztah hladin S-sIL-6R k prognóze nemoci i když mediány OS se dosti odli-

šoivaly (61). Vzhledem k dříve nalezenému vztahu sérových hladin sIL-6R, sIL-2R, TNF- α k hladině S-kreatininu a v případě hladin cytoadhezivních molekul VCAM-1 a ICAM-1 ke stádiu MM (D-S), sVCAM-1 k hladinám S-kreatininu, S-albuminu, Hb, S-B₂M a S-TK a hladin ICAM-1 k S-B₂M (60,61,63), byl v nynější studii vyhodnocen vztah k prognóze nemoci. Ukázalo se, že zvýšené hodnoty IL-6, IL-2, sIL-2R, TNF- α , VCAM-1 a ICAM-1 postrádají u nemocných s MM schopnost prognostické predikce. S výjimkou IL-2, jehož zvýšené hodnoty byly sporadicky zaznamenány u nemocných ve stabilní fázi nemoci s příznivým prognostickým výhledem (9,19) ani další, obdobně zaměřená studie neprokázala prognostický význam těchto cytokinů (68). Podle dostupných informací pravděpodobně nebyl prozatím jinou studií analyzován prognostický význam sérových hladin VCAM-1 a ICAM-1.

V předložené studii vyzněla neobyčejně příznivě analýza prognostického významu hladin S-TK vyšetřené při diagnóze MM a to jak při vyhodnocení lehece (>10.0 U/l), tak i podstatně zvýšené hladiny (>20.0 U/l). Z rozboru dosavadního písemnictví vyplývá, že již i v předchozích ojedinělých studiích byl odhalen vztah hladin S-TK k nepříznivé prognóze (17,52), a to zejména z hlediska přežití v 1-letém odstupu od diagnózy MM. I když byl nalezen určitý vztah hladin S-TK k hodnotám PCLI, nezdá se, že jde o vztah jednoznačný, neboť ke zvýšení S-TK dochází pouze u 5-33% nemocných s vysokým PCLI (17). Z dosavadních zkušeností vyplývá, že hladina S-TK vyjadřuje především souhrnou proliferativní kapacitu a masu myelomových buněk, má význam pro predikci léčebné odezvy i celkového OS (52) a to nezávisle na hladinách S-B₂M (17).

V nynější studii nebylo záměrně přikročeno k hodnocení prognostického významu stavu klinické kondice (PS – „performance status“ dle kritérií ECOG/WHO) i stupně postižení skeletu, neboť jejich význam byl již opakovaně ověřen, a to i v naší předchozí studii (55) a v případě PS plně akceptován i v recentních publikacích (10,46).

Je nasnadě, že předložená studie, zabývající se samostatným hodnocením pouze několika nejvýznamnějších PF, plnicích

úlohu stážovacích kritérií sedmi námi vyhodnocených stážovacích systémů (II. část studie), se nemohla vyjádřit k dnes již téměř nekonečné a stále neuzavřené paletě ukazatelů, u nichž byl prokázán významný prognostický význam např. hladiny CRP (4,69), LDH, AAT (30), ICTP, sNCAM a solubilního Fc receptoru (CD 16) v séru, DNA aneuploidie (21), výskyt prekurzorů myelomových buněk cirkulujících v periferní krvi (74), mutace supresorového genu p-53 (12), přítomnost markeru rezistence MDR-1 a gp 170, význam MRI pro detekci okultních lézí u asymptomatických nemocných (29,74), nebo přítomnost delecce chromozomu 13q event. 22q (12,15). Většina z nich byla uvedena v samostatně zpracovaných kapitolách (6,19,26,31,41,47,65), zatímco ty novější, např. indexy apoptózy (75), hodnocení aktivace onkogenů a zvýšené exprese bcl2 vedoucí k selhání apoptózy a prodloužení přežití myelomových buněk (19), hladiny osteoprotegerinu a RANKL, výsledku vyšetření skeletu s pomocí Tc-MIBI, stupeň neoangiogenezy (43,50), hladina syndecanu v séru (49), exprese PRAD1/cyklin D1 (53), delecce genu p53 (12), vzestup HGF („hepatocyte growth factor“ (48)), exprese „lung resistance related protein“ LRP (40) jsou uváděny v recentních publikacích.

Závěr

Z předložené studie je patrné, že otázka PF u MM je pro svou složitost stále neuzavřena a rozdílná z pohledu potřeb obecné klinické praxe nebo nároků randomizovaných prospektivních kooperativních studií. Ukazuje se, že neobyčejně aktuálním požadavkem současnosti je vytypování početně omezené, všeobecně dostupné sestavy vzájemně nezávislých PF s nejvyšší prognostickou predikcí a to samostatně pro nemocné léčené KT a HD-terapií s transplantací křetvorných buněk, jak si to předsevzala v roce 2000 skupina předních světových odborníků sdružených v IMF (International Myeloma Foundation (22)).

Vypracováno s podporou grantu IGA č. NC 6212-3/2000

Prof. MUDr. Vlastimil, Ščudla, CSc., III. interní klinika LF UP a FN Olomouc, I. P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc

Literatura

1. Adam, Z.: Přehled léčebných postupů u pacientů s mnohočetným myelomem, s. 81-88. In: Adam, Z., Hájek, R., Mayer, J. et al.: Mnohočetný myelom a další monoklonální gamapatie. 1. vyd., Masarykova univerzita, Brno 1999, s.370.
2. Bartl, R., Frisch, B.: Clinical significance of bone marrow biopsy and plasma cell morphology in MM and MGUS. *Path Biol*,47,1999,158-168.
3. Bataille, R., Durie, B.G.M., Grenier, J. et al.: Prognostic factors and staging in multiple myeloma: A Reappraisal. *J Clin Oncol*,4,1986,80-87.
4. Bataille, R., Boccadoro, M., Klein, B. et al.: C-reactive protein and β_2 -microglobulin produce a simple and powerful myeloma staging system. *Blood*,80,1992,733-737.
5. Blade, J., Kyle, R.A., Greipp, P.: Presenting features and prognosis in 72 patients with multiple myeloma who were younger than 40 years. *Brit J Haematol*,93,1996,345-351.
6. Boccadoro, M., Pileri, A.: Prognostic factors in multiple myeloma, s.251-270. In: Malpas, J.S., Bergsagel, D.E., Kyle, R.A.: Myeloma-biology and management. 1st edit., Oxford University Press,Oxford 1995, s.581.
7. Boccadoro, M., Pileri, A.: Diagnosis, prognosis and standard treatment of multiple myeloma. *Hematol Oncol North Amer*,11,1997,111-131.
8. Boccadoro, M., Tarella, C., Palumbo, A. et al.: An analysis of which subgroups of multiple myeloma patients, divided according to beta₂-microglobulin and plasma cell labeling index, benefit from high dose vs conventional chemotherapy. *Haematologica*,84, 1999,905-910.
9. Cimino, G., Avvisati, G., Amadori, S. et al.: High serum IL-2 levels are predictive of prologed survival in multiple myeloma. *Brit J Haematol*, 75,1990,373-377.
10. Corrado, C., Santarelli, M.T., Pavlovsky, S. et al.: Prognostic factors in multiple myeloma. Definition of risk groups in 410 previously untreated patients: A Grupo Argentino de Tratamiento de la Leucemia Aguda Study. *J Clin Oncol*,12,1989,1839-1844.
11. Corso, A., Klersy, C., Lazzarino, M. et al.: Multiple myeloma in younger patients: the role of age as prognostic factor. *Ann Hematol*,76,1998,67-72.
12. Drach, J., Ackermann, J., Fritz, E. et al.: Presence of a p53 gene deletion in patients with multiple myeloma predicts for short survival after conventional-dose chemotherapy. *Blood*, 92,1998,802-809.
13. Durie, B.G.M., Salmon, S.E., Moon, T.E.: Pretreatment tumour mass, cell kinetics and prognosis in multiple myeloma. *Blood*,55,1980,364-372.
14. Durie, B.G.M., Stock-Novack, D., Salmon, S.E. et al.: Prognostic value of pretreatment serum β_2 -microglobulin in myeloma: A Southwest Oncology Group Study. *Blood*,75, 1990,823-830.
15. Fonseca, R.: Prognostic implications of chromosomal abnormalities as detected by FISH. *Abstr. VIII International myeloma workshop, Banff 2001*,17-18.
16. Greipp, P.R.: Advances in the diagnosis and management of myeloma. *Sem Hematol*,29, 1992,Suppl.2,24-45.
17. Greipp, P.R., Lust, J.A., O'Fallon, M. et al.: Plasma cell labeling index and β_2 -microglobulin predict survival independent of thymidine kinase and C-reactive protein in multiple myeloma. *Blood*,81,1993,3382-3387.
18. Greipp, P.R.: Prognosis in myeloma (review). *Mayo Clin Proc*, 69, 1994, 895-902.
19. Greipp, P.R., Kyle, R.A.: Staging, kinetics, and prognosis of multiple myeloma, s.534-559. In: Wiernick, P. et al.: Neoplastic diseases of the blood, 3rd Edit.,Churchille-Livingstone, New York 1996.
20. Greipp, P.R., Leong, T., Bennett, J.M. et al.: Plasmablastic morphology – An independent prognostic factor with clinical and laboratory correlates: Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG). *Blood*,91,1998,2501-2507.
21. Greipp, P. R., Trendle, M. C., Leong, T. et al.: Is flow cytometric DNA content hypodiploidy prognostic in multiple myeloma? *Leukemia/Lymphoma*, 35,1999,83-89.
22. Greipp, P.R., San Miguel, J. and Myeloma prognostic index working group: Progres towards an International prognostic index for multiple myeloma. *Abstr. VIII International myeloma workshop, Banff 2001*,58.
23. Grignani, G., Gobbi, P.G., Formisano, R. et al.: A prognostic index for multiple myeloma. *Brit J Cancer*,73,1996,1101-1107.
24. Haferlach, T., Löfller, H.: Prognostic factors in multiple myeloma: practicability for clinical practice and future perspectives. *Leukemia*,11,1997,5-9.
25. Knudsen, L.M., Hjorth, M., Hippe, E.: Renal failure in multiple myeloma: reversibility and impact on the prognosis. *Eur J Haematol*, 65, 2000, 175-181.

26. Kyle, R.A.: Prognostic factors in multiple myeloma. *Hematol Oncol*, 6, 1988, 125-130.
27. Kyle, R.A.: Why better prognostic factors for multiple myeloma are needed. *Blood*, 83, 1994, 1713-1716.
28. Kyrtonis, M.C., Dedoussis, G., Zervas, C. et al.: Soluble interleukin-6 receptor (sIL-6R), a new prognostic factor in multiple myeloma. *Brit J Haematol*, 93, 1996, 398-400.
29. Mariette, X., Zagdanski, A.M., Guermazi, A. et al.: Prognostic value of vertebral lesions detected by magnetic resonance imaging in patients with stage I multiple myeloma. *Brit J Haematol*, 104, 1999, 723-729.
30. Merlini, G., Perfetti, V., Gobbi, P. et al.: Acute phase protein and prognosis in multiple myeloma. *Brit J Haematol*, 83, 1993, 595-601.
31. Michiels, J.J.: Multiple myeloma: prognostic factors and treatment modalities. *Nether J Med*, 40, 1992, 254-270.
32. Murakami, H., Kawada, T., Saitoh, T. et al.: A staging system for multiple myeloma based on the morphology of myeloma cells. *Eur J Haematol*, 62, 1999, 63-67.
33. Nehemiah, C., Cherng, P., Nabih, R. et al.: Prognostic factors in multiple myeloma. *Cancer*, 67, 1991, 3150-3156.
34. Ohtani, K., Ninomiya, H., Hasegawa, Y. et al.: Clinical significance of elevated soluble interleukin-6 receptor levels in the sera of patients with plasma cell dyscrasias. *Brit J Haematol*, 91, 1995, 116-120.
35. Oivanen, T.M.: Prognostic value of serum M-protein doubling time at escape from plateau of multiple myeloma. The Finnish Leukaemia Group. *Eur J Haematol*, 57, 1996, 247-253.
36. Orfao, O., Garcia-Sanz, R., Lopez-Berges, M.C. et al.: A new method for the analysis of plasma cell DNA content in multiple myeloma samples using a CD₃₈/propidium iodide double staining technique. *Cytometry*, 17, 1994, 332-339.
37. Österborg, A., Mellstedt, H.: Clinical features and staging multiple myeloma, s.98-107. In: Gahrton, G., Durie, B.G.M.: Multiple myeloma. Arnold, London 1996, s.219.
38. Peest, D., Coldewey, R., Deicker, H. et al.: Prognostic values clinical, laboratory, and histological characteristics in multiple myeloma: improved definition of risk groups. *Eur J Cancer*, 29, 1993, 978-985.
39. Pulkki, K., Peleiniemi, T.T., Rajamaki, A. et al.: Soluble interleukin-6 receptor as a prognostic factor in multiple myeloma. *Brit J Haematol*, 92, 1996, 370-374.
40. Raaijmakers, H.G.P., Izaquierdo, M.A.I., Lokhorst, H.M. et al.: Lung-resistance-related protein expression is a negative predictive factor for response to conventional low but not to intensified dose alkylating chemotherapy in multiple myeloma. *Blood*, 91, 1998, 1029-1036.
41. Rajkumar, S.V., Greipp, P.R.: Prognostic factors in multiple myeloma. *Hematol Oncol Clin North Amer*, 13, 1999, 1295-1314.
42. Rajkumar, S.V., Fonseca, R., Lacy, M.Q. et al.: Plasmablastic morphology is an independent predictor of poor survival after autologous stem-cell transplantation for multiple myeloma. *J Clin Oncol*, 17, 1999, 1551-1557.
43. Rajkumar, S.V., Leong, T., Roche, P.C. et al.: Prognostic value of bone marrow angiogenesis in multiple myeloma. *Clin Cancer Res*, 6, 2000, 3111-3116.
44. Rodon, P., Linossier, C., Gauvain, J.B. et al.: Multiple myeloma in elderly patients: presenting features and outcome. *Eur J Haematol*, 66, 2001, 11-17.
45. Sakalová, A. et al.: Generalizovaný plazmocytóm. 1. vyd., Veda, Bratislava 1983, s.231.
46. San Miguel, J.F., García-Sanz, R., González, M. et al.: A new staging system for multiple myeloma based on the number of S-phase plasma cells. *Blood*, 85, 1995, 448-455.
47. San Miguel, J.F.: Overview of prognostic factors in multiple myeloma. *Abstr. VI. International workshop on multiple myeloma. Boston 1997*.
48. Seidel, C., Borset, M., Turesson, I. et al.: Elevated serum concentrations of hepatocyte growth factor in patients with multiple myeloma. The Nordic Myeloma Study Group. *Blood*, 91, 1998, 806-812.
49. Seidel, C., Sundan, A., Hjorth, M. et al.: Serum syndecan-1: a new independent prognostic marker in multiple myeloma. *Blood*, 95, 2000, 388-392.
50. Sezer, O., Niemoller, K., Eucker, J. et al.: Bone marrow microvessel density is a prognostic factor for survival in patients with multiple myeloma. *Ann Hematol*, 79, 2000, 574-577.
51. Schambeck, Ch., M., Bartl, R., Höchtlen-Vollmar, W. et al.: Characterization of myeloma cells by means of labeling index, bone marrow histology, and serum β_2 -microglobulin. *Am J Clin Pathol*, 106, 1996, 64-68.
52. Simonsson, B., Källander, C.F.R., Brenning, G. et al.: Biochemical markers in multiple myeloma: a multivariate analysis. *Brit J Haematol*, 69, 1988, 47-53.
53. Sonoki, T., Hata, H., Kuribayashi, N. et al.: Expression of PRAD1/cyclin D1 in plasma cell malignancy: incidence and prognostic aspects. *Brit J Haematol*, 104, 1999, 614-617.
54. Stasi, R., Brunetti, M., Parma, A. et al.: The prognostic value of soluble interleukin-6 receptor in patients with multiple myeloma. *Cancer*, 82, 1998, 1860-1866.
55. Ščudla, V., Wiedermann, B., Wiedermann, D. et al.: Význam prognostických ukazatelů u mnohočetného myelomu I. Klinické, biochemické a radiografické ukazatele. *Vnitř Lék*, 30, 1984, 1145-1155; II. Vybrané hematologické ukazatele. *Vnitř Lék*, 30, 1984, 1156-1165.
56. Ščudla, V., Indrák, K.: Prognostic significance of stratification systems in multiple myeloma. I. Risk categories (good and poor risk). *Neoplasma*, 32, 1985, 469-478. II. Clinical staging systems. *Neoplasma*, 32, 1985, 481-493.
57. Ščudla, V., Wiedermann, B., Kodoušek, R. et al.: Significance of nucleocytoplasmic maturation asynchrony in multiple myeloma. *Neoplasma*, 33, 1986, 483-492.
58. Ščudla, V., Budíková, M., Fischerová, E. et al.: Stratification of multiple myeloma according to serum β_2 -microglobulin and serum albumin levels. *Acta Univ Palacki Olomuc*, 130, 1991, 201-212.
59. Ščudla, V., Bačovský, J., Papajík, T. et al.: Tymidinkináza séra u mnohočetného myelomu. I. Vztah k vybraným laboratorním ukazatelům nemoci. *Vnitř Lék*, 40, 1994, 151-156. II. Vztah k aktivitě a rozsahu nemoci. *Vnitř Lék*, 40, 1994, 157-162.
60. Ščudla, V., Bačovský, J., Budíková, M. et al.: Interleukin-6 v séru u mnohočetného myelomu: I. Vztah k vybraným laboratorním ukazatelům nemoci. *Vnitř Lék*, 41, 1995, 593-598. II. Vztah k aktivitě a k pokročilosti nemoci. *Vnitř Lék*, 41, 1995, 599-604.
61. Ščudla, V., Kubalová, D., Bačovský, J. et al.: Příspěvek k vyšetření solubilního receptoru interleukinu-6 v séru u mnohočetného myelomu. *Čas Lék čes*, 135, 1996, 719-722.
62. Ščudla, V.: Pokroky v léčbě mnohočetného myelomu. *Vnitř Lék*, 43, 1997, 529-536.
63. Ščudla, V., Budíková, M., Bačovský, J. et al.: Vztah hladin solubilních cytoadhezivních molekul VCAM-1 a ICAM-1 k vybraným klinickým a laboratorním ukazatelům mnohočetného myelomu. *Vnitř Lék*, 45, 1999, 583-590.
64. Ščudla, V., Ordeltová, M., Špidlová, A. et al.: Význam vyšetření propidium-jodidového indexu plazmocytů u mnohočetného myelomu. I. Vztah k vybraným laboratorním ukazatelům nemoci. *Vnitř Lék*, 45, 1999, 331-335. II. Vztah k rozsahu a k aktivitě nemoci. *Vnitř Lék*, 45, 1999, 336-341.
65. Ščudla, V., Bačovský, J.: Prognostické faktory u mnohočetného myelomu. s. 157-173. In: Adam, Z., Hájek, R., Mayer, J. et al.: Mnohočetný myelom a další monoklonální gamapatie. 1. vyd. Masarykova univerzita, Brno 1999, s. 370.
66. Ščudla, V., Ordeltová, M.: Klinický a biologický význam vyšetřování proliferčních charakteristik plazmocytů u mnohočetného myelomu, s. 175-184. In: Adam, Z., Hájek, R., Mayer, J. et al.: Mnohočetný myelom a další monoklonální gamapatie. 1. vyd. Masarykova univerzita, Brno 1999, s. 370.
67. Špička, I., Merta, M., Cieslar, P. et al.: Postižení ledvin u monoklonálních gamapatií. *Čas Lék čes*, 134, 1995, 478-481.
68. Špička, I., Cieslar, P., Procházka, B. et al.: Prognostické faktory a markery aktivity u mnohočetného myelomu. *Čas Lék čes*, 139, 2001, 208-212.
69. Tienhaara, A., Pulkki, K., Mattila, K. et al.: Serum immunoreactive interleukin-6 and C-reactive protein levels in patients with multiple myeloma at diagnosis. *Brit J Haematol*, 86, 1994, 391-393.
70. Trendle, M.C., Leong, T., Kyle, R.A. et al.: Prognostic significance of the S-phase fraction of light-chain-restricted cytoplasmic immunoglobulin (cig) positive plasma cells in patients with newly diagnosed multiple myeloma enrolled on Eastern Cooperative Oncology Group treatment trial E 9486. *Amer J Hematol*, 61, 1999, 232-237.
71. Turesson, I., Abildgaard, N., Ahlgren, T. et al.: Prognostic evaluation in multiple myeloma: an analysis of the impact of new prognostic factors. *Brit J Haematol*, 106, 1999, 1005-1012.
72. Weber, D.M., Dimopoulos, M.A., Mouloupos, L.A. et al.: Prognostic features of asymptomatic multiple myeloma. *Brit J Haematol*, 97, 1997, 810-814.
73. Wijdenes, J., Vooijs, W.C., Clément, C. et al.: A plasmocyte selective monoclonal antibody (B-B4) recognize syndecan - 1. *Brit J Haematol*, 94, 1996, 318-323.
74. Witzig, T., Gertz, M.A., Lust, J.A. et al.: Peripheral blood monoclonal plasma cells as a predictor of survival in patients with multiple myeloma. *Blood*, 88, 1996, 1780-1787.
75. Witzig, T.E., 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*, 104, 1999, 131-137.