

# Prognostický význam imunofenotypizace u nemocných s monoklonální gamapatií nejasného významu a mnohočetným myelomem

Kovářová L.<sup>1, 2</sup>, Hájek R.<sup>1, 2, 3</sup>

<sup>1</sup>Oddělení klinické hematologie, FN Brno – PMDV, Brno

<sup>2</sup>Babákův výzkumný institut, Univerzitní výzkumné centrum – Česká myelomová skupina, LF MU, Brno

<sup>3</sup>Interní hemato-onkologická klinika, FN Brno – PMDV, Brno

## SOUHRN

Vyšetření pomocí průtokové cytometrie (FC) je prováděno pouze u omezeného počtu osob s monoklonální gamapatií (MG), přestože v posledních letech bylo provedeno množství analýz prokazujících její prognostický význam. Hlavní uplatnění imunofenotypizace u MG je v rámci: 1. diferenciální diagnostiky, 2. stanovení rizika progresu u MGUS a asymptomatického MM (aMM), 3. analýzy prognostických markerů a 4. detekce minimální reziduální nemoci u pacientů s MM. Multiparametrická průtoková cytometrie by proto měla být zařazena mezi rutinní vyšetřovací metody u pacientů s monoklonálními gamapatiemi. *Klíčová slova:* monoklonální gamapatie, mnohočetný myelom, plazmatická buňka, fenotyp, průtoková cytometrie.

## SUMMARY

**Kovářová L., Hájek R.: The prognostic significance of immunophenotyping in monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma subjects**

Flow cytometry (FC) analysis is performed only in a limited number of subjects with monoclonal gammopathy (MG), although in recent years have been published a number of analysis showing its prognostic importance. Main applications of immunophenotypisation in MGs are (1) differential diagnosis, (2) determination the risk of progression in MGUS and asymptomatic MM (aMM), (3) analysis of prognostic markers, and (4) detection of minimal residual disease in patients with MM. Multiparameter flow cytometry then should be included as a routine assay in monoclonal gammopathy patients.

*Key words:* monoclonal gammopathy, multiple myeloma, plasma cells, phenotype, flow cytometry.

## Úvod

Monoklonální gamapatie (MG) tvoří heterogenní skupinu onemocnění, která jsou charakteristická přítomností monoklonálního proteinu produkovaného klonálními plazmocytami (PC), jakožto terminálními stadii transformovaných B lymfocytů. Monoklonální gamapatie nejasného významu (MGUS) je řazena mezi benigní onemocnění, avšak s možností progresu do maligního mnohočetného myelomu (MM) či jiné lymfoproliferace [1]. Vznik MG a její vývoj nelze předvídat, a proto jsou stále hledány jednak nové prediktivní markery, které by mohly napomoci určit vysoce rizikovou skupinu pacientů a u nich zabránit progresi do maligního onemocnění [2, 3], ale také prognostické markery, které by umožnily přesněji a časněji cílit léčbu pacientů s již maligním MM [4, 5].

Průtoková cytometrie (flow cytometry, FC) nepatří u MG mezi diagnostické metody, nicméně její význam stále roste [6]. Je snaha vyvinout jednotný protokol pro analýzu PC, ať už z hlediska metodologického či v souvislosti s klinickými aplikacemi, což je náplní European Myeloma Network (EMN) [7].

Současné znalosti a technické možnosti staví multiparametrickou FC a imunofenotypizaci na čelní místo v diagnostice mnoha hematologických malignit, a není proto důvod, proč by MG měly být výjimkou. Náplní

tohoto článku je shrnout výhody průtokové cytometrie, zejména její prognostický význam, a osvětlit její uplatnění ve studiu onemocnění z plazmatických buněk.

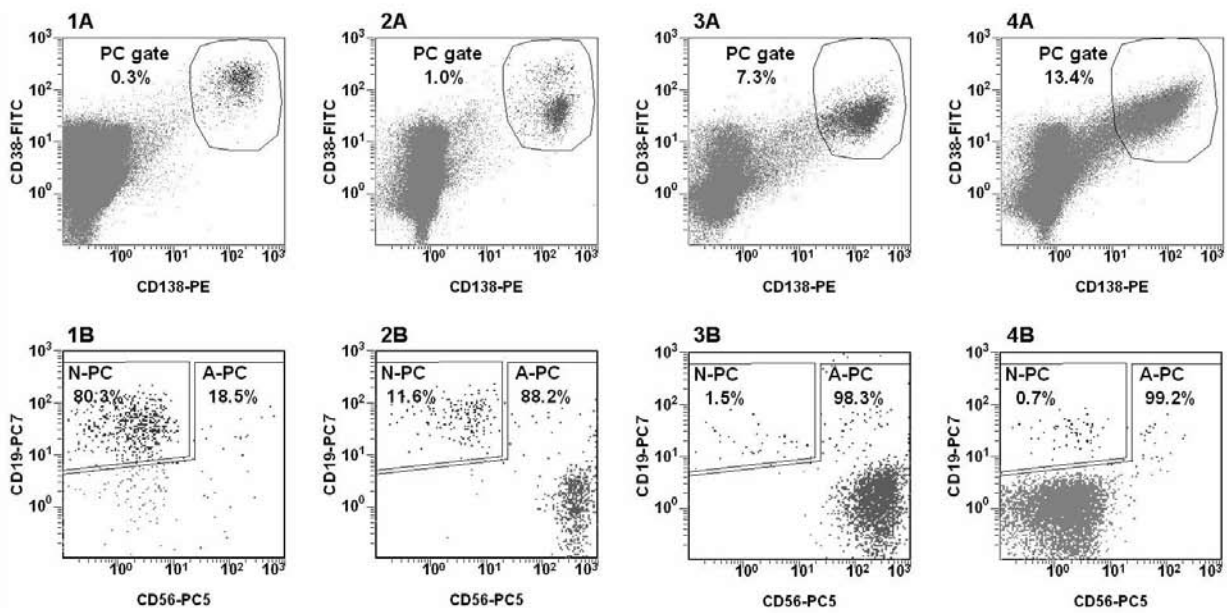
## Detekce plazmocytů

V periferní krvi pacientů jsou detekovány plazmablasty/plazmocytů většinou v nižším počtu, zvýšení absolutního (více než  $2 \times 10^9/l$ ) nebo relativního (více než 20 % leukocytů) počtu maligních PC v periferní krvi je již diagnostickým kritériem plazmocelulární leukémie (PCL) [8, 9]. V kostní dřeni pak lze detekovat PC, jejichž množství – v závislosti na kvalitě odběru – přibližně odpovídá diagnóze. Nízký počet PC v KD by měl být adekvátně navýšen analýzou většího objemu KD tak, aby bylo detekováno alespoň 100 PC [7].

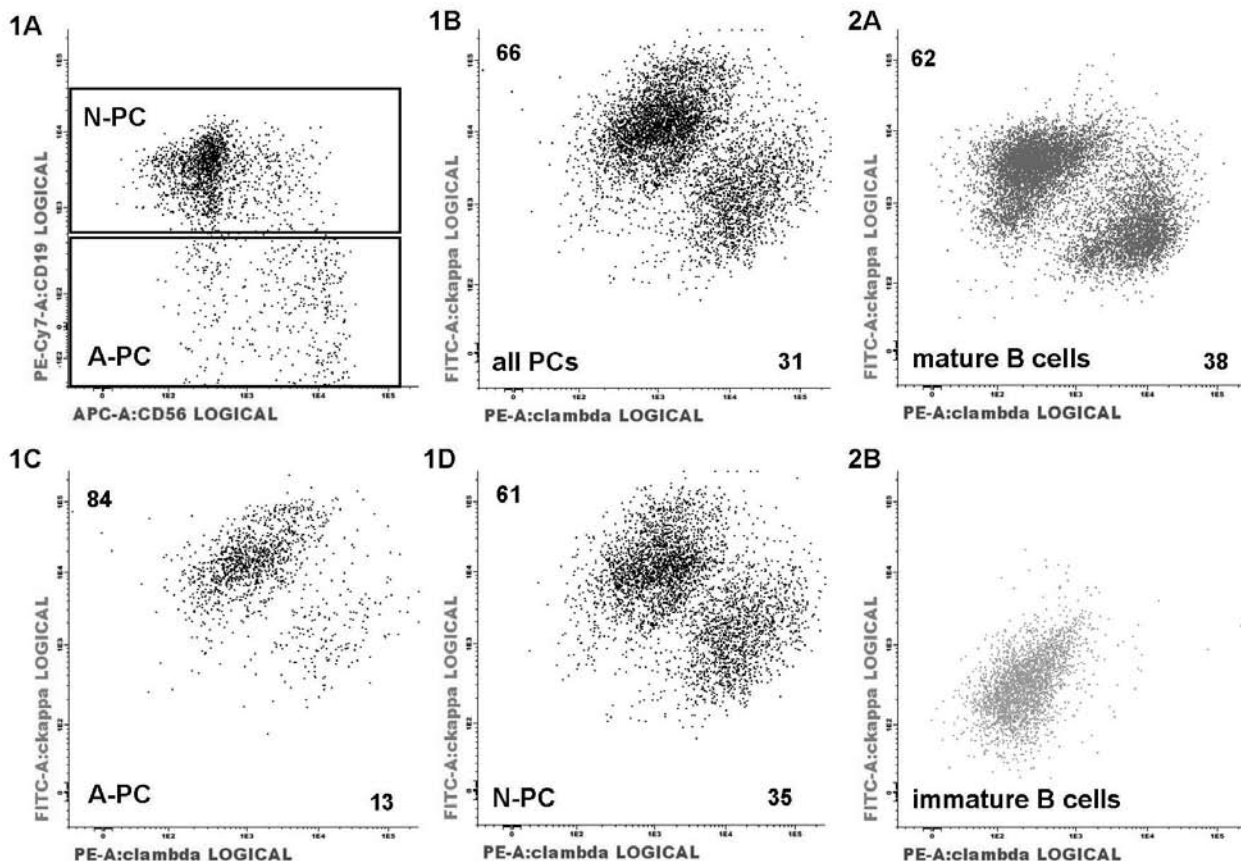
Plazmocytů lze prokázat podle povrchové exprese znaků CD38 a CD138, avšak rozlišení normálních (nPC, N-PC) od klonálních (aPC, A-PC) PC je vesměs možno provést až na základě analýzy exprese dalších znaků (obr. 1). Pozitivita na znaky CD19, CD27, CD45 a vysoká exprese CD38 jsou pak charakteristické pro normální PC, zatímco pozitivita na CD20, CD28, CD33, CD56 a CD117 odpovídá myelomatózním PC (tab. 1) [10, 11]. Při přetrvávající nejistotě může být využita také analýza cytoplazmatických lehkých řetězců Ig kappa/

lambda (obr. 2). Minimalistický přístup, využívající pouze 4-barevné FC, se v současnosti jeví jako již překonaný a lze očekávat, že v blízké době budou metodologic-

ké postupy inovovány pro použití 8-barevné průtokové cytometrie, velmi pravděpodobně ve spolupráci s EuroFlow skupinou (viz tab. 2) [12].



**Fig. 1.** PCs numbers and their phenotype  
PCs detected as CD38<sup>+</sup>CD138<sup>+</sup> leukocytes with normality assesment according to expression of CD19 and CD56. Examples of patient suspected from MG with normal CD19<sup>+</sup> N-PCs (1A, 1B); MGUS subject with mixture of CD19<sup>+</sup>N-PC and CD56<sup>+</sup>A-PC (2A, 2B); MM patient with majority of CD56<sup>+</sup> A-PC (3A, 3B) and MM patient with CD56<sup>-</sup> A-PC (4A, 4B). Analyses made by flow cytometr FC500 Cytomics using CXP2.0 software (Beckman Coulter).



**Fig. 2.** Clonality assesment of PCs and B cells in MGUS. Surface expression of CD19 and CD56 (1A) analysed on CD38<sup>+</sup>CD138<sup>+</sup>PC together with cytoplasmatic expression of light chains kappa/lambda (1B-1D), leading to pathological clone finding. According to CD45 expression were immature and mature B cells disriminated in CD19<sup>+</sup>CD138<sup>+</sup> leukocytes together with cytoplasmatic kappa/lambda expression (2A, 2B). Number of kappa/lambda positivity shown in relative count (%). Analyses made by flow cytometr FACSCantoll using Diva 6.0 software (Becton Dickinson) and Infinicyt software (Cytognos).

**Table 1.** List of most useful antigens for the detection of normal and aberrant plasma cells in MGs

Antigen	Normal expression	Abnormal expression	MGs with abnormal expression (%)	Requirements for diagnosis and monitoring
CD19	positive (> 70 %)	negative	95	essential
CD56	negative (<15 %)	strongly positive	75	essential
CD117	negative (0 %)	positive	30	recommended
CD20	negative (0 %)	positive	30	recommended
CD28	negative/weak (< 15 %)	strongly positive	15–45	recommended
CD27	strongly positive (100 %)	weak or negative	40–50	recommended

(according to [7])

**Table 2.** EuroFlow classification panel for plasma cell dyscrasias

Tube/conjugate	Pacific Blue	Pacific Orange	FITC	PE	PerCP-Cy5.5	PE-Cy7	APC	APC-H7
1	CD45	CD138	CD38	CD56	$\beta_2m$	CD19	clg $\kappa$	clg $\lambda$
2	CD45	CD138	CD38	CD28	CD27	CD19	CD117	CD81

(according to [12])

## Stanovení počtu PC pomocí FC

Navzdory tomu, že flowcytometrické stanovení zastoupení plazmocytů v kostní dřeni (KD) vede k nižší infiltraci než při stanovení % PC konvenční morfologií a nemusí tedy odpovídat typu či stadiu onemocnění, FC by neměla být vyloučena z dalších analýz. Zdroj nesrovnalostí lze najít jednak v možném naředění KD periferní krví (PK), jelikož FC nepracuje s první porcí KD, ale také v rozdílném zdrojovém materiálu, kdy nátěr kostní dřene obsahuje i PC asociované s lipidovými fragmenty, zatímco FC pracuje se suspenzí z kostní dřene [7, 13]. Srovnání morfologické a flowcytometrické analýzy však ukázalo, že senzitivita obou přístupů je shodná, výsledky spolu korelují a navíc bylo zjištěno, že % PC stanovené pomocí FC je nezávislý prognostický faktor s dopadem na celkové přežití pacientů [14].

## Klinické aplikace průtokové cytometrie

Průtoková cytometrie může být využita nejen ke stanovení pouhého zastoupení PC v periferní krvi či kostní dřeni, ale simultánní analýza až 8 znaků na jediné buňce může vypovědět také o typu PC, což má klinickou a prognostickou výpovědní hodnotu [6, 15].

### • Diferenciální diagnostika

Nezbytná je identifikace a zhodnocení počtu PC, stejně jako rozlišení mezi normálními polyklonálními PC u reaktivní plazmocytózy a klonálními PC u MG (MGUS, MM, PCL či extramedulární plazmocytom) [7, 16]. Bylo zjištěno, že kostní dřeň osob s MGUS obsahuje směs normálních polyklonálních PC (CD19<sup>+</sup>CD56<sup>-</sup>) a klonálních PC s aberantním fenotypem (CD19<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>, CD19<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>, CD19<sup>-</sup>CD56<sup>-</sup>), zatímco u MM je nalézána naprostá převaha CD56<sup>+</sup> aberantních PC [17, 18]. Jako hraniční hodnotu pro odlišení MGUS od MM lze využít přítomnost > 5 % normálních PC v KD [19]. Překvapivě i u některých pacientů se symptomatickým MM lze v KD nalézt > 5 % normálních PC, a tito se pak vyznačují niž-

ším zastoupením vysoce rizikových cytogenetických abnormalit, delší dobou přežití bez progresse onemocnění a také delším celkovým přežitím [20]. U pacientů s Waldenströmovou makroglobulinémií (WM) jsou naopak přítomny klonální nemyelomatózní PC, což vyžaduje pečlivé vyšetření, zejména u nízkých počtů PC [21]. Rozlišení myelomatózních a nemyelomatózních PC pak může také napomoci u analýz jiných lymfoproliferací [22].

### • Stanovení rizika progresse u MGUS a asymptomatického MM (aMM)

Jsou známy „tradiční“ prediktivní parametry vypovídající o riziku progresse MGUS do MM, kdy s vyšším rizikem progresse se pojí hladina monoklonálního proteinu (MIG) > 15 g/l a jiný izotyp MIG než IgG, k těm novějším parametrům je řazena hladina volných lehkých řetězců (FLC) v séru. Na základě uvedených parametrů byl sestaven model rizikové stratifikace [2]. Současně byla publikována teorie evolving a non-evolving typu MGUS, založená na rychlosti nárůstu MIG [23]. Výpovědní hodnota uvedených parametrů je však uplatnitelná v rámci desítek let sledování, zatímco FC přístup, založený na analýze počtu patologických PC, je rychlejší a navíc má přesnější výpovědní hodnotu [19]. Nález  $\geq 95$  % patologických PC (A-PC/PC) je nezávislým prediktivním parametrem, který vypovídá o riziku progresse MGUS či aMM do symptomatické formy. Při srovnání s parametrem popisujícím vývoj monoklonální komponenty bylo riziko progresse zjištěné pomocí imunofenotypizace dokonce popsáno lépe [24]. Multiparametrická FC tak umožňuje rozpoznat pacienty, které je nutno častěji sledovat a u kterých bylo možno dříve zahájit léčbu, a předejít tak nepříznivým projevům rozvinutého MM. Je nutno poznamenat, že prozatím neexistuje marker, který by umožnil odlišení benigní MGUS od její případné malignizující formy.

### • Analýza prognostických markerů u MM

Imunofenotyp nemusí sloužit pouze k odlišení normálních a patologických PC, ale má také svou prognos-

tickou informací. Bylo zjištěno, že existuje asociace mezi fenotypovým profilem a cytogenetickými abnormalitami. Ve španělské studii bylo prokázáno, že exprese znaků CD19 a CD28 a též nepřítomnost CD117 na patologických PC je spojena s významně kratším přežíváním bez progresu onemocnění a sníženým celkovým přežíváním transplantovaných pacientů [10]. Exprese znaku CD28 korelovala s t(14;16) a del(17p), naopak nepřítomnost znaku CD117 se pojila s t(4;14) a del(13q). Znaky CD28 a CD117 pak při společné analýze dokázaly pacienty rozdělit do 3 rizikových kategorií, s rozdílnou dobou bez progresu onemocnění a celkovým přežitím. Výsledky naší pracovní skupiny potvrzují jako významný pouze znak CD117, jehož exprese se pojí s hyperdiploidií a nepřítomnost koreluje s nálezem již zmiňované del(13)(q14) [25]. Novým zjištěním je asociace exprese znaku CD117 na PC se změnou produkce hematopoetických buněk kostní dřeně, což vede ke snížení počtu neutrofilů v PK a přítomnosti normálních PC v KD [26]. Bylo také zjištěno, že v případě MM je jednou z významných genetických změn ztráta genu pro CD27, která se pojí s klinicky agresivnějším onemocněním, nicméně u cca 50 % MM je exprese CD27 zachována a tito pacienti mají lepší prognózu [27].

#### • Detekce minimální reziduální nemoci

Je známo, že konvenční parametry (% PC, hladina MIG) nejsou dostatečně citlivé pro hodnocení léčebné odpovědi u pacientů s MM. Jelikož FC pracuje s obdobnou citlivostí jako alelově specifická oligonukleotidová (ASO)-PCR (citlivost  $10^{-4}$  u FC vs  $10^{-5}$  u PCR) a navíc je méně finančně i časově náročná, zdá se být optimální pro hodnocení minimální reziduální nemoci (MRN) [28, 29]. Značnou výhodou FC při studiu MRN je také univerzálnost použitých markerů pro stanovení zastoupení normálních a abnormálních PC (CD19/CD56), přičemž – až na výjimky – není nutno znát původní fenotyp PC pacienta před léčbou [30]. S nástupem nových léčebných protokolů musela Mezinárodní myelomová pracovní skupina (IMWG) přehodnotit kritéria léčebné odpovědi a v kategorii přísné kompletní odpovědi (stringent complete response, sCR) je nyní zahrnuto také FC hodnocení, přesněji absence fenotypově aberantních PC v rámci 3000 hodnocených PC analyzovaných pomocí multiparametrické FC ( $\geq 4$  barvy) [31]. Bylo též publikováno, že pacienti, kteří 100. den po autologní transplantaci byli MRN negativní (FC detekce  $< 10^{-4}$  myelomových PC v rámci všech jaderných buněk), pak vykazovali delší dobu bez progresu onemocnění a delší celkové přežití. Navíc, pacienti FC MRN<sup>-</sup>, ale s pozitivní imunofixací, vykazovali také delší dobu bez progresu onemocnění, což svědčí pro vyšší citlivost FC, která by tak měla být využívána pro rutinní analýzu MRN [32].

#### Další aplikace průtokové cytometrie

Je studována celá řada dalších faktorů se snahou získat nové informace v oblasti patofyziologie myelomových buněk a jejich chování. PC a jejich B buněčné

prekurzory jsou stále intenzivně analyzovány na buněčné i molekulární úrovni, s cílem odhalit a podrobně identifikovat maligní monoklonální populaci již na úrovni tzv. „cancer stem cells“ [33]. Maligní PC interagují s mikroprostředím kostní dřeně, což umožňuje jejich růst, chrání je před apoptózou a může ovlivňovat i rezistenci na léčiva, proto je také studován klinický význam jednotlivých adhezních molekul a chemokinových receptorů PC [34]. Zde však jsou dostupné pouze předběžné výsledky.

#### Závěr

Nesrovnalost v počtu PC zjištěném pomocí FC a morfologie není důvodem k vyloučení FC z dalších analýz u MG. Rozlišení a enumerace normálních a patologických PC může v konečném důsledku významně přispět ke stanovení diagnózy a imunofenotyp má také prediktivní a prognostický význam. FC, až na výjimky, není omezena celkovým nízkým počtem PC ve vzorku, což se jeví jako podstatné pro analýzu minimální reziduální nemoci (MRN) u léčených pacientů. Analýzy, které by mohly napomoci charakterizaci procesu maligní transformace, stále probíhají. Vše tedy svědčí o potřebě tohoto vyšetření, a to jak u nově diagnostikovaných MG, tak u léčených pacientů, a jeho zařazení mezi rutinní analýzy.

#### Literatura

1. **Bladé, J., Cibeira, M. T., Fernández de Larrea, C., Rosiñol, L.** Multiple myeloma. *Ann. Oncol.*, 2010, 21, Suppl 7, p. 313–319.
2. **Rajkumar, S. V., Kyle, R. A., Therneau, T. M. et al.** Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood*, 2005, 106, 3, p. 812–817.
3. **Kyle, R. A., Rajkumar, S. V.** Monoclonal gammopathy of undetermined significance and smouldering multiple myeloma: emphasis on risk factors for progression. *Br. J. Haematol.*, 2007, 139, 5, p. 730–743.
4. **Landgren, O., Rajkumar, S. V.** Development of early treatment strategies for high-risk myeloma precursor disease in the future. *Semin. Hematol.*, 2011, 48, 1, p. 66–72.
5. **Sandacká, V., Radocha, J., Maisnar, V., Hájek, R.** MGUS 2010 – výzkumný projekt zaměřený na identifikaci vysoce rizikové prekancerózy. *Klin. Biochem. Metab.*, 2009, 17, 2, p. 75–76.
6. **Paiva, B., Almeida, J., Pérez-Andrés, M. et al.** Utility of flow cytometry immunophenotyping in multiple myeloma and other clonal plasma cell-related disorders. *B. Clin. Cytom.*, 2010, 78, 4, p. 239–252.
7. **Rawstron, A. C., Orfao, A., Beksac, M. et al.** Report of the European Myeloma Network on multiparametric flowcytometry in multiple myeloma and related disorders. *Haematologica*, 2008, 93, 3, p. 431–438.
8. **Kyle, R. A., Maldonado, J. E., Bayer, E. D.** Plasma cell leukemia. Report on 17 cases. *Arch. Intern. Med.*, 1974, 133, 5, p. 813–818.
9. **Kovářová, L., Zahradová, L., Kissová, J., Pour, L., Hájek, R.** Stanovení diagnózy plazmocelulární leukémie v praxi. *Klinická onkologie, Suplement*, 2008, 21, 1, p. 258–260.

10. **Mateo, G., Montalbán, M. A., Vidriales, M. B. et al.** Prognostic value of immunophenotyping in multiple myeloma: a study by the PETHEMA/GEM cooperative study groups on patients uniformly treated with high-dose therapy. *J. Clin. Oncol.*, 2008, 26, 16, p. 2737–2744.
  11. **Cannizzo, E., Bellio, E., Sohani, A. R. et al.** Multiparameter immunophenotyping by flow cytometry in multiple myeloma: The diagnostic utility of defining ranges of normal antigenic expression in comparison to histology. *B. Clin. Cytom.*, 2010, 78, 4, p. 231–238.
  12. **van Dongen, J. J. M., Lhermitte, L., Böttcher, S. et al.** EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. To be published in: *Leukemia*.
  13. **Nadav, L., Katz, B. Z., Baron, S. et al.** Diverse niches within multiple myeloma bone marrow aspirates affect plasma cell enumeration. *Br. J. Haematol.*, 2006, 133, 5, p. 530–532.
  14. **Paiva, B., Vidriales, M. B., Pérez, J. J. et al.** Multiparameter flow cytometry quantification of bone marrow plasma cells at diagnosis provides more prognostic information than morphological assessment in myeloma patients. *Haematologica*, 2009, 94, 11, p. 1599–1602.
  15. **Raja, K. R., Kovarova, L., Hajek, R.** Review of phenotypic markers used in flow cytometric analysis of MGUS and MM, and applicability of flow cytometry in other plasma cell disorders. *Br. J. Haematol.*, 2010, 149, 3, p. 334–351.
  16. **Gawoski, J. M., Ooi, W. W.** Dengue fever mimicking plasma cell leukemia. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 2003, 127, 8, p. 1026–1027.
  17. **Ocqueteau, M., Orfao, A., Almeida, J. et al.** Immunophenotypic characterization of plasma cells from monoclonal gammopathy of undetermined significance patients. Implications for the differential diagnosis between MGUS and multiple myeloma. *Am. J. Pathol.*, 1998, 152, 6, p. 1655–1665.
  18. **Kovářová, L., Burešová, I., Buchler, T. et al.** Phenotype of plasma cells in multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Neoplasma*. 2000, 56, 6, p. 526–532.
  19. **Pérez-Persona, E., Vidriales, M. B., Mateo, G. et al.** New criteria to identify risk of progression in monoclonal gammopathy of uncertain significance and smoldering multiple myeloma based on multiparameter flow cytometry analysis of bone marrow plasma cells. *Blood*, 2007, 110, 7, p. 2586–2592.
  20. **Paiva, B., Vidriales, M. B., Mateo, G. et al.** The persistence of immunophenotypically normal residual bone marrow plasma cells at diagnosis identifies a good prognostic subgroup of symptomatic multiple myeloma patients. *Blood*, 2009, 114, 20, p. 4369–4372.
  21. **Morice, W. G., Chen, D., Kurtin, P. J., Hanson, C. A., McPhail, E. D.** Novel immunophenotypic features of marrow lymphoplasmacytic lymphoma and correlation with Waldenström's macroglobulinemia. *Mod. Pathol.*, 2009, 22, 6, p. 807–816.
  22. **Meyerson, H. J., Bailey, J., Fiedler, J., Olobatuyi, F.** Marginal zone B cell lymphomas with extensive plasmacytic differentiation are neoplasms of precursor plasma cells. *B. Clin. Cytom.*, 2011, 80, 2, p. 71–82.
  23. **Rosiñol, L., Cibeira, M. T., Montoto, S. et al.** Monoclonal gammopathy of undetermined significance: predictors of malignant transformation and recognition of an evolving type characterized by a progressive increase in M protein size. *Mayo Clin. Proc.*, 2007, 82, 4, p. 428–434.
  24. **Pérez-Persona, E., Mateo, G., García-Sanz, R. et al.** Risk of progression in smoldering myeloma and monoclonal gammopathies of unknown significance: comparative analysis of the evolution of monoclonal component and multiparameter flow cytometry of bone marrow plasma cells. *Br. J. Haematol.*, 2010, 148, 1, p. 110–114.
  25. **Kovářová, L., Burešová, I., Muthu Raja, K. R. et al.** Association of plasma cell phenotype with cytogenetic findings in multiple myeloma. In 15<sup>th</sup> EHA. Barcelona, 2010, 95, [suppl. 2], p. 137.
  26. **Schmidt-Hieber, M., Pérez-Andrés, M., Paiva, B. et al.** CD117 expression in gammopathies is associated with an altered maturation of the myeloid and lymphoid hematopoietic cell compartments and favorable disease features. *Haematologica*, 2011, 96, 2, p. 328–323.
  27. **Guikema, J. E., Hovenga, S., Vellenga, E. et al.** CD27 is heterogeneously expressed in multiple myeloma: low CD27 expression in patients with high-risk disease. *Br. J. Haematol.*, 2003, 121, 1, p. 36–43.
  28. **Rawstron, A. C., Davies, F. E., DasGupta, R. et al.** Flow cytometric disease monitoring in multiple myeloma: the relationship between normal and neoplastic plasma cells predicts outcome after transplantation. *Blood*, 2002, 100, 9, p. 3095–3100.
  29. **Sarasquete, M. E., García-Sanz, R., González, D. et al.** Minimal residual disease monitoring in multiple myeloma: a comparison between allelic-specific oligonucleotide real-time quantitative polymerase chain reaction and flow cytometry. *Haematologica*, 2005, 90, 10, p. 1365–1372.
  30. **Kovářová, L., Hájek, R.** Flowcytometrická analýza plazmatických buněk u mnohočetného myelomu. *Klinická onkologie, Suplementum*, 2008, 21, 1, p. 249–253.
  31. **Rajkumar, S. V., Harousseau, J. L., Durie, B. et al.** Consensus recommendations for the uniform reporting of clinical trials: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 1. *Blood*, 2011, [Epub ahead of print].
  32. **Paiva, B., Vidriales, M. B., Cerveró, J. et al.** Multiparameter flow cytometric remission is the most relevant prognostic factor for multiple myeloma patients who undergo autologous stem cell transplantation. *Blood*, 2008, 112, 10, p. 4017–4023.
  33. **Huff, C. A., Matsui, W.** Multiple myeloma cancer stem cells. *J. Clin. Oncol.*, 2008, 26, 17, p. 2895–2890.
  34. **Perez-Andres, M., Almeida, J., Martin-Ayuso, M. et al.** Soluble and membrane levels of molecules involved in the interaction between clonal plasma cells and the immunological microenvironment in multiple myeloma and their association with the characteristics of the disease. *Int. J. Cancer.*, 2009, 124, 2, p. 367–375.
- Práce byla podpořena následujícími projekty: GACR 301/09/P457, MSMT LC06027, MSM0021622434, IGA 10408-3, IGA 10406-3, IGA 10207-3 a GACR P304/10/1395.
- Do redakce došlo dne 1. 3. 2011.

Adresa pro korespondenci:  
Mgr. Lucie Kovářová, Ph.D.  
Oddělení klinické hematologie  
FN Brno  
Jihlavská 20  
625 00 Brno  
e-mail: lkovarova@fnbrno.cz