

Sérové hladiny volných lehkých řetězců imunoglobulinu u monoklonální gamapatie nejistého významu a jejich přínos pro stratifikaci a sledování

Pika T.¹, Minařík J.¹, Lochman P.², Bačovský J.¹, Ščudla V.¹

¹III. interní klinika – nefrologická, revmatologická, endokrinologická, Lékařská fakulta Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc, ²Oddělení klinické biochemie a imunogenetiky, Fakultní nemocnice Olomouc

Souhrn

Úvod. Monoklonální gamapatie nejistého významu (MGUS) je potenciálně maligní stav, spojený s jistou mírou pravděpodobnosti transformace v některou ze zhoubných forem monoklonálních gamapatií (MG). Identifikace možných prediktivních faktorů maligní evoluce je předmětem zájmu mnoha výzkumných pracovišť. Stanovení sérových hladin volných lehkých řetězců (VLŘ) se jeví jako poměrně významný parametr, umožňující identifikovat jedince s vyšším rizikem maligní transformace. Cílem sdělení je prezentace vlastních zkušeností se stanovením sérových hladin VLŘ v souboru jedinců s MGUS. Soubor a výsledky. Sledovaný soubor čítal 191 jedinců s MGUS, abnormální hladiny VLŘ κ nebo λ byly zjištěny u 119 (62,3 %) a patologické hodnoty indexu κ/λ u 106 (55,5 %) jedinců. Během šestiletého sledování došlo celkem u 11 (5,7 %) jedinců k transformaci v některou z forem maligní MG, což odpovídá přibližné míře transformace 0,95 % / rok z celého souboru. Při použití stratifikačního systému pro MGUS založeného na kombinaci kvantity, izotypu monoklonálního imunoglobulinu a hodnoty indexu κ/λ bylo 56 (29,3 %) jedinců ve skupině nízkého rizika, nízkého-středního rizika 87 jedinců (45,5 %), vysokého-středního rizika 45 (23,6 %) a vysokého rizika pouze 3 (1,6 %) jedinci. Procento transformace pro jednotlivé skupiny odpovídalo 0 vs. 4,5 vs. 13,3 vs. 33,3 % v průběhu 6 let. Evoluce MGUS byla spojena s nárůstem hladin VLŘ a změnou indexu κ/λ . Závěr. Výsledky studie potvrzují praktický přínos vyšetření sérových hladin VLŘ u jedinců s MGUS, zejména pak přínos pro rizikovou stratifikaci s identifikací vysoce rizikových forem MGUS s možností včasného podchycení maligní evoluce a bezodkladného zahájení adekvátní terapie.

Klíčová slova: monoklonální gamapatie nejistého významu, mnohočetný myelom, volné lehké řetězce imunoglobulinu, riziková stratifikace

Summary

Pika T., Minařík J., Lochman P., Bačovský J., Ščudla V. Serum levels of immunoglobulin free light chains in monoclonal gammopathy of undetermined significance and their contribution to stratification and monitoring

Introduction. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) is a potentially malignant condition associated with a certain degree of probable transformation into one of the malignant forms of monoclonal gammopathy (MG). Identifying possible predictive factors of malignant evolution is the focus of several research centres. Determining serum levels of free light chains (FLC) appears to be a relatively significant parameter, enabling the identification of persons at higher risk of malignant transformation. The report aims to present our own experience with determining FLC serum levels in a group of individuals with MGUS. **Group and results.** The monitored group numbered 191 persons with MGUS. Abnormal κ or λ FLC levels were detected in 119 (62.3%), and pathological values of the κ/λ index in 106 (55.5%) patients. During the six years of monitoring, 11 (5.7%) persons in total experienced transformation into a malignant form of MG, which corresponds approximately to a transformation rate of 0.95%/year in the whole group. Using the stratification system for MGUS based on the combination of quantity, monoclonal immunoglobulin isotype and the κ/λ index value, there were 56 (29.3%) persons in the low-risk group, 87 (45.5%) in the low-intermediate risk group, 45 (23.6%) in the high-intermediate risk group, and only 3 persons (1.6%) in the high-risk group. The transformation percentage for the individual groups corresponded to 0 vs. 4.5 vs. 13.3 vs. 33.3% over the course of 6 years. MGUS evolution was associated with increasing FLC levels and a change in the κ/λ index. **Conclusion.** The survey results have confirmed the practical benefits of testing FLC serum levels in persons with MGUS, particularly the positive contribution to risk stratification with identification of MGUS high risk forms, allowing early detection of malignant evolution and immediate initiation of adequate treatment.

Key words: monoclonal gammopathy of undetermined significance, multiple myeloma, immunoglobulin free light chains, risk stratification.

Transfuzie Hematol. dnes, 17, 2011, No. 4, p. 177–181.

Úvod

Jako monoklonální gamapatie nejistého významu (MGUS) je označován klinicky bezpříznakový, potenci-

álně maligní stav, charakterizovaný klonální proliferací plazmatických buněk produkujících M-protein, detekovatelný v séru a/nebo v moči, a absenci známek orgánového postižení typického pro myelom (1, 2). MGUS je z monoklonálních gamapatií (MG) nejčastější (přibližně

Tab. 1. Stratifikační model pro MGUS (Rajkumar) (12).

<p>Prediktivní faktory:</p> <ol style="list-style-type: none"> Hodnota monoklonálního imunoglobulinu v séru < 15 g/l IgG izotyp monoklonálního imunoglobulinu Normální κ/λ index volných lehkých řetězců v séru <p>Stratifikační model:</p> <ol style="list-style-type: none"> Nízké riziko – normální hodnota všech 3 prediktivních faktorů Nízké střední riziko – abnormalita 1 faktoru Vysoké střední riziko – abnormalita 2 faktorů Vysoké riziko – abnormalita 3 faktorů

58 % všech MG) a její výskyt v populaci není nikterak nízký. Narůstá s věkem a v populaci > 50 let představuje 3,2 % a u jedinců > 70 let až 5,3 % (údaje se ovšem liší podle senzitivity použitých detekčních technik) (3). Bylo prokázáno, že MGUS prakticky vždy předchází mnohočetnému myelomu (MM) a je známo, že přibližně u 1–1,5 % jedinců s MGUS dojde ročně k transformaci v některou z forem maligní monoklonální gamapatie (2, 4, 5). Proto cílem studií řady autorů byla identifikace rizikových faktorů vystihujících míru rizika a pravděpodobnost maligní transformace MGUS (6). Ze sérologických metod byly identifikovány jako signifikantní vysoká koncentrace a non-IgG izotyp monoklonálního imunoglobulinu (MIg), část autorů pokládá jako významný prediktor i přítomnost BJ-urie, suprese jednotlivých izotypů polyklonálních imunoglobulinů a výši sedimentace erytrocytů (7, 8, 9, 10, 11).

Nově dostupné stanovení sérových hladin volných lehkých řetězců (VLŘ) s určením indexu klonality κ/λ , dovolilo identifikovat jedince s vyšším rizikem transformace do některé z maligních forem MG. Kombinací indexu klonality κ/λ , koncentrace a izotypu MIg byl sestaven a všeobecně akceptován stratifikační systém publikovaný Rajkumarem, rozdělující nemocné do čtyř prognosticky rozdílných skupin (tab. 1) (12).

Cílem následující studie bylo stanovení sérových hladin volných lehkých řetězců κ , λ a κ/λ indexu v souboru jedinců s MGUS, inkorporace stratifikačního modelu pro MGUS a posouzení chování hladin VLŘ jedinců, u kterých došlo k transformaci v mnohočetný myelom.

Vyšetřený soubor a metodika

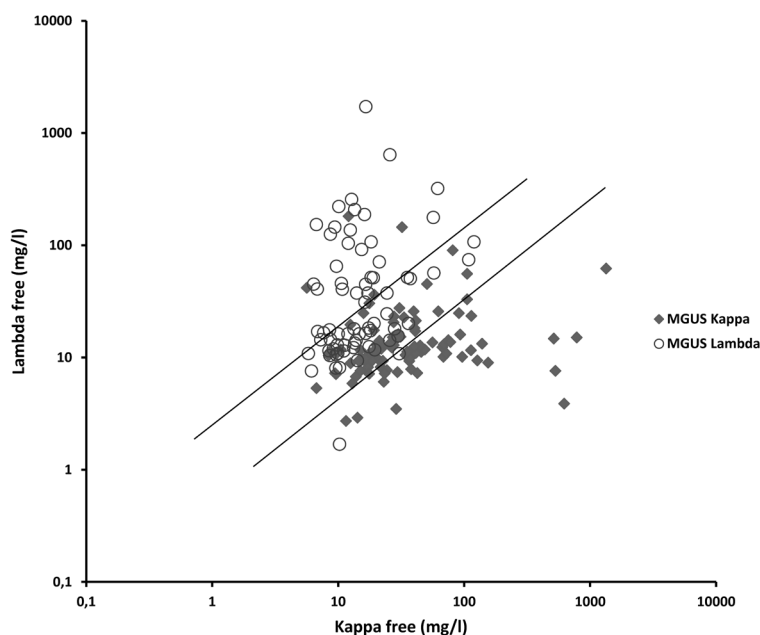
Analyzovaná sestava čítala 191 jedinců, splňující IMWG diagnostická kritéria monoklonální gamapatie nejistého významu diagnostikovaných na III. interní klinice v období let 2004–2009 (1). Medián věku byl 62 let, poměr mužů a žen byl 1: 1,17. Imunochemický typ IgG byl přítomen u 137 jedinců (71,7 %), IgA u 27 (14,1 %), IgM u 18 (9,4 %), IgD typ u 1 (0,5 %), BJ- typ u 1 (0,5 %) a u 7 jedinců (3,7 %) se zjistila biklonální sekrece (2x IgM + IgG, 5x IgG + IgA). Výskyt lehkých řetězců κ v molekule imunoglobulinu

byl u 108 jedinců (56,5 %), λ u 80 (42 %) a 3 (1,5 %) jedinci vykazovali biklonální typ sekrece lehkého řetězce. U všech jedinců bylo provedeno kompletní biochemické vyšetření séra, včetně elektroforézy a imunofixační elektroforézy, stanovení hladin izotypů imunoglobulinů IgG, IgA a IgM; dále pak vyšetření kostní dřene aspirací a/nebo trepanobiopsií a u většiny jedinců bylo provedeno kompletní radiografické vyšetření skeletu k vyloučení osteolytického postižení. Sérové hladiny volných lehkých řetězců byly vyšetřeny systémem Freelite™ (The Binding Site, Birmingham, Velká Británie) s referenčním intervalem lehkého řetězce kapa (κ) (3,3–19,4 mg/l), lambda (λ) (5,7–26,3 mg/l) a vzájemného poměru řetězců kapa/lambda – κ/λ index (0,26–1,65) (13, 14).

Výsledky

Patologické sérové hladiny lehkých řetězců κ nebo λ byly zjištěny u 119 jedinců (62,3 %), přičemž u 19 (9,9 %) z těchto jedinců bylo přítomno zvýšení hladin obou typů lehkých řetězců, z toho v 10 případech se jednalo o jedince s různou mírou renální nedostatečnosti, v 5 případech šlo o nemocné se systémovým revmatickým onemocněním s asociovanou monoklonální gamapatií a ve 4 případech nebyla příčina zřejmá (graf 1). Patologické hodnoty indexu κ/λ byly zjištěny u 106 (55,5 %) jedinců, přičemž suprese alternativního lehkého řetězce byla zaznamenána u 6 (3 %) jedinců a vždy se jednalo o řetězec λ při dominantní sekreci řetězce κ .

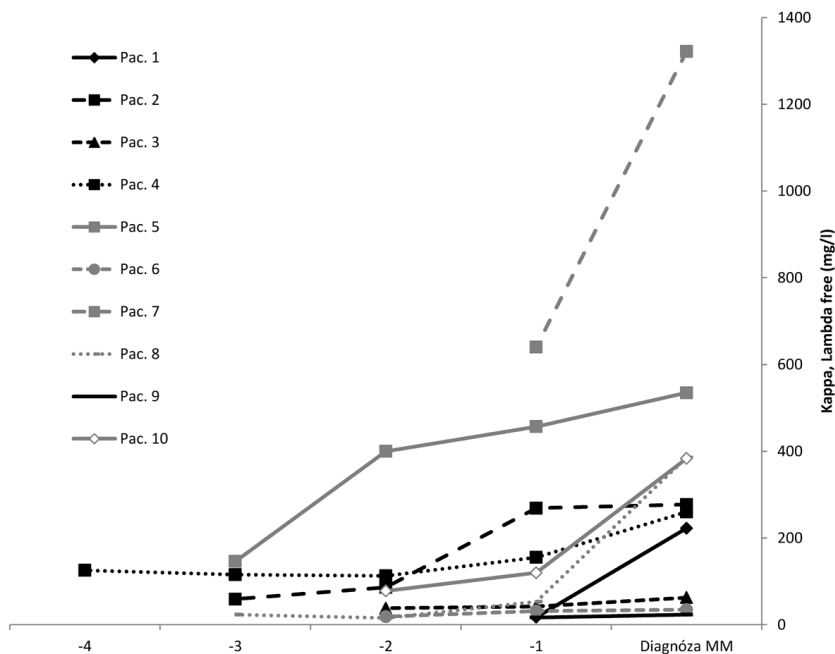
S použitím stratifikačního systému MGUS dle Rajkumara, splňovalo kritéria nízkého rizika 56 (29,3 %) jedinců, nízkého-středního rizika 87 jedinců (45,5 %), vysokého-středního rizika 45 (23,6 %) a vysokého rizika pouze 3 (1,6 %) jedinci (12).



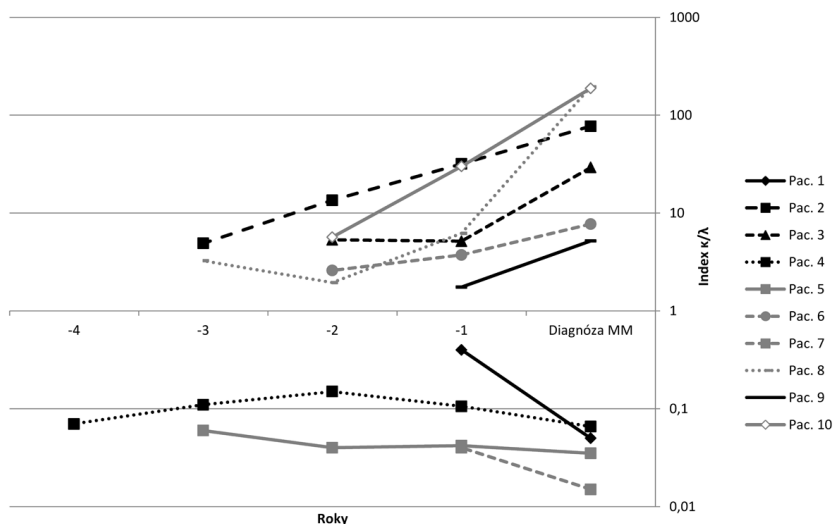
Graf 1. Sérové hladiny volných lehkých řetězců u monoklonální gamapatie nejistého významu (MGUS) (n = 191).

Tab. 2. Rozdělení souboru jedinců s MGUS (n = 191) podle stratifikačního systému dle Rajkumara a počet transformujících pacientů během 6 let (12).

Riziková skupina	Počet (%)	Počet jedinců v transformaci (%)
Nízké riziko	56 (29,3 %)	0 (0 %)
Nízké – střední riziko	87 (45,5 %)	4 (4,5 %)
Vysoké – střední riziko	45 (23,6 %)	6 (13,3 %)
Vysoké riziko	3 (1,6 %)	1 (33,3 %)



Graf 2. Nárůst hladin volných lehkých řetězců imunoglobulinu κ resp. λ u 10 jedinců s monoklonální gamapatií nejistého významu v průběhu transformace v mnohočetný myelom.



Graf 3. Nárůst resp. prohloubení indexu κ/λ volných lehkých řetězců imunoglobulinu u 10 jedinců s monoklonální gamapatií nejistého významu během transformace v mnohočetný myelom.

Během šestiletého sledování došlo celkem u 11 (5,7 %) jedinců k transformaci v některou z forem maligní monoklonální gamapatie, což odpovídá přibližně míře transformace 0,95 % / rok z celého souboru. V 1 případě se jednalo o MGUS s izotypem IgM s následnou transformací ve Waldenströmovu makroglobulinemii, přičemž transformace byla spojena s nárůstem hladiny M-proteinu, poklesem hodnoty hemoglobinu, lymfadenomegalií

a přítomností B-symptomů. V 10 pozorovaných došlo k transformaci v MM, z toho v 1 případě v asymptomatickou formu, u které byla zaujata terapeutická strategie „watch and wait“. V dalších případech se jednalo o symptomatickou formu onemocnění, ve většině případů charakterizovanou nárůstem hladiny M-proteinu, anemizací a zejména vývinem kostních lézí, a u 1 jedince byla maligní transformace spojena dokonce i s hyperkalcemií a renální nedostatečností.

Na podkladě stratifikačního systému pro MGUS byli 4 transformující jedinci ve skupině nízkého středního rizika, 6 jedinců ve skupině vysokého-středního rizika a 1 jeden pacient ve skupině vysokého rizika. Při přepočtu na počty jedinců ve skupinách, procento transformace tedy odpovídá 0 vs. 4,5 vs. 13,3 vs. 33,3 % v průběhu 6 let (tab. 2). Přechod v mnohočetný myelom byl u všech sledovaných pacientů spojen s různě vysokým vzestupem hladin volných lehkých řetězců a nárůstem patologie indexu klonality κ/λ při dominantní sekreci κ , resp. jeho prohloubením při dominantní sekreci λ (graf 2, 3).

Diskuse

Výskyt patologie sérových hladin VLŘ zachycená v našem souboru odpovídá vcelku závěrům doposud zveřejněných studií, kdy procentuální výskyt abnormálních koncentrací představuje 64–78 %. Je ale nutno podotknout, že stejně jako v našem případě, část jedinců vykazovalo elevaci obou LŘ tedy κ i λ , nejčastěji z důvodu přítomné renální nedostatečnosti (12, 15, 16). Procentuální výskyt patologie indexu κ/λ představuje podle doposud publikovaných prací 28–50 %, 55,5 % výskyt v našem souboru odpovídá spíše studiím s vyšším výskytem patologické hodnoty κ/λ indexu (12, 16–19). Kromě elevace hladin VLŘ u renální insuficience, bývá přítomnost M-proteinu často asociována se systémovými onemocněními pojava, hepatálním postižením a jinými stavy, kde

dochází k polyklonální aktivaci lymfocytů, což má mnohdy za následek právě zvýšení hladin VLŘ a proto se jako ukazatel klonální produkce jeví citlivější index κ/λ , odrážející míru klonální produkce monoklonálními plazmatickými buňkami.

Poměrně rozsáhlá analýza 1148 jedinců s MGUS ve vztahu k rizikovým faktorům transformace byla publikována Rajkumarem (12). U známých parametrů – tedy kvantity a izotypu M-proteinu (IgA, IgM, biklonální IgA+IgM) dosahoval v multivariační analýze index relativního rizika hodnoty 2,4 resp. 2,5. Při analýze výše absolutních hladin VLŘ bylo zjištěno, že nemocní s elevací VLŘ vykazují mnohem vyšší riziko transformace do některé z forem maligní MG (index relativního rizika 2,1) než jedinci s nízkými hladinami. V multivariační analýze však mnohem přesvědčivěji vyněla hodnota indexu κ/λ , přičemž jedinci s abnormální hodnotou indexu měli vyšší riziko transformace (index relativního rizika 2,6) než jedinci s indexem κ/λ v mezích normy. Tento parametr byl navíc nezávislý na ostatních vyhodnocených parametrech. Kombinací hodnoty indexu κ/λ , kvantity a izotypu M-proteinu jako diskriminačních parametrů, byl vytvořen a všeobecně akceptován diskutovaný stratifikační systém (12). Procento transformací zachycených v našem sledovaném souboru (0,95 % / rok) odpovídá celkem údajům světového písemnictví, představující přibližně 1–1,5 % / rok (2, 7). Je nutné podotknout, že všichni transformující jedinci patřili do skupiny středního a vysokého rizika, zatímco ve skupině jedinců s nízkým rizikem nebyl vývoj v maligní monoklonální gamapatii zaznamenán. Přepočtené roční procento transformací skupiny nízkého středního a vysokého středního rizika 0,8 a 2,2 % přibližně odpovídá závěrům pilotní studie udávající procento transformací ve zmíněných skupinách 1,1 resp. 1,9 % ročně (12, 20). Stejně, jako v publikovaných pracích i v našem případě byl vývoj jedinců s MGUS v MM charakterizován nárůstem hladin volných lehkých řetězců, zejména ale navýšením resp. prohloubením indexu κ/λ (graf 2, 3).

Výsledky analýz a výše zmíněný stratifikační systém byl inkorporován do doporučení IMWG a hladiny VLŘ v séru se stanovením indexu klonality κ/λ by měly být vyšetřeny vždy v době diagnózy nemoci pro stratifikaci nemocných a stanovení optimálního přístupu pro další sledování (21). Dříve akceptované doporučení publikované Berensonem et al. předpokládá pravidelné laboratorní sledování hladiny M-proteinu u nemocných v 4–6měsíčních intervalech po první 1–2 roky a následně v pravidelných 1–2letých intervalech s ohledem na přítomnost dalších rizikových faktorů (22). Vyšetření VLŘ však nebylo v těchto doporučeních pevně zahrnuto a je bráno jako pomocný údaj pro stanovení rizika progresu. Recentně, Kylem et al. publikovaná doporučení IMWG ale jednoznačně definují přínos nového stratifikačního systému, který by měl být integrální součástí klinické praxe (23). U jedinců s nízkým rizikem není podle těchto doporučení zcela rutinně doporučováno vyšetření kostní dřeně a radiografické vyšetření skeletu, pokud i ostatní parametry (klinický

stav, krevní obraz, hodnoty kreatininu a kalcia v séru) svědčí pro MGUS a měli by být znovu vyšetřeni elektroforézou séra po 6 měsících od doby diagnózy a dále pak v pravidelných 2–3ročních intervalech nebo při klinickém podezření, svědčícím pro možný přechod do maligní MG. U jedinců se středním a vysokým rizikem by mělo být provedeno vyšetření kostní dřeně aspirací a/nebo trepanobiopsií, optimálně i s použitím technik cytogenetiky, FISH a průtokové cytometrie. Kontrolní elektroforéza séra a kompletní krevní obraz by měli následovat po 6 měsících a dále pak v pravidelných ročních intervalech. V případě jakékoliv změny klinického stavu musí ovšem pacient kontaktovat svého lékaře kdykoliv dříve. Pravidelné sledování hladin VLŘ není rutinně doporučeno, na našem pracovišti je ale součástí běžné klinické praxe. Je ale známo, že progres v MM je v naprosté většině případů spojena s nárůstem hladin VLŘ a změnou indexu κ/λ a oba parametry mohou sloužit jako pomocný dynamický ukazatel. Pravidelné stanovení VLŘ je ale jednoznačně nezbytné v případě MGUS s izolovanou přítomností lehkých řetězců, pro možnou transformaci v BJ-MM, nebo jinou maligní MG s přítomností lehkých řetězců. V těchto situacích je doporučeno pravidelné sledování hladin VLŘ v 6měsíčních intervalech od diagnózy a dále pak v pravidelných ročních intervalech (24). Přínos IMWG algoritmu byl ověřen prací publikovanou Bianchi et al. (25).

Závěr

Stanovení volných lehkých řetězců imunoglobulinu v séru významně obohatilo zvyklý algoritmus vyšetření používaných při diagnostice a sledování jedinců s monoklonální gamapatií nejistého významu. Spolu s dalšími parametry umožňuje identifikovat jedince s vyšším rizikem transformace v maligní formu monoklonální gamapatie s možností určení optimálního intervalu sledování.

Literatura

1. The International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Brit J Haematol* 2003; 121: 749-757.
2. Ščudla V, Pika T. Monoklonální gamapatie nejistého významu ve světle současných poznatků. *Klin Biochem Metab* 2009; 38: 62-71.
3. Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, et al. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med* 2006; 354: 1362-1369.
4. Landgren O, Kyle RA, Pfeiffer RM, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) consistently precedes multiple myeloma: a prospective study. *Blood* 2009; 113: 5412-5417.
5. Weiss BM, Abadie J, Verma P, Howard RS, Kuehl WM. A monoclonal gammopathy precedes multiple myeloma in most patients. *Blood* 2009; 113: 5418-5422.
6. Mailankody S, Mena E, Yuan CM, Balakumaran A, Kuehl WM, Landgren O. Molecular and biologic markers of progression in mo-

- noclonal gammopathy of undetermined significance to multiple myeloma. *Leuk Lymph* 2010; 51: 2159-2170.
7. Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, et al. A long-term study of prognosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med* 2002; 346: 564-569.
 8. Baldini L, Guffanti A, Cesana BM, et al. Role of different hematologic variables in defining the risk of malignant transformation in monoclonal gammopathy. *Blood* 1996; 87: 912-918.
 9. Cesana C, Klersy C, Barbarano L, et al. Prognostic factors for malignant transformation in monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2002; 20: 1625-1634.
 10. Veneri D, Agel H, Franchini M, Krampera M, Zanotti R, Pizzolo G. Malignant evolution of monoclonal gammopathy of undetermined significance: analysis of 633 consecutive cases with a long term follow-up. *Haematologica* 2004; 89: 876-878.
 11. Sackmann F, Pavlovsky MA, Corrado C, Pizzolato M, Alejandre M, Pavlovsky S. Prognostic factors in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Haematologica* 2008; 93: 153-154.
 12. Rajkumar SV, Kyle RA, Therneau TM, et al. Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood* 2005; 106: 812-817.
 13. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, et al. Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin Chem* 2001; 47: 673-680.
 14. Katzmann JA, Clark RJ, Abraham RAS, et al. Serum reference intervals and diagnostic ranges for free κ and free λ immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin Chem* 2002; 48: 1437-1444.
 15. Tate JR, Gill D, Cobcroft R, Hickman PE. Practical considerations of the measurement of free light chains in serum. *Clin Chem* 2003; 49: 1252-1257.
 16. Marien G, Oris E, Bradwell AR, et al. Detection of monoclonal proteins in sera by capillary zone electrophoresis and free light chain measurement. *Clin Chem* 2002; 48: 1600-1601.
 17. Katzmann JA, Abraham RS, Dispenzieri A, Lust JA, Kyle RA. Diagnostic performance of quantitative κ and λ free light chain assays in clinical practice. *Clin Chem* 2005; 51: 878-881.
 18. Radocha J, Maisnar V, Sandecká V, et al. Projekt MGUS 2010 – analýza dat 616 pacientů z registru RMG. *Klin Biochem Metab* 2010; 2: 80-82.
 19. Radocha J, Maisnar V, Klincová M, et al. Výsledky prvních analýz z registru RMG – význam volných lehkých řetězců v prognóze MGUS a hodnocení kompletní remise MM. *Klin Biochem Metab* 2011; 2: 82-84.
 20. Weiss BM, Kuehl WM. Advances in understanding monoclonal gammopathy of undetermined significance as a precursor of multiple myeloma. *Expert Rev hematol* 2010; 3: 165-174.
 21. Dispenzieri A, Kyle RA, Merlini G, et al. International myeloma working group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia* 2009; 23: 215-224.
 22. Berenson JR, Anderson KC, Audell RA, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance: a consensus statement. *Brit J Haematol* 2010; 150: 28-38.
 23. Kyle RA, Durie BGM, Landgren O, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering (asymptomatic) multiple myeloma: IMWG consensus perspectives risk factors for progression and guidelines for monitoring and management. *Leukemia* 2010; 24: 1121-1127.
 24. Dispenzieri A, Katzmann JA, Kyle RA, et al. Prevalence and risk of progression of light-chain monoclonal gammopathy of undetermined significance. a retrospective population-based cohort study. *Lancet* 2010; 375: 1721-1728.
 25. Bianchi G, Kyle RA, Colby CL, et al. Impact of optimal follow-up of monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) on early diagnosis and prevention of myeloma-related complications. *Blood* 2010; 116: 2019-2025.
- Poděkování: Vypracováno s podporou NT 12451/5.*

MUDr. Tomáš Pika

III. interní klinika, Fakultní nemocnice Olomouc

I. P. Pavlova 6

775 20 Olomouc

e-mail: tomas.pika@seznam.cz

Doručeno do redakce: 25. 7. 2011

Přijato po recenzí: 12. 9. 2011