DETERMINATION OF PARAPROTEIN IN SERUM AND URINE BY ELECTROPHORESIS FOR DIAGNOSING MULTIPLE MYELOMA (MM), EXPERIENCES FROM THE PHF UNIVERSITY CLINIC OF HEMATOLOGY FOR THE PERIOD FROM 2015 TO 2017

Bosko Gjorgjievski
PHF University Clinic of Hematology, Skopje, Republic of N. Macedonia, gorgievski_90@hotmail.com
Dino Karpicarov
"Goce Delcev" University of Stip, Republic of N. Macedonia, dino.151533@student.ugd.edu.mk
Biljana Gjorgjeska
"Goce Delcev" University of Stip, Republic of N. Macedonia, biljana.gorgeska@ugd.edu.mk

Abstract: **Introduction**: Multiple myeloma is a clonal disorder characterized by the proliferation of mature B cells (plasma cells) in the bone marrow i.e. the appearance of monoclonal immunoglobulin fraction (M component, paraprotein) in the serum or occasionally only during electrophoresis, in the urine. Generally, multiple myeloma is the most common primary bone cancer which can be defined as a malignant tumor of the bone marrow. Regarding the benign form (MGUS, monoclonal gammopathy of undetermined significance), it should be noted that it is about 100 times more common than the myeloma. In order to diagnose this disease, serum and urine are examined by electrophoresis because this technique firstly enables the separation of the proteins and then the detection of the desired group of proteins, in the specific case, the paraprotein group. However, the presence of such proteins in serum or urine is not always a sign for multiple myeloma, so in order to diagnose this disease, additional tests need to be done. These tests include: determination of the number of blood cells, determination of the level of blood calcium, determination of the level of urea and creatinine, determination of the percentage of plasma cells in the bone marrow. Besides these tests, the usual additional test includes detection of β–2–microglobulin, which is another protein that can be produced by multiple myeloma cells.
Aims of the study: Overview of the diagnosis of multiple myeloma by determination of the paraprotein in serum or urine by electrophoresis; Determination of the prevalence of multiple myeloma in patients on the territory of the Republic of N. Macedonia from 2015 to 2017; Analysis of the obtained data in relation to the gender and the age of the patients.
Materials and methods: For the purpose of this study, data obtained from multiple myeloma patients, diagnosed and treated at the PHF University Clinic of Hematology, were analyzed. The data were collected over a period of three years (from 2015 to 2017). The study included patients over 40 years of age. The entire research was done in the laboratory of PHF University Clinic of Hematology.
Results: According to the research, 19 patients with multiple myeloma were registered in 2015, 22 patients with multiple myeloma were registered in 2016 and 25 patients with multiple myeloma were registered in 2017. In terms of gender, this disease is more common in men and in terms of age, the same disease is most prevalent in patients between 70 and 90 years of age.
Conclusion: The incidence of multiple myeloma is approximately 5 to 7 patients per 100,000 persons annually. The disease data obtained in this study are identical to those of the World Health Organization (WHO). In most patients who were diagnosed with multiple myeloma, renal dysfunction was also observed.
Keywords: Multiple myeloma; Paraprotein; Electrophoresis; Immunoglobulin.

ОДРЕДУВАЊЕ НА ПАРАПРОТЕИН ВО СЕРУМ И УРИНА СО ЕЛЕКТРОФОРЕЗА ЗА ДИЈАГНОСТИЦИРАЊЕ НА МУЛТИПЕН МИЕЛОМ (ММ), ИСКУСТВА ВО ЈЗУ УНИВЕРЗИТЕТСКА КЛИНИКА ЗА ХЕМАТОЛОГИЈА ВО ПЕРИОД ОД 2015 ДО 2017 ГОДИНА

Бошко Ѓорѓиевски
ЈЗУ Универзитетска Клиника за хематологија, Скопје, Република С. Македонија, gorgievski_90@hotmail.com
Дино Карпичаров
Универзитет „Гоце Делчев" – Штип, Република С. Македонија, dino.151533@student.ugd.edu.mk

Биљана Ѓорѓеска
Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип, Република С. Македонија, biljana.gorgeska@ugd.edu.mk

Апстракт: **Вовед**: Мултипниот миелом претставува клонално заболување кое се карактеризира со пролиферација на зрели Б – клетки (плазма клетки) во коскениот мозок, односно појава на моноклонална имуноглобулинска фракција (М компонента, парапротеин) во серумот или пак, понекогаш само при електрофореза, во урината. Генерално, мултипниот миелом претставува најчестиот примарен рак на коските, односно ова заболување може да се дефинира и како малиген тумор на коскената срцевина. Во однос на бенигната форма (МГУС, моноклонална гамапатија со неодредено значење), треба да се напомене дека истата е околу 100 пати почеста во споредба со миеломот. За дијагностицирање на болеста може да се испитуваат серум и урина со помош на електрофореза бидејќи оваа техника најпрво овозможува сепарација на протеините, а потоа и детекција на посакуваната група на протеини, во конкретниот случај, парапротеинската група. Како и да е, присуството на ваквите протеини во серумот или урината не секогаш мора да укажува на мултипен миелом, па за дијагностицирање на оваа болест, потребно е да се направат и некои дополнителни тестови: одредување на бројот на крвни клетки, одредување на нивото на калциум во крвта, одредување на нивото на уреа и креатинин, утврдување на процентуалната застапеност на плазма клетките во коскената срцевина. Меѓутоа, вообичаено дополнително тестирање кое се применува е детекцијата на β–2–микроглобулинот, друг протеин кој може да се произведува од страна на клетките на мултипниот миелом.
Цели на студијата: Прикажување на дијагностицирањето на мултипниот миелом преку одредување на парапротеинот во серум или урина со помош на електрофореза, утврдување на застапеноста на мултипниот миелом кај пациенти на територијата на Република С. Македонија во периодот од 2015 до 2017 година и анализирање на добиените податоци во зависност од полот и возраста на испитаниците.
Материјали и методи: Заради реализација на целите на трудот, анализирани се податоци од пациенти со мултипен миелом, така што пациентите биле дијагностицирани и лекувани во ЈЗУ Универзитетска Клиника за хематологија. Податоците биле собирани во период од три години, односно од 2015 до 2017 година. За потребите на студијата биле опфатени пациенти на возраст над 40 години. Целокупното истражување е изработено во лабораторијата на ЈЗУ Универзитетска Клиника за хематологија.
Резултати: Согласно спроведеното истражување, во 2015 година биле регистрирани 19 пациенти со мултипен миелом, во 2016 година биле регистрирани 22 пациенти со мултипен миелом, а во 2017 година биле регистрирани 25 пациенти со мултипен миелом. Во однос на полот, ваквото заболување почесто се јавува кај машкиот пол, а во однос на возрасната категорија, истото заболување најмногу е застапено кај пациенти помеѓу 70 и 90 годишна возраст.
Заклучок: Појавата на милтипниот миелом приближно изнесува 5 до 7 пациенти на секои 100.000 лица годишно. Добиените податоци за заболувањето во оваа студија се поистоветуваат со податоците на Светската здравствена организација (СЗО). Притоа, кај поголем дел од пациентите кај кои бил дијагностициран мултипниот миелом, било забележано и нарушување на бубрежната функција.
Клучни зборови: Мултипен миелом; Парапротеин; Електрофореза; Имуноглобулин.
Област: Медицински науки и здравје

1. КАРАКТЕРИСТИКИ НА МУЛТИПЕН МИЕЛОМ

Мултипниот миелом (ММ) претставува тип на канцер кој ги зафаќа плазма клетките, кои пак, во нормални услови создаваат антитела со чија помош организмот се бори против различни видови на инфективни причинители. Ваквиот тип на миелом се карактеризира со клонална пролиферација на малигните плазма клетки, а коскената срцевина игра круцијална улога во патогенезата на самото заболување (Raab M. S. et al., 2009). Имено, во коскената срцевина, од една абнормална плазма клетка, со процес на клеточна делба, се добиваат повеќе вакви клетки, кои континуирано се акумулираат, нарушувајќи ја нормалната синтеза на клетките во овој дел од телото. Абнормалните клетки може да циркулираат во крвта и како резултат на тоа, истите може да се населуваат во коскени срцевини од различни типови на коски во организмот. Токму поради оваа причина, болеста се означува како мултипен миелом. За разлика од останатите малигнитети, ММ предизвикува појава на остеолитички коскени лезии, кои го оневозможуваат регенерирањето на коскеното ткиво. Ова всушност претставува и главната причина за морбидитет кај овој тип на пациенти (Rajkumar, S. V., 2018). Покрај коските, неконтролираниот раст на плазма клетките, може да го оштети и околното ткиво. Пациентите кои се дијагностицирани со ММ поседуваат три основни карактеристики. Прво, тие чувствуваат болки во коските, кои може да резултираат со појава на фрактури поради способноста на

малигните плазма клетки да се инфилтрираат во скелетниот систем (Smith, A. et al., 2005). Второ, во крвта, во урината или пак, во крвта и урината истовремено, кај повеќе од 95% од дијагностицираните пациенти со ММ, се забележува присуство на абнормален имуноглобулин, произведен од страна на малигните плазма клетки, а означен како парапротеин (Kyle, R. A., 2003). Трето, во коскената срцевина на овие пациенти, се забележува зголемено присуство на плазма клеткиte. Имено, во здрава коскена срцевина нивото на плазма клетки е помало од 5%, а во коскена срцевина на дијагностицирани пациенти со ММ, нивото на плазма клетки може да биде повисоко и од 10%. Ваквата состојба, директно или индиректно, може да резултира со намалување на нормалната функција на коскената срцевина, кое би се манифестирало преку појава на анемија проследена со замор, поради фактот што малигните плазма клетки ги компромитираат еритроцитите, а со тоа и транспортот на кислородот. Исто така, може да дојде и до појава на зголемена осетливост на организмот кон различни видови на инфективни причинители и тоа поради инхибицијата на способноста на самиот организам за нормална синтеза на антитела, како резултат на што, имуниот систем не би можел да се бори против различните видови на инфективни причинители. Кај пациенти со ММ може да се јават и некои дополнителни компликации: ренална инсуфициенција (се јавува поради токсичноста на парапротеинот, кој може да навлегува во бубрежните паренхимски клетки), хиперкалцемија (се јавува поради скелетните нарушувања, при што калциумот од коските преминува во крвта), како и компликации од типот на амилоидоза (Kariyawasan, C. C. et al., 2007). Имајќи ја предвид состојбата на пациентите дијагностицирани со ММ, проблемите поврзани со оваа болест се означуваат со акронимот КБАК (CRAB), кој се однесува на нарушеното ниво на калциум, реналната инсуфициенција, анемијата и коскените лезии (Rajkumar, S. V. et al., 2014). Моноклоналната гамапатија со неодредено значење претставува премалигно нарушување на плазматските клетки и како такво, ова нарушување носи доживотен ризик за појава на ММ (Wadhera, R. K. & Rajkumar, S. V., 2010). Имено, при оваа состојба, концентрацијата на моноклонални имуноглобулини во серумот е помала од 30 g/L, бројот на плазма клетки во коскената срцевина е помал од 10% и не се забележуваат симптоми на ММ и други лимфопролиферативни заболувања (Adam, Z. et al., 2014). Денес, сѐ уште не е откриен лек за ефикасен третман на ММ. Како и да е, во последните неколку години, Американската администрација за храна и лекови, дала одобрение за вклучување на одредени лекови во терапијата за третман на ММ. Такви лекови се: Lenalidomide, Pomalidomide, Bortezomib и Carfilzomib (Kristinsson, S. Y. et al., 2014). Покрај тоа што ги напаѓаат канцерните клетки, овие лекови делуваат и на ниво на коскена срцевина, каде се врши синтезата на абнормалните клетки. Исто така, употребата на овие лекови, не само што може да ја подобри состојбата на пациентите дијагностицирани со ММ, туку може да ја подобри и состојбата на пациенти со други видови на хематолошки малигнитети или цврсти тумори (Raab M. S. et al., 2009). Во основа, сите пациенти со ММ, кај кои се јавуваат и скелетни нарушувања, треба да се третираат со хемотерапија, со радиотерапија или пак, да се третираат со комбинација од хемотерапија и радиотерапија (Smith, A. et al., 2005).

2. ДИЈАГНОСТИЦИРАЊЕ НА МУЛТИПЕН МИЕЛОМ

ММ претставува малигно заболување при кое во коскената срцевина настанува пролиферација на единечен клон на плазма клетки, кои потекнуваат од Б – клетките. Притоа, ММ претставува втор најчест адултен хематолошки малигнитет, односно најчест малигнитет кој ги зафаќа коските како примарно туморско ткиво (Hussain, A. et al., 2019). При појава на ММ, покрај првичната коска во чија коскена срцевина настанува пролиферацијата на абнормалните плазма клетки, честопати настанува инвазија и на коскената срцевина од соседната коска, што би можело да резултира со болка, односно фрактура на самата коска. Покрај тоа, абнормалните плазма клетки може да се инфилтрираат во различни видови на органи и како резултат на тоа, да предизвикаат појава на широка палета симптоми. Заедничка карактеристика за ваквите абнормални плазма клетки е тоа што може да произведуваат специфична моноклонална имуноглобулинска фракција, означена како М компонента или парапротеин (Kyle, R. A. et al., 2003). Под поимот парапротеин се подразбира моноклонален имуноглобулин или лесен имуноглобулински ланец, означен како Bence Jones протеин, кој се создава како резултат на клонална пролиферација на зрели Б – клетки, особено плазма клетки или Б – лимфоцити и кој како таков, може да биде присутен во крвта и во урината. Парапротеините се карактеризираат со хомогена електрофоретска миграција и како такви, истите може да се експресираат како единечен тип на лесен ланец (κ или λ) (Cook, L. & Macdonald, D. H. C., 2007). Дијагностицирањето на ММ може да се врши преку: идентификација на абнормални плазма клетки во коскената срцевина, одредување на парапротеинската фракција во серумот или урината, како и детекција на оштетен орган во согласност со клиничката слика за ММ (Kyle, R. A. et al., 2003). Одредувањето на парапротеинската фракција може да се врши преку испитување на серум и урина со помош на електрофореза (Nau, K. C. &

Lewis, W. D., 2008). Испитувањето на протеините од серумот со помош на електрофореза се означува како серум протеин електрофореза (SPEP). SPEP претставува едноставна лабораториска техника, која вклучува апликација на серумот врз соодветен потпорен медиум, по што истиот се изложува на дејството на електрична струја. Различните фракции на серумските протеини вообичаено се раздвојуваат во пет региони: албумини, α_1, α_2, β и γ–глобулински регион. При интерпретација на резултатите добиени со SPEP, најголем интерес треба да се посвети на γ–глобулинскиот регион, кој главно се состои од имуноглобулини, бидејќи различни патолошки состојби може да предизвикаат зголемување на ваквиот регион. Патолошките состојби кои предизвикуваат појава на хомогени пикови за γ–глобулинскиот регион се означуваат како моноклонални гамапатии и истите се јавуваат како резултат на пролиферација на единечни, вообичаено малигни клонови на плазматските клетки, кои пак, може да произведуваат само единечна класа на интактни имуноглобулини, само тешки, само лесни или пак, тешки и лесни имуноглобулински ланци истовремено. Вака произведените протеини се всушност парапротеините и истите се детектираат кога на електрофереграмот се забележува придвижување, остар и симетричен пик за γ–глобулинскиот регион, како и придвижување на α_2 и β регионите (Tripathy, S., 2012). Покрај SPEP, за дијагностицирање на мултипен миелом може да се применува и електрофореза на урината. Главна причина поради која се применува оваа техника е детекцијата на Bence Jones протеините. При спроведување на електрофореза на урината, на електрофереграмот би можело да се забележи и пик кој соодветствува со одреден интактен моноклонален имуноглобулин со потекло од серумот, особено доколку пациентот има ренална инсуфициенција. Токму поради оваа причина, се наметнува потребата од спроведување на имунофиксација со чија помош може да се определи природата на пикот, на тој начин овозможувајќи да се направи дистинкција помеѓу Bence Jones протеинот и интактниот моноклонален имуноглобулин (Jenkins, M. A, 2009). Меѓутоа, присуството на парапротеините во серумот или урината не секогаш мора да укажува на ММ, па за дијагностицирање на оваа болест, потребно е да се направат и некои дополнителни тестови: одредување на бројот на крвни клетки, одредување на нивото на калциум во крвта, одредување на нивото на уреа и креатинин, утврдување на процентуалната застапеност на плазма клетките во коскената срцевина. Сепак, вообичаено дополнително тестирање кое се применува е детекцијата на β–2–микроглобулинот, кој претставува друг протеин што може да се произведува од страна на клетките на мултипниот миелом (Kyle, R. A. & Rajkumar, S. V., 2009).

3. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДИ

Анализирани се податоци од пациенти со мултипен миелом, така што пациентите биле дијагностицирани и лекувани во ЈЗУ Универзитетска Клиника за хематологија. Податоците се собрани за период од три години, односно од 2015 до 2017 година. За потребите на студијата беа опфатени пациенти на возраст над 40 години. Целокупното истражување е изработено во лабораторијата на ЈЗУ Универзитетска Клиника за хематологија.

4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Во текот на 2015 година биле дијагностицирани 19 пациенти со ММ. Во однос на половата дистрибуција, од вкупниот број на дијагностицирани пациенти за оваа година, 11 (58%) биле мажи, а 8 (42%) биле жени. Во текот на 2016 година пак, биле дијагностицирани 22 пациенти со ММ. Притоа, од вкупниот број на дијагностицирани пациенти за оваа година, 12 (55%) биле мажи, а 10 (45%) биле жени. Растечката прогресија на заболените од ММ продолжува и во 2017 година, кога со ова заболување биле дијагностицирани 25 пациенти, од кои 14 (56%) биле мажи, а 11 (44%) биле жени.

	2015		**2016**		**2017**	
Мажи	вкупен број	процент (%)	вкупен број	процент (%)	вкупен број	процент (%)
	11	58	12	55	14	56
Жени	вкупен број	процент (%)	вкупен број	процент (%)	вкупен број	процент (%)
	8	42	10	45	11	44
Вкупно	**19**	**100**	**22**	**100**	**25**	**100**

Табела 1. Табеларен приказ на дијагностицирани пациенти со ММ во периодот од 2015 – 2017 година во однос на полот

Во однос на старосната дистрибуција, од вкупниот број на дијагностицирани пациенти со ММ во 2015 година, 7 пациенти (37%) биле на возраст од 50 – 69 години, а 12 пациенти (63%) биле на возраст од 70 – 90 години. Во 2016 година, од вкупниот број на дијагностицирани пациенти со ММ, 8 пациенти (36%) биле на

возраст од 50 – 69 години, а 14 пациенти (64%) биле на возраст од 70 – 90 години. Од вкупниот број на дијагностицирани пациенти со ММ во 2017 година, 9 пациенти (36%) биле на возраст од 50 – 69 години, а 16 пациенти (64%) биле на возраст од 70 – 90 години.

	2015		2016		2017	
50 – 69 годишна возраст	вкупен број	процент (%)	вкупен број	процент (%)	вкупен број	процент (%)
	7	37	8	36	9	36
70 – 90 годишна возраст	вкупен број	процент (%)	вкупен број	процент (%)	вкупен број	процент (%)
	12	63	14	64	16	64
Вкупно	**19**	**100**	**22**	**100**	**25**	**100**

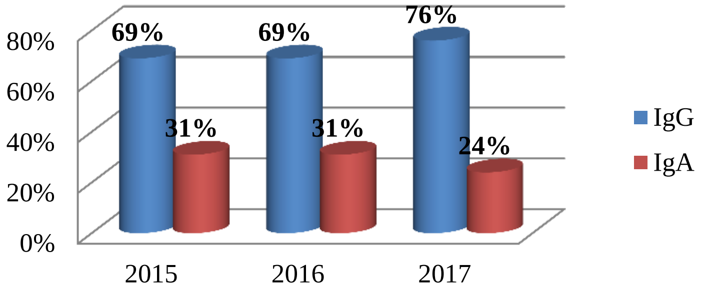
Табела 2. Табеларен приказ на дијагностицирани пациенти со ММ во периодот од 2015 – 2017 година во однос на возраста

Во 2015 година, во однос на бубрежната функција, од вкупниот број на дијагностицирани пациенти со ММ, кај 8 пациенти (42%) била забележана уредна, а кај 11 пациенти (58%) била забележана нарушена бубрежна функција. Во 2016 година, од вкупниот број на дијагностицирани пациенти со ММ, уредна бубрежна функција била забележана кај 9 пациенти (41%), а нарушена бубрежна функција била забележана кај 13 пациенти (59%). Од вкупниот број на дијагностицирани пациенти со ММ во 2017 година, кај 12 пациенти (48%) била забележана уредна, а кај 13 пациенти (52%) била забележана нарушена бубрежна функција.

	2015		2016		2017	
Уредна бубрежна функција	вкупен број	процент (%)	вкупен број	процент (%)	вкупен број	процент (%)
	8	42	9	41	12	48
Нарушена бубрежна функција	вкупен број	процент (%)	вкупен број	процент (%)	вкупен број	процент (%)
	11	58	13	59	13	52
Вкупно	**19**	**100**	**22**	**100**	**25**	**100**

Табела 3. Табеларен приказ на дијагностицирани пациенти со ММ во периодот од 2015 – 2017 година во однос на бубрежната функција

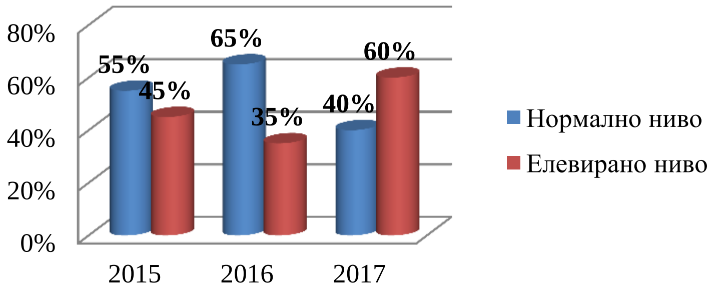
Во однос на имуноглобулинскиот поттип, во 2015 година, од вкупниот број на дијагностицирани пациенти со ММ, кај 69% доминира IgG (имуноглобулин G) поттипот, а кај 31% е детектирано присуство на IgA (имуноглобулин А) поттипот. Слично како и во 2015 година, така и во 2016 година, IgG поттипот доминира кај 69%, а IgA поттипот кај 31% од вкупниот број на дијагностицирани пациенти со ММ. Во 2017 година ситуацијата е поинаква, односно од вкупниот број на дијагностицирани пациенти со ММ, кај 76% доминира IgG поттипот, а IgA поттипот бил детектиран кај 24%.



Слика 1. Графички приказ на дијагностицирани пациенти со ММ во периодот од 2015 – 2017 година во однос на доминантниот имуноглобулински поттип

Во однос на нивото на β–2–микроглобулинот, во 2015 година, од вкупниот број на дијагностицирани пациенти со ММ, кај 45% ваквиот протеин бил елевиран, а кај 55% е детектирано нормално ниво на овој протеин. Во 2016 година, елевирано ниво на β–2–микроглобулинот било детектирано кај 35%, а нормално

ниво на овој протеин било детектирано кај 65% од вкупниот број на дијагностицирани пациенти со ММ. Во 2017 година, од вкупниот број на дијагностицирани пациенти со ММ, кај 60% е забележано елевирано ниво на β–2–микроглобулинот, а нормално ниво на овој протеин било забележано кај 40%.



Слика 2. Графички приказ на дијагностицирани пациенти со ММ во периодот од 2015 – 2017 година во однос на нивото на β–2–микроглобулинот

5. ЗАКЛУЧОК

ММ претставува тип на канцер при кој настанува неконтролирана пролиферација на зрели Б – клетки во коскената срцевина. Во нормални услови, ваквите клетки произведуваат антитела со чија помош организмот се бори против различни видови на инфективни причинители, но во услови на ММ, поради абнормалноста на самите клетки, ваквата способност на организмот е компромитирана. При дијагностицирање на ММ кај пациентите се јавуваат четири главни проблеми: нарушување на нивото на калциум во организмот, појава на ренална инсуфициенција, појава на анемија проследена со замор и нарушување на ниво на коски. Денес, сè уште не постои лек за ефикасен третман на ММ, но може да се употребуваат лекови кои ќе го подобрат квалитетот на животот кај самите пациенти. Согласно спроведеното истражување, во 2015 година биле регистрирани 19 пациенти со ММ, во 2016 година биле регистрирани 22 пациенти со ММ, а во 2017 година биле регистрирани 25 пациенти со ММ. Вака добиените податоци од страна на ЈЗУ Универзитетска клиника за хематологија се поистоветуваат со податоците на СЗО, кои се однесуваат на бројот на заболени лица од ММ на територијата на Република С. Македонија. Во однос на полот, ваквото заболување почесто се јавува кај машкиот пол, а во однос на возрасната категорија, истото заболување најмногу е застапено кај пациенти помеѓу 70 и 90 годишна возраст. Притоа, кај поголем дел од пациентите кај кои бил дијагностициран ММ, било забележано и нарушување на бубрежната функција. Исто така, за периодот од три години, кај поголемиот дел од пациентите доминирал IgG поттипот во однос на IgA поттипот. Дијагностицирањето на оваа болест со помош на електрофореза на серум или урина е оправдано, но задолжително треба да се определи и нивото на β–2–микроглобулинот бидејќи кај голем дел од пациентите кои биле дијагностицирани со ММ се забележува елевирано ниво на овој протеин.

ЛИТЕРАТУРА

Adam, Z., Kreičí, M., Sevičíková, E., Křivanová, A., Rehák, Z., Koukalová, R., Cermáková, Z., Vaníček, J., Sevičíková, S. (2014). *Monoclonal gammopathy of undetermined significance and asymptomatic multiple myeloma in the year 2014*. Vnitr. Lek., 60 (10): 861 – 879.

Cook, L., Macdonald, D. H. C. (2007). *Management of paraproteinaemia*. Postgrad. Med. J., 83 (978): 217 – 223.

Hussain, A., Almenfi, H. F., Almehdewi, A. M., Hamza, M. S., Bhat, M. S., Vijayashankar, N. P. (2019). *Laboratory Features of Newly Diagnosed Multiple Myeloma Patients*. Cureus., 11 (5): e4716.

Jenkins, M. A. (2009). *Serum and Urine Electrophoresis for Detection and Identification of Monoclonal Proteins*. Clin. Biochem. Rev., 30 (3): 119 – 122.

Kariyawasan, C. C., Hughes, D. A., Jayatillake, M. M., Mehta, A. B. (2007). *Multiple myeloma: causes and consequences of delay in diagnosis*. QJM: An International Journal of Medicine, 100 (10), 635 – 640.

Kristinsson, S. Y., Anderson, W. F., Landgren, O. (2014). *Improved long – term survival in multiple myeloma up to the age of 80 years*. Leukemia, 28, 1346 – 1348.

Kyle, R. A. (2003). *Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: A report of the International Myeloma Working Group*. Br. J. Haematol., 121, 749 – 757.

Kyle, R. A., Gertz, M. A., Witzig, T. E., Lust, J. A., Lacy, M. Q., Dispenzieri, A. et al. (2003). *Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma*. Mayo Clin. Proc., 78: 21 – 33.

Kyle, R. A., Rajkumar, S. V. (2009). *Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma*. Leukemia, 23, 3 – 9.

Nau, K. C., Lewis, W. D. (2008). *Multiple Myeloma: Diagnosis and Treatment*. American Family Physician, 78 (7), 853 – 859.

Raab, S. M., Podar, K., Breitkreutz, I., Richardson, P. G., Anderson, K. C. (2009). *Multiple myeloma*. Lancet, 374 (9686), 324 – 339.

Rajkumar, S. V. (2018). *Multiple Myeloma: 2018 update on Diagnosis, Risk–stratification and Management*. Am. J. Hematol., 13 (8): 981 – 1114.

Rajkumar, S. V., Dimopoulos, M. A., Palumbo, A. et al. (2014). *International Myeloma Working Group upded criteria for the diagnosis of multiple myeloma*. The Lancet Oncology, 15 (12), e538 – e548.

Smith, A., Wisloff, F., Samson, D., the UK Myeloma Forum, Nordic Myeloma Study Group and British Committee for Standards in Haematology. (2005). *Guidelines on the diagnosis and management of multiple myeloma*. Br. J. Haematol., 132, 410 – 451.

Tripathy, S. (2012). *The Role of Serum Protein Electrophoresis in the Detection of Multiple Myeloma: An Experience of a Corporate Hospital*. J. Clin. Diagn. Res., 6 (9): 1458 – 1461.

Wadhera, R. K., Rajkumar, S. V. (2010). *Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance: a systematic review*. Mayo Clin. Proc., 85 (10): 933 – 942.