

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁRSKA PRÁCA

2012

Anna LIEROVÁ

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO - TECHNOLOGICKÁ

CHROMOZOMÁLNE NÁLEZY U PACIENTOV
S MNOHOPOČETNÝM MYELÓMOM

Bakalárska práca

Autor: Anna Lierová

Vedúca práce: Mgr. Miroslava Jandová

2012

UNIVERSITY OF PARDUBICE
FACULTY OF CHEMICAL TECHNOLOGIES

**CHROMOSOMAL FINDS AT PATIENTS WITH MULTIPLE
MYELOMA**

Bachelor thesis

Author: Anna Lierová

Supervisor: Mgr. Miroslava Jandová

2012

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Anna Lierová**
Osobní číslo: **C09368**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Klinická biologie a chemie**
Název tématu: **Chromozomální nálezy u pacientů s mnohočetným myelomem**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Proveďte rešerši na téma monoklonální gamapatie, jejich dělení a diagnostika. Zaměřte se pak zejména na mnohočetný myelom, jeho definici a patofyziologii. S pomocí literárních údajů se seznamte s problematikou stanovení diagnózy mnohočetného myelomu.
2. Popište chromozomální změny asociované s diagnózou mnohočetný myelom, a jejich význam při stanovení prognózy daného onemocnění. Uveďte možnosti léčby.
3. Závěrem shrňte význam chromozomálních změn jako diagnostických kritérií.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce:

Mgr. Miroslava Jandová
OLG - Fakultní nemocnice v Hradci Králové

Datum zadání bakalářské práce:

3. října 2011

Termín odevzdání bakalářské práce:

22. června 2012



prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.

děkan

L.S.



doc. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.

vedoucí katedry

V Pardubicích dne 23. února 2011

Prehlasujem:

Túto prácu som vypracovala samostatne. Všetky literárne pramene a informácie, ktoré som v práci použila, sú uvedené v zozname použitej literatúry.

Bola som oboznámená s tým, že sa na moju prácu vzťahujú práva a povinnosti vyplývajúce zo zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, hlavne so skutočnosťou, že Univerzita Pardubice má právo na uzavretie licenčnej zmluvy o použití tejto práce ako školského diela podľa § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tým, že pokiaľ dôjde k použitiu tejto práce mnou alebo bude poskytnutá licencia o použití inému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávnená odo mňa požadovať primeraný príspevok na úhradu nákladov, ktoré na vytvorenia diela vynaložila, a to podľa okolností až do ich skutočnej výšky.

Súhlasím s prezenčným sprístupnením svojej práce v Univerzitnej knižnici.

V Pardubiciach, dňa 22. 6. 2012

Anna Lierová

Anotácia

Moja bakalárska práca je zameraná na ochorenie mnohopočetný myelóm, jeho symptómy a diagnostiku, ale bude spomenutých aj niekoľko ochorení, ktoré mnohopočetnému myelómu predchádzajú napr. monoklonálnu gamapatiu nejasného významu. Ďalej budú spomenuté najčastejšie genetické anomálie, keďže karyotyp pacientov s mnohopočetným myelómom sa vyznačuje genetickou nestabilitou. Záver práce je venovaný liečbe mnohopočetného myelómu.

Kľúčové slová: mnohopočetný myelóm, monoklonálna gamapatia nejasného významu, chromozómové zmeny, liečba.

Chromosomal finds at patients with multiple myeloma

Annotation

My thesis is focused on disease called multiple myeloma, on its symptoms and diagnosis, but it also mentions couple of diseases that precede multiple myeloma, for example. monoclonal gammopathy of undetermined significance.

Genetic anomalies will be also mentioned, since karyotype of patients with multiple myeloma is characterized by genetic instability. The final part is dealing with treatment of multiple myeloma.

Keywords: multiple myeloma, monoclonal gammopathy of undetermined significance, chromosomal changes, treatment.

Prehlasujem, že odovzdaná verzia bakalárskej práce a verzia elektronická nahraná do IS/STAG sú totožné.

Na tomto mieste by som sa veľmi rada poďakovala vedúcej mojej práce, Mgr. Miroslave Jandovej, za jej obrovskú podporu pri písaní bakalárskej práce, cenné pripomienky, ochotu a trpezlivosť. Vďaka tiež patrí mojej rodine, za podporu pri štúdiu.

Obsah

Anotácia	10
Annotation	10
<i>Obsah</i>	12
<i>Zoznam skratiek</i>	14
1. Úvod práce	13
2. Teoretická časť	14
2.1. Monoklonálna gamapatia	14
2.1.1. Monoklonálna gamapatia nejasného významu	14
2.2. Solitárny plazmocytóm	16
3. Mnohopočetný myelóm	17
3.1. Diagnostické kritéria mnohopočetného myelómu	18
3.2. Diagnostické vyšetrenia pri mnohopočetnom myelóme	21
3.3. Symptómy mnohopočetného myelómu	24
3.4. Prognóza ochorenia	25
4. Chromozomálne zmeny pri mnohopočetnom myelóme	26
4.1. Translokácia 14q32 chromozómu	27
4.2. Aberácie 13 páru chromozómov	31
4.3. Aberácia 1 páru chromozómu	32
4.4. Ďalšie chromozomálne zmeny	33
5. Liečba mnohopočetného myelómu	34
5.1. Medikamentózna liečba	35
5.1.1. Thalidomid	35
5.1.2. Lenalidomid	37
5.1.3. Bortezomib	38
5.1.4. Ďalšie lieky	39
5.2. Konvenčná chemoterapia	40
5.3. Autológna transplantácia kmeňových buniek	41
5.4. Alogénna transplantácia kmeňových buniek	43
5.4.1. Vplyv chromozomálnych zmien na liečebnú odpoveď po alogénnej transplantácii	44
5.5. Ďalšie terapie	45

5.6. Projekt CRAB	46
6. Závěr.....	48
7. Použitá literatura.....	49

Zoznam skratiek

allo-SCT	alogénna transplantácia kmeňových buniek = allogeneic stem cell transplantation
RIC-allo-SCT	alogénna transplantácia kmeňových buniek po príprave s redukovanou intenzitou = reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation
ASCT	autológna transplantácia kmeňových buniek = autologous stem cell transplantation
Bcl-2	B-lymfómový / leukemický proto - onkogén - 2 = B - cell lymphoma / leukemia proto - oncogene - 2
bFGF	bázický fibroblatický rastový faktor = basic fibrioblastic growth factor
CCND1 gén	gén pre cyklín - D1 = cyclin - D1 gene
c-MAF onkogén	označenie génu
CKS1B gén	proteín viažuci sa na podjednotku cyklín dependentnej kinázy = cyclin - dependent kinases regulatory subunit 1 gene
CMG	Česká myelómová spoločnosť
CRAB	kritéria poškodenia orgánov pri mnohopočetnom myelóme (C = calcium elevation, R = renal insufficiency, A = anaemie, B = bones)
CTL	cytotoxické T - lymfocyty = cytotoxic T - lymphocytes
DNA	deoxyribonukleová kyselina = deoxyribonucleic acid
EMP	extramedulárny plazmocytóm (solitárny mäkkotkáňový plazmocytóm) = extramedullary plasmacytoma
FLC assay	analýza voľných ľahkých reťazcov = free - light chain assay

FGFR3 gén	gén pre receptor 3 fibroblastového rastového faktoru = fibroblast growth factor receptor - 3 gene
GIT	gastrointestinálny trakt
GVM efekt	štep proti myelómu efekt = graft versus myeloma effect
GVMĐ	choroba štep proti myelómu = graft versus host disease
HLA	hlavný histokompatibilný antigén = human leukocyte antigen
hTERT	ľudská telomerázova reverzná transkriptáza = human telomerase reverse transcriptase
I-FISH	interfázna fluorescenčná in situ hybridizácia = interphase fluorescence in situ hybridization
IgH	ťažký reťazec imunoglobulínu = heavy chain immunoglobuline
IFN α	interferón α
IMWG	International myeloma working group
IL-1	interleukín-1
IL-6	interleukín-6
IκB	inhibičný proteín NK- κ B
i.v.	intravenózne požitie látky
ISS	International staging system
MaFB gén	označenie génu
MEL	melfalan = melphalan
MG	monoklonálna gamapatia = monoclonal gammopathy
MGUS	monoklonálna gamapatia nejasného významu = monoclonal gammopathy of undetermined significance
MIg	monoklonálny imunoglobulín = paraproteín, M – proteín
MIP-1	makrofágový prozápalový proteín 1 = macrophage inflammatory protein 1

m-FISH	mnohofarebná interfázna in situ hybridizácia = multicolour interphase fluorescence in situ hybridization
MM	mnohopočetný myelóm = multiple myeloma
MMSET gén	multiple myeloma SET domain gene
MP	melfalan a prednizon
MUC1	mucín 1 = mucin 1
NK bunky	prirodzene zabíjajúce bunky = natural killers cells
NF-κB	nukleárny faktor - κ B = nuclear factor kappa – light – chain - enhancer of activated B cells
PCLI	rozlišovací index plazmatických buniek = plasma cell labeling index
p.o.	perorálne požitie látky
RANKL	ligand aktivátoru receptoru NF - κ B = ligand of receptor activator of NF- κ B
Rb1 gén	gén pre proteín 1 retinoblastómu = retinoblastoma protein1 gene
SPB	solitárny kostný plazmocyóm = solitary plasmocytoma of bone
TNF α	faktor nekrotizujúce tumory α = tumor necrosis factor α
TRM	riziko smrti v dôsledku posttransplantačnej reakcie = transplant related mortality
UPP	ubiquitin – proteazómová vesta = ubiquitin – proteasome pathway
VAD	vincristin, doxorubicin a dexametazón
VEGF	vaskulárny endoteliálny rastový faktor = vascular endothelial growth factor
WM	Waldenströmová makroglobulinemia
WWOX / FOX gén	označenie génu

1. Úvod práce

Pri diferenciacii zrelého B–lymfocyту na plazmatickú bunku získava schopnosť produkovať protilátky. Jeden klon plazmatických buniek tvorí jednu populáciu protilátok – monoklonálne protilátky. Avšak pri diferenciacných procesoch, ktoré podstupuje B–lymfocyt, môžu vzniknúť rôzne zmeny, nesprávne preskupenie génov a namiesto plazmocyту vzniká myelómová bunka, ktorá má stále zachovanú schopnosť produkovať protilátky. Myelómová bunka sa vymyká regulácií, nekontrolovateľne sa delí a protilátky ňou produkované, prevládnu v organizme nad fyziologickými.

Hlavným cieľom mojej bakalárskej práce je zhrnúť najnovšie dostupné informácie o ochorení, ktoré sa vyznačuje produkciou monoklonálnych imunoglobulínov, mnohopočetný myelóm, so zameraním na jeho symptómy a možnosti diagnostiky daného ochorenia. Ďalším veľmi dôležitým znakom mnohopočetného myelómu sú aj chromozomálne abnormality, ktoré nachádzame u pacientov. Aj keď u každého pacienta sa nachádzajú individuálne chromozomálne zmeny, existujú prognostické kritéria, do ktorých na základe výskytu danej chromozomálnej abnormality môžeme zaradiť pacienta a stanoviť jeho dobu prežitia a liečbu.

V posledných rokoch na základe veľkého pokroku v oblasti detekcie ľudského genómu a rozvoju cytogenetiky sa chromozomálne aberácie stali neoddeliteľnou súčasťou diagnostiky mnohopočetného myelómu.

Okrem mnohopočetného myelómu spomeniem aj ochorenia ako monoklonálna gamapatia nejasného významu a solitárny plazmocyтóm, ktoré často konvertujú na mnohopočetný myelóm.

Na záver budú uvedené možnosti liečby daného ochorenia, ktoré sa tiež postupom rokov menili. Kedysi medzi základnú terapiu patrila chemoterapia s vysokými dávkami melfalanu a prednisonu, avšak v súčasnosti je primárnou terapiou autológna transplantácia kmeňových buniek. Medzi ďalšie možnosti liečby patrí aj alogénna transplantácia a taktiež sa namiesto cytostatík začali používať lieky ako thalidomid, lenalidomid alebo bortezomid.

2. Teoretická časť

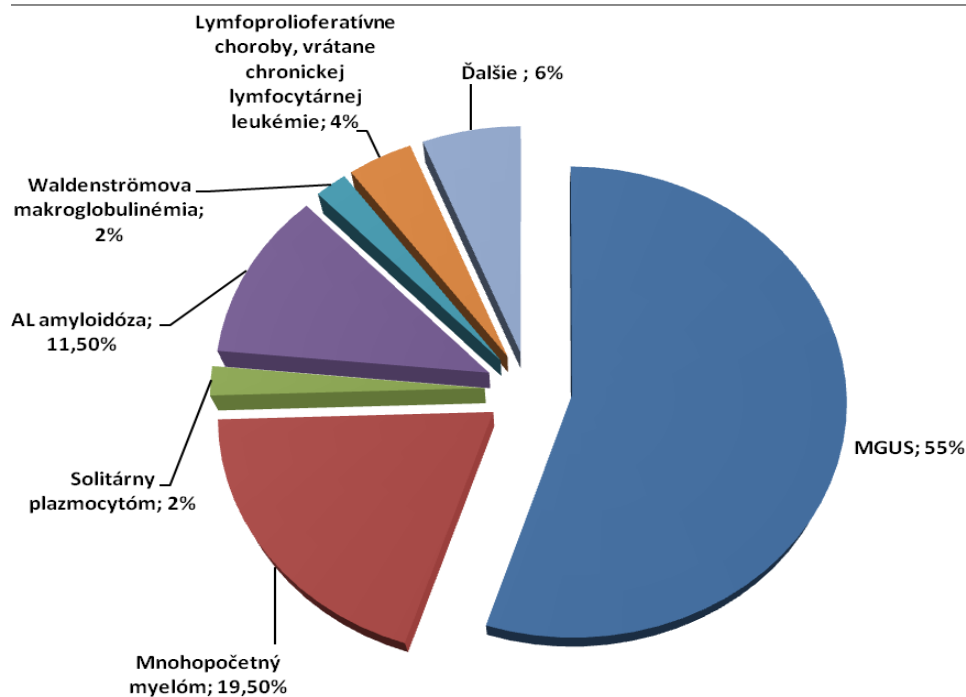
2.1. Monoklonálna gamapatia

Monoklonálna gamapatia (MG) alebo paraprotémia je ochorenie charakterizované prítomnosťou monoklonálneho imunoglobulínu - paraproteínu (MIg) v sére a v moči pacienta. Paraproteín je produkovaný v nadmernom množstve abnormálnymi plazmatickými bunkami. Je dôležité spomenúť, že krátkodobá produkcia MIg sa vyskytuje aj pri ďalších chorobách, napr. autoimunitných, neurologických, hematologických, kožných či chronických prejavoch hepatitídy, cirhóze pečene alebo u HIV pacientov. (*Špička et al., 2005*)

Keď má pacient MG, neznamená to automaticky, že má aj mnohopočetný myelóm. Monoklonálna gamapatia môže konvertovať aj na iné choroby ako sú napríklad Waldenströmová makroglobulinemia (WM) alebo amyloidóza ľahkých reťazcov, ktoré majú svoje špecifické príznaky, alebo môže konvertovať na monoklonálnu gamapatiu nejasného významu. (*Klincová et al., 2011*)

2.1.1. Monoklonálna gamapatia nejasného významu

Monoklonálna gamapatia nejasného významu (MGUS) je definovaná prítomnosťou MIg v krvi, alebo v moči a nejaví ďalšie diagnostické kritéria mnohopočetného myelómu (MM), Waldenströmovej makroglobulinemie (WM) alebo ďalšej malignej lymfoproliferačnej choroby. MGUS je najčastejšie sa vyskytujúca forma monoklonálnych gamapatií. (*Križalkovičová et al., 2008*)



Graf č.1: Percentuálny výskyt jednotlivých monoklonálnych gamapatií (*Percy et al, 2009*)

MGUS je charakterizovaná, keď koncentrácia Mlg > 30 g / l v sére a len malé množstvo v moči. Hodnota Mlg musí byť dlhodobo stabilná. Ďalšia podmienka je, že menej ako 10% plazmatických buniek kostnej drene je infikovaných. Pri MGUS nie sú postihnuté žiadne ďalšie orgány, vrátane postihnutia kostí (hyperkalcémia). (*Klincová et al., 2011*)

Prevalencia MGUS v populácii je 3,2% u osôb v rozmedzí 50 a viac rokov, z toho u mužov 4,0% a u žien 2,7%. U oboch pohlaví sa prevalencia zvyšuje vekom, u ľudí starších ako 85 rokov je výskyt MGUS u mužov 8,9% a žien 7%. (*Kyle et al., 2006*)

Konverzia monoklonálnej gamapatie nejasného významu na mnohopočetný myelóm alebo inú chorobu je v priemere 1% ročne. Riziko konverzie je vyššie u ľudí, ktorých hladina Mlg je obzvlášť vysoká. (*American cancer society, 2011*)

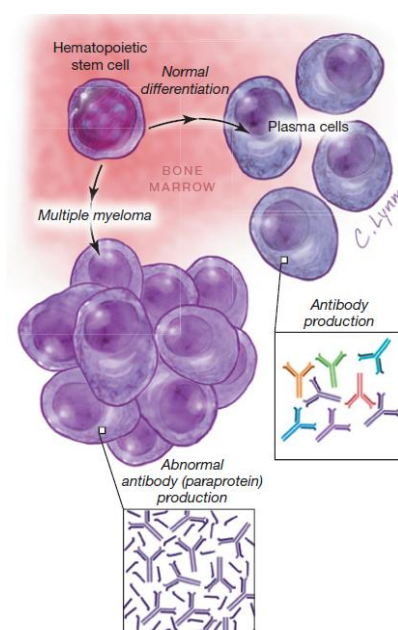
2.2. Solitárny plazmocytóm

Solitárny plazmocytóm je vzácne tumorové ochorenie postihujúce proliferačné B-lymfocyty. Na základe lokalizácie nálezu rozoznávame dva druhy: kostný solitárny plazmocytóm (SPB; 90%) a extramedulárny plazmocytóm (EMP; 10%). Viac ako 90% prípadov extramedulárneho plazmocytómu sa vyskytuje v oblasti krku, horných dýchacích ciest, sínusov alebo mäkkého tkaniva. V prípade, že sa vyskytuje viac ako jedno ložisko EMP, jedná sa o rekurentný solitárny plazmocytóm. Produkcia Mlg je pri EMP výnimočná a tiež chýbajú systémové príznaky MM. Extramedulárny plazmocytóm je často vyliečiteľný, konverzia na mnohopočetný myelóm je menšia ako 30% a je zaznamenaný aj dlhší medián prežitia. (*Percy et al., 2009; Meziane et al., 2011*)

Oproti tomu pacient s kostným solitárnym plazmocytómom má v sére malú koncentráciu monoklonálneho proteínu a konverzia na MM je do 2 - 4 rokov približne u 50% pacientov. (*Meziane et al., 2011; Špička et al., 2005*)

3. Mnohopočetný myelóm

Mnohopočetný myelóm je malígne ochorenie plazmatických buniek, sprevádzané nadmernou produkciou protilátok - paraproteínu. Vzniknuté zmenené plazmocyty - myelómové bunky proliferujú a akumulujú sa hlavne v kostnej dreni, kde nahrádzajú a potláčajú schopnosti fyziologických buniek. Bunky MM patria medzi „dlhožijúce“ bunky, avšak ich proliferačná aktivita je veľmi nízka. Ak myelómové bunky preniknú do periférnej krvi, jedná sa už o ochorenie známe pod názvom plazmocelulárna leukémia. (Špička *et al.*, 2005; Lexová *et al.*, 2000; Rajkumar, 2009)



Obr. č.1: Názorný rozdiel medzi bunkami mnohopočetného myelómu a plazmatickými bunkami (Pluta *et al.*, 2010)

V niektorých krajinách je známa tiež pod pojmom Kahlerova choroba podľa profesora Otta Kahlera, ktorý v roku 1889 detailnejšie popísal príznaky po pitve 46 - ročného pacienta, jeden z prvých prípadov MM. Avšak úplne prvý prípad mnohopočetného myelómu je známy z Londýna z roku 1844 u pacientky Sarah Newbury, ktorá sa dlhé roky sťažovala na bolesť v kostiach. Názov mnohopočetný myelóm bol prvýkrát použitý doktorom Von Rustizky v roku 1873, ktorý pri pitve pacienta na kostre objavil osem nádorov kostnej drene. (Pluta *et al.*, 2010; Baker, 1999 - 2012)

Mnohopočetný myelóm tvorí 13,4% všetkých hematologických rakovín a 2% všetkých nádorových ochorení. Incidencia MM je 4,3 / 100000 obyvateľov starších ako 62 rokov, postihuje častejšie mužov ako ženy. Menej ako 1% diagnostikovaných ľudí je mladších ako 35 rokov. Z nevysvetliteľných príčin je mnohopočetný myelóm dvakrát častejší u ľudí s čiernou pleťou ako u belochov. Medián prežitia u MM je variabilný, závisí na liečebnej odpovedi a forme choroby, ale všeobecne sa udáva približne 3 - 4 roky, avšak niektorí pacienti sa môžu žiť dlhšie ako 10 rokov. Výskyt mnohopočetného myelómu či už vo svete alebo v našej krajine stále stúpa. (*American cancer society, 2011; Rajkumar et al.,2007*)

3.1. Diagnostické kritéria mnohopočetného myelómu

Od roku 1975 do súčasnosti bol mnohopočetný myelóm rozdelený viackrát, vždy na základe rozdielnych diagnostických kritérií. Medzi najznámejšie patrí delenie podľa Durieho a Salmona. Toto delenie je založené na špecifických kostných léziách, avšak v dnešnej dobe už stratilo svoj prognostický význam. Durie – Salmonove kritéria sú uvedené v tabuľke č.1. (*Rajkumar et al.,2007; Adam et al.,2005; Rajkumar, 2009*)

Veľké kritériá	Malé kritériá
1. plazmocytóm	a. v kostnej dreni 10 - 30% plazmocytov
2. v kostnej dreni viac ako 30% plazmocytov	b. koncentrácia Mlg nižšia ako v bode č.3
3. sérové koncentrácie Mlg <ul style="list-style-type: none"> • M- IgA • M- IgG • Alebo množstvo ľahkých reťazcov v moči za 24 hodín menej ako 1g 	c. prítomnosť osteolytických ložisiek d. zníženie ostatných fyziologických imunoglobulínov <ul style="list-style-type: none"> • IgA < 1,0 g/l • IgG < 6,0 g/l • IgM < 0,5 g/l
Diagnóza mnohopočetného myelómu je jasná, ak je splnené jedno veľké a jedno malé kritérium, alebo sú prítomné kritéria a + b a ďalej c alebo d.	

Tab. č.1: Kritériá mnohopočetného myelómu podľa Durie – Salmona (*Adam et al., 2005*)

Greipp et al. založili International Staging System (ISS), ktorý definoval nové delenie MM. V tomto systéme boli zozbierané výsledky od desať tisícov pacientov, ktorí boli následne rozdelení do troch skupín na základe laboratórných testov, zisťujúcich hladinu β -2-mikroglobulínu a albumínu. Pacienti zadelení do skupiny 1 - 3 sa líšia aj mediánom doby prežitia. Všetky informácie ohľadom delenie podľa ISS sú zhrnuté v tabuľke č.2. (*Rajkumar et al., 2007*)

	β - 2 - mikroglobulín (S)	Albumín (S)
Stupeň I	< 3,5 mg /l	\geq 3,5 g /dl
Stupeň II	Pokiaľ nespĺňa stupeň I alebo stupeň III	
Stupeň III	\geq 5,5 mg /l	-

Tab. č.2: Kritéria mnohopočetného myelómu podľa ISS (*Rajkumar, 2009*)

Najnovšie delenie je z roku 2003 na podnet International Myeloma Working Group (IMWG). V tomto rozdeľovacom systéme je MM uvedený ako symptomatický mnohopočetný myelóm, ktorý spĺňa kritéria organového poškodenia CRAB. Tieto kritéria sú v niektorých bodoch zhodné aj s delením podľa Durie - Salmona, napríklad kritérium 1A je zhodné s definíciou asymptomatického (latentného) MM, tzn. tlejúci myelóm. Diagnostické kritéria vybratých druhom monoklonálnych gamapatií podľa IMWG sú uvedené v tabuľke č.3. (*Greipp et al.,2005*)

MGUS	Asymptomatický myelóm	Symptomatický myelóm	Symptomatický nesekrečný myelóm
MIg < 30 g/l	M – proteín v sére 30 g/l alebo viac a/alebo počet klonálnych plazm. buniek v kostnej dreni 10% a viac	Prítomný MIg v sére aj v moči, bez špecifickej koncentrácie	Infiltrácia kost. drene plazmocytmi je 10% a viac
Počet plazmocytov v kostnej dreni je < 10% a nízky počet plazmocytov v trepanobiopsii		V kostnej dreni sú prítomné plazmocyty alebo biopsiou sú dokázané	
Nie je poškodenie orgánov či tkanív myelómom (kostné ložiská ani ďalšie symptómy)	Nie je prítomné poškodenie orgánov alebo tkanív a nie sú ani ďalšie symptómy CRAB	Je prítomné poškodenie orgánov a tkanív myelómom podľa kritéria CRAB	Je prítomné poškodenie tkanív a orgánov

Tab. č.3: Kritéria vybraných druhom monoklonálnych gamapatií podľa ISWG (Hájek et al., 2009)

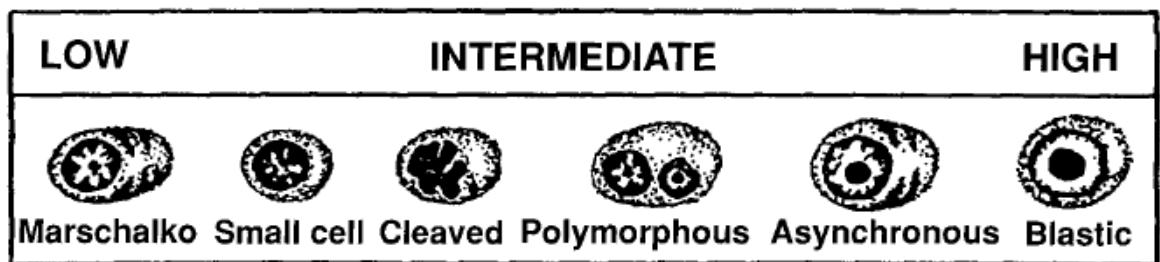
Málokedy zmienenu klasifikáciou MM je podľa stupňa diferenciácie myelómových buniek. Toto delenie je založené na náleze z biopsie kostnej drene. Bunky mnohopočetného myelómu sú na základe veľkosti buniek, štruktúry a usporiadania jadra rozdelené do 6 skupín. V tabuľke č.4 sú uvedené jednotlivé bunky, ich frekvencia nálezov a medián prežitia. (Bartl et al., 1995)

Typ buniek	Frekvencia výskytu (%)	Médián prežitia v mesiacoch
Marschalko	59	38
Malé (small)	11	44
Cleaved (rožštiepené)	8	18
Polymorphous (polymorfne)	9	20
Asynchronous (asynchrónne)	11	19
Blastické (blastic)	2	8

Tab. č.4: Delenie buniek MM na základe veľkosti (Bartl et al., 1995)

Uvedených šesť typov buniek je následne rozdelených do 3 skupín na základe prognostického stupňa vplyvom množstva malignít v bunke:

- Nízky stupeň nádorovej zmeny : Marschalko a malé bunky ; dobrý vplyv na prognózu
- Stredný stupeň nádorovej zmeny: rozštiepené, polymorfné a asynchrónne bunky
- Vysoký stupeň nádorovej zmeny: blastické bunky ; zlý vplyv na prognózu



Obr. č.2: Grafické zobrazenie veľkosti buniek a ich stupeň nádorovej zmeny (*Bartl et al., 1995*)

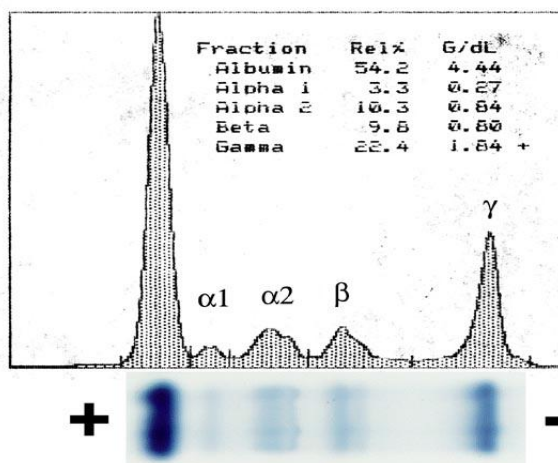
Toto delenie je známe už od roku 1948, avšak veľa lekárov klasifikáciu buniek z biopsie stále pokladá za dôležitý faktor vplyvu pri mnohopočetnom myelóme. (*Bartl et al., 1995*)

3.2. Diagnostické vyšetrenia pri mnohopočetnom myelóme

Pri mnohopočetnom myelóme, taktiež ako pri iných monoklonálnych gamapatiách, sa v sére aj v moči pacienta vyskytuje hladina paraproteínu, ktorá môže byť detekovaná rôznymi spôsobmi. Medzi najčastejšie kvalitatívne až semikvantitatívne spôsoby patrí elektrofozéra proteínov, imuno elektroforéza a imunofixačná elektroforéza, tieto metódy informujú nielen o prítomnosti M–proteínu, ale umožňujú aj bližšie určiť triedu imunoglobulínu a typ reťazca. Medzi kvantitatívne metódy sa radí imunoturbidimetria a imunonefelometria. Taktiež sa pomocou sérum - free light – chain analýza (FLC) dokazujú prítomné voľné ľahké reťazce. (*Anderson et al., 2011*)

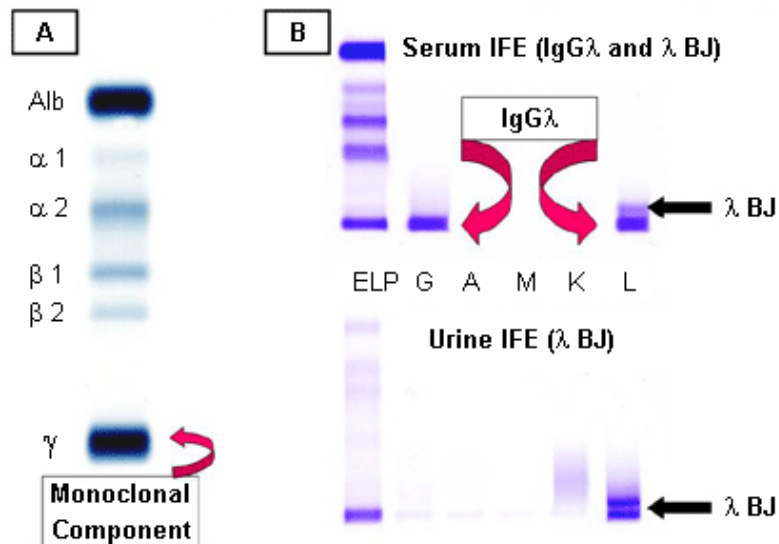
V moči sa dokazuje hlavne Bence - Jonesova bielkovina, čo sú voľné ľahké reťazce jedného typu (buď λ alebo κ) z 24 – hodinového zberu. V sére je až v 82% detekovaného paraproteínu za použitia elektorforézy a pri použití imunofixačnej techniky je to až 93%. V moči u pacientov s MM je za použitia elektorforézy incidencia ešte vyššia. Avšak u 1 – 2 % pacientov nie je v sére ani v moči zistená žiadna hodnota M–proteínu žiadnym z uvedených testov. V tomto prípade sa jedná o špeciálny typ MM, tzn. nesekrečný myelóm. (*Bladé et al., 2005; Percy et al., 2009; Anderson et al., 2011*)

Výsledky elektroforézy, či už séra alebo moču, rozdeľujú jednotlivé, fyziologické proteíny do piatich frakcií a prítomnosť Mlg sa javí ako výrazná anomália, viz. obr. č.3. Často sa pri elektroforeograme využíva aj denzitometrické vyhodnotenie, ak je zistená hodnota celkovej bielkoviny, poskytuje informácie aj o percentuálnom zastúpení jednotlivých frakcií. (*Rajkumar, 2009*)



Obr. č.3: Elektroforéza séra pacienta s MM, spolu s denzitometrických vyhodnotením (*Gutman, 2011*)

Pri imunoelektroforéze a imunofixačnej elektroforéze sa využívajú špecifické antiséra proti ľahkým a ťažkým reťazcom rôznych tried imunoglobulínov. Imunofixácia má oveľa vyššiu citlivosť, je až desaťkrát citlivejšia ako elektroforéza. (*Percy et al., 2009*) Výsledky imunofixačnej elektroforézy sú na obr. č.4.



Obr. č.4: Elektroforéza séra aj moču, spojená s imunofixáciou. (Murali, 2012)

FCL metóda v sére umožňuje stanoviť voľné κ a λ reťazce už od hodnoty 2 mg / l. Táto nová metóda využíva značenú protilátku proti vnútornému epitopu molekuly voľného ľahkého reťazca. Fyziologicky sa v organizme syntetizujú viac κ reťazce ako λ . Fyziologický pomer kappa a lambda reťazcov je 0,26 – 1,65. Táto metóda umožňuje v sére stanoviť aj nesekrečné myelómy a tiež skoršie relaps ochorenia. (Rajkumar et al, 2007)

Mnohopočetný myelóm je ochorenie, ktoré spôsobuje zmeny v celom organizme, čo umožňuje použitie zobrazovacích techník, ako sú röntgen, magnetická rezonancia alebo počítačová tomografia. Keďže medzi najčastejšie symptómy patria zmeny v skelete v dôsledku produkcie cytokínov myelómovými bunkami, tieto zmeny sú očividné a často sa MM detekuje pri zobrazovacom vyšetrení pri inej diagnóze. (Špička et al.,2005)

Pri mnohopočetnom myelóme je postihnutých 10 a viac percent plazmatických buniek v kostnej dreni, preto je vyšetrenie kostnej drene nutné pre presné stanovenie diagnózy. Materiál sa získava punkciou sternu alebo bedrovej kosti. (Adam et al., 2008)

3.3. Symptómy mnohopočetného myelómu

Mnohopočetný myelóm patrí do skupiny malígnych ochorení, ktoré pri svojej proliferácii vytvárajú ložiská. Tieto ložiská sa vyskytujú v rôznych orgánoch, buď ojedinele alebo mnohopočetne a následne dané orgány poškodzujú. (*Lexová et al., 2000*)

Na základe uvedeného delenie podľa IMWG symptomatický MM spĺňa aj kritérium vážneho orgánového poškodenia CRAB : (*Greipp et al.*)

- **C** = calcium elevation ; zvýšené množstvo vápnika v krvi
- **R** = renal insufficiency ; zlyhanie obličiek
- **A** = anaemia ; anémia
- **B** = bones ; poškodenie kostí

Postihnutie kostí patrí medzi charakteristické a špecifické znaky MM. Vyskytujú sa až v 80% prípadov a patria medzi najčastejšie príčiny úmrtia pacientov. Priamym dôsledkom osteolýzy je hyperkalcémia. Dôvodom kostnej lézie je zvýšenie kostného obratu, tzn. odbúravanie a novotvorba kosti, alebo nevyrovnanosti uvedených procesov. Myelómové bunky produkujú radu cytokínov a chemokínov, ktoré dané procesy urýchľujú. Medzi tieto látky patria napríklad: ligand aktivátoru receptora NF - κ B (RANKL), makrofágový prozápalový proteín 1 (MIP-1), interleukín 1 (IL-1), interleukín 6 (IL-6) atď... (*Špička et al., 2005*)

Ďalší častý symptóm pri MM je zlyhanie obličiek. Toto poškodenie vzniká v dôsledku produkcie paraproteínu, presnejšie kvôli ľahkým reťazcom imunoglobulínov, ktoré môžu preniknúť membránou glomerulu. Ľahké reťazce majú toxický účinok na tubulárny systém, čo sa prejaví až po vstrebaní. Primárny moč je acidický, čo uľahčuje precipitáciu ľahkých reťazcov a vznik valcov. Toto poškodenie je známe tiež pod názvom myelómová nefropatia, poprípade myelómová oblička. Incidencia je približne u jednej tretiny až polovice pacientov. (*Bladé et al., 2005, <http://www.myeloma.cz>*)

Medzi ďalšie časté symptómy patrí anémia, ktorá vzniká v dôsledku produkcie cytokínov myelómovými bunkami. Príznakmi anémie sú dusnosť a únava. Paraproteín má nepriaznivý vplyv na krvné doštičky - spôsobuje trombocytopéniu, čo je život

ohrožujúce pre pacienta. Kvôli potlačovaniu fyziologických plazmatických buniek bunkami myelómu je znížená aj produkcia imunoglobulínov, čo sa prejavuje častými infekciami organizmu. Pacienti s MM majú až pätnásťkrát častejšie infekcie ako zdraví jedinci a medzi najčastejšie komplikácie patrí pneumónia. (*American cancer society, 2011; Bladé et al., 2005*)

3.4. Prognóza ochorenia

Lekár na základe niekoľkých prognostických faktorov môže určiť vývoj MM. U pacienta, ktorý má dva a viac nezávislých prognostických faktorov, má lekár dostatok informácií na určenie prognózy. Medzi hlavné prognostické faktory patria: celkový stav pacienta, zaradenie v diagnostických kritériách podľa ISS a Durie a Salmona, detekcia 13 chromozómu alebo hypoploidný karyotyp, výskyt translokácie t(4;16) alebo t(14;16), detekcia 17p, množstvo sérovej laktátdehydrogenázy, morfológia buniek a tzn. PCLI = plasma cell labeling index v kostnej dreni. Prídavné prognostické faktory sú vek, hladina C - reaktívneho proteínu, sérového proteínu a množstvo krvných doštičiek. (*Rajkumar, 2009*)

PCLI (rozlišovací index plazmatických buniek) je miera proliferačnej aktivity plazmatických buniek. Jej hodnota udáva percentuálne zastúpenie buniek v S – fáze bunecného cyklu, teda buniek aktívne tvoriacich DNA. Keďže myelómové bunky sú pomaly rastúce, je možné na základe tejto hodnoty rozlíšiť MM od ostatných foriem monoklonálnych gamapatií, napríklad od MGUS alebo tlejúceho myelómu. V súčasnej dobe sa labeling index stanovuje dvoma rôznymi metódami. Buď sa sleduje prenikanie rádioaktívneho thymidínu do myelómových buniek alebo na základe imunofluorescenčných techník. PCLI patrí medzi jeden z najdôležitejších prognostických faktorov. Pacienti s vysokou hodnotou PCLI majú zlú prognózu, po dobre stanovenej liečbe vo fáze plató je znížená hodnota a jej opätovný nárast signalizuje progresiu ochorenia. (*Špička et al., 2005; Bartl et al.; 1995*)

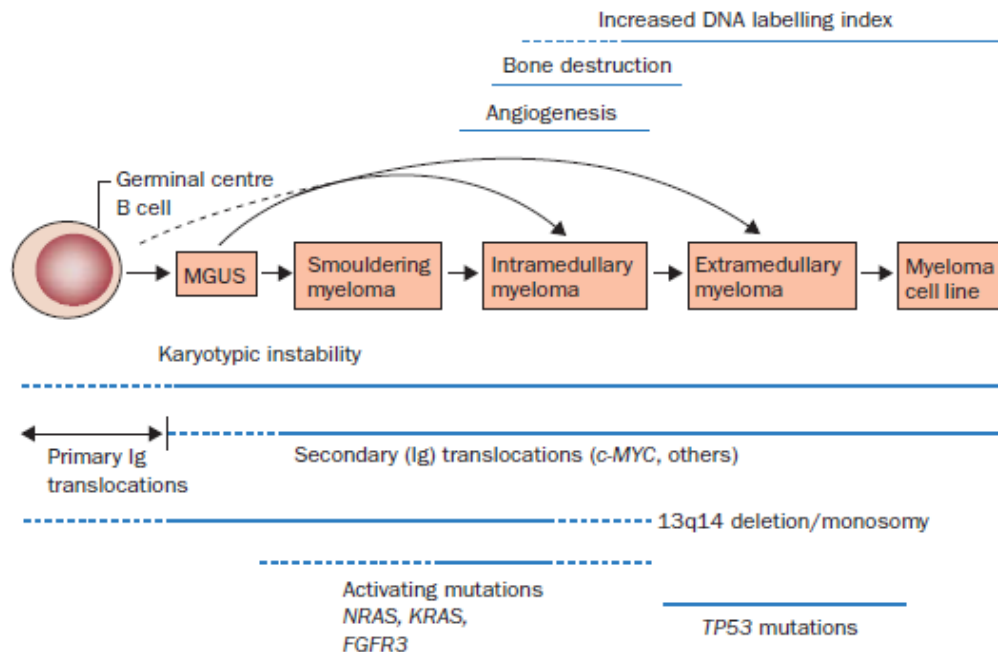
4. Chromozomálne zmeny pri mnohopočetnom myelóme

U pacientov s MM sa pomerne často vyskytujú v karyotype špecifické chromozómové abnormality. Tieto abnormality patria medzi primárne zmeny v karyotype. Špecialista na základe hodnôt veku, albumínu, β -2-mikroglobulínu a výsledkov z cytogenetického vyšetrenia dokáže určiť, či má pacient s MM málo agresívnu formu ochorenia s prežitím viac ako 5 rokov, alebo naopak ani dlhodobá liečba vrátane autológnej transplantácie krvných buniek nebude úspešná. Chromozómové zmeny sú v súčasnosti jeden z najdôležitejších prognostických parametrov. (*Kuglik et al., 2006*)

Na základe chromozomálnych abnormalít v karyotype, najčastejšie sú to zmeny počtu chromozómov - aneuploidia a štrukturálne prestavby chromozómov, môžeme pacientov rozdeliť do dvoch podskupín. V prvej skupine sa jedná o tzv. hyperploidiu, čo znamená, že v klonálnej bunke sa vyskytuje viac ako 46 chromozómov. Druhá skupina je charakterizovaná pseudo-, hypo-, alebo tetraploidiou spojená s množstvom štrukturálnych zmien. V tomto karyotype sa pri pseudo- a hypoploidii vyskytuje menej ako 46 chromozómov a pri tetraploidii je to zduplikovanie celej sady chromozómov. Približne u 40% pacientov sa vyskytuje hypoploidia, najčastejšie je to monozómia 13, 14, 16 a 22 chromozómu, ale chýbať môže hociktorý ďalší chromozóm. Monozómie bývajú často asociované so štrukturálnymi aberáciami, najčastejšie translokácia na 14q32. Hypoploidný karyotyp je väčšinou spojený s nepriaznivou prognózou, zlou odpoveďou na terapiu a krátkym prežitím. Na rozdiel od hyperplodie, ktorá je nájdená u približne 60% pacientov, má lepšiu prognózu. Najčastejšie sa v tomto karyotype vyskytuje trizómia 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 a 21 chromozómu. Hyperploidia môže byť tiež spojená s niekoľkými štrukturálnymi zmenami na chromozóme, najčastejšie abnormality na úseku 13q, čo má za následok zhoršenie prognózy ochorenia. (*Agnellie et al. 2007; Debes- Marun et al., 2003; Sawyer, 2011*)

Po zavedení interfáznej florescenčnej in situ hybridizácie (I-FISH) do praxe sa preukázalo, že chromozómové aberácie v karyotype sa vyskytujú až u 90% pacientov.

Zaujímavosťou je, že niektoré zmeny ako translokácia chromozómu 14q32 a delécia 13 chromozómu sa vyskytuje aj u MGUS - potvrdzuje to teóriu „viacstupňového transformačného procesu“. (Špička *et al.*, 2005)



Obr. č.5: Viacstupňový transformačný proces vývoja MM aj s genetickými abnormalitami a symptómami (Sirohi *et al.*, 2004)

4.1. Translokácia 14q32 chromozómu

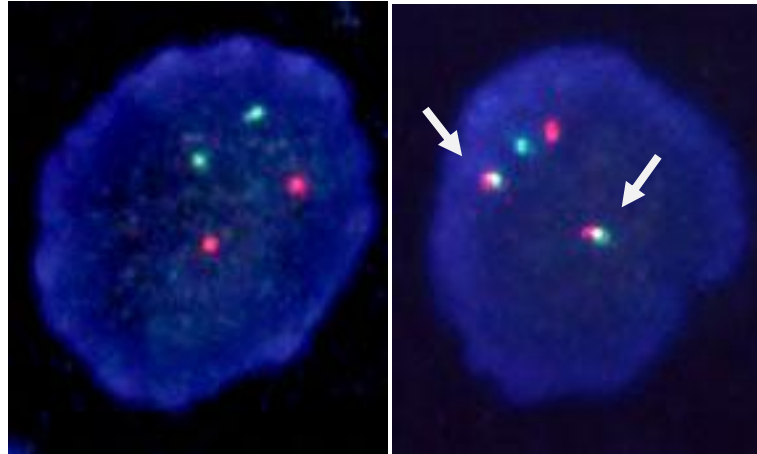
Medzi najčastejšie prestavby v chromozóme patrí reciproká translokácia, ktorá vzniká tzn. „nelegitímnou swicht rekombináciou“ v germinálnych centrách sekundárneho lymfoidného folikulu. Táto rekombinácia má za dôsledok, že sa vedľa seba dostávajú segmenty génu ťažkého reťazca imunoglobulínov (IgH) obsahujúce zosilňovače transkripcie a onkogénny na inom chromozóme. Onkogény sú zvyčajne vplyvom zosilňovačov transkripcie upregulované tzn., že je zvýšená ich expresia. Na chromozóme 14 v oblasti q32 sa vyskytuje gén kódujúci IgH. Tieto translokácie sú primárne zmeny, vyskytujú sa včasných štádiách choroby a sú považované za zlý prognostický ukazovateľ. Pri použití techniky FISH nachádzame translokácie 14q32 až u 73% pacientov. (Mahindra *et al.*, 2010; Kuglík *et al.*, 2006)

Pomocou moderných molekulovo - cytogenetických metód, založených na použití DNA sond hybridizujúch k danému onkogénu a techniky FISH je dnes možné prítomnosť translokácií postihujúcich IgH lokus v plazmatických bunkách ľahko a rýchlo detegovať. Prítomnosť chromozomálnych translokácií ovplyvňuje aj liečebný interval (doba prežitia, doba progresie / relapsu) a aj liečebnú odpoveď pacienta. Rozhodujúca je konkrétna translokácia a množstvo buniek, ktorých je postihnutých danou translokáciou. (Kuglík et al., 2006)

Typ translokácie	Výskyt u MGUS (%)	Výskyt u MM (%)	Zasiahnuté onkogény	Vplyv na prognózu
t(4;14)(p16;q32)	2-10	15	FGFR3, MMSET	Nepriaznivý
t(11;14)(q13;q32)	15-30	16	Cyklín D1, myeov	Priaznivý
t(14;16)(q32;q23)	2-5	5	c-maf, WWOX	Nepriaznivý
t(6;14)(p25;q32)	neznámy	4	Cyklín D3 a iné	Neznámy
Sekundárne translokácie IgH	10-15	10-30	maf b a iné	Neznámy

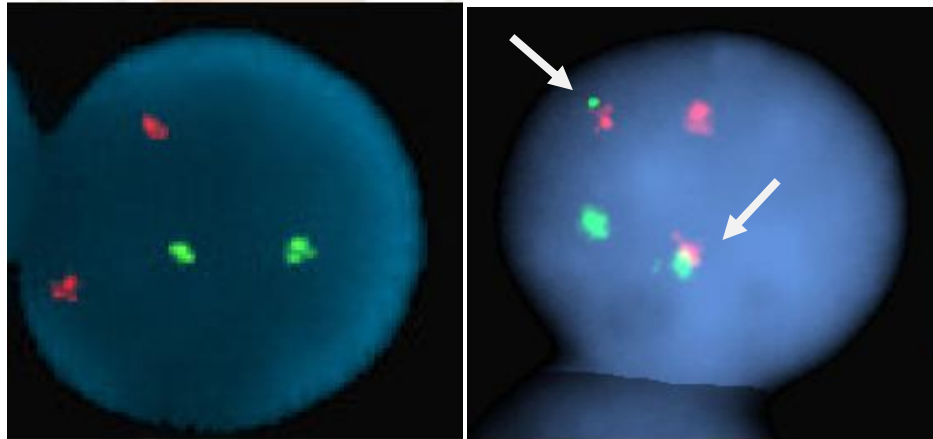
Tab. č.5: Najčastejšie translokácie vyskytujúce sa u MM (porovnanie s MGUS a ďalšie doplňujúce údaje) (Fonseca et al., 2004)

Translokácia t(11;14)(q13;q32) je najčastejšie sa vyskytujúca translokácia v karyotype ochorenie MM. Použitím techniky FISH je nájdená až u 15 - 20% pacientov. Pri prestavbe dochádza k zlomu DNA na chromozóme 11 v nekódujúcej oblasti oddeľujúcej od seba gén pre cyklín D1 (CCND1) a myeov gén. V dôsledku toho je CCND1 presunutý do oblasti na chromozóme 14q32, kde sa nachádzajú zosilňovače transkripcie (enhancer) a gén je upregulovaný, čo má za následok zvýšenie proliferatívnej aktivity postihnutých B-buniek (u zdravých buniek sú exprimované len cyklíny D2 a D3). Predpokladá sa, že myeov gén má tiež onkogénne vlastnosti. Translokácia t(11;14)(q13;q32) je spájaná s priaznivým diagnostickým výsledkom vo väčšine prípadov, štatisticky neovplyvňuje dobu života pacientov, preto je považovaná za neutrálnu vzhľadom k prognóze. (Liebisch et al., 2006)



Obr. č.6: Translokácia $t(11;14)(q13;q32)$; vľavo: jadro negatívne na translokáciu, vpravo: jadro s translokáciou – šípky ukazujú na translokáciu (detekcia FISH) (<http://www.cytopathos.sk>)

Druhou najčastejšou translokáciou je $t(4;14)(p16;q32)$, detekovaná u 15% pacientov. Na chromozóme 4 v oblasti p16 dochádza k zlomu medzi génom kódujúcim proteínu MMSET (známy tiež ako WHSC1) a génom pre receptor 3 fibroblastového rastového faktoru - FGFR3. MMSET proteín je homologický s histónom methyltransferáz a FGFR3 je tyrozín - kinázový receptor pre ligandy typu fibroblastových rastových faktorov, ktoré sú exprimované všetkými bunkami mezodermálneho pôvodu. Upregulácia génov spôsobuje nádorové bujnenie a angiogézu. Táto translokácia býva spojovaná s veľmi zlým priebehom ochorenia a spojenie s imunoglobulínom A izotopom a vysokou hladinou β -2-mikroglobulínu, čo sú dva nepriaznivé diagnostické faktory. Translokácia $t(4;14)(p16;q32)$ sa často vyskytuje so stratou alebo deriváciou 14 chromozómu (až u 25% pacientov) alebo monozómiou 13 chromozómu, čo sú ďalšie prognosticky nepriaznivé faktory. Pre pacientov novo diagnostikovaných alebo pacientov liečených autológou transplantáciou kostnej drene je daná translokácia nepriaznivá diagnóza. Najnovšie štúdie dokazujú že translokácia $(4;14)(p16;q32)$ znižuje medián prežitia až o 2 roky ako u pacientov bez translokácie. (Liebish et al., 2006; Foncesa et al., 2009; Sawyer, 2011)



Obr. č.7: Translokácia $t(4;14)(p16;q32)$; vľavo: bez translokácie, vpravo: translokácia - šípky ukazujú na translokáciu (detekcia FISH) (<http://www.intermedico.com>)

Dve ďalšie menej vyskytujúce sa, ale klinicky veľmi dôležité translokácie sú translokácia $t(14;16)(q32;q23)$ a $t(14;20)(q32;q12)$. Na chromozóme 16q32 sa vyskytuje c-MAF onkogén a táto translokácia sa vyskytuje asi u 6 - 7% pacientov. Zlomy detekované v rozsiahlom géne pre oxidorektázu WWOX/FOX nachádzajúci sa 800 - 1000Kb od c-MAF génu. Aj napriek veľkej vzdialenosti je tento gén silne upregulovaný 14q32 enhancer-om. Druhá translokácia $t(14;20)(q32;q12)$ sa nachádza v oblasti MaFB génu. Táto translokácia sa vyskytuje už len u menej ako 2% pacientov. Obidve translokácie sú spojené so zlou prognózou, niektoré štúdiu poukazujú na krátke prežívanie u pacientov liečených konvenčnou chemoterapiou. (*Magrangeas et al., 2005; Kuglík et al., 2006*)

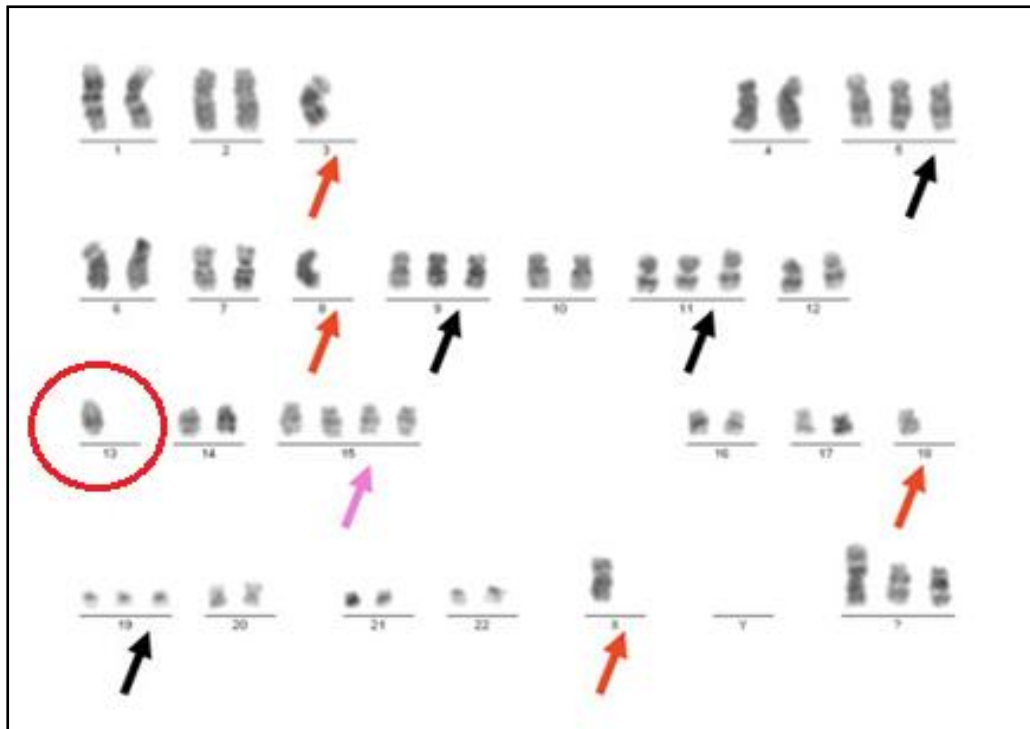
Posledná zmienená translokácia $t(6;14)(p21;q32)$ sa vyskytuje len u 5% pacientov. V zlomovom mieste v 6p21 sa nachádza gén pre cyklín D3 a prestavba je spojené so šesťnásobne zvýšenou expresiou cyklínu D3. (*Špička et al., 2005*)

Translokácie na 14q32 patria medzi najčastejšie štrukturálne zmeny vyskytujúce sa v hypoploidnom karyotype. (*Sawyer, 2011*)

4.2. Aberácie 13 páru chromozómov

Aberácie 13 chromozómu patria medzi sekundárne zmeny v plazmatickej bunke aj keď jeho prognóza nie je dobrá. Medzi najčastejšie zmeny postihujúce 13 pár chromozómov je buď monozómia (-13) alebo delécia dlhého ramienka chromozómu (13q-). Zmeny v chromozóme 13 sa vyskytujú viac ako u 54% pacientov s abnormálnym karyotypom (overené použitím FISH techniky). Delécia poskytuje hlavne oblasť 13q14 - 13qter, kde sa vyskytuje kandidátny tumor - supresorový gén (RB1 gén). Tento gén sa podieľa na regulácii bunčného cyklu, kóduje jadrový retiomoblastomový fosfoproteín pRB, ktorý v aktivovanom stave (defosforylovaný) blokuje prechod z G1 fáze do S fáze bunčného cyklu. Delécie oblasti 13q14 inaktivuje tento gén. (*Fonseca et.al, 2002*)

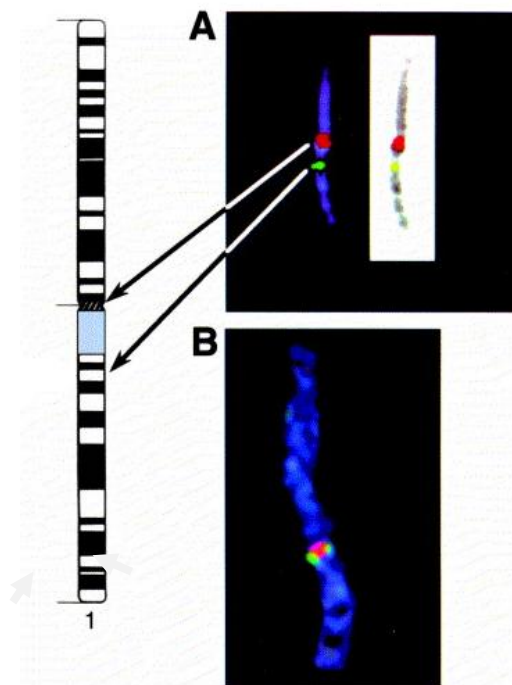
Monozómia sa vyskytuje až v 90% abnormalít 13 chromozómu, zvyšných 10% je delécia 13q14. Aberácia 13 chromozómu sa považuje za zlý prognostický ukazovateľ, hlavne v dôsledku výskytu s deléciou 17p13 (viz. 4.5) alebo translokáciou t(4;14)(p16;q32). Na rozdiel od translokácie, ktorá sa vyskytuje vo prevažnej väčšine plazmatických buniek, zmeny 13 páru chromozómov sa vyskytujú len v 75% bunkách. Fonseca at al. poukazuje na dôležitú úlohu chromozómu 13 ako predpoklad pre klonálnu expresiu tumoru. (*Liebisch et al., 2006; Fonseca et al., 2009*)



Obr. č.8: Karyotyp pacienta s MM, zakrúžkovaná je monozómia 13 chromozómu, ale sú patrné aj ďalšie zmeny vyskytujúce sa pri MM napr. trizómiia 5, 8 a 11 páru chromozómov a ďalšie monozómie (<http://www.myelom.sk>)

4.3. Aberácia 1 páru chromozómu

Chromozomálne aberácie vyskytujúce sa na 1 páre chromozómov sú dlho pokladané za jeden z dôležitých faktorov detegujúcich MM. Aj v tomto prípade sa jedná o sekundárnu zmenu. V dlhom ramienku (q-rameno) v oblasti q21 sa vyskytuje CKS1B gén, ktorý sa podieľa na ubiquitin - proteázovej kaskáde, ktorá degraduje proteíny regulujúce bunkový cyklus. Často v tejto oblasti dochádza k amplifikácii 1q21 čo má za následok zvýšenú aktivitu génu CKS1B v myelómových bunkách a zvýšenú proliferáciu. Tým umožňuje komplexu cyklín / cyklín - dependentná kináza fosforylovať cieľové proteíny. Fosforyláciou dôjde k aktivácii vedúcich pochodov, ktoré majú za následok prechod bunky z G1 fázy do S fázy bunkového cyklu. Výskyt aberácie na 1 chromozóme je u novo diagnostikovaných pacientov 42% a u pacientov v relapse až 72%. Väčšinou je spájaná so zlou prognózou pre pacienta. (*Shaughnessy et al., 2005; Sawyer, 2011; Fonseca et al., 2009*)



Obr. č.9: Amplifikácia úseku q21 na 1 chromozóme; A: bez amplifikácie, B: amplifikovaný úsek – šípky zobrazujú amplifikáciu (detekcia FISH) (*Azemat et al., 2000*)

4.4. Ďalšie chromozomálne zmeny

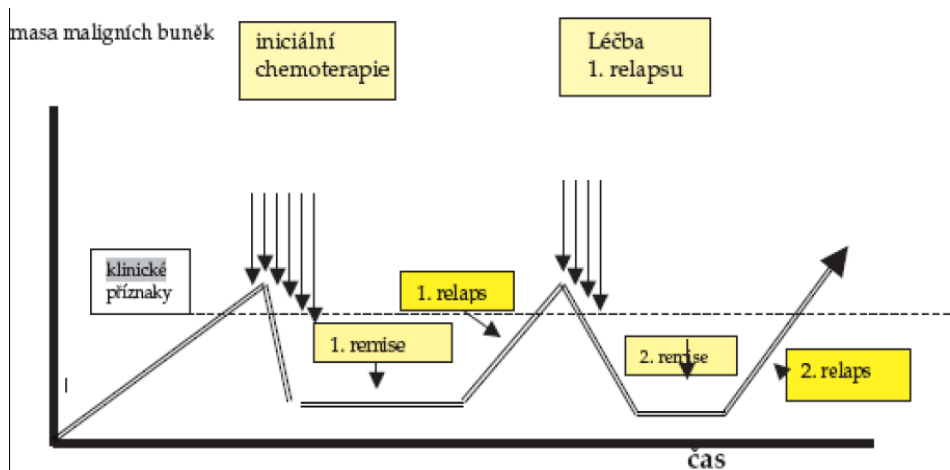
Medzi jeden z najdôležitejších prognostických faktorov patrí chromozóm 17. Na tomto chromozóme v oblasti 17p13 sa vyskytuje tumor - supresorový gén p53. Tento gén má dôležitú úlohu v regulácii bunčného cyklu a apoptózu. Práve delécia tohto úseku je spájaná so zlou prognózou a nízkou dobou prežitia. Vyskytuje sa približne u 10% pacientov (detekcia FISH). (*Liebisch et al., 2006*)

Okrem uvedených aberácií sa u pacientov s MM môžu vyskytnúť aj ďalšie štrukturálne prestavby napríklad monozómia 8 páru chromozómov alebo len delécia úseku 8p21 alebo prestavby 11q13, poprípade rôzne translokácie chromozómov. Frekvencia týchto aberácií je však veľmi nízka a nie je doposiaľ objasnený ich prognostický význam. (*Špička et al., 2005*)

5. Liečba mnohopočetného myelómu

Mnohopočetný myelóm je stále nevyliciteľná forma rakoviny, avšak včasná diagnostika, dobre nastavená terapia a intenzívna liečba môže pacientovi predĺžiť život. Strategický plán liečby je väčšinou kombinácia metódy a liekov. Liečbu je však možné zahájiť až po prepuknutí prvých komplikácií, čo však u MM môže trvať rôzne dlho a lekár iba pravidelne kontroluje množstvo paraproteínu v sére a v moči. Túto procedúru nazývame aktívne monitorovanie. Liečba začína až po vypuknutí prvých symptómov. Priebeh liečby MM je možno rozdeliť do dvoch štádií: obdobie remisie a relapsu. Pod pojmom remisia sa rozumie čiastočné alebo úplne vymiznutie klinických príznakov choroby (parciálna / kompletná remisia). Relapsom sa označuje novo začínajúca aktivita choroby po období remisie. Liečba MM sa najčastejšie opakuje v rôznych cykloch (6 - 8). Avšak aj v dnešnej dobe, kedy vývoj liekov proti myelómovým bunkám napreduje a prináša stále nové možnosti, sa často stáva, že následný relaps, ktorý je neodvratiteľný a je liečený ešte zastaranými metódami, čo má za dôsledky stratu dreňovej aktivity a znemožňuje následné použitie nových liečebných postupov. (Tóthová, 2009; <http://www.janssen-silag.sk>; Anderson et al. 2011)

Medzi najčastejšie používané metódy patrí medikamentózna liečba, konvenčná chemoterapia, vysoko dávková chemoterapia s transplantáciou kmeňových buniek alebo alogénna transplantácia. Ako väčšina terapií aj tieto majú radu vedľajších účinkov, tie sa však dajú liečiť a umožňujú lekárom zvládnuť aj agresívne formy ochorenia. V súčasnej dobe pri pokroku v štúdiách mechanizmu účinku nových liekov na rakovinové bunky a zavádzanie nových liečebných metód do praxe sa skvalitňuje pacientov život a zvyšuje doba kompletnej remisie. (Bladé et al., 2010)



Obr. č.10: Liečba mnohopočetného myelómu (Hájek et al., 2009)

5.1. Medikamentózna liečba

Koncom minulého storočia boli objavené nové látky, ktoré nie sú namierené priamo len na myelómové bunky, ale ovplyvňujú aj mikroprostredie, v ktorom sa bunky nachádzajú a tým ovplyvňujú ich rast a vedú až k apoptóze daných buniek. Väčšinu liekov môžeme zaradiť podľa ich účinku do nasledujúcich skupín:

- Imunomodulačné a antiangiogénne účinky: thalidomid, revimid...
- Inhibítory proteozómov: bortezomid (velcade)
- Inhibítory vaskulárne endoteliálneho rastového faktoru (VEGF): bavacizumab, SU 6668 ...
- Arsenic trioxide

Samostatnú skupinu liekov tvoria cytostatika, u myelómu sú to prevažne alkylačné činidlá a glukokortikoidy, ktoré sa používajú pri konvenčnej liečbe, pri ktorej nie je možná transplantácia a tiež látky používané pri predtransplantačnej indukčnej liečbe (viz. 5.2 a 5.3) (Špička et al., 2005)

5.1.1. Thalidomid

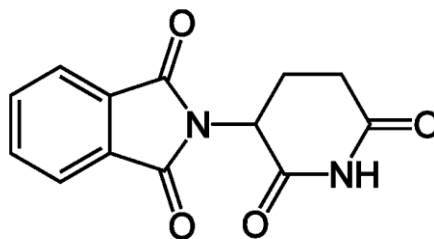
Thalidomid je derivát kyseliny glutámovej a kvôli jeho silnému antiangiogénnemu účinku bol ako prvý liek použitý k liečbe mnohopočetného myelómu v roku 1988, avšak uvedený na trh bol už v roku 1957 ako liečivo na ranné

nevoľnosti v tehotenstve. Následne boli dokázané jeho teratogénne účinky a bol stiahnutý z obehu v mnohých krajinách. Neskôr sa však používal ako experimentálny liek proti erythema nodosum leprosum (kompilácia lepry), Behcetovej chorobe a HIV. (Špička *et al.*, 2005; Rajkumar, 2009)

Aj keď účinok thalidomidu ešte nie je kompletne objasnený, je dokázané, že stimuluje natural killers (NK) bunky a T-lymfocyty, ovplyvňuje produkciu chemokínov a cytokínov, ktoré produkujú rastové faktory a hlavne VEGF a bázického fibroblastového rastového faktoru (bFGF) (imunomodulačný efekt). Tiež bolo zistené, že upravuje mikroprostredie v kostnej dreni kvôli schopnosti meniť cieľové molekuly a znižuje rast a novotvorbu ciev - antiangiogénny účinok. (<http://www.myeloma.cz>)

Thalidomid je vysoko účinný pri liečbe MM, preto sa najčastejšie používa pri primoliečbe a relapse ochorenia buď ako monoterapia, ale účinnejší je v kombinácií s alkylačnými činidlami (melfalan, cyklofosfamin) a glukokortikoidmi. Aj pri monoterapií však dosahujú liečebnú odpoveď u 1/3 pacientov. Odporúčaná denná dávka je 200 mg denne per orálne (p.o), v kombinovanej liečbe 100 - 200 mg denne p.o. Najčastejšia kombinovaná liečba je za použitia glukosteroidu a dexamethazon, ktorého použitie už v prvom cykle liečby dosiahlo až u 65% pacientov zníženie hodnoty paraproteínu o 50%. Veľmi priaznivé výsledky má liečba thalidomidom aj u pacientov s refraktilnou formou MM až 30% zlepšenie a v kombinácií s dexamethazonom až 50% s liečebnou odpoveďou. (Hájek *et al.*, 2009)

Nevýhodou sú však vedľajšie účinky liečby. Medzi najčastejšie komplikácie patrí senzomotorická polyneuropathia, trombóza, zápcha alebo alergický exantém a neustále sa musia brať na vedomie aj teratogénne účinky, kvôli ktorým sa musí dodržiavať aj prísny liečebný plán a v prípade veľkých komplikácií aj ukončiť liečbu. Kvôli množstvu vedľajších účinkov sa hľadajú aj menej toxické alternatívy. V súčasnej dobe priaznivé výsledky vykazujú lenalidomid a aktimid. (Tóthová, 2009; <http://www.janssen-silag.sk>)



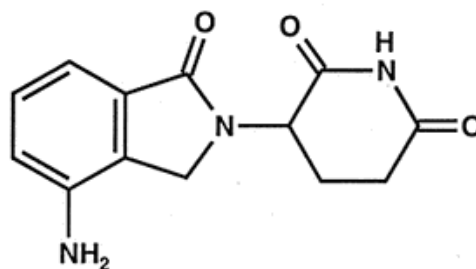
Obr.č.11: Chemická štruktúra thalidomidu (<http://en.wikipedia.org>)

5.1.2. Lenalidomid

Lenalidomid (Revlimid) je syntetizovaný 4 - amino derivát thalidomidu, ktorý vznikol na determináciu toxických a teratogénnych účinkov. Patrí do skupiny imunomodulátorov kvôli schopnosti ovplyvňovať tvorbu cytokínov, hlavne IL-6, tumor nekrotizujúci faktor α (TNF- α) a VEGF. Všetky uvedené cytokíny zvyšujú proliferáciu buniek avšak nevýhodou je že zvyšujú aj rezistenciu na chemoterapiu. Ďalším imunomodulačným účinkom je vplyv na NK bunky a T-lymfocyty. (*Dimoponlus et al, 2007; Richardson et al, 2007*)

Po troch klinických štúdiách bol v máji 2007 schválený ako liek na MM, ktorý je mnohonásobne účinnejší ako thalidomid. Lenalidomid je najlepšie tolerovaný liek spomedzi používaných liečiv (thalidomid, bortezomib), nie je neurotoxický, avšak medzi vedľajšie účinky patrí hlavne neutropénia ale aj anémia a trombocytopénia. Nanešťastie laboratórne testy dokázali, že aj lenalidomid je teratogénna látka, u opičieho modelu sa vyskytoval pozitívny nález malformácií na končatinách. (*Richardson et al., 2007; Maisnar et al., 2009*)

Dávkovanie je perorálne, maximálna denná dávka je 25 mg po dobu 21 dní v 28 dňovom cykle, odporúčaný počet cyklov je 8. Najčastejšie sa používa ako kombinovaná terapia s dexamethazonom, avšak pri tejto terapii sa optimálna dávka stále hľadá. Najčastejšie sa používa na liečbu refraktilnej alebo rezistentnej formy ochorenia, najúčinnejšie po prvotnej liečbe thalidomidom, kedy liečebná odpoveď dosahuje až 61%. V USA Rajkumar a kol. ako prví otestovali účinnosť lenalidomidu pri primoliečbe na 34 pacientoch a liečebná odpoveď presiahla hranicu 90%. V súčasnej dobe je režim s lenalidomidom, dexamethazonom a bortezomibom najúčinnejšia terapia pri primoliečbe. (*Hájek et al., 2009*)



Obr.č.12: Chemická štruktúra lenalidomidu (<http://www.pharmazeutische-zeitung.de>)

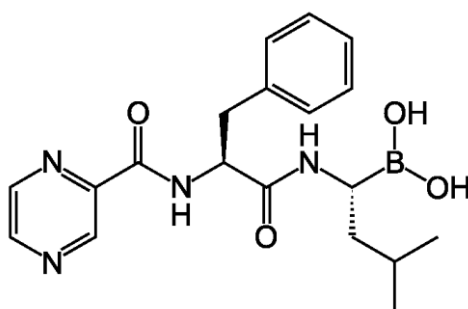
5.1.3. Bortezomib

Bortezomib (Velcade) je derivát kyseliny boronovej. Mechanizmus účinku bortezomidu je na rozdiel od thalidomidu detailne preskúmaný a v súčasnosti patrí medzi najúčinnšie lieky proti MM kvôli jeho inhibičnému účinku na proteazom. Proteazom je multikatalytický enzýmový komplex podieľajúci sa na degradácii bunecných proteínov v eukaryotickej bunke, skladajúci sa z jadra 20S podjednotky a 19S regulačne podjednotky. Aby bol proteín v bunke rozpoznávaný proteazómom je nutné jeho naviazanie na ubiquitin, presnejšie sú rozpoznávané 19S podjednotkou. Následne je proteín zbavený ubiquitínu a hydrolyzovaný na aminokyseliny, dlhé 3 – 22 uhlíkov, v 20S podjednotke. Táto metabolická dráha je známa ako ubiquitin - proteazomová cesta (UPP), ktorá je dôležitá pre prenos signálu, reguláciu transkripcie a taktiež sa podieľa na odpovedi na stres a kontroluje funkcie receptorov. (*Rajkumar, 2009*)

Laboratórne testy preukázali, že účinky bortezomibu na MM spočívajú v priamej indukcií apoptózy a zvyšuje expresiu Bcl-2, ktorý je jej regulátor. Ďalej znižuje adhérenciu myelomových buniek na stromálny priestor a produkciu rastových faktorov IL-6, VEGF... Veľmi dôležitým účinkom je jeho pôsobenie na nukleárny faktor- κ B (NK- κ B). Tento transkripčný faktor aktivuje transkripciu génov pre rastové faktory, angiogenetické a antiapoptické faktory, ktoré podporujú prežívanie nádorových buniek a zvyšujú rezistenciu na liečbu. V kľudovom stave sa NK- κ B nachádza v cytoplazme, kde je viazaný na inhibičný proteín (I κ B). Po stimulácii (stres, radiácia, rastové faktory atď..) je presunutý do bunecného jadra a je zahájená transkripcia génov. Prenos je spojený s degradáciou ubiquitovaného I κ B v proteazóme. A práve v tejto fáze pôsobí bortezomid, ktorý inhibuje aktiváciu NK- κ B

a tým stabilizuje komplex NK- κ B a I κ B. Bortezomid je účinný v každej fáze bunecného cyklu a nie je ovplyvňovaný mechanizmami bunecnej protinádorovej rezistencie. (Špička *et al.*, 2009)

Odporúčaná dávka je 1,3 mg / m² podávaní intra venózne (i.v) v monoterapii každý 1, 4, 8, 11 a 21 deň 28 - dňového cyklu. Od roku 2009 je určený na primoliečbu. Najčastejšie sa používa v kombinácií s melfalanom a prednizonom, hlavne pri pacientoch nevhodných na autológnu transplantáciu a primoliečbu. Odporúčaný počet cyklov je 6, pri primoliečbe až 9. Medzi hlavné vedľajšie účinky patrí znížený počet krvných doštičiek a tiež ako u thalamidomidu neuropatia. (Hájek *et al.*, 2009)



Obr.č.13: Chemická štruktúra bortezomidu (<http://en.wikipedia.org>)

5.1.4. Ďalšie lieky

Mnohopočetný myelóm je stále nevyliciteľný, dopyt po nových liekoch je veľký. V súčasnosti prebiehajú laboratórne testy látok ako pomalidomid (derivát thalidomidu) a carfilzomid (inhibitor proteázomu). U pacientov s refrakterným alebo relabujúcim myelómom sa skúša terapia s trioxidom arzenu, ktorý v laboratórných testoch dosiahol dobrú toleranciu a liečebnú odpoveď. (Špička *et al.*, 2005)

5.2. Konvenčná chemoterapia

Konvenčná chemoterapia je v súčasnosti, okrem medikamentózneho liečby, liečbou určenou pre pacientov, u ktorých nie je možná transplantácia kvôli veku, štádiu ochorenia alebo z rôznych etických dôvodov. Základom terapie je používanie alkylačných cytostatík a kortikosteroidov. U myelómových buniek je cytostatikmi poškodzovaná nukleová kyselina a kortikosteroidy indukujú apoptózu. Desiat'ročia sa používala kombinácia melfalanu (MEL) a prednisonu (MP) avšak v súčasnosti sa uprednostňujú viac účinné kombinácie. MP je však stále používaná liečba pri pacientoch, u ktorých v po následných relapsoch vznikla rezistencia na niektorý liek. Liečebná odpoveď sa dosahuje u 50% pacientov, avšak kompletná odpoveď sa vyskytuje len u 5%. Dávkovanie je 9 mg / m² melfalanu a 60 mg / m² prednisonu prvé štyri dni p.o.. Liečba sa podáva do dosiahnutia fázy plató (zníženie paraproteínu na stabilnú hodnotu po dobu 3 mesiacov) a následne po 6 mesiacoch. Táto liečba má aj svoje špecifiká, napríklad podávanie lieku nalačno kvôli aktívnemu vstrebávaniu melfalanu v gastrointestinálnom trakte (GIT) a jeho vylučovaní obličkami nie je vhodný pre pacientov s renálnou insuficienciou. Správne dávkovanie sa detekuje poklesom granulocytov, eventuálne trombocytov. Nevýhodou tejto terapie je vysoká toxicita, ktorá poškodzuje kmeňové bunky. Ako náhrada za melfalan sa používa cyklofosfamid, ktorý je síce tiež toxický, ale neškodzuje kmeňové bunky. (Tóthová, 2009; Rajkumar, 2009; <http://www.myeloma.cz>)

V súčasnej dobe sa konvenčná chemoterapia používa iba v prípadoch, keď nie je možná autológna transplantácia kmeňových buniek, ktorá je pokladaná za zlatý štandard a jej výsledky pri porovnaní dosahujú oveľa dlhší medián prežitia, dobu remisie takmer v každej štúdií. Uvedené údaje zobrazuje tabuľka č.6. (Hájek et al, 2009)

Autor	Kompletná remisia	Obdobie bez komplikácií v mesiacoch	Medián prežitia v mesiacoch
Attal et al (1996)	22 vs 5	28 vs 18	57 vs 42
Child et al (2003)	44 vs 9	32 vs 20	55 vs 42
Bladé et al (2005)	30 vs 11	43 vs 34	67 vs 65
Fermand et al (2005)	8,5 vs 7	25 vs 19	47,8 vs 47,6
Barlogie et al (2006)	17 vs 15	25 vs 21	58 vs 53

Tab. č.6 : Porovnanie autológnej transplantácie kmeňových buniek a konvenčnej chemoterapie (*Bladé et al., 2010*)

V súčasnosti sú viac používané kombinácie melfalan, prednison a thalidomid alebo bortezomib alebo lenalidomidom. Všetky uvedené kombinácie sú účinnejšie ako „klasická“ kombinácia MP avšak za nadradenú sa považuje kombinácia bortezomibom, kvôli vysokej toxicite thalidomidom a pri kombinácií lenalidomidom je nutné podávať ešte rastové faktory. (*Rajkumar, 2009*)

5.3. Autológna transplantácia kmeňových buniek

Autológna transplantácia kmeňových buniek (ASCT) je v súčasnosti považovaná za zlatý štandard v prvotnej terapii, hlavne mladých pacientov s MM do veku 65, pretože dosahuje kompletnú, dlhodobú remisiu a predlžuje dobu prežitia až o 10 rokov. Pred samotnou transplantáciou je veľmi dôležitá chemoterapia, najčastejšie sa používa vysokodávková terapia samostatného melfalanu v dávkovaný 200 mg / m². (*Tóthová, 2009*)

Melfalan je v súčasnosti považovaný za najúčinnejšie chemoterapeutikum podávané v monoterapii. Dávka 200 mg / m² bola experimentálne dosiahnutá, v súčasnosti ani nižšie ani vyššie dávkovanie neprekonali optimálny „kompromis“ účinnosť / toxicita. Klinické štúdie skúmali aj možnosť dávkovania MEL 140 mg / m² spojenú s celotelovým ožiarением. Výsledky poukázali, že kombinácia s ožiarением je ešte viac toxická pre organizmus a prihojenie štepu buniek trvalo dlhšie ako pri MEL 200 mg / m². Nižšia dávka melfanolu sa odporúča pre pacientov starších ako 70 rokov a u pacientov s renálnou insuficienciou. (*Hájek et al., 2009*)

Pre samostatnou chemoterapiu je dôležitá indukčná terapia. Medzi najčastejšie používané patrila kombinácia vincristin, doxorubicin a dexamethazón (VAD). Táto terapia však v súčasnosti už nie je odporúčaná kvôli nutnému zavedeniu vnútrožilového katétra a neurotoxická vincristínu bola nahradená kombináciou thalidomid / dexamethazón, ktorá aj v klinických testoch dosiahla vyššiu liečebnú odpoveď až 76% oproti 56% VAD. Taktiež sa ako predtransplantačná terapia používal samostatný dexamethazón, avšak aj monoterapia sa preukázala ako menej účinnejšia ako použitie thalidomid / dexamethazu (klinické štúdia, odpoveď na liečbu : 63% vs. 41%). V súčasnosti je táto kombinácia v USA najčastejšou pre indukčnú terapiu u novo diagnostikovaných pacientov vhodných pre ASCT. Odporúčané dávka je thalidomid 100 - 200 mg denne a dexamethazón 400 mg každý 1, 8, 15, 22 a 28 deň terapie, orálne požitie. Liečba sa opakuje každé 4 týždne v 4 cykloch pred transplantáciou. Taktiež prebiehajú ďalšie štúdia o možných indukčných terapiách, na Mayo Clinic skúšajú kombináciu lenalidomid / dexamethazón, taktiež kvôli dobrej liečebnej odpovedi sa skúša do praxe zaviesť monoterapia alebo kombinácia bortezomibu. (*Bladé et al,2010; Anderson et al., 2011*)

Keďže použitie vysokých dávok MEL je myeloablatívna terapia, je nutné nahradenie krvotvorných orgánov autológnu transplantáciou. Samotná transplantácia sa tiež postupom rokov zmenila. Kedysi ako cieľový zdroj kmeňových buniek bola kostná dreň. Od roku 1994 sa však začalo prevažovať použitie progenitorových buniek periférnej krvi, kvôli rýchlejšiemu prihojeniu štepu a nižšiemu počtu myelómových buniek v štepe. Práve transfúzia vlastných buniek zvyšuje odpoveď na liečbu a celkové prežívanie. Avšak aj malé množstvo myelómových buniek môže zhoršiť celkové vyhladky pacienta. Kvôli tomuto problému sa skúsila v 90. rokoch zaviesť do praxe metóda puring (čistenie) odseparovaných buniek. Princípom metódy je reakcia hematopoetických buniek s monoklonálnymi protilátkami na základe pozitívnej alebo negatívnej selekcie. Táto metóda dosiahla zníženie množstva myelómových buniek v štepe, avšak nemala žiadny vplyv na celkovú prognózu pacienta a medzi ďalšie nevýhody patrila aj ekonomická náročnosť a zníženie počtu lymfocytov v štepe, čo sa prejavovalo posttransplantačnými infekciami. Neskoršie štúdie dokázali, že myelómové bunky v štepe nemajú žiadny vplyv na odpoveď pacienta na zákrok. (*Hájek et al., 2009*)

Po rekonvalescencií po prvej ASCT, alebo keď sa hladina paraproteínu neznižila o 90%, môže pacient podstúpiť druhú transplantáciu tzn. tandemovú. Klinické testy dokázali, že vo väčšine prípadov dosahuje tandemová transplantácia lepšie výsledky oproti klasickej ASCT. (*Bladé et al., 2010*)

V súčasnosti je aj v Čechách aj na Slovensku ASCT považovaná za jednu z najlepších metód na liečbu MM, avšak z neznámych dôvodov je transplantačná aktivita na Slovensku ešte nižšia ako v Čechách aj napriek tomu, že 10 ročné prežitie je dosiahnuté až u 20% pacientov mladších ako 65 rokov. Autológna transplantácia je v porovnaní s ostatnými terapiami veľmi bezpečná a mortalita v dôsledku transplantácie dosahuje hodnotu ani nie 3%, u novo diagnostikovaných pacientov pod 2% a niektoré kvalitne vybavené centrá (vyskytujú sa aj v Českej a Slovenskej republike) dokázali znížiť peritransplantačnú mortalitu pod 1%. (*Hájek et al., 2009*)

5.4. Alogénna transplantácia kmeňových buniek

Alogénna transplantácia (allo-SCT) je v súčasnosti považovaná za terapiu s najväčším potenciálom na vyliečenie mnohopočetného myelómu, ale pacientom sa táto metóda odporúča len výnimočne kvôli množstvu nevýhod a nebezpečenstiev, ktoré so sebou prináša. Medzi adeptov na túto transplantáciu je možné zaradiť len chorých mladších ako 55 rokov, so súrodencom rovnakého pohlavia so zhodným hlavným histokompatibilným systémom (HLA), s dostatočne fungujúcimi orgánmi a nie sú rezistentní na indukčnú terapiu. Tieto podmienky spĺňa ani nie 10% pacientov. (*Hájek et al., 2009*)

Medzi výhody tejto metódy patrí hlavne aplikácia štepu, ktorý nie je infiltrovaný myelómovými bunkami a efektu štep proti myelómu (GVM effect). Nevýhodou štandardne používanej myeloablatívnej alogénnej metódy je vysoká toxicita spojená s vysokou úmrtnosťou v dôsledku posttransplantačných komplikácií (TRM) a častý výskyt akútnej alebo chronickej formy choroby štep proti hostiteľovi (GVHD). Ako indukčná terapia sa používa kombinácia melfalan a celotelové ožiarenie, poprípade náhrada melfalanu za cyklofosamid. Aj napriek tomu, že TRM sa v priebehu rokov znížila, stále je hodnota pri myeloablatívnej alogénnej transplantácii na úrovni 40% . K zníženiu TRM taktiež prispelo používanie progenitorových buniek periférnej krvi namiesto kostnej drene. (*Tóthová, 2009; Anderson et al., 2011; Bladé et al., 2010*)

Na zníženie toxicity a nepriaznivého TRM sa skúšal do praxe zaviesť režim s redukovanou intenzitou (RIC) tzn. nemyeloablatívna (mini) alogénna transplantácia. Tento druh alogénnej transplantácie využíva pozitívneho efektu štep proti myelómu. Ako najčastejšia predtransplantačná terapia sa používa kombinácia fludarabínu s melfalanom, busulfanom alebo celotelové ožiarenie v nižšej miere. Táto terapia nekladie taký veľký dôraz na cytostatický efekt ako allo-SCT, skôr je zameraná na navodenie imunosupresívneho účinku čo má za následok lepšie prihojenie transplantátu. Pri porovnávaní výsledkov s myeloablatívnou allo-SCT dosiahla nižšiu hodnotu TRM 2 roky po transplantácií (24%), ale zvýšil sa počet relapsov ochorenia a celkové prežitie pacienta sa nezmenilo. (*Hájek et al., 2009*)

RIC–allo-SCT sa aplikuje ako samostatná terapia alebo súčasť tandemovej transplantácie, kde prvý krok je ASCT, ktorá zredukuje množstvo nádorovej masy a nasledovne po 2 - 4 mesiacoch pacient podstúpi allo-SCT. Táto alternatíva je najviac perspektívna u pacientov s rýchlo progredujúcou formou ochorenia, lebo autológna transplantácia navodí remisiu a získaný čas je potrebný pre navodenie efekt GVM. Výsledky tejto tandemovej transplantácie sú však ešte len krátkodobé, ale v štúdiu Krögera et al. dosahovala celková remisia hodnotu až 73% a TMR 100 dní po transplantácií 11%. (*Bladé et al., 2010; Špička et al., 2005*)

Alogénna transplantácia, či už myeloablatívna alebo nemyeloablatívna má v liečbe MM stále nejasné postavenie. V prospech tejto metódy svedčí jej vplyv na myelómové bunky, avšak pre vysokú mortalitu a časté komplikácie nie je odporúčaná ako štandardná terapia. Aplikuje sa hlavne mladším pacientom, ktorí po ASCT dosiahli relabujúcu formu ochorenia, avšak musia byť oboznámení so všetkými rizikami. (*Rajkumar, 2009*)

5.4.1. Vplyv chromozomálnych zmien na liečebnú odpoveď po alogénnej transplantácií

Výskyt určitých genetických abnormalít v karyotype pacienta rozdeľuje pacientov do dvoch podskupín. Niektoré odchýlky sú spojené s priaznivou diagnózou, iné ju však ovplyvňujú nepriaznivo. Medzi aberácie, ktoré najhoršie ovplyvňujú vplyv na liečebnú odpoveď patria: delécia 13q, delécia 17p a translokácia (4; 14). Taktiež metóda liečby,

ktorú lekár navrhne pacientovi, záleží od toho, do ktorej z týchto dvoch skupín patrí. Ako najúspešnejšia terapia pre pacientov s rizikovou formou MM sa javí alogénna transplantácia s podporou kmeňových buniek, ktorá má však aj radu nepriaznivých účinkov. (*Hu et al., 2011*)

Existuje však málo štúdií, ktoré sa zaoberajú priamo vplyvom cytogenetických zmien na niektorú z liečebných terapií. Týmto prepojením sa zaoberala francúzska skupina, konkrétne Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire, ktorá skúmala, aký môžu mať vplyv na liečebnú odpoveď cytogenetické anomálie po alogénnej terapii. Výsledky štúdie dokázali, že karyotypové abnormality majú nejaký vplyv na výsledky liečby, avšak u pacientov s del17q môže allo-SCT vylepšiť nepriaznivú prognózu. (*Roos-Weil et al., 2011*)

5.5. Ďalšie terapie

Vývoj nových metód a liekov na liečbu mnohopočetného myelómu postupuje rýchlo dopredu, ale stále sa nenašlo riešenie, ktoré by odvrátilo relaps nasledujúci po každej terapii. Veľký potenciál sa vkladá aj do bunečnej imunoterapie. Táto metóda využíva cytotoxické T-lymfocyty (CTL) a myelóm - špecifické antigény. Keďže MM patrí medzi menej imunogénne nádory k navodeniu aktivity voči myelómovým bunkám sa najčastejšie používajú dendritické bunky, ktoré aktivujú špecifické antigény. Idiotyp myelómového imunoglobulínu alebo lyzát z nádorových buniek patria medzi unikátne nádorové antigény u MM. (<http://www.myeloma.cz>)

V Českej republike sa v rámci klinickej štúdie vo Fakultnej nemocnici v Brne testovali dva univerzálne nádorové antigény : hTERT a MUC1, u ktorých sa predpokladalo možné využitie pri liečbe MM. hTERT je katalytická jednotka enzýmu telomerázy, ktorej hlavnou úlohou je syntéza koncových úsekov telomér na chromozóme. Pri nádorovom bujení viac ako 85% vykazuje telomerázovú aktivitu, tzn. že na svojom povrchu vystavujú peptidy odvodené od hTERT. U MM, ako aj u iných nádorových chorôb, bolo dokázané, že hTERT má schopnosť indukovať odpoveď CTL či už in vivo alebo in vitro. (*Očadlíková et al., 2008*)

MUC1 je transmembránový glykoproteín, ktorý sa vyskytuje u epiteliálnych a non-epiteliálnych bunkách a je exprimovaný hlavne u hemalologických malignít. U pacientov s MM sa vyskytuje až v 92% prípadov a tiež bol nájdený aj v sére

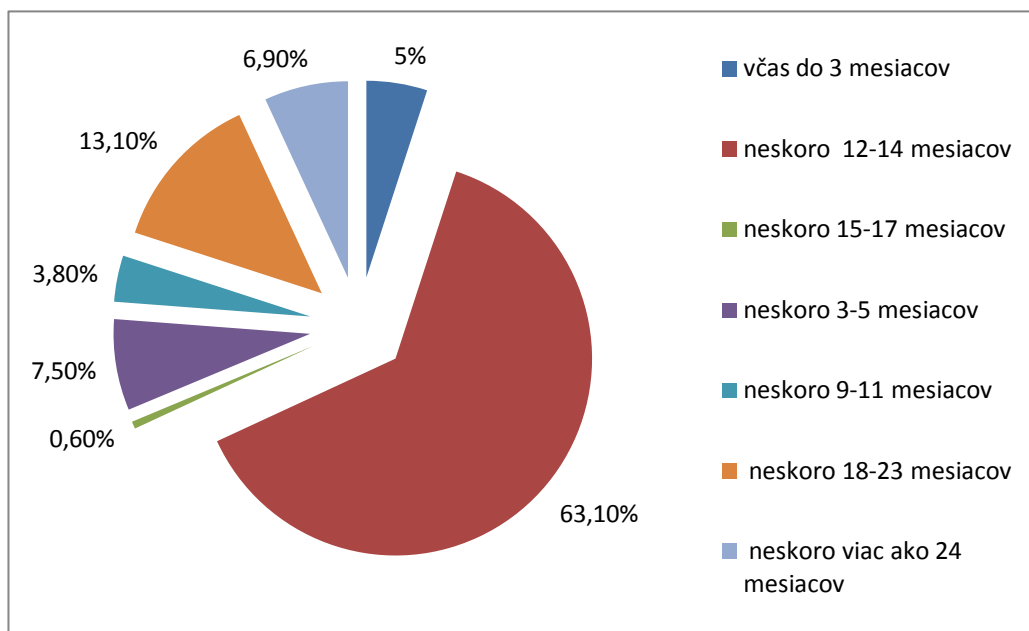
pacientov. TCL sú schopné rozpoznávať MUC1 epitopy, hlavne umiestnené v oblasti TRD = tandemová repetitívna doména. Oba uvedené antigény nevyvolávajú imunitnú reakciu. Výsledky štúdie dokázali, že aj hTERT aj MUC1 sú schopné vyvolať špecifickú cytotoxickú aktivitu T-lymfocytov, ktorú je možno využiť k liečbe mnohopočetného myelómu. (Očadlíková et al., 2008)

Ako ďalšie možnosti liečby MM sa skúmajú rôzne cytokíny a chemokíny. Interferon α (INF α) našiel uplatnenie v udržiavacej terapii, kedy terapia s INF α predĺžila dobu remisie až o 7 mesiacov. Do klinických štúdií sa dostala aj imunoterapia s monoklonálnou protilátkou proti IL-6. Avšak limitujúcim faktorom aj pre INF α je ich toxicita, tak výskum nových možností prebieha naďalej. (Špička et al., 2005, <http://www.myeloma.cz>)

5.6. Projekt CRAB

V Českej republike v roku 2007 na podnet Českej myelómovej skupiny (CMG) vznikol projekt CRAB, ktorého základným cieľom je zvýšiť informovanosť lekárov o mnohopočetnom myelóme, včasnejšiu diagnostiku a tým aj zlepšiť život pacienta. (<http://www.projectcrab.com>)

Projekt má rovnaký názov ako 4 základné príznaky MM: C - hyperkalcémia, R - zlyhanie obličiek (renal), A - anémia, B - postihnutie kostí (bones). Aj keď počiatkové príznaky sú nešpecifické, preto sa doba diagnózy často predlžuje aj o niekoľko mesiacov, štatisticky sa udáva, že viac ako 40% nových prípadov je diagnostikovaných po 3 mesiacoch po prvom kontakte s lekárom. (Česká myelomová skupina, 2010)



Graf č.2: Obdobie stanovenia diagnózy u 160 pacientov s MM (Česká myelomová skupina, 2010)

Od roku 2007 po rok 2010 sa zlepšila včasnosť diagnostiky MM (tzn. do prvých troch mesiacov od prvého kontaktu s lekárom) z 53,5 % na 63,1% a tiež došlo k zníženiu počtu pacientov s renálnym zlyhaním o takmer 3% a pacientov s neurologickým deficitom o 7%. (Česká myelomová skupina, 2010)

Aj keď je mnohopočetný myelóm stále nevyliciteľné ochorenie je však liečiteľné. V súčasnosti, vďaka novým liekom napr. thalidomid, bortezomib, lenalidomid alebo metódam ako konvenčná chemoterapia a vysokodávková chemoterapia s podporou periférnych kmeňových buniek sa zlepšila či už celková doba prežitia ale aj kvalita života. (Česká myelomová skupina, 2007)

Česká myelomová skupina úzko a často spolupracuje s slovenskou myelómovou skupinou, ktorá sa o podobný projekt snaží aj na Slovensku.

6. Záver

Mnohopočetný myelóm je stále nevyliciteľné ochorenie, ale kvôli výraznému pokroku je v súčasnosti už dobre liečiteľné ochorenie. Keďže novo diagnostikovaných prípadov je rok od roku viac a včasná diagnóza môže predĺžiť život pacienta aj o niekoľko rokov.

Jeden z najvýznamnejších prevratov v diagnostike nastal po zavedení FISH techniky ako jedného zo základných diagnostických faktorov, kvôli genetickej nestabilite mnohopočetného myelómu a súvislosťami medzi prognózou pacienta a anomáliami v karyotype. Medzi ďalšie významné udalosti patria pokroky v liečbe. Autológna transplantácia kmeňových buniek nahradila konvenčnú chemoterapiu a tým zlepšila a hlavne predĺžila či už obdobie bez príznakov ale aj celkovú dĺžku života. Okrem ASCT má pacient možnosť podstúpiť alogénnu transplantáciu, avšak podmienky pre túto metódu nespĺňa viac ako 10% pacientov. Okrem samotnej transplantácie je ešte veľmi dôležitá indukčná terapia. Pôvodné lieky sú v súčasnosti nahradzované látkami, ktoré tiež zlepšujú dĺžku a kvalitu života, ale taktiež majú aj mnoho vedľajších účinkov. Medzi najčastejšie používané lieky patria bortezomid, thalidomid a jeho náhrada lenalidomid. Okrem týchto už zaužívaných metód sa stále hľadajú nové možnosti a látky, ktoré by boli schopné mnohopočetný myelóm až vyliečiť.

V Českej republike od roku 2007 funguje aj projekt, ktoré hlavným cieľom je zvýšiť informovanosť lekárov o diagnostike myelómu ale aj o najnovších metódach liečby. Tento projekt CRAB dosahuje úspechy a od roku 2007 sa zvýšil počet diagnóz mnohopočetného myelómu do prvých troch mesiacov od prepuknutia symptómov, čo je dôležité pre správne nastavenú liečbu a tým sa môže pacientovi predĺžiť život aj o 10 rokov.

7. Použitá literatura

- [1] **ADAM Z., GREGORA, E., HÁJEK R., et al.:** Diagnostika a léčba mnohočetného myelomu. Transfuze a hematologie, 2005, Supplm. (1).
- [2] **ADAM, Z., MAISNAR, V., et al.:** Mnohočetný myelom: Jak včas rozpoznat tuto nemoc a jak s ní žít – Informace pro nemocné a jejich blízké. Nadační fond CMG, 2008.
- [3] **AGNELLI, L., FABRIS, S., BICCIATO, S., et. al.:** Upregulation of translational machinery and distinct genetic subgroups characterise hyperdiploidy in multiple myeloma. British journal of haematology. 2007; Vol.136, No.4, str.565 – 573.
- [4] **American Cancer Society :** Multiple myeloma, 2011.
- [5] **ANDERSON, KC., ALSINA, M., BENSINGER, W., et al.:** Multiple myeloma. The Journal of the National Comprehensive Cancer Network, 2011; Vol. 9, str. 1146 – 1183.
- [6] **AZEMAT, J., PARSIANA, JE., SHERENA, TY. et al:** The human Hsp70B gene at the HSPA7 locus of chromosome 1 is transcribed but non-functional. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression, Vol. 1494, No. 1 – 2, 2000, str. 201 – 205.
- [7] **BARTL, R., FRISCH, B.:** Diagnostic morphology in multiple myeloma. Current diagnostic pathology, 1995; Vol.2, str. 222 - 235.
- [8] **BLADÉ, J., ROSIÑOL, L.:** Renal, hematologic and infectious complications in multiple myeloma, Best Practice & Research Clinical Haematology, 2005; Vol.18, No.4, str. 635 – 652.
- [9] **BLADÉ, J., ROSIÑOL, L., CIBERIA, MT., et al.:** Hematopoietic stem cell transplantation for multiple myeloma beyond 2010. Blood, 2010; Vol.115, No.18, str. 3655 - 3663.
- [10] **Česká myelomová skupina:** Včasná diagnostika a pokroky v léčbě mnohočetného myelomu - Projekt CRAB. 2007.
- [11] **Česká myelomová skupina:** Hodnocení projektu CRAB v roce 2010.
- [12] **DEBES - MARUN, C.S., DEWALD, G.W., BRYANT, S. et al.:** Chromosome abnormalities clustering and its implications for pathogenesis and prognosis in myeloma. Leukemia, 2003, Vol.17, No.2, str. 427 – 436.

- [13] **DIMOPOULOS, M., SPENCER, A., ATTAL, M., et al.:** Lenalidomide plus Dexamethasone for relapsed or refractory multiple myeloma. *The New England Journal of Medicine*, 2007, Vol. 357, No.22, str. 2123 – 2132.
- [14] **FONSECA, R., HARRINGTON, D., OKEN, M., et al.:** Biologic and prognostic significance of interphase FISH detection of chromosome 13 abnormalities ($\Delta 13$) in multiple myeloma: an Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) Study. *Cancer Research*, 2002; Vol.62, No.3, str. 715 - 720.
- [15] **FONSECA, R., BARGOLIE, B., BATAILLE, R. et al.:** Genetics and cytogenetics of MM: a workshop report. *Cancer Research*, 2004, Vol.64, No.4, str. 1546 – 1558.
- [16] **FONSECA, R., BERGSANGEL, PL., DRACH, J., et al.:** International Myeloma Working Group molecular classification of multiple myeloma: spotlight review. *Leukemia*, 2009; Vol.23, No.12, str. 2210 – 2221.
- [17] **GREIPP P.R., SANMIGUEL J., DURIE BG. et al.:** International staging system for multiple myeloma. *J. Clin. Oncol.* 2005; Vol.23, No.15, str. 3412 - 3420.
- [18] **HÁJEK, R., ADAM, Z., MAISNAR, V., et al.:** Souhrn doporučení 2009 „Diagnostika a léčba mnohočetného myelomu”. *Transfúze a hematologie dnes*, 2009; Supplm (2).
- [19] **HU, Y., CHEN, L., SUN, C., et al.:** Clinical significance of chromosomal abnormalities detected by interphase fluorescence in situ hybridization in newly diagnosed multiple myeloma patients. *Chinese Medical Journal* 2011; Vol.124, No.19, str. 2981 – 2985.
- [20] **KLINCOÁ, M., SANDECKÁ, V., MIKULÁŠOVÁ, A., et al.:** Monoclonal gammopathy of undetermined significance: Introduction and current clinical issues. *Klinická onkologie*, 2011, Vol.24, Supplm, str.14 – 17.
- [21] **KRIŽALKOVIČOVÁ, V., MAISNAR, V., POUR, L., et al.:** Monoklonálne gamapatie nejasného významu. *Klinická onkologie*, 2008, Vol. 21, No.4, str. 160 – 164.
- [22] **KUGLÍK, P., FILKOVÁ, H., HÁJEK, R.:** Význam a současné možnosti diagnostiky cytogenetických změn u mnohočetního myelomu. *Vnitřní lékařství*, 2006; Vol.52, Supplm. (2).

- [23] **KYLE, RA., THERNEAU, TM., RAJKUMAR, SV., et al.:** Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *The New England journal of medicine*, 2006, Vol. 354, No.13, str. 1362 – 1369.
- [24] **LEXOVÁ S. et al.:** Hematologie pro zdravotní laboranty. Brno, 2000; ISBN 80-7013-304-X.
- [25] **LIEBISCH, P., DÖHNER, H.:** Cytogenetics and molecular cytogenetics in multiple myeloma. *European journal of cancer*, 2006; Vol.42, No.11, str. 1520 – 1529.
- [26] **MAGRANGEAS F., LODÉ, L., WUILLEME, S., et al.:** Genetic heterogeneity in multiple myeloma. *Leukemia*, 2005; Vol.19, No.2, str. 191 – 194.
- [27] **MAHINDRA, A., HIDEHIMA T., ANDERSON, KC.:** Multiple myeloma: biology of the disease. *Blood reviews*, 2010, Vo.24, Supplm. str. 5 - 11.
- [28] **MAISNAR, V., HÁJEK, R.:** Lenalidomid v léčbě mnohočetního myelomu. *Remedia*, 2009, No.6.
- [29] **MEZIANE, M., BOULAADAS, M., ESSAKALI, L., et al.:** Solitary plasmacytoma: Ghost tumor?. *International journal of oral and maxillofacial surgeons*, 2011, Vol. 41, No.1, str. 17 - 19.
- [30] **NĚMEC, P., KUGLÍK, P., HÁJEK, R.:** Úloha chromozomových translokací při vzniku a vývoji mnohočetného myelomu. *Klinická onkologie*, 2008, Vol.21, No.2, str. 53 – 58.
- [31] **OSČADLÍKOV, D., KOVAŘOVÁ, L., HÁJEK, R., et al.:** Příprava myelom-specifických T lymfocytů aktivovaných dendritickými buňkami naloženými nonapeptidy odvozenými od mucinového proteinu MUC1 a katalytické podjednotky telomerázy hTERT. *Klinická onkologie*, 2008, Vol.21, No.2, str. 59 – 65.
- [32] **PERCY, LA., D'SA, S.:** Multiple myeloma and paraproteinaemia. *Medicine*, 2009, Vol.37, No.4, str. 212 - 216.
- [33] **PLUTA, RM., LYNM, C., GLASS, RM.:** Multiple myeloma. *The journal of the american medical association (JAMA)*, 2010, Vol. 304, No. 21, str. 2430 - 2430.

- [34] **RAJKUMAR, SV., BUADI, F.:** Multiple myeloma: New staging systems for diagnosis, prognosis and response evaluation. *Best Practice & Research Clinical Haematology* 2007, Vol. 20, No. 4, str. 665 – 680.
- [35] **RAJKUMAR, SV.:** Multiple myeloma. *Current problems in cancer*, 2009; Vol.33, No.1, str. 7 - 64.
- [36] **RICHARDSON, P.G., MITSIADES, C., SCHLOSSMAN, R., et al.:** New drug for myeloma. *The Oncologist*. 2007, Vol.12, No. 12, str. 664 – 689.
- [37] **ROOS - WEIL, D., MOREAU, P., AVET –LOUSEAU, H., et al.:** Impact of genetic abnormalities after allogeneic stem cell transplantation in multiple myeloma: a report of Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire. *Haematologica*, 2011, Vol.96, No.1, str. 1504 - 1511.
- [38] **SAWZER, JR.:** The prognostic significance of cytogenetics and molecular profiling in multiple myeloma. *Cancer genetics*, 2011; Vol.204, No.1, str. 3 – 12.
- [39] **SHAUGHNESSY, J.:** Amplification and overexpression of CKS1B at chromosome band 1q21 is associated with reduced levels of p27^{Kip1} and an aggressive clinical course in multiple myeloma. *Hematology*, 2005, Vol.10, Supplm. (1), str. 117 – 126.
- [40] **SIROHI, B., POWLES, P.:** Multiple myeloma. *The Lancet*, 2004; Vol.363, No.9412, str. 875 – 887.
- [41] **ŠPIČKA I. et al.:** Mnohočetný myelóm a další monoklonální gamapatie. Galen, 2005, ISBN 80-7262-330-3.
- [42] **TÓTHOVÁ, E.:** Možnosti léčby mnohopočetného myelómu. *Onkologie*, 2007; Vol.1, No.1, str. 14 – 17.

Internetové zdroje :

- [1] **BAKER, M.:** The history of multiple myeloma. EHow.com [online]. 1999 - 2012 [cit. 26.3.2012]. Dostupné z: http://www.ehow.com/about_5183158_history-multiple-myeloma.html
- [2] **Bortezomib:** Wikipedia: the free encyclopedia [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001 - 2012 [cit. 14.5.2012]. Dostupné z: <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Bortezomib.svg>

- [3] **Cytopathos.** [online]. 2006-2012 [cit. 24.3.2012]. Dostupné z: <http://www.cytopathos.sk/sluzby/molekularna-genetika/obr-t1114-2a.html>
- [4] **Chemoterapie.** Česká myelomova skupina [online]. [cit. 13.4.2012]. Dostupné z: <http://www.myeloma.cz/index.php?pg=mnohocetny-myelom--lecba--chemoterapie>
- [5] **GUTMAN, G.** Medical Immunology. [online]. 2011 [cit. 14.5.2012]. Dostupné z: <http://jeeves.mmg.uci.edu/immunology/Assays/EPScanMC.htm>
- [6] **Imunoterapie.** Česká myelomova skupina [online]. [cit. 6.5.2012]. Dostupné z: <http://www.myeloma.cz/index.php?pg=mnohocetny-myelom--lecba--imunoterapie>
- [7] **Inter Medico.** [online]. [cit. 15.4.2012]. Dostupné z: <http://www.intermedico.com/userfiles/file/products/molecular/IgH%20FGFR3%20overview.pdf>
- [8] **Lenalidomid:** Pharmazautiche zeitung online [online]. European Medicines Agency, 2012 [cit. 14.5.2012]. Dostupné z: <http://www.pharmazeutische-zeitung.de/index.php?id=3467>
- [9] **Mnohočetní myelom.** Česká myelomova skupina [online]. [cit. 6.5.2012]. Dostupné z: <http://www.myeloma.cz/index.php?pg=mnohocetny-myelom--zakladni-udaje>
- [10] **Monozómia 13 chromozómu.** Slovenská myelómová spoločnosť [online]. [cit. 23.4.2012]. Dostupné z: <http://www.myelom.sk/index.php/ov/md/plazmocytova-leukemia/#cnt>
- [11] **MURALI, M.:** Multiple myeloma. BMJ Evidence centre [online]. 2012 [cit. 14.5.2012]. Dostupné z: <http://bestpractice.bmj.com/best-practice/monograph/179/basics.html>
- [12] **Mnohopočetný myelóm.** Janssen-Cilag [online]. 1997 - 2012 [cit. 6.5.2012]. Dostupné z: http://www.janssen-silag.sk/disease/detail.jhtml?itemname=multiplemyeloma_about
- [13] **Project CRAB.** CMG. Project CRAB [online]. 2010-2011 [cit. 13.2.2012]. Dostupné z: <http://www.projectcrab.com/projekt-crab.php>

- [14] **SAKALOVÁ, A., ILENČÍKOVÁ, D., WEIGLOVÁ, K., et al.:** Včasná diagnostika mnohopočetného myelómu – jeho latentných a variabilných foriem. [cit. 6.4.2012]. Dostupné z:
http://www.myelom.sk/documents/ov/vcasna_diagnostika.pdf
- [15] **Thalidomod:** Wikipedia: the free encyclopedia [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001 - 2012 [cit. 14.5.2012]. Dostupné z: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Thalidomide-2D-skeletal.png>;