

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Terapie mnohočetného myelomu

Roman Korablev

Bakalářská práce

2022

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2021/2022

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Roman Korablev**  
Osobní číslo: **C21332**  
Studijní program: **B0512A130006 Analýza biologických materiálů**  
Téma práce: **Terapie mnohočetného myelomu**  
Téma práce anglicky: **Therapy of Multiple Myeloma**  
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

## Zásady pro vypracování

1. Seznamte se s literaturou týkající se nádorového onemocnění imunokompetentních buněk označovaného jako mnohočetný myelom. Popište klinické příznaky onemocnění, průběh a prognózu onemocnění u pacientů neléčených a naopak léčených moderními terapeutickými postupy.
2. Zaměřte se na metody používané v rámci diagnostiky onemocnění, používané pro monitorování průběhu onemocnění a účinnosti zvolené terapie. Vytvořte přehlednou tabulku biomarkerů, tzn. analytů, které se v rámci těchto metod a nemoci mnohočetný myelom prokazují.
3. Zhodnoťte možnosti terapie tohoto onemocnění v minulém a v tomto století, srovnajte dostupnost léků a bioterapeutik během posledních 10 – 15 let pro pacienty v klinické praxi. Popište terapeutika, která se nyní testují v rámci klinických zkoušek a které se teprve v rámci vývoje a výzkumu navrhují a ověřují.
4. Vypracujte literární rešerši o onemocnění MM v členění textu do kapitol dle doporučené osnovy. Jako zdroje informací použijte odborné články z hodnotných odborných časopisů českých i zahraničních (anglický jazyk).
5. Informace přehledně zpracujte, použijte obrázky, schémata a grafy a ze získaných literárních údajů vyvoďte závěry, jak budou tyto nové informace o nemoci a terapii využitelné do budoucna ve prospěch pacientů.

Rozsah pracovní zprávy: 25 s.  
Rozsah grafických prací: dle potřeby  
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná

Seznam doporučené literatury:  
dle pokynů vedoucí BP.

Vedoucí bakalářské práce: **prof. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.**  
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2021**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2022**

**prof. Ing. Petr Kalenda, CSc. v.r.**  
děkan

L.S.

**prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D. v.r.**  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2022

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 27.06.2022

Roman Korablev

## **PODĚKOVÁNÍ**

Tímto bych chtěl především poděkovat vedoucí mé práce prof. RNDr. Zuzaně Bílkové Ph.D. za velmi vstřícný přístup, cenné rady, pomoc a hlavně trpělivost při vedení mé bakalářské práce. Dále bych rád poděkoval své rodině a manželce za podporu po celou dobu mého studia.

## **Anotace**

Tato bakalářská práce se zabývá popisem hematologického maligního onemocnění, známého jako mnohočetný myelom. V této práci je krátce popsána jeho historie, dále jsou podrobně probrány klinické příznaky, způsoby diagnostiky a možnosti terapie. Důraz v této práci je kladen na způsoby a možnosti léčby MM. Zaměřuje se také na popis látek používaných v léčbě, včetně popisu nových látek. V práci jsou popsány výhody a nevýhody jednotlivých způsobů léčby spolu s výsledky studií.

## **Klíčová slova**

Mnohočetný myelom, biologická léčba, transplantace kostní dřeně, cytostatika

## **Title**

Therapy of multiple myeloma

## **Annotation**

This bachelor thesis deals with the description of a hematologic malignant disease known as multiple myeloma. This work focused mainly to the new approaches how to treat this serious disease. In this work is briefly described disease's history, clinical symptoms, methods of diagnosis and methods of treatment. Emphasis in this work is placed on ways and possibilities of MM therapy. It also focuses on the description of substances used in therapy, including the description of new substances. The work describes the advantages and disadvantages of various treatments together with the results of studies.

## **Keywords**

Multiple myeloma, biological therapy, bone marrow transplantation, cytostatics

# OBSAH

SEZNAM OBRÁZKŮ .....	10
SEZNAM TABULEK .....	11
SEZNAM ZKRATEK .....	12
ÚVOD.....	13
1. VÝVOJ TERAPIE MNOHOČETNÉHO MYELOMU V ČASE .....	14
2. KLINICKÉ PŘÍZNAKY MNOHOČETNÉHO MYELOMU .....	18
2.1 Příznaky způsobené monoklonálním imunoglobulinem.....	18
2.1.1 Myelomová nefropatie .....	18
2.1.2 Hyperviskozita krve .....	18
2.1.3 Poruchy hemostázy (trombocytopenie a koagulopatie).....	19
2.1.4 Senzitivní a motorická neuropatie .....	19
2.2 Příznaky vyvolané cytokiny myelomových buněk.....	20
2.2.1 Bolesti kostí.....	20
2.2.2 Hyperkalcemie .....	20
2.2.3 Anemie, trombocytopenie a leukopenie.....	20
2.2.4 Časté a opakované infekce .....	21
2.3 Příznaky vyvolané kumulací myelomových buněk.....	21
2.4 Méně časté příznaky .....	22
2.4.1 Syndrom zvýšené kapilární propustnosti .....	22
2.4.2 Kožní projevy nemoci .....	22
3. DIAGNOSTIKA MNOHOČETNÉHO MYELOMU .....	24
3.1 Diagnostika mnohočetného myelomu .....	24
3.1.1 Základní vyšetření.....	26
3.1.2 Speciální vyšetření.....	30
3.2 Metody sledování minimální reziduální choroby .....	32
3.3 Metody monitorující průběh onemocnění.....	33
3.4 Interpretace výsledků diagnostických testů .....	34
4. TERAPIE MNOHOČETNÉHO MYELOMU .....	36
4.1 Léčba bioaktivními látkami.....	36
4.1.1 Látky působící přímo na nádorové buňky .....	36
4.1.2 Látky působící na imunitní systém .....	38
4.2 Transplantace kostní dřeně jako součást léčby .....	41
4.2.1 Vysokodávkovaná chemoterapie s autologní transplantací.....	41
4.2.2 Alogenní transplantace.....	43



4.3 Cytostatika.....	44
4.3.1 Melfalan .....	44
4.3.2 Bendamustin .....	45
5. NOVINKY V TERAPII MM.....	47
5.1 Carfilzomib .....	47
5.2 Daratumumab .....	48
5.3 Panobinostat .....	49
5.4 Pomalidomid .....	50
6. ZÁVĚR .....	52
Bibliografie .....	53

## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Sarah Newbury, první zdokumentovaný pacient s mnohočetným myelomem. (A) zničení hrudní kosti. (B) Pacientka se zlomenými stehenními kostmi a pažními kostmi. (C) Zničení stehenní kosti (Kyle, 2008) .....	15
Obrázek 2: Vývoj MM v čase (shrnutí) .....	17
Obrázek 3: Folikulární rohovitě na nosu (Satta, 2003) .....	23
Obrázek 4: Mnohočetné vředy na trupu (Satta, 2003) .....	23
Obrázek 5: Laboratorní výsledky pacienta s nově diagnostikovaným mnohočetným myelomem (Patient Case Studies and Panel Discussion, 2019) .....	26
Obrázek 6: RTG snímek kompresivních fraktur v oblasti hrudní páteře u nemocného s MM (Szeligová, 2017) .....	27
Obrázek 7: Difuzní osteolytický proces páteře (Majerníková, 2016) .....	28
Obrázek 8: MR vyšetření páteře u nemocného s MM s patologickými frakturami (Szeligová, 2017) .....	29
Obrázek 9: Elektroforéza sérových proteinů a imunofixační elektroforéza, které prokázaly monoklonální gamapatii imunoglobulinu G kappa (IgG $\kappa$ ) (Bashardoust, 2017) .....	31
Obrázek 10: Strukturní vzorec bortezomibu (Steverding, 2009) .....	37
Obrázek 11: Strukturní vzorec thalidamidu (Strukturní vzorec Thalidomidu, 2001) .....	38
Obrázek 12: Strukturní vzorec lenalidamidu (Strukturní vzorec lenalidomidu) .....	40
Obrázek 13: Strukturní vzorec melfalanu (Strukturní vzorec melfalanu, 2001) .....	45
Obrázek 14: Strukturní vzorec bendamustinu (Strukturní vzorec bendamustinu, 2001) .....	46
Obrázek 15: Strukturní vzorec carfilzomibu (Strukturní vzorec carfilzomibu, 2001) .....	47
Obrázek 16: Strukturní vzorec panobinostatu (Strukturní vzorec panobinostatu, 2001) .....	49
Obrázek 17: Strukturní vzorec pomalidomidu (Pomalidomide) .....	50

## SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Diagnostická kritéria mnohočetného myelomu dle International Myeloma Working Group (Rajkumar, 2014).....	25
Tabulka 2: Kritéria pro hodnocení léčebné odpovědi u mnohočetného myelomu (Durie, 2006; Rajkumar, 2011).....	34

## SEZNAM ZKRATEK

BPV	Kombinace s bendamustinem, bortezomibem a prednisonem (Combination of Bendamustine, Prednisone and Bortezomib (Velcade))
EFS	Přežití bez příhody (Event Free Survival)
FLC	Volné lehké řetězce (Free Light Chains)
HDT	Vysokodávková chemoterapie (High-Dose Therapy)
MM	Mnohočetný myelom (Multiple Myeloma)
MP	Kombinace melfalanu s prednisonem (Combination of Melphalan and Prednisone)
OS	Celkové přežití (Overall Survival)
PFS	Přežití bez progresu (Progression Free Survival)
RIC	Režim s redukovanou intenzitou (Reduced-Intensity Conditioning)
TRM	Úmrtnost související s léčbou (Treatment-Related Mortality)

## ÚVOD

Mnohočetný myelom je maligní onemocnění, které vychází z lymfocytární tkáně. Podstatou MM je nekontrolované zmnožení plazmatických buněk v kostní dřeni. Postupná infiltrace kostní dřene vede k útlaku fyziologické krvetvorby, přítomnosti monoklonálního imunoglobulinu v krvi a moči, a také ke vzniku osteologických ložisek v kostech.

Ze všech hematologických malignit, MM představuje 10 %, v ČR jeho incidence se pohybuje mezi 2,65/100 000 obyvatel. MM se považuje za nemoc starších lidí, medián věku při stanovení diagnózy je 66 let, ve věku nižším než 40 let MM se diagnostikuje jen u 2 % lidí (Adam, 2008a; Mnohočetný myelom - statistika, 2020).

Mnohočetný myelom se projevuje hlavně zvýšeným počtem myelomových buněk produkujících paraprotein. V důsledku shromáždění myelomových buněk v kostech a kostní dřeni MM se projevuje vznikem osteologických ložisek, patologickými zlomeninami, bolestmi v kostech, anémiemi. V důsledku odbourávání kostí se v krvi zvyšuje množství vápníku, což vede ke vzniku hyperkalcemie. Kvůli nadměrné produkci paraproteinů vznikají myelomová nefropatie, hlavně kvůli zvýšenému protékání paraproteinů ledvinami, hyperviskozita, poruchy hemostázy a senzitivní a motorická neuropatie. Pro MM jsou typické časté bakteriální infekce v důsledku nízkých hladin imunoglobulinů a porušení tvorby protilátek.

MM se řadí mezi choroby nevléčitelné, ale v dnešní době dobře léčitelné. Je-li léčba zvolená správně a pacient na ni reaguje, tak se dostává do remise. Jelikož tato nemoc stále zůstává nevléčitelnou, tak obvykle po určité době nastává relaps, který následně zase může být léčen.

Terapie MM má více než 100 let historie. Od 19. století, kdy MM zkoušeli léčit rebarborovými pilulkami a infuzemi z pomerančové kůry, do současné cílové léčby s použitím bioaktivních látek, takových jako thalidomid, lenalidomid a bortezomib.

# 1. VÝVOJ TERAPIE MNOHOČETNÉHO MYELOMU V ČASE

Je zřejmé, že mnohočetný myelom se vyskytoval po tisíce let, ale poprvé byl popsán až v roce 1844 patologem Samuelem Solly. U jeho pacientky, 39 - leté Sarah Newbury, se rozvinula únava a bolest kostí, která navíc byla doprovázena vícečetnými zlomeninami. V té době Solly zkoušel léčbu rebarborovými pilulkami a infuzemi z pomerančové kůry, ale léčba nebyla úspěšná. Při provádění pitvy, po čtyřech letech od vzniku prvních příznaků, Solly objevil v kostní dřeni mnohočetná osteolytická ložiska (Obr. 1). Z pitvy vyplývalo, že nádor vznikl z buněk kostní dřene. Ke stejným závěrům došel i při pitvě pacienta Thomase Alexandra McBeana. Byl to 45 - letý muž, který si stěžoval na pocit „jako by v něm něco prasklo“ a také na bolest v hrudníku. Poprvé ten pocit T. A. McBean zažil na dovolené, pak se po třech až čtyřech týdnech opakovalo. V případě McBean lékaři zkoušeli provádět udržovací terapii pomocí pijavic a flebotomií, léčba byla doprovázená u pacienta únavou, ale bolest na nějakou dobu ustoupila. Jenže bolest se po několika měsících vrátila, a proto jeho doktor Thomas Watson mu předepsal chinin a ocel, což mu na nějakou dobu pomohlo a jeho stav se rychle zlepšil. Ale skoro rok poté se bolest vrátila a T. A. McBean záhy zamřel. Během léčby T. A. McBean jeho moč vyšetřoval William Macintyre, který zjistili, že moč pacienta „měla vysokou specifickou hmotnost“. Vzorek moči dále poslal známému chemiku a lékaři té doby Henry Bence Jones, který určil v moči přítomnost hydratovaného dioxidu albuminu, specifického proteinu, který později bude známý jako Bence–Jonesova bílkovina. Tak lékaři objevili proteinurii u MM.



Obrázek 1: Sarah Newbury, první zdokumentovaný pacient s mnohočetným myelomem. (A) zničení hrudní kosti. (B) Pacientka se zlomenými stehenními kostmi a pažními kostmi. (C) Zničení stehenní kosti (Kyle, 2008)

V roce 1929 sovětský lékař M. I. Arinkin navrhnul aspiraci kostní dřeně, což se stalo důležitým pokrokem v terapii mnohočetného myelomu. Aspirace kostní dřeně neboli sternální punkce je vyšetření, při kterém u pacienta odebíráme vzorek kostní dřeně z hrudní kosti pro následné zjištění abnormality té dřeně. Tato metoda značně zvýšila rozpoznávání mnohočetného myelomu a používá se dodnes.

Arne Tiselius v roce 1937 rozdělil sérové globuliny na tři složky, které označil jako alfa, beta a gama (Tiselius, 1937) a už v roce 1939 Tiselius ve spolupráci s Elvinem A. Kabatem prokázali protilátkovou aktivitu v gamaglobulinové frakci (Tiselius, 1939), díky čemuž můžeme pomocí elektroforézy plazmatických bílkovin prokázat přítomnost paraproteinu (vrchol v gama oblasti). Právě stanovení paraproteinu je jedním z hlavních symptomů při diagnostice mnohočetného myelomu.

Dalším velkým pokrokem byl objev švédského vědce Nilsa Alwalleho, který v roce 1947 oznámil, že uretan u pacientů s MM způsobí zvýšení hemoglobinu, snížení sérového globulinu, snížení počtu plazmatických buněk v kostní dřeni a dokonce i zmizení proteinurie (ALWALL, 1947). Takovým to způsobem pacienti s MM byli léčeni, ale už po patnácti letech podle studií s použitím placebo bylo zjištěno, že žádný rozdíl mezi skupinou dostávající placebo a skupinou dostávající uretan není (Holland, 1966).

Korngold a Lipari v roce 1956, pomocí Ouchterlonyho testu identifikovali různé druhy Bence-Jonsovy bílkoviny (Korngold, 1956), později tyto druhy byly označeny jako kappa a lambda.

Dobrá zpráva v léčbě MM přišla roku 1958, kdy byl poprvé objeven přínos melfalanu, u 3 ze 6 pacientů s MM došlo ke zlepšení. Již o několik let později, u dalšího studia k výraznému zlepšení došlo u 8 z 24 pacientů s MM, léčených melfalanem (Kyle, 2008).

V roce 1962 Edelman a Gally ukázali, že lehké řetězce z Ig G monoklonálního proteinu v séru a Bence–Jonesova bílkovina obsažená v moči pacienta s MM mají stejné složení aminokyselin a jsou zcela shodné (Edelman, 1962), tímto nálezem byl vyřešen původ Bence–Jonesové bílkoviny.

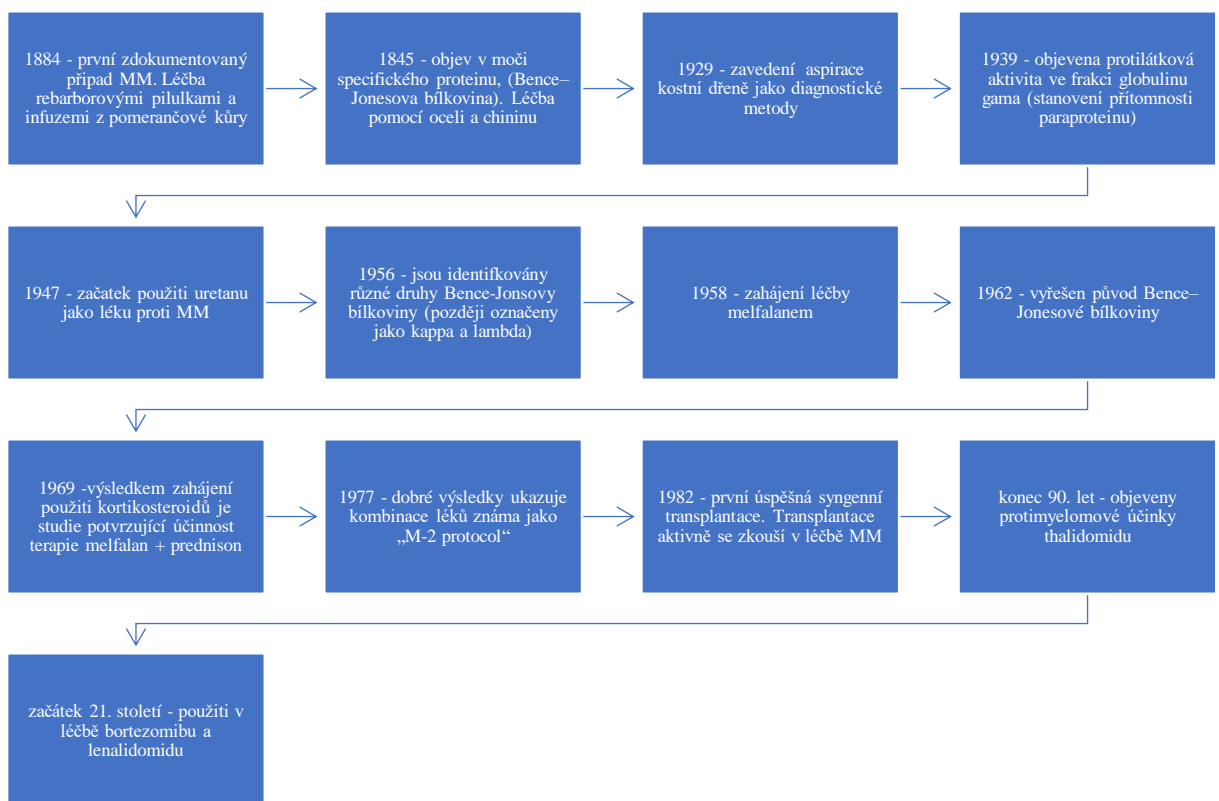
Po melfalanu, dalším významným lékem se v léčbě MM stali kortikosteroidy, především prednison, později studia prokázali vysokou účinnost prednisonu v kombinaci s melfalanem. Z výsledků studia z roku 1969 vyplývá, že z 183 pacientů s MM léčených melfalanem objektivní odpověď byla u 43 %. Dále z hodnotitelných případů 70 % pacientů odpovědělo na kombinovanou terapii s melfalanem a prednisonem, 35 % na intermitentní melfalanovou terapii a 19 % na každodenní melfalanovou terapii, přičemž stupeň remise byl lepší při terapii melfalanem a prednisonem (Alexanian, 1969). Později také byly zkoušeny různé kombinace léků, jednou z nich například byla kombinace též známa jako „M-2 protocol“, to je kombinace léků BCNU (1,3-bis (2-chlorethyl 1) -1- nitrosourea), cyklofosfamidu, melfalanu, vinkristinu a prednisonu. Podle studií z roku 1977, při provedení léčby pomocí M-2 protocolu, u 87 % ze 73 pacientů byla dosažena objektivní odpověď (Case, 1977).

Počátkem 80. let minulého století se aktivně rozvíjí transplantace krvetvorných buněk nebo dokonce i kostní dřeně při provedení chemoterapie, buď vlastních (autologní transplantace) nebo dárcovských krvetvorných buněk (alogenní transplantace), neboli transplantace, při které dárce je jednovaječné dvojče (syngenní transplantace). Tak byla první úspěšná transplantace syngenní kostní dřeně provedená v roce 1982, pacient s MM a jeho zdravé dvojče byli 50 - letí lékaři. Před provedením transplantace bylo dosaženo částečné remise během 1. roku kontinuální léčby melfalanem a prednisonem v nízkých dávkách a přímo před transplantací byly podány vysoké dávky cyklofosfamidu a provedeno celkové ozařování těla ve snaze likvidovat zbytkový nádor. Po dobu 17 měsíců po transplantaci byl pacient asymptomatický a hematologicky normální, i když měl nízkou koncentraci monoklonální Ig G<sub>k</sub> v séru. V 18. měsíci, opakující se bolest kostí a zvýšení monoklonálního IgG signalizovaly o zhoršení nemoci. Chemoterapie byla obnovena a opět bylo dosaženo objektivního a subjektivního zlepšení. Tato studie prokázala proveditelnost a potenciální užitečnost syngenní transplantace u myelomu (Osserman, 1982).

Od přelomu století se v léčbě MM začínají postupně používat takové léky jako thalidomid, bortezomib a lenalidomid. Thalidomid byl znám ještě od konce 50. let minulého století jako lék pro léčbu nevolnosti těhotných, ale z důvodu později objevené teratogenicity bylo jeho použití zastaveno. Na konci 90. let dvacátého století byly v podstatě náhodně objeveny protimyelomové účinky thalidomidu. Bortezomib, který funguje jako inhibitor proteosomu, se



v České republice používá od roku 2005 a podává se většinou pacientům s relabujícím MM. Lenalidomid zatím nejperspektivnější z třech léků, hlavně díky svému akceptovatelnému toxickému profilu. Například na rozdíl od thalidomidu a bortezomibu nezpůsobuje polyneuropatii, což je pro pacienty velkou výhodou. Lenalidomid byl registrován a používá se v České republice od roku 2008, co se týká mechanismu účinku, tak lenalidomid má schopnost aktivovat imunitní buňky, NK a T-lymfocyty, což vede k jejich proliferaci, a také ovlivňuje produkci cytokininů nádorovou populací buněk (CMG, 2020).



Obrázek 2: Vývoj MM v čase (shrnutí)

## **2. KLINICKÉ PŘÍZNAKY MNOHOČETNÉHO MYELOMU**

Příznaky MM se projevují postupně a na začátku onemocnění většina pacientů nepocítuje žádné potíže. Mezi nejčastějšími příznaky v pokročilejších stádiích MM řadíme klasickou trojici příznaků, jsou to bolesti kostí, únava a časté opakované infekce. Podrobněji o jednotlivých projevech MM bude popsáno v následujících kapitolách.

### **2.1 Příznaky způsobené monoklonálním imunoglobulinem**

#### **2.1.1 Myelomová nefropatie**

Porucha funkce ledvin je nalezena až u 50 % pacientů s MM při příjmu (Yadav, 2016). Onemocnění ledvin (myelomová nefropatie) je hlavně způsobeno vysokou hladinou monoklonálních lehkých řetězců Bence-Jonesovy bílkoviny v moči a neúměrnou zátěží ledvin. Na rozdíl od monoklonálního imunoglobulinu, lehké řetězce volně procházejí glomerulární membránou a následně jsou vstřebávány v proximálním tubulu ledvin. Když se lehké řetězce dostanou z proximálního tubulu zpět do buněk, tam už jsou hydrolyzovány na aminokyseliny a následně se dostávají zpět do oběhu. V případě MM, kdy je koncentrace lehkých řetězců zvýšena, tubulární buňky nezvládají zvýšené množství lehkých řetězců vstřebávat. Zvýšené množství lehkých řetězců v proximálním tubulu způsobuje poškození tubulárních buněk, tím vznikají poruchy tubulárních funkcí. Tak například při větším počtu lehkých řetězců v tubulech dochází k jejich precipitaci s Tammovým-Horsffalovým proteinem za vzniku odlitkových válců, které způsobují těžká poškození nefronu a vyvolávají renální selhání s retencí dusíkatých látek (Adam, 2008a).

#### **2.1.2 Hyperviskozita krve**

Příznaky hyperviskozity krve se u pacientů s MM mohou objevit při hodnotách celkové bílkoviny nad 110 g/l. Při těchto hodnotách, koncentrace monoklonálního imunoglobulinu je tak vysoká, že způsobuje poruchu koagulačních mechanismů, to se může projevit purpurou, ekchymózami, spontánním krvácením ze sliznic nosu a dásní, trombózou a krvácením do trávicího traktu. Jedním z prvních příznaků hyperviskozního syndromu může být chronická bolest hlavy v důsledku zvýšeného nitrolebního tlaku, příčinou zvýšeného tlaku je zvětšení

objemu plazmy kvůli vyšší koncentrace monoklonálního imunoglobulinu. Také je důležité uvést, že pod vlivem hyperviskozity, přesněji kvůli nitrolebnímu tlaku, mohou nastoupit změny chování (zhoršená výbavnost a paměť, postupně se rozvíjící dimense) a zvýšený objem plazmy v důsledku hyperviskozity může vyvolat dušnost, měštnavou srdeční slabost a srdeční selhání. Jediné místo v organismu, kde vidíme cévní změny způsobené hyperviskozitou, jakými jsou mikrokrvácení a přeplněné kapiláry, je oční pozadí. Právě proto u nemocných se často vyskytuje zhoršení zraku (Adam, 2001; Adam, 2008a).

### **2.1.3 Poruchy hemostázy (trombocytopenie a koagulopatie)**

Poruchy koagulace nepatří mezi časté projevy nemoci, ale v pokročilých stádiích nemoci jsou častou příčinou úmrtí, největší nebezpečí samozřejmě hrozí pacientům během operace. Hlavní příčinou vzniklých hemokoagulačních poruch u pacientů s MM je interakce monoklonálních imunoglobulinů a jejich lehkých řetězců s trombocyty, což způsobuje trombocytopenii. Také monoklonální imunoglobulin může narušovat sražení krve i tím, že destruktivně zasahuje do koagulačních kaskád. Typickým projevem trombocytopenie je zvýšené krvácení a tvorba modřin na těle. Méně častým projevem působení monoklonálního imunoglobulinu je hyperkoagulace (Adam, 2008a; Multiple Myeloma, 2018).

### **2.1.4 Senzitivní a motorická neuropatie**

Projevy neuropatie se u jednotlivých osob liší, ale mezi popisovanými symptomy jsou bolest, brnění končetin, pálení, necitlivost, snížená citlivost, neschopnost nebo potíže s uchopením malých předmětů, třes, zakopávání při chůzi a také zvýšená citlivost na teplotu. Často nejprve postihuje končetiny, začíná v prstech na nohou nebo rukou a dále pokračuje ke kotníkům nebo zápěstím (Multiple Myeloma).

Neuropatie u MM je způsobena schopností se monoklonálního imunoglobulinu vázat na motorická a senzitivní nervová vlákna lidského těla a tím je poškozovat. Dále se monoklonální lehké řetězce se mohou vázat a infiltrovat nervová vlákna ve formě amyloidu, tento stav popisujeme jako MM se sekundární AL – amyloidózou, je důležité poznamenat, že vzniklý z lehkých řetězců amyloid se může ukládat neboli má depozita, kdekoliv v těle, nejen na nervových vláknech (Adam, 2008a).

## **2.2 Příznaky vyvolané cytokiny myelomových buněk**

### **2.2.1 Bolesti kostí**

Bolest v kostech je nejčastějším příznakem u pacientů s MM. Kolem 85 % lidí s mnohočetným myelomem mají nějaký typ poškození kosti, buď osteolytické léze nebo osteoporóza (Multiple Myeloma).

Bolest je způsobena tím, že myelomové buňky produkují cytokiny, které následně vyvolávají difuzní nebo ložiskovou osteolýzu, což je proces zničení a následného úbytku zdravé kostní tkáně. Nejčastěji si pacienti stěžují na bolesti v bederní páteři, která je nejvíce zatěžována, zde rychle dochází k patologické kompresivní fraktuře, kvůli zmenšení pevnosti obratle v důsledku myelomové osteolýzy. Bolestivá osteolýza se ale může projevovat nejenom v bederní páteři, ale v podstatě kdekoliv v těle, například často si pacienti stěžují na bolest hrudníku. Důležité je také zmínit, že u MM je možná i opačná situace, kdy u pacienta nacházíme ložisko osteosklerózy (POEMS-syndrom, vyjádřený kompletně nebo částečně) (Adam, 2001).

### **2.2.2 Hyperkalcemie**

Zvýšená osteolýza u pacientů s MM způsobuje hyperkalcemii (zvýšené množství vápníku v krvi v důsledku odbourávání kostní hmoty). Hyperkalcemie se vyskytuje až u 30 % pacientů. Příznaky hyperkalcemie mohou být nenápadné. K nim hlavně patří polyurie, zácpa, dehydratace a také neurologické příznaky. Hyperkalcemie dokonce může i zvyšovat nefrotoxicitu lehkých řetězců působením lokalizovaného v tubulech vápníku na tvorbu válců. V pokročilejších stádiích bez správného léčení hyperkalcemie může vést ke kómatu nebo a zástavě srdce (Špička, 2005; Multiple Myeloma).

### **2.2.3 Anemie, trombocytopenie a leukopenie**

Anemie, trombocytopenie a leukopenie jsou častými příznaky MM, a to hlavně z důvodu nahrazování zdravé tkáně v kostech a kostní dřeni myelomovými buňkami (mechanický útlak nádorovou tkání). Anemie je přítomna u zhruba 70 % nemocných, většinou se jedná o normocytární normochromní anemii, hemolytická anemie je vzácná. Typickým

příznakem ukazujícím na přítomnost anemii je únava. Trombocytopenie se vyskytuje u asi 5 % nemocných. Nově diagnostikované nemocní dokonce mohou mít pancytopenii, ale tento stav je už méně častý. Pancytopenie bývá způsobena buď mechanickým útlakem nádorovou tkání, nebo i vlivem cytokinů z myelomových buněk (Gertz, 2014; Adam, 2008a).

#### **2.2.4 Časté a opakované infekce**

Pro MM jsou typické časté bakteriální infekce, hlavně v důsledku poruch B a T – buněčné imunity. V průběhu nemoci myelomové buňky vytlačují normální plazmatické buňky, takže tělo nemůže vytvořit dostatečné množství protilátek pro boj s infekcemi. Protilátka vytvořená myelomovými buňkami nepomáhá v boji proti infekcím, protože myelomové buňky jsou jen mnoha kopiemi stejné plazmatické buňky – všechny vytvářejí kopie stejné monoklonální protilátky (Multiple Myeloma, 2018). Nedostačující tvorba polyklonálních protilátek, následná snížená specifická protilátková odpověď na antigeny, a to všechno spolu se stoupající s rozvojem nemoci koncentrace monoklonálních imunoglobulinů, vede k zvýšené náchylnosti k bakteriálním infekcím. Typickým projevem imunodeficitu u nemocných s MM často bývá pneumokoková pneumonie, projev imunodeficitu se ale může být způsoben i jinými bakteriemi (Špička, 2005).

### **2.3 Příznaky vyvolané kumulací myelomových buněk**

Jedním z indikátorů špatné prognózy s vysokou mortalitou u MM je stav známý jako extramedulární relaps mnohočetného myelomu. Místem zmnožení plazmatických buněk u MM je kostní dřeň, při extramedulárním relapsu dochází k přemístění s následnou kumulací a růstem myelomových buněk z kostní dřene do krevního oběhu a měkkých tkání (Usmani, 2012).

Infiltrace myelomovými buňkami měkkých tkání u MM může mít různý původ: přímý růst z kostních lézí narušením kortikální kosti, hematogenní diseminace nebo spuštěný předchozími chirurgickými postupy. Nejčastěji v důsledku infiltrace jsou postiženy játra, ledviny, kůže a centrální nervová soustava. Mechanismy extramedulárního šíření u MM dodnes nejsou dobře známy (Bladé, 2011).

Patogenetické mechanismy extramedulárního relapsu jsou často spojené s pozorovanou u pacientů vysoce rizikovou cytogenetikou. Právě cytogenetika je příčinou špatné prognózy. Pro lepší pochopení patogenetických mechanismů současně chyby velké randomizované multicentrické studie s dlouhým sledováním (Bansal, 2021).

## **2.4 Méně časté příznaky**

### **2.4.1 Syndrom zvýšené kapilární propustnosti**

Syndrom zvýšené kapilární propustnosti (Systemic Capillary Leak Syndrome) je méně častým příznakem u MM. Je to vzácný stav charakterizovaný epizodickou kapilární hyperpermeabilitou, což má za následek přesun tekutiny a proteinů z intravaskulárního do intersticiálního prostoru a následně vede k hypovolemii. Záchvaty při tomto stavu se mohou lišit závažností, frekvencí a délkou trvání, mohou být dokonce i fatální, i když se často spontánně zmírňují. Patognomickými znaky jsou zvýšené hodnoty hematokritu a snížený sérový albumin (Teelucksingh, 1990). Je zajímavé, že do roku 1995 většina z hlášených případů syndromu zvýšené kapilární propustnosti byly většinou spojeny s monoklonální gamapatií, poprvé typický případ tohoto syndromu u MM byl popsán právě v roce 1995 u 67 - leté ženy s MM (Hiraoka, 1995).

### **2.4.2 Kožní projevy nemoci**

Kožní projevy u MM jsou vzácné a jsou tak netypické pro tuto nemoc, že nelze jen na základě kožních projevů posoudit o přítomnosti MM. Mezi počáteční projevy MM můžeme zařadit takové kožní projevy jako leukocytoklastická vaskulitida, kopřivka, autoimunitní bulózní onemocnění a pyoderma gangrenosum (Harati, 2005). Dobře popsánymi kožními projevy MM jsou například folikulární spikuly a mnohočetné vředy (Obr.3, .4).



*Obrázek 3: Folikulární rohovitě na nosu (Satta, 2003)*



*Obrázek 4: Mnohočetné vředy na trupu (Satta, 2003)*

### **3. DIAGNOSTIKA MNOHOČETNÉHO MYELOMU**

Jak již bylo řečeno, počáteční fáze onemocnění jsou často bezpříznakové nebo se jedná o nespecifické příznaky typu únava, bolesti kloubů, svalů. Na počátečních fázích MM se dá odhalit buď účelně během preventivní prohlídky se základním laboratorním vyšetřením, nebo často i náhodou při provádění vyšetření z jiných důvodů. Je velice přínosné zachytit nemoc již v počáteční fázi a zahájit léčbu včas.

#### **3.1 Diagnostika mnohočetného myelomu**

Diagnostika MM se skládá ze třech kategorií testů, jsou to laboratorní vyšetření, zobrazovací metody a vyšetření kostní dřeně.

Laboratorní vyšetření jsou zaměřená na stanovení přítomnosti a množství monoklonálního imunoglobulinu v moči a krvi. K těmto vyšetřením patří například stanovení monoklonálního imunoglobulinů v moči u pacienta za 24 hodin, krevní obraz a stanovení koncentrace celkové bílkoviny v krvi (Adam, 2008b). Nedílnou součástí je i vyšetření krve pomocí průtokové cytometrie, kde lze vyhodnotit množství myelomových buněk a provést jejich imunofenotypizaci (Jeong, 2012).

Pomocí zobrazovacích metod se pozorují a zjišťují osteologická ložiska MM v těle. Mezi zobrazovací metody se řadí skriningové RTG vyšetření, počítačová tomografie a zobrazovací metody s použitím radionuklidů (Vyšetření prováděná při podezření na mnohočetný myelom, 2008).

Vyšetření kostní dřeně při podezření na MM se provádí buď punkcí kostní dřeně nebo trepanobiopsií (Vyšetření prováděná při podezření na mnohočetný myelom, 2008).

Na základě výsledků těchto vyšetření je možné udělat závěr o přítomnosti či nepřítomnosti MM u pacienta, zmapovat fázi onemocnění a zhodnotit účinek terapie. V klinické praxi pro stanovení diagnózy jsou používána diagnostická kritéria mnohočetného myelomu dle International Myeloma Working Group. Diagnóza mnohočetného myelomu je potvrzená, je-li splněna obě dvě kritéria (Tab.1).



Tabulka 1: Diagnostická kritéria mnohočetného myelomu dle International Myeloma Working Group (Rajkumar, 2014)

<p>1. Počet monoklonálních plazmatických buněk v kostní dřeni je <math>\geq 10</math> % nebo biopsie kostní dřene prokázala kostní nebo extramedulární plazmocytom</p>
<p>2. Alespoň jedna nebo více „myelom-definujících událostí“</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• důkaz poškození orgánů, které je spojeno se základní poruchou proliferace plazmatických buněk:<ul style="list-style-type: none"><li>• hyperkalcemie: Ca v séru <math>&gt;0.25</math> mmol/L (<math>&gt;1</math> mg/dL) vyšší, než je horní limit normálu nebo <math>&gt;2.75</math> mmol/L (<math>&gt;11</math> mg/dL)</li><li>• renální nedostatečnost: clearance kreatininu <math>&lt;40</math> ml/min nebo kreatin v séru <math>&gt;177</math> <math>\mu</math>mol/L (<math>&gt;2</math> mg/dL)</li><li>• anémie: množství hemoglobinu o <math>&gt;20</math> g/l nižší než spodní hranice normálu nebo množství hemoglobinu <math>&lt;100</math> g/l</li><li>• kostní destrukce: jedna nebo více osteolytických lézí na kostním rentgenu, CT nebo pozitronové emisní tomografii</li></ul></li><li>• procento klonálních plazmatických buněk v kostní dřeni <math>\geq 60</math> %</li><li>• poměr volných lehkých řetězců (FLC) v séru <math>\geq 100</math> (hladina FLC musí být <math>\geq 100</math> mg/l)</li><li>• <math>&gt;1</math> fokálních lézí detekovaných pomocí magnetické rezonance (minimálně 5 mm velká)</li></ul>

### 3.1.1 Základní vyšetření

Základní vyšetření se provádí při podezření na MM pro odhalení přítomnosti či nepřítomnosti nemoci u pacienta.

Z laboratorních vyšetření se například v krvi stanovuje koncentrace celkové bílkoviny, což poskytuje informaci o množství monoklonálního imunoglobulinu, a albuminu, jehož snížené množství ukazuje na nemocný stav organismu. Z laboratorních vyšetření se také dělá krevní obraz, pro případné zjištění anemie, trombocytopenie a leukopenie, v obtížnějších případech dokonce i pancytopenie. Sedimentace erytrocytů se také patří k základním vyšetřením, jelikož vysoká sedimentace je typická pro MM (Vyšetření prováděná při podezření na mnohočetný myelom, 2008; Transfuze a hematologie dnes, 2018). Na obrázku 5 můžeme vidět laboratorní výsledky pacienta s nově diagnostikovaným mnohočetným myelomem, kde je vidět že hodnoty celkové bílkoviny jsou zvýšené a hodnoty albuminu jsou blízko dolní hranice normy (Patient Case Studies and Panel Discussion, 2019).

#### Laboratorní výsledky:

- Hemoglobin, 9.5 g/dL
- Kreatinin, 1.2 mg/dL
- Vápník, 10.6 mg/dL
- Celková bílkovina, 11 g/dL
- SPEP ≥ M-protein, 4.2 g/dL
- IFE ≥ IgG kappa
- KLC, 1,200 mg/L
- LLC, 5 mg/L
- k/l poměr:240
- Beta-2 mikroglobulin, 3.8 mg/L
- LDH, 250 IU/L (199 ULN)
- Albumin, 3.7 g/dL

Obrázek 5: Laboratorní výsledky pacienta s nově diagnostikovaným mnohočetným myelomem (Patient Case Studies and Panel Discussion, 2019)

V rámci zobrazovacích metod se třeba provádí skriningové RTG vyšetření pro případné zjištění osteolytických ložisek. Při této zobrazovací metodě se snímkuje krční, hrudní a bederní páteř, také se provádí snímkování oblasti hlavy, žeber, pánve, stehenních a pažních kostí. Nevýhodou této metody ale je skutečnost, že na rentgenových snímcích je vidět jen odvápnění vyššího stupně, takže na počátečních stádiích zachytit ložiska již způsobujících bolest je problematické, proto při počátečních bolestech se volí jiné metody, jako je například počítačová tomografie (Vyšetření prováděná při podezření na mnohočetný myelom, 2008; Transfuze a hematologie dnes, 2018; Hillengass, 2017). Na obrázku 6 můžeme vidět příklad RTG snímku kompresivních fraktur v oblasti hrudní páteře u nemocného s MM (Szeligová, 2017).



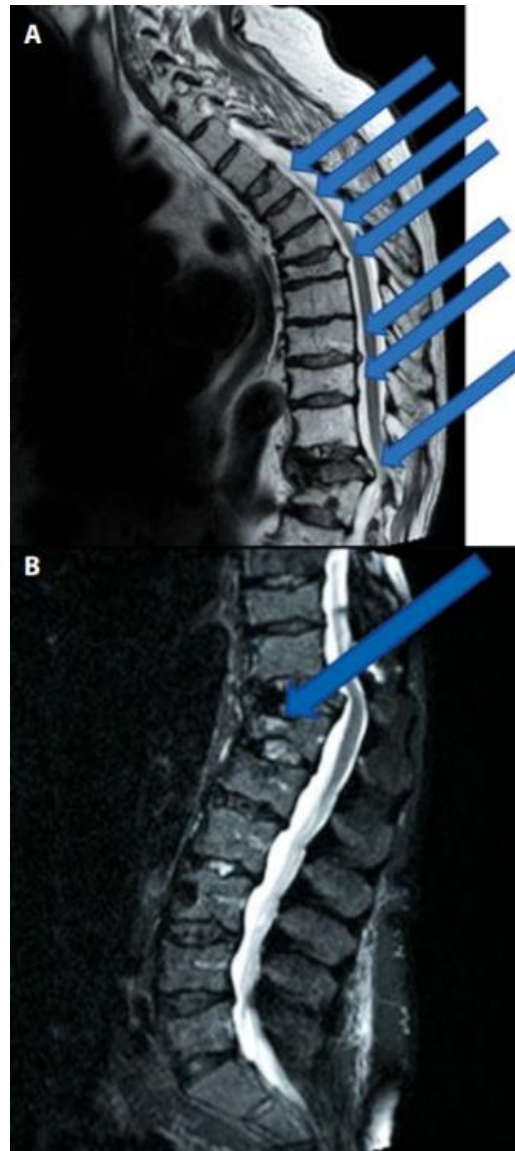
Obrázek 6: RTG snímek kompresivních fraktur v oblasti hrudní páteře u nemocného s MM (Szeligová, 2017)

Další používanou zobrazovací metodou je počítačová tomografie (CT). Ve srovnání s rentgenovými snímky CT je mnohem přesnější, ale umožňuje zobrazení menší části skeletu, proto se používá jen jako doplněk RTG vyšetření (Vyšetření prováděná při podezření na mnohočetný myelom, 2008). Dneska se doporučuje provádění celotělové nízkodávkové CT (low-dose CT), je citlivější a provádí se při vstupním vyšetření pro detekci lytických lézí (Terpos, 2015). Na obrázku 7 jsou vidět mnohočetná osteolytická ložiska ve skeletu při provádění CT vyšetření lumbosakrální páteře u pacienty s později potvrzeným MM (Majerníková, 2016).



Obrázek 7: Difuzní osteolytický proces páteře (Majerníková, 2016)

Magnetická rezonance je další aktivně používanou zobrazovací metodou v diagnostice MM. Má několik značných výhod, jako je zobrazení ložisek mnohočetného myelomu nejen v kosti, ale i mimo kost, nebo možnost zobrazení časných změn v kostech. Mezi nevýhody této metody lze zařadit nemožnost provedení u pacientů, v jejichž těle je přítomen magnetický kov, například u pacientů s umělými klouby nebo kardiostimulátory (Myslivoček, 2006; Vyšetření prováděná při podezření na mnohočetný myelom, 2008).



Obrázek 8:MR vyšetření páteře u nemocného s MM s patologickými frakturami (Szeligová, 2017)

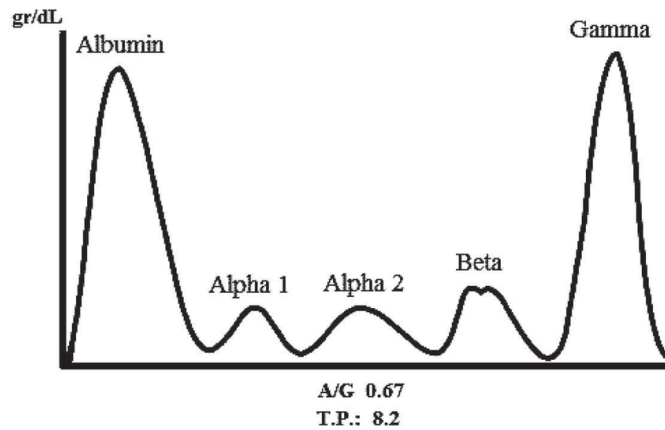
### 3.1.2 Speciální vyšetření

Speciální vyšetření představují širší skupinu testů, které se provádí s cílem potvrdit či vyloučit MM, zmapovat fázi onemocnění a zjistit prognózu.

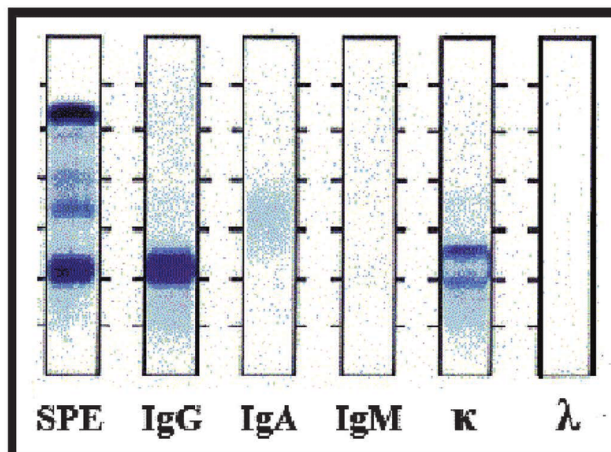
Pro potvrzení MM se mohou provádět vyšetření kostní dřeně, takové jako punkce nebo trepanobiopsie. V případě punkce se odebírá vzorek kostní dřeně z lopaty kostí kyčelní nebo z kosti prsní, poté následuje cytologické vyšetření. Výhodou trepanobiopsií je možnost odběru dostatečného množství vzorku, hlavně díky tomu, že tato metoda umožňuje odběr tenkého válečku kostní dřeně. Vzorek válečku kostní dřeně poskytuje mnohem přesnější informace o počtu plazmocytů. Navíc trepanobiopsie umožňuje diagnostikovat MM již v počáteční fázi onemocnění (Vyšetření prováděná při podezření na mnohočetný myelom, 2008).

Pro zmapování fázi onemocnění a určení stupně poškození jednotlivých orgánů se používají laboratorní vyšetření, jako například sběr moči za 24 hodin pro stanovení množství monoklonálního imunoglobulinu a kreatininu v moči. Přítomnost monoklonálního imunoglobulinu je důležitým ukazatelem, jelikož běžně v moči jsou přítomny jen Bence-Jonesovy bílkoviny, ale ve stavu, kdy už jsou poškozené ledviny, objevují se celé IgG. Po provedení sběru v moči se stanovuje monoklonální imunoglobulin, pro hodnocení monoklonálního imunoglobulinu výsledek se pak uvádí v gramech za 24 hodin. Kreatinin v moči se stanovuje pro následující výpočet clearance kreatininu, jelikož u pacientů s MM jedním z typických projevů nemoci je myelomová nefropatie, proto se funkce ledvin musí pravidelně kontrolovat. V moči se také kvantitativně stanovují lehké řetězce. Dále se provádí stanovení některých iontů (Na, K, Cl, Ca, Mg), z nich se hlavně sledují vápenaté ionty, jelikož hyperkalcemie je jedním z typických příznaků MM a měla by být včas zachycena řetězců (Vyšetření prováděná při podezření na mnohočetný myelom, 2008; Transfúze a hematologie dnes, 2018).

Důležitou metodou je také elektroforéza séra a zahuštěné moči pro následující imunofixaci pro určování typu paraproteinu a potvrzení výsledků elektroforézy. Pomocí této metody se provádí imunotypizace paraproteinu a stanovuje se antigenní typ lehkých řetězců  $\kappa$  a  $\lambda$ . Provádí se to tak, že zaprvé se vzorek séra elektroforeticky dělí na agarozovém gelu a poté se každá dělicí linie převrství jedním z antisér proti IgA, IgG, IgM a lehkým řetězcům  $\kappa$  a  $\lambda$  (Obr. 9). Pomocí imunofixace se stanovuje v séru koncentrace paraproteinu kolem 0,2 g/l a v moči kolem 0,04 g/l. V séru se také stanovují volné lehké řetězce a poměr  $\kappa/\lambda$  řetězců (Tichý, 2006; Transfúze a hematologie dnes, 2018).



Fractions	%	Ref.%	gr/dL	Ref. gr/dL
Albumin	36.4	52.9 - 66.9	3.1 L	3.7 - 4.9
Alpha 1	4.4	3.0 - 5.8	0.3	0.2 - 0.4
Alpha 2	11.4	7.5 - 13.4	0.9	0.5 - 0.9
Beta	7.5	8.5 - 13.7	0.5	0.6 - 1.0
Gamma	40.2	8.8 - 19.2	3.6 H	0.6 - 1.4



Obrázek 9: Elektroforéza sérových proteinů a imunofixační elektroforéza, které prokázaly monoklonální gamapatii imunoglobulinu G kappa (IgG  $\kappa$ ) (Bashardoust, 2017)

Pro prognózu mají velký význam cytogenetická vyšetření, jelikož skoro všichni pacienti s MM mají chromozomální abnormality. Na základě hodnot věku, albuminu,  $\beta$ -2 mikroglobulinu a výsledku cytogenetického hodnocení lze předem odhadnout, jestli má daný pacient málo agresivní onemocnění s šancí na delší přežití, nebo naopak kdy lze předpokládat, že ani autologní transplantace nebude úspěšná (Kuglík, 2006).

Významnou cytogenetickou metodou pro vyhledávání chromozomových abnormalit u pacientů s MM je fluorescenční hybridizace in situ (FISH). Metoda FISH k detekci chromozomálních abnormalit používá DNA sondy značené fluorescenčním barvivem. Podstatou této metody je schopnost vazby jednořetězcové DNA s komplementárními úseky fixované na mikroskopickém preparátu cílové DNA. Pak pomocí fluorescenčního mikroskopu preparáty s navázanou sondou je možné pozorovat a na základě počtu a polohy jednotlivých fluorescenčních signálů odhalit početní i strukturní změny chromozomů. Nejčastěji pozorovanými změnami v počtu chromozomů jsou například hypodiploidie, tedy přítomnost v buňkách maligních klonů méně než 46 chromozomů, nebo hyperdiploidie, což je klonální zmnožení jednoho nebo více chromozomů. Mezi časté strukturní přestavby u MM patří jsou chromozomové translokace zahrnující lokus pro těžký řetězec imunoglobulinu (IgH) na 14 chromozomu v oblasti 14q32 (Kuglík, 2006; Fonseca, 2003).

### **3.2 Metody sledování minimální reziduální choroby**

Sledování minimální reziduální choroby u MM je nedílnou a důležitou součástí hodnocení léčebné odpovědi při dosažení pacientem kompletní remise. Během tohoto sledování pomocí různých metod v těle pacienta v remisi se stanovuje přítomnost maligních buněk MM. Hlavní kritérium pro metody sledování minimální reziduální choroby je schopnost zachytit i to minimální množství maligních buněk v těle, pokud jsou vůbec přítomné.

Po provedení aspirace kostní dřeně se vzorek následně testuje, a k tomu se nejčastěji využívají několik metod. Například metoda multiparametrické průtokové cytometrie (MFC), která detekuje myelomové plazmatické buňky na základě typických povrchových znaků, tzv. imunofenotypizace. Nejčastěji pro rozlišení normálních a mnohočetných myelomových plazmatických buněk se používají takové povrchové znaky jako CD138, CD38, CD45, CD56, CD19 a také cytoplazmatické  $\kappa$  a  $\lambda$  imunoglobulinové lehké řetězce (Kumar, 2016).

Další metodou je alelově specifická polymerázová řetězová reakce (ASO-qPCR). Podstatou této metody je detekce specifických pro MM genových přeskupení na klonálních imunoglobulinových těžkých řetězcích myelomových plazmatických buněk. ASO-qPCR je velmi citlivý a přesný způsob detekce minimální reziduální choroby, ale vzhledem k časové náročnosti této metody ve srovnání s MFC, ASO-qPCR se používá zřídka (Kumar, 2016).



### 3.3 Metody monitorující průběh onemocnění

U léčených pacientů musí se v průběhu léčby i v období remise provádět pravidelnou kontrolu jejich stavu. Během léčby se to dělá hlavně pro posouzení o účinnosti zvolené terapie. Po léčbě se sleduje, jestli se pacient stále nachází v remisi, průběžný monitoring tak umožňuje včas zachytit případný relaps onemocnění.

Mezi metody monitorující průběh onemocnění patří například již dříve zmíněné ASO-PCR metoda, průtoková cytometrie, stanovení monoklonálního imunoglobulinu v moči za 24 hodin a elektroforéza séra a zahuštěné moči s následující imunofixací.

Imunohistochemické metody se také používají pro monitorování průběhu onemocnění. Podstatou těchto metod je vazba značené buď enzymem, fluoresceinem nebo kovem protilátky na antigenní determinantu klonu plazmatických buněk ve vzorku příslušné tkáně.

Metody radionuklidové, které lze zařadit mezi zobrazovací metody, je možné využít při sledování stavu nemoci, jelikož umožňují detailně prozkoumat aktivitu nádoru v těle. Příkladem radionuklidových metod je vyšetření pomocí technecia sestamibi (Celotělová  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigrafie).  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigrafie je užitečná v detekci kostních a mimokostních osteolytických ložisek. Po aplikaci do těla,  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI se zvýšeně akumuluje v mitochondriích plazmatických buněk infiltrujících kostní a měkké tkáně, dále pomocí scintilační kamery lze stanovit lokalizaci a rozsah patologické akumulace  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI. Pro interpretaci výsledků platí, že stupeň kumulace  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI přímo souvisí s rozsahem nádoru, stupněm jeho aktivity v těle a klinickým stadiem MM. Nevýhodou  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI scintigrafie je její rozlišovací schopnost, která je omezená, tak ložiskové léze menší než 10 mm prostě uniknou scintigrafické detekci (Myslivoček, 2006).

### 3.4 Interpretace výsledků diagnostických testů

Podle výsledků diagnostických testů se monitoruje průběh MM, jejich interpretaci se určuje míra léčebné odpovědi na zvolenou léčebnou strategii. K tomu jsou používána kritéria (Tab. 2) vypracovaná Mezinárodní myelomovou pracovní skupinou (IMWG).

Tabulka 2: Kritéria pro hodnocení léčebné odpovědi u mnohočetného myelomu (Durie, 2006; Rajkumar, 2011)

Molekulární kompletní remise (mCR)	CR + negativní výsledek ASO-PCR (senzitivita $10^{-5}$ )
Kompletní remise potvrzená průtokovou cytometrií (iCR)	sCR + absence klonu plazmatických buněk v kostní dřeni při vyšetření minimálně 1 milionu buněk kostní dřeni při použití > 4-barevné průtokové cytometrie
Přísná kompletní remise (sCR)	CR + normální poměr FLC (volné lehké řetězce) a absence klonu plazmatických buněk v kostní dřeni podle imunohistochemie a 2- až 4-barevnou průtokovou cytometrií
Kompletní remise (CR)	Negativní výsledek imunofixace séra a moči, zmizení všech plazmatických buněk z měkkých tkání, < 5 % plazmatických buněk v kostní dřeni
Velmi dobrá parciální remise (VGPR)	Složka M-Ig je detekovatelná v séru a moči, ale elektroforéza už je negativní nebo $\geq 90$ % pokles původní koncentrace M-Ig v séru a M-Ig v moči < 100 mg/24 hodin
Parciální remise (PR)	$\geq 50$ % snížení sérového M-Ig a snížení M-Ig v moči / 24 hodin o $\geq 90$ % nebo na < 200 mg / 24 hodin, pokud M-Ig v séru a moči není měřitelný, je namísto M-Ig vyžadováno $\geq 50$ % snížení plazmatických buněk kostní dřene, za předpokladu, že základní procento bylo $\geq 30$ %. Kromě výše uvedených kritérií je také zapotřebí $\geq 50$ % snížení velikosti plazmacytomů měkkých tkání
Minimální remise (MR)	Snížení sérového M-Ig o 25 – 49 % a pokles M-Ig v moči / 24 hodin o 50 – 89 %, , je také zapotřebí 25 -

	49 % zmenšení velikosti plazmacytomů měkkých tkání
Stabilní nemoc (SD)	Nesplňuje kritéria pro CR, VGPR, PR nebo PD
Progresivní nemoc (PD)	Zvýšení o 25 % sérového M-Ig (absolutní zvýšení musí být $\geq 0,5$ g / dl) a / nebo M-Ig v moči (absolutní zvýšení musí být $\geq 200$ mg / 24 hodin), u pacientů, u nichž nelze změřit hladiny M-Ig v séru a moči, měří se rozdíl postižených a nepostižených FLC. Dále se mohou vyskytovat klasické klinické příznaky MM již popsané dříve, například vznik nových ložisek v kosech, hyperkalcemie a tak dále

Mimo zmíněných v Tab. 2 kritérií nedílnou součástí hodnocení léčebné odpovědi u MM při dosažení kompletní remise je od roku 2016 již výše zmíněná minimální reziduální choroba (Kumar, 2016).

## 4. TERAPIE MNOHOČETNÉHO MYELOMU

### 4.1 Léčba bioaktivními látkami

Biologická neboli cílená léčba je relativně nový druh léčby v onkologii a podstatou této léčby je cílené působení na nádorové buňky a podpora imunitního systému s cílem rozvinout protinádorovou imunitu.

Látky používané v biologické léčbě nádorů a jejich mechanismy zásahu do procesu vzniku a vývoje nádoru jsou velice různorodé, ale jejich společným rysem je vždy selektivní působení na nádorové buňky. Biologická léčba díky schopnosti k selektivitě dovoluje ničit nádorové buňky přímo, bez poškození okolních zdravých buněk, a navíc nezávisí na generačním cyklu buňky a toto je velkou výhodou před používanými v léčbě zářením nebo chemoterapií (Kralíčková, 2011). Dále budou popsány příklady látek, aktivně používaných v biologické léčbě MM.

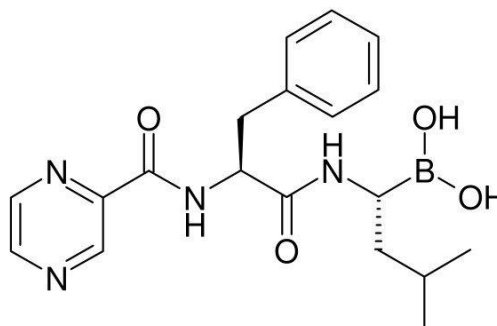
#### 4.1.1 Látky působící přímo na nádorové buňky

Mezi látky působící přímo na nádorové buňky řadíme látky s efektem inhibice proteasomu. Podstatou protinádorového účinků takových látek je jejich schopnost k inhibici proteasomu uvnitř buněk a tím zásah do proteinového metabolismu buňky a podílení na řadě procesů, jako je řízení buněčného cyklu a apoptózy, mezibuněčných komunikací a reparaci DNA. Díky tomu z buněk jsou odstraněny chybně sestavené proteiny s následnou inhibicí transkripčního nukleárního faktoru kappa B (NF-kappa B), který má za úkol chránit nádorové buňky před apoptotickým mechanismem a zvyšovat dobu jejich přežití (Mitsiades, 2006).

##### 4.1.1.1 Bortezomib

Bortezomib je modifikovaný analog kyseliny dipeptidylboronové s molekulárním vzorcem  $C_{19}H_{25}BN_4O_4$ , který se selektivně a reverzibilně může vázat na proteazom 26S. Inhibice bortezomibem proteasomu 26S brání degradaci klíčových proteinů a ovlivňuje mnohočetné signální kaskády v buňce, což má za následek buněčnou smrt. Bortezomib je také aktivní v mikroprostředí kostní dřeně tím, že inhibuje vazby myelomových buněk na stromální

buňky kostní dřeně. Dalším efektem bortezomibu je anaboličké působení na kosti, čímž inhibuje aktivitu osteoklastů a naopak stimuluje funkci osteoblastů, což brzdí proces zvyšující se křehkosti kostí. Nakonec bortezomib je cytotoxický pro řadu nádorových buněk in vitro a zpomaluje růst nádoru mimo jiné i u MM (Curran, 2009).



Obrázek 10: Strukturální vzorec bortezomibu (Steverding, 2009)

Bortezomib je první inhibitor proteasomu používaný v léčbě MM. Od roku 2005 v České republice se používá u vybraných nemocných s relabujícím MM. Od roku 2006 je registrován v České republice pro léčbu relapsu onemocnění a od roku 2009 pro primoléčbu. V současné době je plně hrazen u pacientů s relabujícím MM a u pacientů nevhodných k transplantaci po domluvě s pojišťovnou je možné bortezomib použít i v primoléčbě (CMG, 2020).

V léčbě s použitím bortezomibu se volí kombinované režimy. V současné době probíhají zkoušení různých režimů, velice dobré výsledky ukazuje například režim bortezomib-lenalidomid-dexametazon (VRD neboli Len/Dex s bortezomibem). Klinické studie s 64 pacienty s relabujícím nebo s relabujícím a refrakterním myelomem potvrzují vysokou účinnost kombinace Len/Dex s bortezomibem, PR byla 64 % nebo lepší, PFS 9,5 měsíce a OS 30 měsíců. Mezi nežádoucí účinky spojené s léčbou patřily neuropatie, únava, lymfopenie, trombocytopenie a neutropenie (Richardson, 2014).

Velice účinnou kombinací podle výsledku studií je trojkombinace bortezomib-lenalidomid-dexametazon (VRD). V studii fáze III bylo provedeno randomizované srovnání režimů VRD a RD (lenalidomid-dexametazon). Míra celkové léčebné odezvy byla 82 % ve skupině VRD oproti 72 % ve skupině RD, PFS 43 měsíců vs. 30 měsíců, OS 75 měsíců vs. 64 měsíců (Durie, 2017).

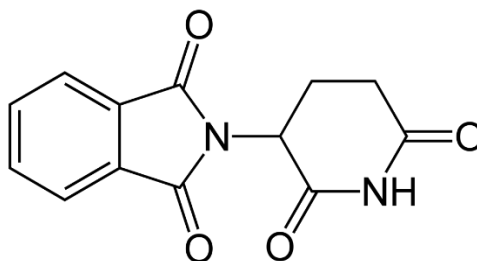
Mezi nežádoucí účinky bortezomibu se obvykle řadí nepatrnou hematologickou toxicitu, poměrně častou je periferní neuropatie (zhruba v 60 % případů). Únava, průjem a kožní alergie se vyskytují, ale jsou dobře zvládaný. Třeba kožní alergie při použití glukokortikoidů, například prednisonu, skoro se nevyskytují (CMG, 2020).

#### 4.1.2 Látky působící na imunitní systém

Mezi imunomodulační látky se řadí thalidomid a jeho funkční a strukturální analoga, jako je například lenalidomid. Imunomodulační látky mají komplexní protinádorový účinek, mají kostimulační a proliferační účinek na T-lymfocyty, zvyšují expresi CD80, CD86 a CD40 na nádorových buňkách a tím zlepšují prezentaci nádorových antigenů a vznik a efektivitu imunologických synapsí, což je místo neboli oblast interakce antigen-prezentující buňky s lymfocytem. Také imunomodulační látky přímo podporují aktivaci NK-buněk, což má za efekt eliminaci nádoru imunitními mechanismy. Dále také inhibují podpůrný vliv buněk nádorového mikroprostředí tím, že potlačují aberantní expresi cytokinů (TNF, IL 1, IL 6, IL 12, GM-CSF) buňkami nádorového mikroprostředí (Imunoterapie, 2013).

##### 4.1.2.1 Thalidomid

Thalidomid je racemický derivát kyseliny glutamové s molekulárním vzorcem  $C_{13}H_{10}N_2O_4$ . Představuje sebou racemickou směs L- a D-enantiomerních forem syntetického derivátu kyseliny glutamové, která obsahuje ftalimidový kruh a glutarimidový kruh (Teo, 2004; Jacobson, 2005).



Obrázek 11: Strukturální vzorec thalidomidu (Strukturální vzorec Thalidomidu, 2001)

Thalidomid patří do skupiny imunomodulačních léků a používá se v léčbě MM. Thalidomid jako látka pro léčbu nevolnosti těhotných žen byl znám již od 50. let minulého století, jenže pak jeho použití bylo zakázáno z důvodu objevené teratogenicity. Po objevení u thalidomidu jeho protimyelomových účinků, od konce 90. let minulého století se používá v primoléčbě nebo léčbě relabovaného myelomu (CMG, 2020).

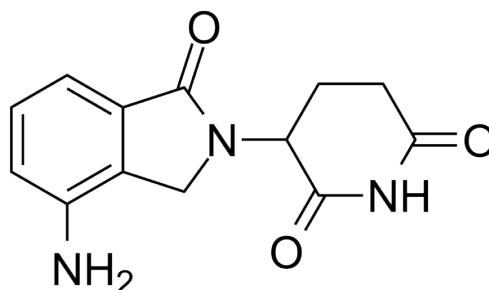
Mechanismus účinku dodneška není dokonce vysvětlen, ale je jasné, že na celkovém efektu od léčby thalidomidem se podílí několik různých zásahů na buněčném úrovni nádoru a jeho okolí. Tak, thalidomid přímo snižuje růst a dobu přežití nádorových myelomových buněk, mění klíčové molekuly na jejich povrchu i uvnitř umožňující jejich růst navzájem, a zvláště v mikroprostředí kostní dřeně. Dále thalidomid ovlivňuje produkci různých chemokinů a cytokinů, které působící jako růstové faktory, a snižuje růst a novotvorbu cév (antiangiogenní účinek). Také thalidomid má výrazný imunomodulační efekt, stimuluje buňky imunitního systému, jako například T lymfocyty a NK buňky (Hájek, 2005; Dredge, 2002).

Dneska se thalidomid používá především v kombinovaných režimech, jelikož jsou účinnější než monoterapie. Potvrzují to studie, tak například při použití thalidomidu léčebné odpovědi bylo dosaženo u 36 % pacientů, v případě použití kombinace thalidomidu s dexametazolem procento léčebných odpovědi bylo už 72 %, přičemž u 16 % z nich byla dosažena kompletní remise (Weber, 2003). Kombinované režimy s thalidomidem v současné době patří mezi standardní léčebné postupy, známé jsou například již výše zmíněná kombinace s dexametazonem, režim VTD (bortezomib, thalidomid, dexametazon), dobrou kombinací je kombinace thalidomidu s alkylačními látkami, například s melfalanem nebo s cyklofosfamidem, a glukokortikoidů. (CMG, 2020; Transfuze a hematologie dnes, 2018).

Nevýhodou použití thalidomidu je řada nežádoucích účinků, doprovázejících terapii. Nejzásadnějším nežádoucím účinkem thalidomidu je senzomotorická polyneuropatie, která se vyskytuje až u 30 % léčených thalidomidem pacientů. Mezi dalšími nežádoucími účinky thalidomidu patří kožní změny, otoky, obstipace, slabost, únavnost, spavost, možné změny stavu vědomí charakteru somnolence. Častá je také leukopenie. Všechno to musí být bráno v úvahu při plánování léčby a značně omezuje použití thalidomidu u řady pacientů (Hájek, 2005).

#### 4.1.2.2 Lenalidomid

Lenalidomid je analogem thalidomidu s molekulárním vzorcem  $C_{13}H_{13}N_3O_3$ . Také patří do skupiny imunomodulačních léků, ale ve srovnání s thalidomidem má řadu značných výhod. Je méně toxický než thalidomid a vykazuje vyšší imunomodulační a protinádorový efekt (Teo, 2005). Původně byl objeven díky své schopnosti účinně inhibovat produkci tumor nekrotizujícího faktoru (TNF)- $\alpha$ . Nyní je známo, že terapeutická aktivita lenalidomidu je pravděpodobně způsobena více mechanismy: protizánětlivými, imunomodulačními, antiproliferativními a antiangiogenními (Armoiry, 2008).



Obrázek 12: Strukturní vzorec lenalidomidu (Strukturní vzorec lenalidomidu)

V České republice lenalidomid byl registrován v roce 2008 pro léčbu relapsu onemocnění a již od roku 2009 je plně hrazen v léčbě relabujícího MM (CMG, 2020).

Co se týká mechanismu účinku, stejně jako u thalidomidu, mechanismus se skládá s různých částí. Lenalidomid má výrazný imunomodulační efekt, aktivuje T lymfocyty a NK buňky (Chanan-Khan, 2008; Davies, 2010). Má také prokázaný přímý protimyelomový efekt (K. Gandhi, 2010) a snižuje osteoklastogenezi (Breitkreutz, 2008). Protinádorový efekt lenalidomidu je také v neposlední řadě spojen s jeho antiangiogenním účinkem (Dredge, 2005).

Lenalidomid vykazuje dobré výsledky jak v monoterapii, tak v kombinovaných režimech. Upřednostňovány ale jsou kombinované režimy, jelikož podle výsledků studií mají



vyšší účinnost. Jednou z dobré účinných kombinací je režim Len/Dex s bortezomibem již popsany v kapitole 4.1.1.1.

I když lenalidomid je mnohem méně toxický než thalidomid a většinou je označován jako lék dobře tolerovaný, přesto má řadu nežádoucích účinků do jisté míry limitujících jeho použití. Nejčastějšími nežádoucími účinky jsou neutropenie a trombocytopenie, ale jsou dobře zvládnutelné pomocí kombinací podávání růstového faktoru pro granulocyty (G-CSF), transfuzemi destiček, modifikací dávek lenalidomidu či přerušením léčby. Dále se uvádí teratogenní účinek, stejně jako u thalidomidu. Jednou z hlavních výhod lenalidomidu je na rozdíl od thalidomidu to, že nezpůsobuje polyneuropatii. Nevyvolává také řadu poměrně nepříjemných pro pacienty vedlejších účinků, jako je slabost, únavnost nebo spavost (CMG, 2020; Transfuze a hematologie dnes, 2018; Chanan-Khan, 2008).

## **4.2 Transplantace kostní dřeně jako součást léčby**

Transplantace krvetvorné tkáně (kostní dřeně) s vysokodávkovanou chemoterapií je metoda, určená spíše pro relativně mladé pacienty. Oproti konvenční chemoterapii transplantace má své výhody a lepší výsledky a provádí se ve dvou formách, buď k transplantaci je využita vlastní kostní dřeň (autologní transplantace), nebo je použita kostní dřeň od dárce (alogenní transplantace).

### **4.2.1 Vysokodávkovaná chemoterapie s autologní transplantací**

Vysokodávkovaná chemoterapie s autologní transplantací se ve světě rozšířila od 90. let minulého století a i v dnešní době je stále používaná a velice účinná metoda v léčbě MM. Autologní transplantace je vhodná pro pacienty do 65–70 let podle pracovišť a s ohledem na celkový zdravotní stav pacienta.

Před sběrem kmenových buněk kostní dřeně se provádí indukční léčba, jejíž úlohou je snížit zátěž nádoru a obvykle taková léčba obsahuje 3 až 5 cyklů. Pro indukční léčbu nejčastěji se používá buď chemoterapie VAD (vincristin, adriamycin a dexametazon), nebo kombinace thalidomidu (neboli bortezomibu) a dexametazonu. Podle provedených studií byla prokázána převaha indukčních režimů obsahujících thalidomid nebo bortezomib oproti režimu VAD, neboli indukční režimy obsahující thalidomid nebo bortezomib ukazují větší kompletní odpověď u nemocných (Al Hamed, 2019). Po 3 až 5 cyklech indukční léčby se provádí sběr

kmenových buněk. Dále následuje vysokodávkovaná chemoterapie, obvykle v roli chemoterapeutika je používán melfalan, v dávce 200 mg/m<sup>2</sup> (režim MEL200). Pro starší pacienty nebo pro pacienty s orgánovým poškozením také existují režimy se sníženou dávkou melfalanu, jelikož pro takové pacienty dávka 200 mg/m<sup>2</sup> je hůře snesitelná. Tak podle studií z roku 2001 u pacientů nad 70 let při použití standardního režimu MEL200 TRM byla až 16 %, což je například ve srovnání s 2 % TRM při dávce 140 mg/m<sup>2</sup> obrovský rozdíl (Badros, 2001). Nejvíce prozkoumanou sníženou dávkou je 100 mg/m<sup>2</sup>, neboli režim MEL100. Režim MEL100 je dobrou alternativou pro pacienty, pro něž režim MEL200 je až moc toxický, a to potvrzují i studia. Tak například randomizovaná studie, ve které se zúčastnilo celkem 194 pacienty nad 65 let, ukazuje, že při porovnání dvou možných režimů, a to jsou 2 cykly MEL100 a 6 cyklů perorálního melfalanu a prednisonu (MP), režim MEL100 poskytuje lepší výsledky: téměř úplná remise (nCR) byla 6 % po MP a 25% po MEL100, po 3 letech se zvýšilo přežití bez události (EFS) s 16 % (MP) na 37 % (MEL100) a celkové přežití (OS) ze 62 % (MP) na 77 % (MEL100) (Palumbo, 2004).

Vysokodávkovaná chemoterapie s autologní transplantací (anglická zkratka HDT) je dodnes považovaná za optimální léčbu pro pacienty s MM mladší 65 let, nebo i pro pacienty starší 65 let v relativně dobrém zdravotním stavu. O tom, že je lepší ve srovnání s konvenční léčbou svědčí výsledky randomizovaných klinických studií, tak pacienty léčené vysokodávkovanou chemoterapií s autologní transplantací mají delší medián celkového přežití, studie také potvrzují přínos vysokodávkované chemoterapie používané při relapsu nemoci (Adam, 2008a). Pokud se podíváme na čísla v randomizované studii se 190 pacienty, tak vidíme zřejmou výhodu autologní transplantace oproti konvenční chemoterapii: EFS bylo 25 měsíců po HDT a 19 měsíců po CCT (vincristin, melfalan, cyclofosfamid, a prednison), OS bylo 47,8 měsíců v HDT skupině a 47,6 měsíců ve skupině CCT, období bez příznaků, léčby a léčebné toxicity (TwISTT) bylo významně delší u pacientů s HDT než u pacientů s CCT (P = 0,03) (Ferland, 2005).

V randomizované studii z roku 2017 pacienty s MM byli rozděleny do dvou skupin. Pacienty v obou skupinách podstoupili indukční terapii se třemi cykly RVD (lenalidomid, bortezomib, dexamethason) a poté konsolidační terapii buď pro první skupinu (350 pacientů) pěti dalšími cykly RVD nebo pro druhou skupinu (dalších 350 pacientů) vysokou dávkou melfalanu s transplantací kmenových buněk a následujícími po ní dvěma dalšími cykly RVD. Medián přežití bez progresu byl významně delší ve skupině, která podstoupila transplantaci, než ve skupině, která dostávala samotnou RVD (50 měsíců vs. 36 měsíců). Procento pacientů

s kompletní odpovědí bylo vyšší ve skupině po transplantaci než ve skupině se samotnou RVD (59 % vs. 48 %,  $P=0,03$ ), stejně jako procento pacientů, u kterých nebyla detekována minimální reziduální nemoc (79 % vs. 65 %,  $P<0,001$ ). Celkové přežití po 4 letech se významně nelišilo mezi skupinou po transplantaci a skupinou se samotnou RVD (81 %, resp. 82 %). V závěru studie se uvádí, že terapie RVD plus transplantace spojena s významně delším přežitím bez progresu než samotná terapie RVD, ale celkové přežití se mezi těmito dvěma přístupy významně nelišilo (Attal, 2017).

#### 4.2.2 Alogenní transplantace

Užitečnost alogenní transplantace jako metody v léčbě MM je více diskutabilní ve srovnání s vysokodávkovanou chemoterapií s autologní transplantací, hlavně kvůli velkému riziku neshody, jelikož se při alogenní transplantaci jedná o nevlastní neboli cizí tělu materiál. Buď to je HLA identický sourozenec nebo vhodný nepříbuzný dárce, v obou případech zůstává určité riziko. Ale i přes to je aktivně zkoumanou, a i v některých případech používanou metodou.

Mezi výhody alogenní transplantace můžeme zařadit tzv. GvT (reakce štěpu proti nádoru), přesněji GvM (reakce štěpu proti myelomu). Funguje ta reakce tak, že po provedení alogenní transplantace, dárcovské T buňky ze štěpu, značně se podílí na zničení nádoru. Nevýhodou ale je, že tento účinek může zasáhnout nejenom nádor, ale i zdravou hostitelskou tkáň, v tomto případě se už jedná o GvHD (reakce štěpu proti hostiteli), právě tato reakce je příčinou tak vysoké mortality pacientů. Pokud se v budoucnosti da vynechat GvHD při zachování efektu od GvM, alogenní transplantace bude mít mnohem lepší výsledky (Rezvani, 2008). Také mezi značné nevýhody této metody řadí relativně mladý věk pacientů, u nichž můžeme alogenní transplantaci provádět, nejlépe do 55 let, podle pracovišť a s ohledem na celkový stav pacientu, a malé procento případů, kdy ten pacient bude mít HLA identického sourozence.

Jednou z možností, jak vyřešit problém vysoké toxicity při alogenní transplantaci, bylo zavedení režimů s redukovanou intenzitou (RIC – reduced-intensity conditioning), ve kterých myeloablativní předtransplantační režimy byly zaměněny na nemyeloablativní přípravné režimy. Při použití těchto režimů, efekt od intenzivních přípravných režimů je nahrazen potransplantačními imunologickými mechanizmy, přesněji je nahrazen reakcí štěpu proti

nádoru. Pomocí RIC režimu se podařilo výrazně snížit mortalitu spojenou s transplantací, ale počet relapsů zůstává stále vysoký a je jasné, že efekt od GvM není dostačující. Ve studii z roku 2007 porovnávají výsledky, které byly dosaženy pacienty, po alogenních myeloablativních transplantacích (MAC) s výsledky alogenních transplantací po RIC režimech. Celkem ve studii byly porovnány výsledky 516 pacientů, z nichž 320 po RIC režimech a 196 po MAC režimech: non-relapse mortalita (NRM) u RIC a MAC režimů po 2 letech byla 24 % a 37 %, OS 38,1 % a 50,8 %, a přežití bez progresu (PFS) 18,9 % a 34,5 %. Pokud se podíváme na remise, tak kompletní remise (CR) byla značně vyšší u pacientů po MAC 53,4 %, než u pacientů po RIC 33,6 % (Crawley, 2006).

Podle výsledků studií z roku 2010, neexistuje jasný důkaz, že alogenní transplantace s redukovanou intenzitou má lepší výsledky ve srovnání s autologní transplantací. Je potřeba dále hledat nové strategie a postupy, abychom mohli alogenní transplantaci udělat bezpečnější a efektivnější (Lokhorst, 2010).

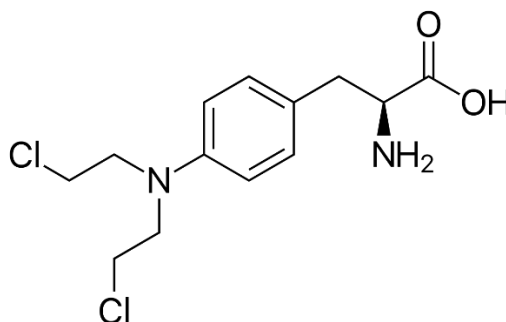
### 4.3 Cytostatika

Cytostatika jsou skupina léků, majících protinádorový účinek, neboli inhibují růst buněk s vysokou proliferační aktivitou. Poškozují procesy růstu, vývoje a dělení buněk, tím vyvolávají programovanou buněčnou smrt – apoptózu. Nevýhodou používání cytostatik je to, že cytostatika necílí jen na nádorové buňky, ale mohou poškozovat i rychle se dělící buňky zdravé. Tím vzniká řada nežádoucích následků, jako například poškození buněk sliznic, konkrétně trpí sliznice trávicího traktu, v důsledku poškození buněk kůže vypadávají vlasy. Citlivé na cytostatika jsou například buňky kostní dřeně, takže jedním s nežádoucích účinku je úbytek kostní tkáně.

#### 4.3.1 Melfalan

Chemický melfalan je fenylalaninovým derivátem dusíkatého yperitu. Jeho molekulárním vzorcem je  $C_{13}H_{18}N_2O_2$  (Melphalan, 2012). Melfalan patří do skupiny alkylačních cytostatik. Z názvu skupiny z části vyplývá i mechanismus působení melfalanu, působí tak, že alkyluje báze DNA, čímž zastavuje proliferaci buněk. Melfalan se zapojil do léčby MM již v roce 1958, kdy poprvé byl objeven jeho přínos v léčbě a po dlouhou dobu se

hojně používal v terapii MM. Známé jsou kombinace melfalanu s prednisonem (MP) nebo kombinace známa jako „M-2 protocol“ (Kyle, 2008).



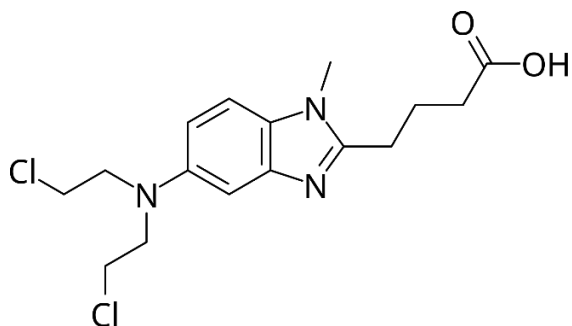
Obrázek 13: Strukturní vzorec melfalanu (Strukturní vzorec melfalanu, 2001)

Dneska klasická kombinace MP již není optimální volbou v primoléčbě, jelikož dneska existují mnohem účinnější kombinace. Zajímavá je například kombinace melfalanu a prednisonu s bortezumibem. V randomizované studii, ve které se zúčastnilo 682 pacientů s MM, pacienti byli rozděleni do dvou skupin, jedná z nich dostávala kombinaci MP + bortezumib, když ta druhá (kontrolní) skupina dostávala klasickou kombinaci MP. Po devíti 6. týdenních cyklech v první skupině s bortezumibem doba do progresu nemoci byla 24 měsíců, když ve druhé skupině s MP kombinací tato hodnota byla 16 měsíců. Poměr pacientů s částečnou odpovědí nebo lepší byl 71 % ve skupině s bortezumibem a 35 % v kontrolní skupině s MP. Kompletní odpovědi ve skupině s bortezumibem dosáhli 30 %, ve skupině s MP CR byla jen u 4 % (San Miguel, 2008).

#### 4.3.2 Bendamustin

Bendamustin je derivátem mechlorethaminu s molekulárním vzorcem  $C_{16}H_{21}Cl_2N_3O_2$ . Bendamustin je alkylační cytostatikum, který stejně jako jiná alkylační činidla způsobuje zesíťování mezi bázemi DNA, což vede k jejímu poškození a zastavení proliferace buněk, navíc má antimetabolické účinky díky purinovému kruhu obsaženému v molekule bendamustinu (Leoni, 2008). Poprvé byl syntetizován v roce 1963 v Německé demokratické republice v Institutu Mikrobiologie a Experimentální léčby v Jeně. Od roku 2011 bendamustin byl registrován v České republice v primoléčbě MM u pacientů nevhodných k autologní transplantaci kmenových buněk a kteří navíc trpí neuropatií, což vylučuje použití thalidomidu

nebo bortezomibu. Od roku 2017 ale toto bylo zrušeno a nyní se používá v primoléčbě a relapsu jen na vyžádání pojišťovnou (Transfuze a hematologie dnes, 2018).



Obrázek 14: Strukturální vzorec bendamustinu (Strukturální vzorec bendamustinu, 2001)

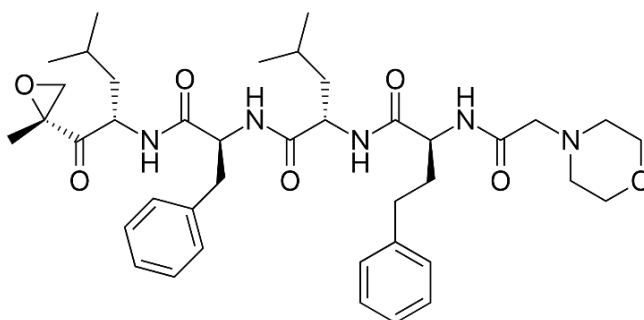
Monoterapie v případě bendamustinu nemá v praxi využití, dokonce nejsou k dispozici klinické studie prokazující efekt od monoterapie bendamustinem. V praxi nacházejí uplatnění spíše kombinované režimy. Při kombinacích musí se brát v úvahu významná hematologická toxicita bendamustinu. Dobrou a využívanou kombinací je kombinace s bortezomibem a prednisonem, též známá jako BPV kombinace. Volba bortezomibu je právě daná tím, že on nemá hematotoxické účinky. Účinnost této kombinace byla testována v studii, kde 25 pacientů s nově diagnostikovaným MM dostali bendamustin  $60 \text{ mg/m}^2$  ve dnech 1 a 2, bortezomib  $1,3 \text{ mg/m}^2$  ve dnech 1, 4, 8 a 11 a prednisonem  $100 \text{ mg}$  v dnech 1, 2, 4, 8 a 11, a tak každých 21 dnů. Při středním počtu cyklů BPV 2 (1 až 5 cyklů), 96 % (24 z 25 pacientů) odpovědělo na léčbu, a to tak, že 4 pacienty s sCR, 6 pacientů s nCR, 5 pacientů s VGPR a 9 pacientů s PR. Na základě výsledků v této studii byl udělán závěr, že BPV je účinná a dobře tolerovaná kombinace u pacientů s nově diagnostikovaným nebo neléčeným MM (Tessenow, 2017).

## 5. NOVINKY V TERAPII MM

Od začátku 21. století prognóza pro lidi s diagnostikovaným MM se výrazně zlepšuje, hlavně za poslední desetiletí po zavedení různých bioaktivních látek do rutinní terapie, např. thalidomid, botezomib a lenalidomid. Ale i přesto léčba MM v dnešní době se stále rozvíjí, zkoušejí se různé nové kombinace a probíhají studie nových látek. V této kapitole budou popsány některé z nich.

### 5.1 Carfilzomib

Carfilzomib je inhibitor proteosomu druhé generace s molekulárním vzorcem  $C_{40}H_{57}N_5O_7$ . Z chemického hlediska je to tetrapeptidový epoxyketon. Jeho protinádorový mechanismus účinku zajišťuje selektivní a ireverzibilní inhibice proteosomu v myelomových buňkách. Blokádou tohoto buněčného komplexu je narušena homeostáza buněčných proteinů, což vede k apoptotické buněčné smrti. Nyní carfilzomib je schválen pro léčbu relabovaného/refrakterního MM. U carfilzomibu je popsán rychlý nástup účinku a velkou výhodou je možnost bezpečného podání pacientům s poruchou funkce ledvin, což je častá situace u pacientů s MM (Muchtar, 2016).



Obrázek 15: Strukturální vzorec carfilzomibu (Strukturální vzorec carfilzomibu, 2001)

Studie fáze III ENDEAVOR randomizovala 929 pacientů s relabujícím nebo refrakterním MM, kde 464 pacientů bylo zařazeno do skupiny carfilzomib-dexamethason a 465 do skupiny bortezomib-dexamethason. Podle výsledku studie, počet dosažených léčebných odpovědí byl vyšší u pacientů léčených carfilzomibem (77 % vs. 63 %), medián přežití bez progresu byl 18,7 měsíců ve skupině s carfilzomibem oproti 9,4 měsíců ve skupině

bortezomibu. K úmrtí ve studii v důsledku nežádoucích účinků došlo u 4 % ve skupině s carfilzomibem a u 3 % ve skupině s bortezomibem. Závažné nežádoucí účinky byly hlášeny u 48 % ve skupině s carfilzomibem a u 36 % ve skupině s bortezomibem. Nejčastějšími nežádoucími účinky byly anémie (14 % ve skupině s carfilzomibem oproti 10 % ve skupině s bortezomibem), hypertenze (9 % vs. 3 %), trombocytopenie (8 % vs. 9 %) a pneumonie (7 % vs. 8 %). V závěru této studie se uvádí, že u pacientů s relabujícím nebo refrakterním MM by mohlo použití carfilzomibu s dexamethasonem být zvaženo v případech, kdy potenciální léčbou by mohl být bortezomib s dexamethasonem (Dimopoulos, 2016).

## 5.2 Daratumumab

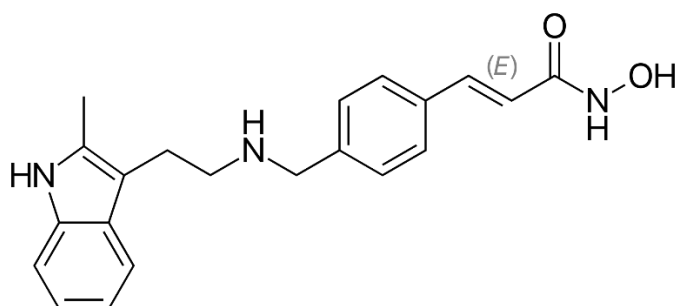
Daratumumab je antiCD38 monoklonální protilátka s molekulárním vzorcem C<sub>6466</sub>H<sub>9996</sub>N<sub>1724</sub>O<sub>2010</sub>S<sub>42</sub>. Protinádorový efekt daratumumabu spočívá v specifickém navázání na CD38 glykoprotein na povrchu myelomových buněk. Dále po navázání protilátka využívá různé mechanismy účinku, včetně cytotoxicity závislé na komplementu, buněčné cytotoxicity závislé na protilátce, buněčné fagocytózy závislé na protilátkách, programované buněčné smrti, modulace enzymatické aktivity a imunomodulační aktivity. V každém případě ty mechanismy následně vedou k lýze nebo apoptóze myelomových buněk. Díky omezenému toxickému profilu, daratumumab se dá dobře používat v kombinované terapii (Van de Donk, 2016).

V případě daratumumabu kombinovaná léčba vykazuje vyšší účinnost než monoterapie. Dobře prozkoumanou kombinací je třeba kombinace daratumumabu s lenalidomidem a dexamethasonem. Ve studii POLLUX, porovnávací kombinaci daratumumabu s lenalidomidem/dexamethasonem a lenalidomid/dexamethason samotný, došlo k závěru, že daratumumab plus lenalidomid/dexamethason významně snížil riziko progresse/smrti ve srovnání se samotným lenalidomidem/dexamethasonem u relabujícího/refrakterního MM. Při použití kombinace daratumumabu s lenalidomidem/dexamethasonem celková míra odezvy byla 92,9 % oproti 76,4 % u lenalidomidu/dexamethasonu samotného, 51,2 % proti 21,0 % dosáhlo úplné odpovědi. Mezi nejčastější nežádoucí účinky spojené s daratumumabem patřily neutropenie, anémie, trombocytopenie, průjem, únava, infekce horních cest dýchacích, kašel, zácpa, svalové křeče, nasofaryngitida a nauzea. Z dat získaných v této studii je jasně vidět přínosy použití daratumumabu v kombinované terapii (Dimopoulos, 2018; Štork, 2017).



### 5.3 Panobinostat

Panobinostat je skořicová hydroxamová kyselina, s molekulárním vzorcem  $C_{21}H_{23}N_3O_2$ . Panobinostat patří do skupiny inhibitoru histondeacetyláz (Ellis, 2008). Histondeacetylázy jsou multifunkční enzymy štěpící acetylovou skupinu od histonových i nehistonových proteinů, které zodpovídají za epigenetické změny DNA, to znamená změny v genové expresi, které nejsou spojené se změnou nukleotidové sekvence DNA, a tím ovlivňují klíčové děje v buňce. Inhibitory deacetyláz způsobují zástavu buněčného cyklu v G1/S fázi, diferenciaci a smrt buňky, snižují angiogenezi a modulují imunitní odpověď (Štork, 2017; Transfúze a hematologie dnes, 2018).



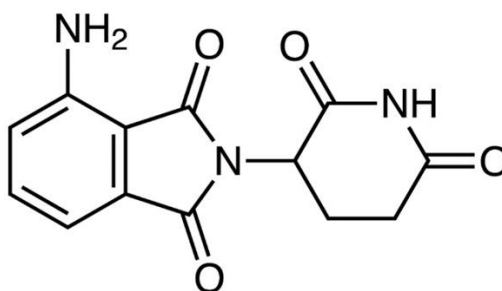
Obrázek 16: Strukturální vzorec panobinostatu (Strukturální vzorec panobinostatu, 2001)

Klinická, randomizovaná a placebem kontrolovaná studie fáze III PANORAMA1 porovnávala kombinaci panobinostatu s bortezumibem/dexamethasonem a bortezumib/dexamethason samotný u 768 pacientů s relabovaným či refrakterním myelomem, přičemž 387 z nich dostávali panobinostat s bortezumibem a dexamethasonem a 381 jen bortezumib a dexamethason. Medián přežití bez progresu byl delší ve skupině s panobinostatem než ve skupině s samotným bortezumibem/dexamethasonem (11,99 měsíců vs. 8,08 měsíců). Celková odpověď mezi skupinami se moc nelišila (60,7 % ve skupině s panobinostatem vs. 54,6 % ve skupině bez panobinostatu). Podíl pacientů s úplnou nebo téměř úplnou odpovědí byl však významně vyšší ve skupině s panobinostatem než ve skupině bez něho (27,6 % vs. 15,7 %). Závažné nežádoucí účinky byly hlášeny u 60 % pacientů ve skupině s panobinostatem 42 % pacientů ve skupině s samotným bortezumibem/dexamethasonem. Mezi závažné nežádoucí účinky patřila trombocytopenie (67 % ve skupině s panobinostatem vs. 31 % ve skupině s bortezumibem/dexamethasonem), lymfopenie (53 % vs. 40 %), průjem (26 % vs. 8 %), astenie nebo únava (24 % vs. 12 %) a periferní neuropatie (18 % vs. 15 %). Na konci této studie se

uvádí, že výsledky naznačují, že panobinostat by mohl být užitečným doplňkem v léčbě pro pacienty s relabovaným či refrakterním myelomem, ale je nutné delší sledování (San-Miguel, 2014).

## 5.4 Pomalidomid

Pomalidomid je derivátem thalidomidu. Chemický představuje aromatický amin s molekulárním vzorcem  $C_{13}H_{11}N_3O_4$ . Pomalidomid patří do skupiny imunomodulačních léků. Vykazuje přímý protinádorový a imunomodulační účinek, také snižuje růst nádorových buněk MM tím, že inhibuje podporu stromálních buněk. Mechanismus protinádorového účinku spočívá ve zvýšení exprese tumor-supresorového proteinu p21WAF1 a současné snížení exprese onkogenního proteinu, interferonového regulačního faktoru 4. Pomalidomid také indukuje apoptózu buněk MM aktivací kaspázy 8 (Mark, 2014).



Obrázek 17: Strukturální vzorec pomalidomidu (Pomalidomide)

Zatím u pomalidomidu není až tolik studií fáze III. V randomizované studii fáze III (MM-003) již předléčené pacienti s relabujícím/refrakterním myelomem byli rozděleni do dvou skupin. První skupina, kde bylo 302 pacientů, dostávala pomalidomid s nízkou dávkou dexamethasonu, když v té druhé skupině 153 pacientů dostávali vysoké dávky dexamethasonu samotného. Medián PFS ve skupině s pomalidomidem a nízkou dávkou dexamethasonu byl 4 měsíců oproti 1,9 měsíců ve skupině s vysokými dávkami dexamethasonu. Nejčastější hematologické nežádoucí účinky ve skupině s pomalidomidem s nízkými dávkami dexamethasonu a ve skupině s vysokými dávkami dexamethasonu byly neutropenie (48 % oproti 16 %), anémie (33 % vs. 37 %, respektive trombocytopenie (22 % vs. 26 %)). Mezi

nehematologické nežádoucí účinky patřily pneumonie (13 % vs. 8 %), bolest kostí (7 % vs. 5 %) a únava (5 % vs. 6 %). V závěru této studie docházejí k závěru, že pomalidomid s nízkou dávkou dexamethasonu lze považovat za novou možnost léčby (Miguel, 2013).

## 6. ZÁVĚR

Mnohočetný myelom je závažné maligní onemocnění, které v průběhu svého růstu postupně potlačuje a narušuje fyziologické procesy v těle, což v případě neléčeného MM samozřejmě vede k smrti. Tak v 19. století člověk s MM skoro neměl šanci na přežití. V dnešní době u pacientů s diagnostikovaným MM se výrazně prodlužuje doba přežití a prognóza pro pacienty s diagnostikovaným MM se od objevení této nemoci výrazně zlepšila. Díky novým látkám a pomocí moderních postupů účinnost léčby se zlepšila, to lze pozorovat podle takových ukazatelů jako například celkové přežití pacientů po léčbě a doba přežití bez progresu, které dneska mohou u některých léčebných režimů dosahovat několika desítek měsíců. Tak například při použití režimu VRD celkové přežití pacientů podle studií dosahuje 75 měsíců a doba přežití bez progresu 43 měsíců (Durie, 2017).

Velký pokrok v léčbě byl dosažen při kombinaci látek ve snaze zmenšit toxicitu a využít různé mechanismy protinádorového působení u jednotlivých látek. V současné době jsou aktivně zkoumány a používány kombinace jako například VRD (bortezomib, lenalidomid, dexametazon) (Durie, 2017), režim VTD (bortezomib, thalidomid, dexametazon) (Garderet, 2012) nebo BPV (bortezomib, prednison, bendamustin) (Tessenow, 2017).

Pro relativně mladé pacienty do 65–70 let je dobrou volbou chemoterapie v kombinaci s autologní transplantací kostní dřeně. Randomizované studie jasně ukazují, že ve srovnání s pacienty dostávajícími jenom konvenční chemoterapii, pacienty po režimu s autologní transplantací ve výsledku mají delší dobu přežití bez příchody (19 měsíců vs. 25 měsíců) (Ferland, 2005) a dobu přežití bez progresu (36 měsíců vs. 50 měsíců) (Attal, 2017). Ale co se týká celkového přežití, tak tam už ten rozdíl je nepatrný (47,6 měsíců vs. 47,8 měsíců) (Ferland, 2005) nebo po 4 letech (82 % vs. 81 %) (Attal, 2017).

Stále jsou hledány nové postupy léčby, zkoušejí se nové kombinace již známých léků a postupně se do léčby zapojují nové léky, takové jako carfilzomib, daratumumab, panobinostat, pomalidomid a řada dalších léků. Některé z nich mají zcela nové mechanismy účinku a ve studiích ukazují slibné výsledky. Dokonce v určité části studií se vyskytuje názor, že právě tyto nové léky, mohou být cestou k vyléčení MM.

## Bibliografie

ADAM, Zdeněk, Marta KREJČÍ a Jiří VORLÍČEK, 2008a. *Mnohočetný myelom. Hematologie: přehled maligních hematologických nemocí*. 2., dopl. a zcela přeprac. vyd. Praha: Grada, s. 209-239. ISBN 978-80-247-2502-4.

ADAM, Zdeněk a Vladimír MAISNAR, 2008b. *Mnohočetný myelom: jak včas rozpoznat tuto nemoc a jak s ní žít : informace pro nemocné a jejich blízké*. 3., přeprac. a dopl. vyd. Brno: Masarykova univerzita pro Českou myelomovou skupinu. ISBN 978-80-210-4680-1.

ADAM, Zdeněk a Jiří VORLÍČEK, 2001. *Hematologie II: Přehled maligních hematologických nemocí*. 1. vyd. Praha: Grada, s. 461-502. ISBN 80-247-0116-2.

AL HAMED, Rama, Abdul BAZARBACHI, Florent MALARD, Jean-Luc HAROUSSEAU a Mohamad MOHTY, 2019. Current status of autologous stem cell transplantation for multiple myeloma. *Blood Cancer Journal* [online]. **9**(4) [cit. 2020-04-19]. ISSN 2044-5385. Dostupné z: doi:10.1038/s41408-019-0205-9

ALEXANIAN, Raymond, Arthur HAUT, Asad KHAN, Montague LANE, Eugene MCKELVEY, Philip MIGLIORE, W. STUCKEY JR. a Henry WILSON, 1969. Treatment for Multiple Myeloma: combination chemotherapy with different melphalan dose regimens. *JAMA* [online]. **208**(9), 1680-1685 [cit. 2020-05-02]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.1969.03160090040009

ALWALL, N, 1947. URETHANE AND STILBAMIDINE IN MULTIPLE MYELOMA \*1REPORT ON TWO CASES. *The Lancet* [online]. **250**(6472), 388-389 [cit. 2020-04-29]. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(47)90375-9

ARMOIRY, X., G. AULAGNER a T. FACON, 2008. Lenalidomide in the treatment of multiple myeloma: a review. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics* [online]. **33**(3), 219-226 [cit. 2022-04-21]. ISSN 0269-4727. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2710.2008.00920.x

ATTAL, Michel, Valerie LAUWERS-CANCES, Cyrille HULIN et al., 2017. Lenalidomide, Bortezomib, and Dexamethasone with Transplantation for Myeloma. *New England Journal of Medicine* [online]. **376**(14), 1311-1320 [cit. 2022-04-23]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa1611750

BADROS, Ashraf, Bart BARLOGIE, Eric SIEGEL et al., 2001. Autologous stem cell transplantation in elderly multiple myeloma patients over the age of 70 years. *British Journal of Haematology* [online]. **114**(3), 600-607 [cit. 2020-04-20]. ISSN 0007-1048. Dostupné z: doi:10.1046/j.1365-2141.2001.02976.x

BANSAL, Radhika, Sagar RAKSHIT a Shaji KUMAR, 2021. Extramedullary disease in multiple myeloma. *Blood Cancer Journal* [online]. **11**(9) [cit. 2022-06-17]. ISSN 2044-5385. Dostupné z: doi:10.1038/s41408-021-00527-y

BASHARDOUST, Bahman a Nasrollah MALEKI, 2017. Multiple Myeloma in a Patient With Familial Mediterranean Fever. *Iran J Kidney Dis.* [online]. **11**(5), 388-391 [cit. 2022-04-18]. Dostupné z: file:///C:/Users/romac/Downloads/3182-15636-1-PB.pdf

BLADÉ, Joan, Carlos FERNÁNDEZ DE LARREA, Laura ROSIñOL, María Teresa CIBEIRA, Raquel JIMÉNEZ a Ray POWLES, 2011. Soft-Tissue Plasmacytomas in Multiple Myeloma: Incidence, Mechanisms of Extramedullary Spread, and Treatment Approach. *Journal of Clinical Oncology* [online]. **29**(28), 3805-3812 [cit. 2022-06-17]. ISSN 0732-183X. Dostupné z: doi:10.1200/JCO.2011.34.9290

BREITKREUTZ, I, M RAAB, S VALLET et al., 2008. Lenalidomide inhibits osteoclastogenesis, survival factors and bone-remodeling markers in multiple myeloma. *Leukemia* [online]. **22**(10), 1925-1932 [cit. 2022-04-21]. ISSN 0887-6924. Dostupné z: doi:10.1038/leu.2008.174

CASE, Delvyn, Burton LEE a Bayard CLARKSON, 1977. Improved survival times in multiple myeloma treated with melphalan, prednisone, cyclophosphamide, vincristine and BCNU: M-2 protocol. *The American Journal of Medicine* [online]. **63**(6), 897-903 [cit. 2020-05-02]. ISSN 00029343. Dostupné z: doi:10.1016/0002-9343(77)90543-5

CHANAN-KHAN, Asher a Bruce CHESON, 2008. Lenalidomide for the Treatment of B-Cell Malignancies. *Journal of Clinical Oncology* [online]. **26**(9), 1544-1552 [cit. 2022-04-21]. ISSN 0732-183X. Dostupné z: doi:10.1200/JCO.2007.14.5367

CMG: Česká myelomová skupina [online], 2020. [cit. 2020-04-20]. Dostupné z: <https://www.myeloma.cz/index.php>

CRAWLEY, Charles, Simona IACOBELLI, Bo BJÖRKSTRAND, Jane APPERLEY, Dietger NIEDERWIESER a Gösta GAHRTON, 2006. Reduced-intensity conditioning for myeloma: lower nonrelapse mortality but higher relapse rates compared with myeloablative conditioning. *Blood* [online]. **109**(8), 3588-3594 [cit. 2020-04-28]. ISSN 0006-4971. Dostupné z: doi:10.1182/blood-2006-07-036848

CURRAN, Monique a Kate MCKEAGE, 2009. Bortezomib. *Drugs* [online]. **69**(7), 859-888 [cit. 2022-04-20]. ISSN 0012-6667. Dostupné z: doi:10.2165/00003495-200969070-00006

DAVIES, Faith a Rachid BAZ, 2010. Lenalidomide mode of action: linking bench and clinical findings. *Blood Reviews* [online]. **24**, 13-19 [cit. 2022-04-21]. ISSN 0268960X. Dostupné z: doi:10.1016/S0268-960X(10)70004-7

DELMAN, G. a J. GALLY, 1962. THE NATURE OF BENCE-JONES PROTEINS. *The Journal of Experimental Medicine* [online]. **116**(2), 207-227 [cit. 2020-05-02]. ISSN 1540-9538. Dostupné z: doi:10.1084/jem.116.2.207

DIMOPOULOS, Meletios, Jesus SAN-MIGUEL, Andrew BELCH et al., 2018. Daratumumab plus lenalidomide and dexamethasone versus lenalidomide and dexamethasone in relapsed or refractory multiple myeloma: updated analysis of POLLUX. *Haematologica* [online]. **103**(12), 2088-2096 [cit. 2020-08-25]. ISSN 0390-6078. Dostupné z: doi:10.3324/haematol.2018.194282

DIMOPOULOS, Meletios, Philippe MOREAU, Antonio PALUMBO et al., 2016. Carfilzomib and dexamethasone versus bortezomib and dexamethasone for patients with relapsed or refractory multiple myeloma (ENDEAVOR): a randomised, phase 3, open-label, multicentre study. *The Lancet Oncology* [online]. **17**(1), 27-38 [cit. 2020-08-25]. ISSN 14702045. Dostupné z: doi:10.1016/S1470-2045(15)00464-7

- DREDGE, Keith, Rebecca HORSFALL, Simon ROBINSON et al., 2005. Orally administered lenalidomide (CC-5013) is anti-angiogenic in vivo and inhibits endothelial cell migration and Akt phosphorylation in vitro. *Microvascular Research* [online]. **69**(1-2), 56-63 [cit. 2022-04-21]. ISSN 00262862. Dostupné z: doi:10.1016/j.mvr.2005.01.002
- DREDGE, K, J MARRIOTT, C MACDONALD, H-W MAN, R CHEN, G MULLER, D STIRLING a A DALGLEISH, 2002. Novel thalidomide analogues display anti-angiogenic activity independently of immunomodulatory effects. *British Journal of Cancer* [online]. **87**(10), 1166-1172 [cit. 2022-04-21]. ISSN 0007-0920. Dostupné z: doi:10.1038/sj.bjc.6600607
- DURIE, B, J-L HAROUSSEAU, J MIGUEL et al., 2006. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia* [online]. **20**(9), 1467-1473 [cit. 2020-07-12]. ISSN 0887-6924. Dostupné z: doi:10.1038/sj.leu.2404284
- DURIE, Brian, Antje HOERING, Muneer ABIDI et al., 2017. Bortezomib with lenalidomide and dexamethasone versus lenalidomide and dexamethasone alone in patients with newly diagnosed myeloma without intent for immediate autologous stem-cell transplant (SWOG S0777): a randomised, open-label, phase 3 trial. *The Lancet* [online]. **389**(10068), 519-527 [cit. 2020-08-28]. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(16)31594-X
- ELLIS, Leigh, Yan PAN, Gordon K. SMYTH et al., 2008. Histone Deacetylase Inhibitor Panobinostat Induces Clinical Responses with Associated Alterations in Gene Expression Profiles in Cutaneous T-Cell Lymphoma. *Clinical Cancer Research* [online]. **14**(14), 4500-4510 [cit. 2022-04-22]. ISSN 1078-0432. Dostupné z: doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-4262
- FERMAND, Jean-Paul, Sandrine KATSAHIAN, Marine DIVINE et al., 2005. High-Dose Therapy and Autologous Blood Stem-Cell Transplantation Compared With Conventional Treatment in Myeloma Patients Aged 55 to 65 Years: Long-Term Results of a Randomized Control Trial From the Group Myelome-Autogreffe. *Journal of Clinical Oncology* [online]. **23**(36), 9227-9233 [cit. 2020-04-22]. ISSN 0732-183X. Dostupné z: doi:10.1200/JCO.2005.03.0551
- FONSECA, Rafael, Carina DEBES-MARUN, Elisa PICKEN et al., 2003. The recurrent IgH translocations are highly associated with nonhyperdiploid variant multiple myeloma. *Blood* [online]. **102**(7), 2562-2567 [cit. 2020-08-24]. ISSN 0006-4971. Dostupné z: doi:10.1182/blood-2003-02-0493
- GARDERET, Laurent, Simona IACOBELLI, Philippe MOREAU et al., 2012. Superiority of the Triple Combination of Bortezomib-Thalidomide-Dexamethasone Over the Dual Combination of Thalidomide-Dexamethasone in Patients With Multiple Myeloma Progressing or Relapsing After Autologous Transplantation: The MMVAR/IFM 2005-04 Randomized Phase III Trial From the Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Journal of Clinical Oncology* [online]. **30**(20), 2475-2482 [cit. 2022-04-23]. ISSN 0732-183X. Dostupné z: doi:10.1200/JCO.2011.37.4918
- GERTZ, Morie a S. RAJKUMAR, ed., 2014. *Multiple myeloma: diagnosis and treatment*. New York: Springer. ISBN 978-1-4614-8519-3.
- HÁJEK, Roman, Vladimír MAISNAR a Marta KREJČÍ, 2005. Thalidomid. *Klinická farmakologie a farmacie* [online]. **19**(1), 43-46 [cit. 2020-07-15].

- HARATI, A., N. BROCKMEYER, P. ALTMAYER a A. KREUTER, 2005. Skin disorders in association with monoclonal gammopathies. *Eur J Med Res.* **10**(3), 93-104.
- HILLEGASS, J, L MOULOPOULOS, S DELORME et al., 2017. Whole-body computed tomography versus conventional skeletal survey in patients with multiple myeloma: a study of the International Myeloma Working Group. *Blood Cancer Journal* [online]. **7**(8), 599-599 [cit. 2022-04-19]. ISSN 2044-5385. Dostupné z: doi:10.1038/bcj.2017.78
- HIRAOKA, Eiji, Yumi MATSUSHIMA, Yoko INOMOTO-NARIBAYASHI et al., 1995. Systemic Capillary Leak Syndrome Associated with Multiple Myeloma of IgG .KAPPA. Type. *Internal Medicine* [online]. **34**(12), 1220-1224 [cit. 2020-05-29]. ISSN 0918-2918. Dostupné z: doi:10.2169/internalmedicine.34.1220
- HOLLAND, JAMES, HENRY HOSLEY, CAROL SCHARLAU et al., 1966. A Controlled Trial of Urethane Treatment in Multiple Myeloma. *Blood* [online]. **27**(3), 328-342 [cit. 2020-04-29]. ISSN 0006-4971. Dostupné z: doi:10.1182/blood.V27.3.328.328
- Imunoterapie, 2013. KLENER JR., Pavel a Pavel KLENER. *Principy systémové protinádorové léčby*. 1. vyd. Praha: Grada, s. 97-111. ISBN 978-802-4741-710.
- JACOBSON, Jeffrey M, 2005. Thalidomide: a remarkable comeback. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* [online]. **1**(4), 849-863 [cit. 2022-04-20]. ISSN 1465-6566. Dostupné z: doi:10.1517/14656566.1.4.849
- JEONG, Tae-Dong, Chan-Jeoung PARK, Hyeon SHIM et al., 2012. Simplified flow cytometric immunophenotyping panel for multiple myeloma, CD56/CD19/CD138(CD38)/CD45, to differentiate neoplastic myeloma cells from reactive plasma cells. *The Korean Journal of Hematology* [online]. **47**(4) [cit. 2022-03-25]. ISSN 1738-7949. Dostupné z: doi:10.5045/kjh.2012.47.4.260
- K. GANDHI, A., J. KANG, L. CAPONE et al., 2010. Dexamethasone Synergizes with Lenalidomide to Inhibit Multiple Myeloma Tumor Growth, But Reduces Lenalidomide-Induced Immunomodulation of T and NK Cell Function. *Current Cancer Drug Targets* [online]. **10**(2), 155-167 [cit. 2022-04-21]. ISSN 15680096. Dostupné z: doi:10.2174/156800910791054239
- KORNGOLD, Leonhard a Rose LIPARI, 1956. Multiple-myeloma proteins. III. The antigenic relationship of Bence Jones proteins to normal gamma-globulin and multiple-myeloma serum proteins. *Cancer* [online]. **9**(2), 262-272 [cit. 2022-04-22]. Dostupné z: doi:10.1002/1097-0142(195603/04)9:2<262::AID-CNCR2820090210>3.0.CO;2-B
- KRÁLÍČKOVÁ, P., J. KREJSEK a I. KRČMOVÁ, 2011. Biologická léčba v onkologii (I). *Praktický Lékař* [online]. **91**(4), 189-192 [cit. 2020-07-21]. ISSN 00326739.
- KUGLÍK, Petr, H. FILKOVÁ, A. OLTOVÁ a R. HÁJEK, 2006. Význam a současné možnosti diagnostiky cytogenetických změn u mnohočetného myelomu. *Vnitřní lékařství: Jak neprošvihnout mnohočetný myelom* [online]. **52**(2), 76-78 [cit. 2020-08-24]. ISSN 0042-773X.
- KUMAR, Shaji, Bruno PAIVA, Kenneth ANDERSON et al., 2016. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *The Lancet Oncology* [online]. **17**(8), 328-346 [cit. 2020-07-04]. ISSN 14702045. Dostupné z: doi:10.1016/S1470-2045(16)30206-6



- KYLE, Robert a S. RAJKUMAR, 2008. Multiple myeloma. *Blood* [online]. **111**(6), 2962-2972 [cit. 2020-04-29]. ISSN 0006-4971. Dostupné z: doi:10.1182/blood-2007-10-078022
- LEONI, L., B. BAILEY, J. REIFERT, H. BENDALL, R. ZELLER, J. CORBEIL, G. ELLIOTT a C. NIEMEYER, 2008. Bendamustine (Treanda) Displays a Distinct Pattern of Cytotoxicity and Unique Mechanistic Features Compared with Other Alkylating Agents. *Clinical Cancer Research* [online]. **14**(1), 309-317 [cit. 2022-04-22]. ISSN 1078-0432. Dostupné z: doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-1061
- LOKHORST, Henk, Hermann EINSELE, David VESOLE et al., 2010. International Myeloma Working Group Consensus Statement Regarding the Current Status of Allogeneic Stem-Cell Transplantation for Multiple Myeloma. *Journal of Clinical Oncology* [online]. **28**(29), 4521-4530 [cit. 2020-04-24]. ISSN 0732-183X. Dostupné z: doi:10.1200/JCO.2010.29.7929
- MAJERNÍKOVÁ, Mária, Jan SEDLÁČEK a Zdeněk MONHART, 2016. Patient with metastatic process in the skeleton of unknown etiology. *Interní medicína pro praxi* [online]. **18**(3), 150-154 [cit. 2022-04-08]. ISSN 12127299. Dostupné z: doi:10.36290/int.2016.035
- MARK, Tomer, Morton COLEMAN a Ruben NIESVIZKY, 2014. Preclinical and clinical results with pomalidomide in the treatment of relapsed/refractory multiple myeloma. *Leukemia Research* [online]. **38**(5), 517-524 [cit. 2020-08-26]. ISSN 01452126. Dostupné z: doi:10.1016/j.leukres.2014.02.008
- Melphalan, 2012. *LiverTox: Clinical and Research Information on DrugInduced Liver Injury* [online]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases [cit. 2022-04-22]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/n/livertox/Melphalan/>
- MIGUEL, Jesus, Katja WEISEL, Philippe MOREAU et al., 2013. Pomalidomide plus low-dose dexamethasone versus high-dose dexamethasone alone for patients with relapsed and refractory multiple myeloma (MM-003): a randomised, open-label, phase 3 trial. *The Lancet Oncology* [online]. **14**(11), 1055-1066 [cit. 2020-08-27]. ISSN 14702045. Dostupné z: doi:10.1016/S1470-2045(13)70380-2
- MITSIADES, Constantine, Nicholas MITSIADES, Teru HIDESHIMA, Paul RICHARDSON a Kenneth ANDERSON, 2006. Proteasome Inhibition as a New Therapeutic Principle in Hematological Malignancies. *Current Drug Targets* [online]. **7**(10), 1341-1347 [cit. 2022-04-19]. ISSN 13894501. Dostupné z: doi:10.2174/138945006778559247
- Mnohočetný myelom - statistika, 2020. In: *[ČESKÁ MYELOMOVÁ SKUPINA]* [online]. Brno: Česká myelomová skupina [cit. 2020-04-14]. Dostupné z: <https://www.myeloma.cz/index.php?pg=mnohocetny-myelom--zakladni-udaje--statistika>
- MUCHTAR, Eli, Morie GERTZ a Hila MAGEN, 2016. A practical review on carfilzomib in multiple myeloma. *European Journal of Haematology* [online]. **96**(6), 564-577 [cit. 2020-08-24]. ISSN 09024441. Dostupné z: doi:10.1111/ejh.12749
- Multiple Myeloma: About multiple myeloma, 2018. In: *American Cancer Society* [online]. [cit. 2022-03-24]. Dostupné z: <https://www.cancer.org/cancer/multiple-myeloma/about/what-is-multiple-myeloma.html>

Multiple Myeloma: Symptoms and side effects. In: *Multiple Myeloma Research Foundation (MMRF)* [online]. [cit. 2022-03-21]. Dostupné z: <https://themmr.org/multiple-myeloma/symptoms-and-side-effects/>

MYSLIVEČEK, Miroslav, Josef NEKULA a Jaroslav BAČOVSKÝ, 2006. Zobrazovací metody v diagnostice a sledování mnohočetného myelomu. *Vnitř Lék* [online]. **52**(2), 46-54 [cit. 2020-06-27].

OSSERMAN, Elliott, Leonard DIRE, John DIRE, William SHERMAN, John HERSMAN a Rainer STORB, 1982. Identical Twin Marrow Transplantation in Multiple Myeloma. *Acta Haematologica* [online]. **68**(3), 215-223 [cit. 2020-05-04]. ISSN 1421-9662. Dostupné z: doi:10.1159/000206984

PALUMBO, A., 2004. Intermediate-dose melphalan improves survival of myeloma patients aged 50 to 70: results of a randomized controlled trial. *Blood* [online]. **104**(10), 3052-3057 [cit. 2020-04-20]. ISSN 0006-4971. Dostupné z: doi:10.1182/blood-2004-02-0408

Patient Case Studies and Panel Discussion: Plasma Cell Neoplasms, 2019. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network* [online]. **17**(115), 1437-1440 [cit. 2022-04-15]. ISSN 1540-1405. Dostupné z: doi:10.6004/jnccn.2019.5034

Pomalidomide. In: *TCI EUROPE N.V.* [online]. [cit. 2022-04-22]. Dostupné z: <https://www.tcichemicals.com/CZ/en/p/P2074>

RAJKUMAR, S., Jean-Luc HAROUSSEAU, Brian DURIE et al., 2011. Consensus recommendations for the uniform reporting of clinical trials: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 1. *Blood* [online]. **117**(18), 4691-4695 [cit. 2020-07-12]. ISSN 0006-4971. Dostupné z: doi:10.1182/blood-2010-10-299487

RAJKUMAR, S, Meletios DIMOPOULOS, Antonio PALUMBO et al., 2014. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *The Lancet Oncology* [online]. **15**(12), 538-548 [cit. 2022-04-09]. ISSN 14702045. Dostupné z: doi:10.1016/S1470-2045(14)70442-5

REZVANI, Andrew a Rainer STORB, 2008. Separation of graft-vs.-tumor effects from graft-vs.-host disease in allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Journal of Autoimmunity* [online]. **30**(3), 172-179 [cit. 2020-04-25]. ISSN 08968411. Dostupné z: doi:10.1016/j.jaut.2007.12.002

RICHARDSON, Paul, Wanling XIE, Sundar JAGANNATH et al., 2014. A phase 2 trial of lenalidomide, bortezomib, and dexamethasone in patients with relapsed and relapsed/refractory myeloma. *Blood* [online]. **123**(10), 1461-1469 [cit. 2020-07-15]. ISSN 0006-4971. Dostupné z: doi:10.1182/blood-2013-07-517276

SAN MIGUEL, Jesús, Rudolf SCHLAG, Nuriet KHUAGEVA et al., 2008. Bortezomib plus Melphalan and Prednisone for Initial Treatment of Multiple Myeloma. *New England Journal of Medicine* [online]. **359**(9), 906-917 [cit. 2020-07-15]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa0801479

SAN-MIGUEL, Jesús, Vânia HUNGRIA, Sung-Soo YOON et al., 2014. Panobinostat plus bortezomib and dexamethasone versus placebo plus bortezomib and dexamethasone in patients with relapsed or relapsed and refractory multiple myeloma: a multicentre, randomised, double-

blind phase 3 trial. *The Lancet Oncology* [online]. **15**(11), 1195-1206 [cit. 2020-08-26]. ISSN 14702045. Dostupné z: doi:10.1016/S1470-2045(14)70440-1

SATTA, Rosanna, Gavino CASU, Fausto DORE, Maurizio LONGINOTTI a Francesca COTTONI, 2003. Follicular spicules and multiple ulcers: cutaneous manifestations of multiple myeloma. *Journal of the American Academy of Dermatology* [online]. **49**(4), 736-740 [cit. 2020-06-01]. ISSN 01909622. Dostupné z: doi:10.1067/S0190-9622(03)00122-1

ŠPIČKA, Ivan, 2005. *Mnohočetný myelom a další monoklonální gamapatie*. Praha: Galén. ISBN 80-7262-330-3.

STEVERDING, Dietmar a Xia WANG, 2009. Trypanocidal activity of the proteasome inhibitor and anti-cancer drug bortezomib. *Parasites & Vectors* [online]. **2**(1) [cit. 2022-04-20]. ISSN 1756-3305. Dostupné z: doi:10.1186/1756-3305-2-29

ŠTORK, Martin, Jitka VACULOVÁ, Luděk POUR, Viera SANDECKÁ, Zdeněk ADAM, Marta KREJČÍ a Zdeněk KRÁL, 2017. The news in multiple myeloma treatment. *Interní medicína pro praxi* [online]. **19**(1), 20-22 [cit. 2020-08-25]. ISSN 12127299. Dostupné z: doi:10.36290/int.2017.003

Strukturní vzorec bendamustinu, 2001. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation [cit. 2022-04-24]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Bendamustine#/media/File:Bendamustine2DCSD.svg>

Strukturní vzorec carfilzomibu, 2001. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation [cit. 2022-04-22]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/Carfilzomib#/media/File:Carfilzomib\\_structure.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/Carfilzomib#/media/File:Carfilzomib_structure.svg)

Strukturní vzorec lenalidomidu. In: *MedChemExpress* [online]. [cit. 2022-04-21]. Dostupné z: <https://www.medchemexpress.com/Lenalidomide.html>

Strukturní vzorec melfalanu, 2001. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation [cit. 2022-04-24]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Melphalan#/media/File:Melphalan.svg>

Strukturní vzorec panobinostatu, 2001. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation [cit. 2022-04-22]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Panobinostat#/media/File:Panobinostat.svg>

Strukturní vzorec Thalidomidu, 2001. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation [cit. 2022-04-24]. Dostupné z: <https://cs.wikipedia.org/wiki/Thalidomid#/media/Soubor:Thalidomide-2D-skeletal.png>

SZELIGOVÁ, Lenka, Hana PLONKOVÁ, Tomáš JELÍNEK a Roman HÁJEK, 2017. Multiple myeloma and differential diagnostic of back pain. *Onkologie* [online]. **11**(6), 300-305 [cit. 2022-04-07]. ISSN 18024475. Dostupné z: doi:10.36290/xon.2017.055

TEELUCKSINGH, S., P.L. PADFIELD a C. EDWARDS, 1990. Systemic Capillary Leak Syndrome. *QJM: An International Journal of Medicine* [online]. **75**(2), 515-524 [cit. 2020-05-29]. ISSN 1460-2393. Dostupné z: doi:10.1093/oxfordjournals.qjmed.a068460

TEO, Steve, Wayne COLBURN, William TRACEWELL et al., 2004. Clinical Pharmacokinetics of Thalidomide. *Clinical Pharmacokinetics* [online]. **43**(5), 311-327 [cit. 2022-04-20]. ISSN 0312-5963. Dostupné z: doi:10.2165/00003088-200443050-00004

TEO, Steven K., 2005. Properties of thalidomide and its analogues: Implications for anticancer therapy. *The AAPS Journal* [online]. **7**(1), 14-19 [cit. 2022-04-21]. ISSN 1550-7416. Dostupné z: doi:10.1208/aapsj070103

TERPOS, E., M. KLEBER, M. ENGELHARDT et al., 2015. European Myeloma Network Guidelines for the Management of Multiple Myeloma-related Complications. *Haematologica* [online]. **100**(10), 1254-1266 [cit. 2022-04-19]. ISSN 0390-6078. Dostupné z: doi:10.3324/haematol.2014.117176

TESSENOW, Hannah, Madlen HOLZVOGT, Bruno HOLZVOGT et al., 2017. Successful treatment of patients with newly diagnosed/untreated light chain multiple myeloma with a combination of bendamustine, prednisone and bortezomib (BPV). *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* [online]. **143**(10), 2049-2058 [cit. 2020-07-14]. ISSN 0171-5216. Dostupné z: doi:10.1007/s00432-017-2439-x

TICHÝ, M. a V. MAISNAR, 2006. Laboratorní průkaz monoklonálních imunoglobulinů. *Vnitřní lékařství: Jak neprošvihnout mnohočetný myelom* [online]. **52**(2), 41-45 [cit. 2020-07-12].

TISELIUS, Arne, 1937. A new apparatus for electrophoretic analysis of colloidal mixtures. *Transactions of the Faraday Society* [online]. **33** [cit. 2020-04-29]. ISSN 0014-7672. Dostupné z: doi:10.1039/tf9373300524

TISELIUS, Arne a Elvin KABAT, 1939. AN ELECTROPHORETIC STUDY OF IMMUNE SERA AND PURIFIED ANTIBODY PREPARATIONS. *The Journal of Experimental Medicine* [online]. **69**(1), 119-131 [cit. 2020-04-29]. ISSN 1540-9538. Dostupné z: doi:10.1084/jem.69.1.119

*Transfuze a hematologie dnes*, 2018. Praha: Česká lékařská společnost J. E. Purkyně. ISSN 1805-4587.

*Transfuze a hematologie dnes*, 2018. Praha: Česká lékařská společnost J. E. Purkyně. ISSN 1213-5763.

USMANI, S. Z., C. HEUCK, A. MITCHELL et al., 2012. Extramedullary disease portends poor prognosis in multiple myeloma and is over-represented in high-risk disease even in the era of novel agents. *Haematologica* [online]. **97**(11), 1761-1767 [cit. 2022-06-17]. ISSN 0390-6078. Dostupné z: doi:10.3324/haematol.2012.065698

VAN DE DONK, Niels, Maarten JANMAAT, Tuna MUTIS, Jeroen LAMMERTS VAN BUEREN, Tahamtan AHMADI, A. SASSER, Henk LOKHORST a Paul PARREN, 2016. Monoclonal antibodies targeting CD38 in hematological malignancies and beyond. *Immunological Reviews* [online]. **270**(1), 95-112 [cit. 2020-08-25]. ISSN 01052896. Dostupné z: doi:10.1111/imr.12389

Vyšetření prováděná při podezření na mnohočetný myelom, 2008. ADAM, Zdeněk a Vladimír MAISNAR. *Mnohočetný myelom: jak včas rozpoznat tuto nemoc a jak s ní žít : informace pro*

*nemocné a jejich blízké*. 3., přeprac. a dopl. vyd. Brno: Masarykova univerzita pro Českou myelomovou skupinu, s. 25-28. ISBN 978-80-210-4680-1.

WEBER, Donna, Kim RANKIN, Maria GAVINO, Kay DELASALLE a Raymond ALEXANIAN, 2003. Thalidomide Alone or With Dexamethasone for Previously Untreated Multiple Myeloma. *Journal of Clinical Oncology* [online]. **21**(1), 16-19 [cit. 2020-07-15]. ISSN 0732-183X. Dostupné z: doi:10.1200/JCO.2003.03.139

YADAV, Punit, Mark COOK a Paul COCKWELL, 2016. Current Trends of Renal Impairment in Multiple Myeloma. *Kidney Diseases* [online]. **1**(4), 241-257 [cit. 2022-03-21]. ISSN 2296-9381. Dostupné z: doi:10.1159/000442511