

Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta

Monoklonální bílkoviny u mnohočetného myelomu

Bakalářská práce

Tereza Liduchová

Školitel: MUDr. Ivan Vonke, MBA.

České Budějovice 2017

Liduchová T., 2017: Monoklonální bílkoviny u mnohočetného myelomu [Monoclonal protein in multiple myeloma. Bc. Thesis, In Czech.] – 48p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Annotation:

Multiple myeloma is a malignant cancer of plasma cells producing monoclonal immunoglobulins - paraproteins. It affects mainly older population. The basic method of determining this disease include protein electrophoresis and determination of free light chains. The practical part of my work is focused on monitoring response to chemotherapy in multiple myeloma paraprotein by the determination and the determination of free light chains and, also whether these two parameters give the same information or not.

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích, 19.4.2017

.....

Tereza Liduchová

Poděkování

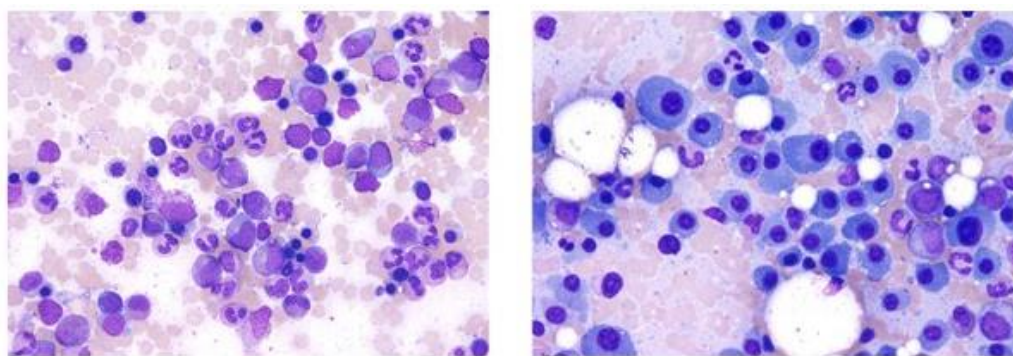
Touto cestou bych velice ráda poděkovala svému vedoucímu bakalářské práce panu MUDr. Ivanu Vonkemu za odborné rady, trpělivost, vstřícnost, a milý přístup. Dále bych také ráda poděkovala své rodině a přátelům za jejich trpělivost a neustálou podporu nejen při vypracovávání bakalářské práce ale i po celou dobu mého studia.

Obsah

1.1 MONOKLONÁLNÍ GAMAPATIE NEURČENÉHO VÝZNAMU (MGUS)	3
1.2 EPIDEMIOLOGIE	4
1.3 ETIOLOGIE	5
1.3.1 Rizikové faktory	5
1.3.1.1 Obecné faktory	5
1.3.1.2 Faktory týkající se životního stylu	5
1.3.1.3 Rodinná anamnéza, MGUS	6
1.3.1.4 Riziko oslabené imunity	6
1.3.1.5 Vystavení se záření či chemikáliím	7
1.4. PATOFYZIOLOGIE	7
1.4.1 Chromozomální abnormality	8
1.5 KLINICKÉ PŘÍZNAKY NEMOCI	9
1.5.1 Příznaky způsobené monoklonálním imunoglobulinem	10
1.5.2 Příznaky způsobené cytokiny myelomových buněk	12
1.5.3 Příznaky způsobené útlakem fyziologické krvevorbny myelomovými buňkami	13
1.5.4 Méně časté příznaky mnohočetného myelomu	14
1.6 DIAGNOSTICKÉ STANOVENÍ NEMOCI	15
Tab. II: Kritéria mnohočetného myelomu podle Durieho a Salmona, 1975 (CMG, 2017d)...	16
1.7 LÉČBA	18
1.7.1 Chemoterapie	19
1.7.2 Vysokodávková chemoterapie s autologní transplantací krvevorné tkáně	19
2 CÍLE PRÁCE A HYPOTÉZY	20
3 METODY PRÁCE	21
3.1 ELEKTROFORÉZA BÍLKOVIN	21
3.2 STANOVENÍ VOLNÝCH LEHKÝCH ŘETĚZCŮ	22
3.3 STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ DAT	22
4 VÝSLEDKY	24
4.1 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA VZORKU PACIENTŮ	24
4.2 VD, CVD A VMP LÉČEBNÉ PROTOKOLY	25
4.3 RD LÉČEBNÝ PROTOKOL	28
4.4 CTD LÉČEBNÝ PROTOKOL	29
4.5 AP LÉČEBNÝ PROTOKOL	30
4.6 CAD LÉČEBNÝ PROTOKOL	32
4.7 VTD LÉČEBNÝ PROTOKOL	33
4.8 INDIVIDUÁLNÍ ODCHYLKY	34
4.8.1 Účinnost jednotlivých léčebných protokolů	35
4.9 INDIVIDUÁLNÍ ODCHYLKY VÝVOJE PARAPROTEINU A FLC	36
7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	41
8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	48

1 Úvod

Mnohočetný myelom (dále jen MM) je maligní nádorové onemocnění bílých krvinek, které je způsobeno proliferací plazmatických buněk nacházejících se v kostní dřeni (Obr. 1). Mezi nejčastější projevy patří osteolýza, útlum krvetvorby, zánět a porucha funkce ledvin (CMG, 2017a).



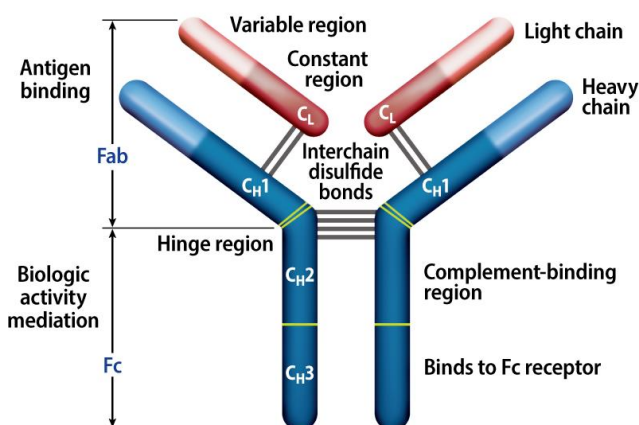
Obr. 1: Vlevo zdravá kostní dřeň, vpravo kostní dřeň postižená MM. ^[1]

Tuto nemoc poprvé popsal v roce 1889 v Praze česko-německý lékař a profesor Otto Kahler (Obr. 2), podle kterého se tato nemoc označuje také jako Kahlerova choroba (Tesař, 2011). Dalším názvem pro toto onemocnění je plasmocytom. U mnohočetného myelomu je tedy už z názvu patrné, že se jedná o více nádorových ložisek v kostní dřeni (Anonymous, 2016).



Obr. 2: Portrét Otto Kahlera. ^[2]

Plazmatické buňky jsou buňky imunitního systému a jsou konečným stádiem diferenciací B-lymfocytů (Straub a kol., 2009). Jejich úlohou je potom chránit tělo před cizími částicemi tím, že produkují protilátky (Anonymous, 2016). Každá protilátka neboli imunoglobulin se skládá ze dvou identických lehkých a dvou těžkých řetězců spojených disulfidickými můstky (Obr. 3). Lehké řetězce rozlišujeme na kappa (κ) a lambda (λ) a těžké na alfa (α), gama (γ), delta (δ), epsilon (ϵ) a mikro (μ). Podle typu těžkého řetězce je potom dělíme do pěti tříd (izotypů) na IgA, IgG, IgD, IgE a IgM. U obou řetězců můžeme dále určit variabilní a konstantní oblast.



Obr. 3: Struktura molekuly imunoglobulinu. [3]

I zhoubně transformované plazmatické buňky, tedy nádorové buňky, produkují specifické protilátky nebo jen jejich části, volné lehké řetězce. Tyto produkované protilátky jsou převážně jen jednoho typu, nejčastěji IgG nebo IgA. Vzhledem k nádorové podstatě myelomových buněk jsou dané imunoglobuliny nebo jejich fragmenty produkovány v podstatě neomezeně. Souhrnně jsou označovány jako monoklonální proteiny, popřípadě M-proteiny, monoklonální komponenty či paraproteiny (Kyle, 2003; Hájek a kol., 2008). Tyto imunoglobuliny mají oproti těm klasickým abnormální 3D strukturu molekuly a došlo u nich ke ztrátě protilátkové funkce. Monoklonální proteiny jsou ve zvýšeném množství uvolňovány do krevního řečiště nebo moči, kde se hromadí (Anonymous1, 2017). Jejich přítomnost v cirkulující krvi může zůstat tzv. “potichu“, tedy bez příznaků, jako je tomu u monoklonální gamapatie neurčeného významu (MGUS) (Maniatis, 2009). Nebo naopak může vést k poškození funkce ledvin, zánětu, poškození kostí, neuropatii a mnoha dalším problémům, zejména pokud dochází k jejich vzájemné adhezi nebo přilínání k jiným měkkým tkáním či buňkám. Také volné lehké řetězce jsou produkovány ve větším množství než je potřeba pro párování s těžkými řetězci za vzniku imunoglobulinu. Jejich nadbytek v moči se označuje jako

Bence-Jonesova bílkovina, která způsobuje především závažné problémy ledvin, protože její molekula má příliš malou molekulovou hmotnost na to, aby volně procházela do moči, odkud by mohla být z těla vyloučena (Anonymous1, 2017).

1.1 Monoklonální gamapatie neurčeného významu (MGUS)

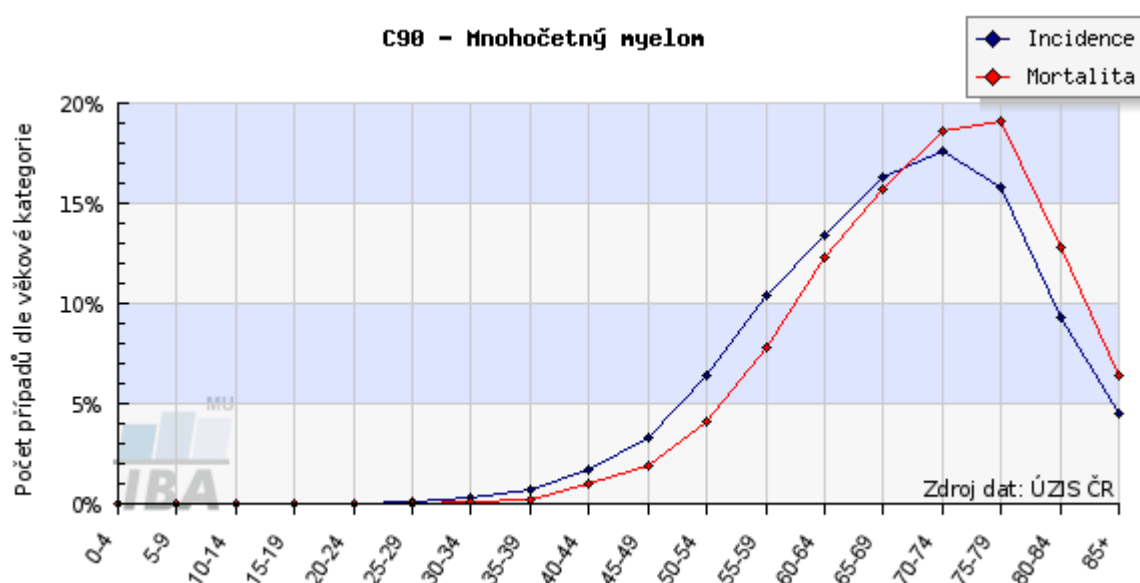
Jedná se o benigní monoklonální gamapatii, která je považována za jeden z hlavních rizikových faktorů pro MM (Anonymous, 2017). MGUS bývá velice často označována jako prekanceróza této maligní nemoci. Proto je toto asymptomatické onemocnění, způsobené nadměrným množstvím M proteinů v séru, nutné bedlivě sledovat kvůli jeho možné progresi v MM. Míra této progresi je 0,5 - 1% ročně a je ovlivněna mnoha faktory jako je například koncentrace nebo typ monoklonální bílkoviny (Rajkumar a kol., 2014). K léčbě ale dochází až u symptomatického myelomu (Landgren a kol., 2009). MGUS je u pacientů diagnostikována, pokud jsou splněna určitá kritéria odlišující toto onemocnění od jeho dalších fází nebo od jiných lymfoproliferativních nemocí (Kyle, 2003):

- Při vyšetření kostní dřeně činí plazmatické buňky méně než 10%.
- Hodnoty monoklonálního proteinu menší než 30 g/L.
- Nepřítomnost další poruchy proliferace B-lymfocytů.
- Nepřítomnost kostní léze, anémie, renální insuficience, nebo hyperkalcémie v souvislosti s paraproteinem.

Jednotlivé stupně jsou tedy MGUS, asymptomatický myelom, označovaný také jako indolentní či doutnající myelom, který se vyznačuje zvýšeným procentem plazmatických buněk v kostní dřeni (>10%) nebo i zvýšenými hodnotami monoklonálního proteinu (<30 g/L) (Anonymous1, 2017). Dále pak je symptomatický myelom neboli MM II. a III. stádia. Další fází pak může být až plazmocelulární leukemie. Jedná se tedy o jedno onemocnění, které postupem času může přecházet do jednotlivých stupňů v rámci zhoršování se stavu pacienta v důsledku nevhodné léčby či nedostatečně včasné diagnostikované nemoci (Landgren a kol., 2009).

1.2 Epidemiologie

MM je poměrně vzácné symptomatické onemocnění, které v dnešní populaci představuje 1% malignit obecně a asi 10% malignit hematologických (Hájek a kol., 2008). Po non-Hodgkinově lymfomu je to druhý nejčastěji se vyskytující druh rakoviny krve, který se více vyskytuje u mužů než u žen v poměru zhruba 3:2 (Anonymous2, 2016). Zároveň se až dvakrát častěji objevuje u lidí afrického původu než u bělochů, kdy důvod této rasové a pohlavní typizace je zatím nejasný (Raab a kol., 2009). MM je onemocnění týkající se starší populace, kde věkový medián při diagnostice této nemoci je okolo 65 let (Obr. 4) (Hájek a kol., 2008). Zatímco ve věkové kategorii 20-40 let se toto onemocnění vyskytuje opravdu zřídka (CMG, 2017b).



Obr. 4: Graf zobrazující věkovou strukturu pacientů s MM z období 1977–2014. ^[4]

Incidence MM v ČR je 2,65/100 000 obyvatel. Ovšem ve věkové kategorii 75-79 let stoupá incidence této nemoci až na 15,57/100 000 obyvatel (CMG, 2017b). Pro srovnání, v západních zemích světa je incidence MM 5,8/100 000 obyvatel naopak v Číně pouze 1/100 000 obyvatel (Šípek, 2014; Raab a kol., 2009).

Jedná se o nevléčitelnou nemoc, ovšem s postupným vědeckým pokrokem čím dál tím lépe léčitelnou (Hájek a kol., 2008).

1.3 Etiologie

Původ vzniku MM zatím není úplně známý, ale je zřejmé, že se jedná se o komplexní multifaktoriální proces podmíněn řadou rizikových faktorů jako je např. obezita či vystavení se radioaktivnímu záření. Jako u ostatních malignit může být na vině oslabená imunita, ale za transformací stojí především různé genetické změny v buňce. K dalším změnám potom dochází v mikroprostředí kostní dřeně, což má zřejmý vliv na růst samotného nádoru (Hájek a kol., 2008).

1.3.1 Rizikové faktory

Příčiny vzniku MM zatím nejsou příliš pochopeny či objasněny, ovšem vědci zjistili, že existují určité rizikové faktory, které mohou vznik této nemoci ovlivnit, hlavně pokud jich působí více najednou. Mezi tyto faktory patří především věk, pohlaví, rasa, obezita, rodinná anamnéza, MGUS, přítomnost jiných hematolymfoidních novotvarů, snížená imunita a vystavování se ozáření nebo některým chemikáliím (Alexander a kol., 2007). Faktory můžeme rozdělit do určitých kategorií.

1.3.1.1 Obecné faktory

Věk: Jedná se o nejvýznamnější rizikový faktor MM (Alexander a kol., 2007). Nejčastěji je tato nemoc diagnostikována lidem ve věku kolem 60-65 let, kdy s rostoucím věkem stoupá i riziko vzniku této nemoci (Hájek a kol., 2008). Medián věku při stanovení diagnózy pro MM je u mužů 62 let a u žen 61 let (Raab a kol., 2009). Proto je důležité nepodceňovat základní příznaky jako například banálně vypadající bolesti zad. U lidí do 40 let se toto onemocnění vyskytuje velmi málo, představují zhruba 2% všech nemocných (Raab a kol., 2009).

Pohlaví: Tento faktor poukazuje na větší incidenci u mužů než u žen, tedy 7,1/100 000 obyvatel u mužů a u žen je to 4,5/100 000 obyvatel za rok (Alexander a kol., 2007).

Rasa: MM se více vyskytuje u rasy negroidní než rasy bílé. Nejnižší incidence je u Asiatů (Cohen a kol., 1998).

1.3.1.2 Faktory týkající se životního stylu

Obezita: Index tělesné hmotnosti (BMI) a tedy navyšování objemu tělesného tuku je spojeno se zvýšeným rizikem výskytu některých běžných ale i méně častých malignit, mezi které spadá i MM (Darren a kol., 2010).

Dieta: Toto riziko bylo také podnětem několika studií, kdy se nepodařilo prokázat téměř žádné spojení mezi MM a určitou skupinou potravin jako je příjem masa, mléka a mléčných výrobků (kromě jogurtu) či obilovin (Alexander a kol., 2007).

1.3.1.3 Rodinná anamnéza, MGUS

Rodinná anamnéza: MM ani jiné myeloidní gamapatie nejsou infekční či dědičné nemoci v pravém slova smyslu (Anonymous3, 2015). Existuje zde ovšem asi 2,3krát vyšší riziko rozvoje MM u lidí majících pokrevní příbuzné prvního stupně, tedy rodiče, sourozence nebo dítě, s touto nemocí nebo MGUS než u klasické populace. Může to být důsledek sdílení stejných genetických a enviromentálních faktorů nebo i jejich kombinace. Rodinná anamnéza se ale jako rizikový faktor zvyšující rozvoj MM vyskytuje jen velmi vzácně (Frank a kol., 2014).

MGUS: Tento rizikový faktor předchází velké většině případů MM. Každý rok zhruba u 1 ze 100 osob s MGUS se vyvine transformace v MM. Bohužel zatím neexistuje žádný známý způsob, jak oddálit či zabránit tomu malignímu vývoji. Proto se doporučuje chodit s MGUS diagnózou na pravidelné testy odhalující progresi (Anonymous4, 2015).

1.3.1.4 Riziko oslabené imunity

Oslabená imunita bývá většinou v souvislosti s nějakou nemocí, což potom může vést ke komplikacím nebo i vážnějším onemocněním jako je v tomto případě MM. Až o 50% zvyšuje riziko vzniku MM perniciózní anémie, ankylozující spondylitida nebo autoimunitní hemolytická anémie (McShane a kol., 2014; Shen a kol., 2014; Apor a kol., 2014). Naopak u lidí s psoriázou je riziko vzniku menší (Shen a kol., 2014).

HIV/AIDS: Také virus HIV, popřípadě nemoc AIDS je jedním z faktorů zvyšujících riziko vzniku až 2,6krát, v porovnání se zdravou populací (Shiels a kol., 2009).

Transplantace orgánů: Jedná se o další zátěž pro organismus a jeho imunitu. Teoretické riziko vzniku MM v tomto případě činí 40%, nicméně k rozvoji této nemoci dochází u méně než 1% pacientů s transplantovaným orgánem (Engels a kol., 2013; Caillard a kol., 2006).

1.3.1.5 Vystavení se záření či chemikáliím

I přes to, že vážné vystavení radiaci je opravdu vzácné, je to jeden z dalších možných rizik přispívajících k vzniku MM. Děje se to například v Japonsku při testování jaderných reaktorů. Z řad chemikálií mohou být příčinou především benzen a jeho deriváty, dioxiny, různé agrochemikálie (pesticidy, herbicidy, insekticidy) nebo i některé čisticí prostředky (Anonymous1, 2017).

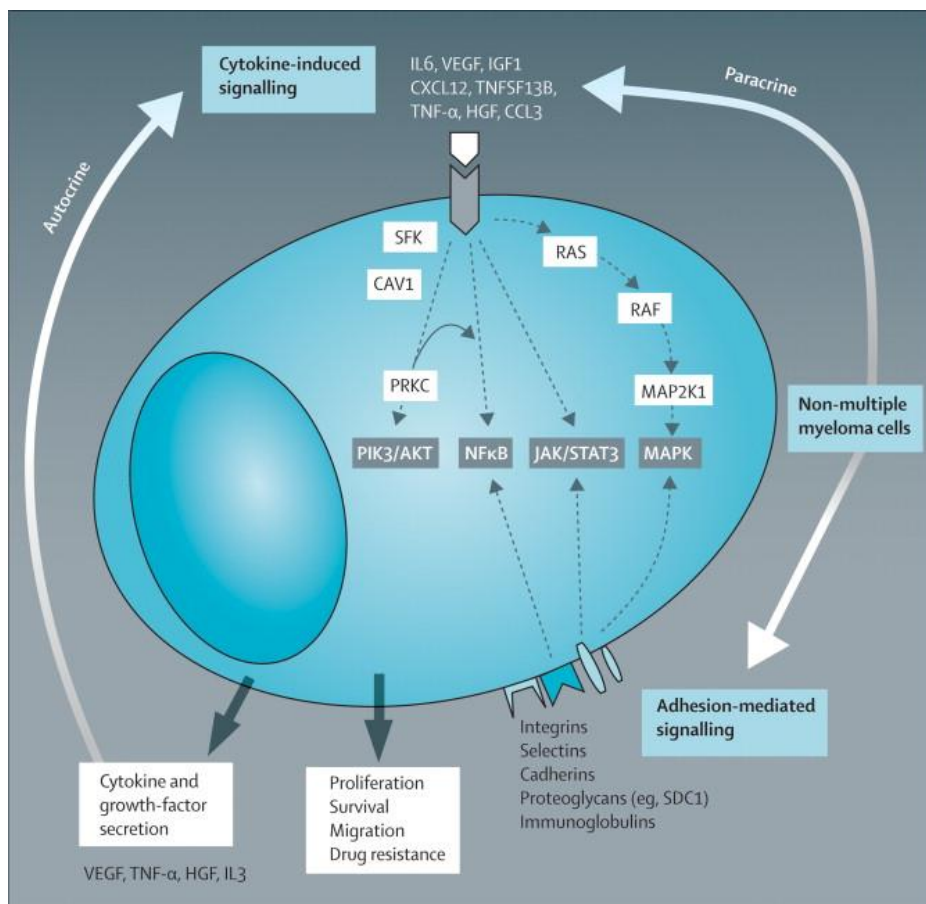
1.4. Patofyziologie

Neustálé pokroky v cytogenetickém a genomovém profilování poskytují čím dál lepší poznatky zvyšující porozumění patogeneze MM (Sawyer, 2011).

B-lymfocyty vznikají v kostní dřeni a poté putují do mizních uzlin kde postupně dozrávají. Po aktivaci navázáním antigenu a prostřednictvím cytokinů produkovaných T_H pomocnými lymfocyty diferencují na paměťové a plazmatické buňky produkující protilátky. K maligní mutaci zřejmě dochází právě na úrovni lymfocytu, který poté dozrává již do patologických plazmocytů, které produkují určitý typ monoklonální bílkoviny v nadměrném množství. Na rozdíl od těch fyziologických jsou myelomové buňky (plazmocyty) dlouhověké (Adam, 2011).

MM je tedy klonální novotvar B buněk vznikající pravděpodobně již v lymfatických uzlinách (Tricot, 2000). Velice významnou roli v patogenezi této nemoci hraje interakce nádorových buněk s mikroprostředím kostní dřene, jakožto faktor přispívajícího k progresi nádoru (Sawyer, 2011). MM je charakterizován rozsáhlými nenáhodnými somatickými hypermutacemi v oblastech určujících komplementaritu imunoglobulinu, konkrétně genů těžkého řetězce. To naznačuje, že myelomové zárodečné buňky byly ve velké míře vystaveny antigenu již v germinálním centru. Po „přepnutí“ imunoglobulinové třídy putují MM buňky z lymfatických uzlin do krevního oběhu a tím, jak zrají, získávají velké množství různých adhezivních molekul, které jim umožňují vestavení do kostní dřene. Adheze myelomových buněk k buňkám stromatu potom vyvolá u dalších buněk sekreci osteoklasty aktivujících faktorů, tedy různých růstových faktorů a cytokinů jako jsou např. IL-6, IL-1 β a TNF- β (Obr. 5) (Tricot, 2000). Tato adheze k buňkám stromatu se v průběhu nemoci mění. Na začátku jsou nádorové buňky stromálně dependentní, ovšem postupem času se nemoc stává agresivnější a myelomové buňky jsou již na stromatu nezávislé (Sawyer, 2011).

A právě proliferace a přežívání myelomových buněk jsou řízeny mnoha různými cestami z nichž nejznámější je pomocí růstového faktoru IL-6. Ten aktivuje například JAK/STAT3 signální dráhu, čímž se aktivují také geny stimulující růst a inhibující apoptózu myelomových buněk. Dále aktivuje růstovou cestu RAS aktivující jaderný transkripční faktor (NF)- κ B a endogenní produkci IL-6 (Tricot, 2000). Obecně produkce cytokinů patologicky pozměněnými plazmocyty kromě typických příznaků MM může vyvolat také klasické B příznaky jako jsou například hubnutí, teplota nebo noční pocení (Adam, 2011).



Obr. 5: Signální dráha cytokinů a růstových faktorů. ^[5]

1.4.1 Chromozomální abnormality

Chromozomální abnormality jsou přítomny u 20-60% nově diagnostikovaných pacientů a u 60-70% s progresivní chorobou (van Marion a kol., 2003). Představují charakteristický znak pro MM, zahrnují mnoho chromozomů, kdy mění jejich počet i strukturu (Sawyer, 2011). Nejčastějšími nálezy jsou ztráty, zisky, přemístění a mutace. Abnormality chromosomů 1, 11, 13 a 14 spolu s nevyzrálou morfológií plazmatických buněk koreluje s rezistencí na léčbu a jsou to velice nepříznivé prognostické faktory představující agresivní onemocnění. Translokace lokusu pro těžký řetězec imunoglobulinu (IgH) má za následek

zvýšenou regulaci onkogenů. Tyto translokace bývají často nevyvážené kvůli ztrátě jednoho z chromozomů, což může mít za následek kratší dobu přežití (van Marion a kol., 2003).

Smadja a kol. (2001) ve své studii poprvé uvedli prognostickou významnost hyperploidního a non-hyperploidního karyotypu (Sawyer, 2011). Další studie a metody potom ukázaly, že početní abnormality v genech buněk MM mohou nastat právě u obou těchto karyotypů. **Non-hyperdiploidní abnormality** jsou spojeny se sníženou životností, což je způsobeno vysoko rizikovou translokací IGHR (t[4;14] nebo t[14;16]), částečnou (q14) nebo úplnou ztrátou chromozomu 13 a částečnou ztrátou chromozomu 17 (p13). **Hyperdiploidní abnormality** jsou naopak způsobené mnohočetnou trizomií a nízkou frekvencí monozomie či delecí chromozomu 13 a translokace IGHR (t[11;14]) jsou spojeny se zlepšením výsledku, tedy s prodloužením přežití (Raab a kol., 2009). Bodové mutace p53 jsou během diagnózy viděny jen zřídka. Mohou ovšem nastat u progresivního onemocnění u 10% pacientů a jsou spojeny s agresivním a leukemickým chováním MM (van Marion a kol., 2003).

Fonseca a kol. (2002) vytvořili určité podskupiny a klasifikovali prognózu pacientů podle molekulárně cytogenetické identifikace chromozomálních abnormalit do tří různých kategorií. První je tzv. **skupina se špatnou prognózou**, která je spojována s t(4;14) (p16;q32), t(14;16)(q32;q23), a (-17p13). Medián přežití pacientů s touto prognózou je 24,7 měsíců. Pro další **skupinu se střední prognózou** s (-13q14) je medián přežití 42,3 měsíců. Poslední je **skupina pacientů s dobrou prognózou**, která má všechny ostatní již výše zmíněné chromosomální abnormality s mediánem přežití 50,5 měsíců (van Marion a kol., 2003). Nicméně v současné době se medián přežití čím dál tím více zvyšuje díky citlivější reakci na léčbu a využití nových léků a léčebných postupů.

1.5 Klinické příznaky nemoci

MM se vyznačuje velice pestrými příznaky, které se zprvu mohou tvářit zcela nenápadně a nemusí vůbec alarmovat pacienta k lékařské prohlídce. Jedná se totiž o banálně vyhlížející symptomy jako jsou bolesti zad, únava, celková slabost či úbytek váhy. Může se ale také stát, že i když si k lékaři pacient zajde, tyto příznaky mohou být špatně vyhodnoceny a MM se tak dále vyvíjí a zhoršuje, čímž se snižuje doba přežití pacienta. Proto International Myeloma Working Group vytvořila v roce 2003 program s názvem CRAB (Tab. I) shrnující základní projevy MM a odlišujícího od asymptomatického (indolentního) myelomu, u kterého,

na rozdíl od aktivní symptomatické formy, okamžitá léčba ještě není nutná (Raab a kol., 2009). Naplnění jednoho z CRAB kritérií by pro lékaře mělo znamenat okamžité zahájení léčby (Hájek a kol., 2008).

Tab. I: Hlavní příznaky a kritéria pro MM podle IMWG, 2003 (Raab a kol., 2009).

Kritérium dysfunkce orgánů	Podrobnější definice symptomu
C – Hyperkalcémie	Kalcium > 2,75 mmol/l, nebo o 0,25 nad horní hranici normálního rozmezí
R – Selhání ledvin	Kreatinin > 177 µmol/l
A – Anémie	Hemoglobin < 100 g/l, nebo 20 g/l pod dolní hranici normálního rozmezí
B – Kostní změny	Lytická kostní ložiska, nebo osteoporóza s kompresivními frakturami (většinou vyžaduje kostní denzitometrii a průkaz patologické infiltrace pomocí MR nebo CT vyšetření)
Další s myelomem a gamapatií související nálezy	Symptomatická hyperviskozita, amyloidóza, opakující se bakteriální infekce (> 2 epizody za 12 měsíců)

Příznaky jako takové se u každého pacienta liší, někdy se projeví pouze jeden znak, ve většině případů jde však o kombinaci více ukazatelů. V ne málo případech se může jednat i o náhodný nález bez příznaků, na který se přijde například při náhodném rentgenovém nebo krevním vyšetření (Adam, Maisnar, 2009). Výčet symptomů MM je opravdu velký a ty nejběžněji se vyskytující můžeme rozdělit do několika skupin.

1.5.1 Příznaky způsobené monoklonálním imunoglobulinem

Myelomová nefropatie: Často bývá označována také jako „myelomová ledvina“ (CMG, 2017c). Poškození ledvin postupně vzniká asi u 20% pacientů. Je to způsobeno hromaděním volných lehkých řetězců, které se při průkazu v moči označují jako Bence-Jonesova bílkovina (Anonymous1, 2017). Tyto řetězce jsou tak malé, že volně prochází do ledvinných kanálků, které funkčně poškozují. Dále dochází k tvorbě odlitkových válců hromadících se v distálním tubulu a sběrných kanálkách. Tento mechanismu potom vede k nevratným změnám a nedostatečná diuréza spolu se zvýšenou koncentrací moče postupně

vedou k selhání ledvin (CMG, 2017c; Ada, Maisnar, 2009). Dalšími možnými příčinami poruchy ledvin jsou zvýšená koncentrace kyseliny močové a koncentrace vápníku. Proto, pokud pacient vylučuje volné lehké řetězce do moči, se doporučuje vypít alespoň 2-3 litry tekutin denně (Adam, Maisnar, 2009).

Hyperviskózní syndrom: Je to poměrně vzácný stav u MM pacientů, při kterém dojde k nahromadění monoklonálních bílkovin produkovaných myelomovými buňkami v krevním řečišti (Anonymous5, 2016). Hyperviskozita je nejčastější u monoklonálních IgM gamapatií, nicméně je prokazatelná i u gamapatií typu IgG a IgA (CMG, 2017c). To má za následek zvýšení hustoty krve a zpomalení jejího průtoku. Tento pomalý tok krve například do mozku potom může vést k závratím a stavům, kdy se pacient cítí dezorientovaný a zmatený (Anonymous5, 2016). Dalšími důsledky tohoto syndromu mohou být oční poruchy, dysfunkce ledvin či srdce nebo třeba poruchy koagulačních mechanismů projevující se purpurou, ekchymózami či krvácením do trávicího traktu nebo naopak trombózou (CMG, 2017c; Stevenson a kol., 2014).

Motorická a senzitivní neuropatie: Nevyskytuje se u všech pacientů. Postiženy mohou být jak periferní nervy, tak mícha. Pokud se jedná o periferní nervy pacienti mohou pociťovat brnění končetin nebo pálivou bolest v nich. Pokud ovšem dochází k rozpínání myelomu z obratlů do nitra páteřního kanálku, může dojít utlačení míchy nádorovou masou myelomových buněk. To má za následek poruchy citlivosti a hybnosti mnohých částí těla, protože mícha v důsledku útlaku ztrácí kontakt s mozkem. Toto poškození se projevuje i poruchami svěračů, tedy neschopností regulovat vylučování moči a stolice (Adam, Maisnar, 2009). Obecně je postižení senzitivních vláken mnohem častější než postižení vláken motorických, které je velmi ojedinělé (CMG, 2017c).

Poruchy srážení krve: Jsou dány především nedostatkem krevních destiček (Adam, Maisnar, 2009). Tyto poruchy mohou způsobit až život ohrožující komplikace při úrazu či operaci, nicméně dysfunkce koagulace není příliš častým příznakem. Největší riziko vzniká u pacientů s produkcí lehkých řetězců, u kterých se vyvine závažná trombocytopenie. Lehké řetězce totiž adherují k povrchu trombocytů a tím narušují jejich funkci (CMG, 2017c). Při těchto poruchách je typické například krvácení z nosu, tvorba hematomů po minimálním nebo i žádném úrazu nebo nadměrné krvácení během menstruace (Adam, Maisnar, 2009).

1.5.2 Příznaky způsobené cytokiny myelomových buněk

Bolesti kostí a jejich destrukce: Jedním z nejčastějších projevů MM jsou bolesti kostí, které jsou dány výskytem kostních lézí (Giuliani a kol., 2006). Tyto léze pak ústí v destrukci kostí, která nejvíce postihuje hrudní a bederní části páteře, žebra, lebku, pánev nebo stehenní kost (Giuliani a kol., 2006; Stevenson a kol., 2014). Myelomové buňky tvoří látky aktivující osteoklasty, tedy buňky odbourávající kostní tkáň. Pokud jsou tyto zhoubné buňky koncentrovány pouze na určitých místech kosti, dochází k ložiskovému odbourávání kosti a vznikají odvápněná a zeslabená ložiska, která jsou na rentgenových snímcích vidět jako „díry“. Důsledkem jsou potom zlomeniny kostí v zeslabených místech. Pokud jsou ovšem myelomové buňky v kosti rozmístěny rovnoměrně, difúzně, dochází k difúznímu odbourávání tkáně, a tedy řídnutí kostí. To může být mylně přisuzováno stařeckému řídnutí kostí, protože nález je velice obdobný primární osteoporóze (Adam, Maisnar, 2009). Myelomové buňky tedy potlačují funkci osteoblastů a tím pádem tvorbu kostí. Tato inhibice osteoblastické aktivity hraje rozhodující roli v patogenezi postižení kostí u MM. (Giuliani a kol., 2006). Tato tak zvaná „choroba kostí“ může tedy kromě silných bolestí kostí a patologických fraktur způsobit i komprese míchy, difúzní osteoporózu nebo hyperkalcémii. Patologické zlomeniny postihují až 40% pacientů s MM. Riziko vzniku fraktur se ještě více zvyšuje u pacientů s vysokými dávkami kortikosteroidů, které se využívají právě při léčbě MM (Stevenson a kol., 2014). Pro MM je také typické zmenšování postavy až o několik centimetrů z důvodu kompresivních fraktur obratlů (Adam, Maisnar, 2009).

Hyperkalcémie: Jedná se o zvýšenou hladinu vápníku v krvi. Vyskytuje se zhruba u 1/3 pacientů jako nejčastější metabolická komplikace MM (Stevenson a kol., 2014). Tento projev je úzce spojen s již výše zmíněnou destrukcí kostí. Vysoká aktivita myelomových buněk způsobuje odbourávání kostní tkáně, což vede ke zvýšenému uvolňování vápníku do krevního oběhu (Adam, Maisnar, 2009). Zvýšená hladina sérového kalcia může sahát od mírných až po život ohrožující hodnoty a je především známkou pokročilého stádia nemoci a velkého objemu nádoru. Zároveň ko-existující poškození funkce ledvin může přispívat k nekontrolovatelné hyperkalcémii. Klinické projevy se různě liší, pokud je koncentrace vápníku nízká, tedy $< 3 \text{ mmol / l}$, může být i bez příznaků (Stevenson a kol., 2014). Mezi prvotní projevy hyperkalcémie patří časté močení a velká žízeň, zácpa, zvracení, odpor k jídlu nebo svalová slabost (Adam, Maisnar, 2009). Pokud je ale hladina kalcia $> 4 \text{ mmol / l}$, jedná se o život ohrožující stav a pacient upadá do kómatu (Stevenson a kol., 2014). Kromě možného poškození mozku a selhání srdce, poškození funkce ledvin vede ke ztrátě jejich schopnosti

koncentrovat moč, která tak z těla odvádí nadměrné množství tekutin. To vede k silné dehydrataci organismu, což má za následek konečnou fázi selhání ledvin. Také nevolnost a zvracení se podílí na další ztrátě tekutin. Proto již při prvních příznacích je nutné vyhledat lékaře, aby mohla být zahájena příslušná léčba (Adam, Maisnar, 2009).

1.5.3 Příznaky způsobené útlakem fyziologické krvetvorby myelomovými buňkami

Anémie: Anémie neboli nedostatek červených krvinek se vyskytuje jako jedna z obtíží až u 2/3 pacientů s MM a značně ovlivňuje kvalitu jejich života a funkčních schopností (Stevenson a kol., 2014). Tito lidé se potýkají s únavou, závratěmi, jsou bledí, špatně si pamatují a soustředí se nebo pociťují dušnost i po mírné námaze (Anonymous5, 2016). Myelomové buňky se nejprve hromadí jen v kostní dřeni, kde tedy vznikají všechny krvinky. Čím více tyto nádorové buňky zabírají místa tím méně ho zbývá pro zdravé krvetvorné buňky, které potom chybí v krevním oběhu. V první řadě ovšem začíná ubývat právě erytrocytů za vzniku anémie (Adam, Maisnar, 2009). Nejprve může MM způsobovat anémii chronických chorob, a to v důsledku produkce zánětlivých cytokinů jako jsou například IL-1, IL-6 nebo TNF. Tyto cytokiny produkované u chronických onemocnění mají za následek potlačení erytropoézy a snížení produkce erythropoetinu ledvinami. Dále pak nadměrná exprese Fas-ligandu, což je transmembránový protein indukující buněčnou smrt, a TRIALu myelomovými buňkami způsobuje apoptózu nezralých erytroblastů. Léčba anémie může zahrnovat krevní transfuze nebo dávky erythropoetinu, který zlepšuje přežití a minimalizuje potřebu transfuzí (Stevenson a kol., 2009). Kromě anémie může mezi MM příznaky patřit i trombocytopenie či leukopenie (CMG, 2017c).

Infekce způsobené imunopresí: Tyto infekce trvají déle než obvykle a mají i horší průběh. Jedná se o typický projev MM a hlavní příčinu morbidity i mortality u takto nemocných pacientů (CMG, 2017c; Stevenson a kol., 2014). Důvodem je kombinace několika faktorů vedoucí ke snížení imunity pacienta včetně imunologické dysfunkce jako takové, a to v důsledku maligní transformace plazmatických buněk a jejich neschopnosti obrany těla proti bakteriím a ostatním patogenům (Anonymous5, 2016; Stevenson a kol., 2014). Nejprve dojde k poruchám u B-lymfocytů, což znamená neschopnost prezentovat antigen, a především omezení v produkci fyziologicky funkčních polyklonálních protilátek. Poté dojde i k poruchám T-buněčné imunity. Deficit obou skupin lymfocytů se během pokroku nemoci postupně prohlubuje (CMG, 2017c). Pacienti, kteří podstoupili alogenní transplantaci kmenových buněk se nachází v největším riziku, protože se u nich mohou objevit oportunní

plísňové a virové infekce, což je způsobeno velice nízkými počty CD4 a CD8 buněk (Stevenson a kol., 2014). Očkování u pacientů s aktivní nemocí je poměrně neúčinné, a tak je nutné podávat imunoglobuliny nitrožilně v terapeutických dávkách (CMG, 2017c). Proto je důležité, pokud jsou pozorovány nějaké známky infekce, začít co nejrychleji s léčbou, aby se předešlo vážným komplikacím. Pacienti by také měli dodržovat striktní hygienické návyky a postupy a co nejvíce se vyhýbat nemocným osobám (Anonymous5, 2016).

1.5.4 Méně časté příznaky mnohočetného myelomu

Zvýšená teplota, svědění kůže, noční pocení, hubnutí: Jedná se spíše o typické B příznaky, tedy doprovodné, ovšem v případě MM se vyskytují poměrně zřídka (Kyle, 1975).

Syndrom zvýšené kapilární propustnosti: Tyto stavy jsou velice vzácné. Typická je pro ně kapilární hyperpermeabilita a následný přesun tekutiny a proteinů do intersticia. Následkem toho vznikají otoky, zhoršuje se funkce ledvin a dochází k přírůstku hmotnosti (Adam, Vorlíček, 2001).

Kardiální příznaky: Je to spojeno hlavně s vysokým věkem pacientů s MM, u kterých se často vyskytuje i ischemická choroba srdeční. A právě MM se několika různými způsoby může podílet na srdečním selhání. Prvním problémem může být hyperviskozita, která se dá ovšem řešit plazmaferézami. Druhým téměř neřešitelným problémem je ukládání amyloidu v srdci. Systémová AL amyloidóza totiž může ve vzácných případech doprovázet MM a při podezření na depozity amyloidu je nutné provést cílené echokardiografické vyšetření. Třetí příčinou selhání srdce ve spojení s MM může být jeho selhání v důsledku zvýšeného minutového objemu. Příčinou je vznik arteriovenózního spoje, tedy cirkulační zkratky, která může při opravdu zvýšeném minutovém objemu vést k selhání srdce (Adam, Vorlíček, 2001).

U všech příznaků je důležité provést veškerá příslušná vyšetření, která podezření na MM diagnózu potvrdí nebo nepotvrdí. Nicméně její nepotvrzení neznamená i její vyloučení (CMG, 2017c).

1.6 Diagnostické stanovení nemoci

Diagnóza MM je na rozdíl od ostatních typů rakovin stanovena praktickým lékařem, nikoli patologem, na základě výše uvedených příznaků (CMG, 2017d). Když tedy lékaře navštíví pacient stěžující si na jeden z příznaků spadajících do CRAB ukazatelů, měl by lékař provést tyto základní druhy vyšetření (Straub a kol., 2009):

Rentgenové vyšetření bolestivého místa skeletu – mělo by být provedeno vždy ještě před tím, než je pacient, hlavně v senilním věku, odeslán na rehabilitaci, aplikaci obstríků či jinou empirickou léčbu (Hájek a kol., 2012). Pokud ovšem z rentgenového snímku není jasná příčina bolesti, která neustále pokračuje, měl by praktický lékař na základě okolností a laboratorních nálezů zvážit odeslání pacienta na odborné pracoviště s možností provedení MR a CT vyšetření kostí (Adam, Vorlíček, 2007).

Kompletní krevní obraz – mezi úvodními projevy MM mohou být také anémie, neutropenie či trombocytopenie (Hájek a kol., 2012).

Vyšetření sedimentace erytrocytů – pokud je sedimentace velmi vysoká může to signalizovat mimo jiné právě přítomnost MM. V případě Bence-Jonesova nebo nesekretorického typu myelomu tato hodnota zvýšena není (Adam, Vorlíček, 2007; Hájek a kol., 2012).

Koncentrace urey, kreatininu a elektrolytů včetně kalcia v séru – jak hyperkalcémie, tak vysoké hodnoty dusíkatých látek mohou být signálem poruchy renální funkce související s myelomovou nefropatií, zatímco hyperkalcémie je znakem agresivní formy MM s četným poškozením skeletu.

Standartní gelová elektroforéza bílkovin séra – dokáže najít přítomnost monoklonálních proteinů obvykle při hodnotách > 5g/l.

Koncentrace celkové bílkoviny a albuminu v séru – na MM upozorňuje většinou vysoká hladina celkové bílkoviny, nízká hodnota albuminu potom poukazuje na již pokročilejší stádium nemoci.

Kvantitativní vyšetření normálních imunoglobulinů v séru – v tomto případě je myelom signalizován, pokud dojde k izolovanému zvýšení jednoho typu imunoglobulinu se současným snížením ostatních typů.

Vyšetření přítomnosti lehkých řetězců v moči, tj. Bence-Jonesovy bílkoviny
(Hájek a kol., 2012).

Pokud se z výsledků základních vyšetření potvrdí odchylky odkazující na MM je nutné pacienta co nejdříve nechat vyšetřit na odborném pracovišti, nejčastěji hematologii a provést u něj MR, CT a řadu dalších vyšetření, aby se případné podezření mohlo potvrdit či vyvrátit (Adam, Maisnar, 2009). V roce 1975 byl založen obecný systém kritérií pro určení diagnózy MM dle Durieho a Salmona (Tab. II), který je i v dnešní době hojně využíván (Stevenson a kol., 2014).

Tab. II: Kritéria mnohočetného myelomu podle Durieho a Salmona, 1975 (CMG, 2017d).

Velká kritéria	Malá kritéria
1) plazmocytom (histologie tkáně)	a) v kostní dřeni 10-30 % plazmocytů
2) počet plazmocytů v kostní dřeni > 30 %	b) koncentrace M-Ig nižší než v bodě 3
3) sérové koncentrace monoklonálního imunoglobulinu (M-Ig): M-IgG > 35 g/l, M-IgA > 20 g/l, nebo množství lehkých řetězců v moči za 24 hodin > 1 g	c) přítomna osteolytická ložiska d) snížení ostatních fyziologických imunoglobulinů (< 50 % normální hodnoty) IgM < 0,5 g/l IgA < 1,0 g/l IgG < 6,0 g/l

Diagnóza MM se potvrdí, pokud je přítomno jedno velké a jedno malé kritérium anebo pokud jsou přítomná kritéria a+b spolu s kritériem c nebo d (Adam, Vorlíček, 2001).

Kromě kritérií se MM vyznačuje také určitými stádii stejně jako jiná maligní onemocnění. Až do roku 2005 byl využíván především systém stádií podle Durieho a Salmona z roku 1975 (Tab. III.) (Stevenson a kol., 2014).

Tab. III: Klinická stádia mnohočetného myelomu podle Durieho a Salmona, 1975 (Adam, Vorlíček, 2001).

I. stádium	<p>Jsou splněny všechny níže uvedené podmínky:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. koncentrace hemoglobinu > 100 g/l 2. koncentrace Ca do 3 mmol/l 3. normální kostní struktura anebo solitární kostní ložisko plazmocyтому 4. relativně nízká koncentrace M-Ig: <ol style="list-style-type: none"> a) M-IgG < 50 g/l, b) M-IgA < 30 g/l, c) exkrece lehkých řetězců v moči do 4 g/24 hodin
II. stádium	Nejsou splněny podmínky prvního ani třetího stadia.
III. stádium	<p>Je splněna alespoň jedna z následujících podmínek:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. koncentrace hemoglobinu < 85 g/l 2. zvýšená koncentrace Ca nad 3 mmol/l 3. více než 3 osteolytická ložiska 4. vysoké koncentrace M-Ig: <ol style="list-style-type: none"> a) M-IgG > 70 g/l, b) M-IgA > 50 g/l, c) vyloučení více než 12 g lehkých řetězců moče za 24 hodiny
Subklasifikace	A: Normální funkce ledvin.
	B: Renální insuficience s retencí dusíkatých látek.

Tato klasifikace slouží hlavně pro posouzení závažnosti a rozsahu nemoci. Obsahuje koncentrace hemoglobinu, vápníku, hladiny M-proteinu a počet kostních lézí (Stevenson a kol., 2014). Je užitečná zejména při identifikaci pacientů v IA fázi onemocnění. Toto stádium

je těmito a CRAB kritérii řazeno do indolentního myelomu, proto u pacientů není nutné zahajovat protinádorovou léčbu, prozatím stačí pravidelné kontroly (Maisnar, Hájek, 2008).

V roce 2005 pak IMWG zveřejnila nový prognostický systém pro MM (Tab. IV.), který je přehlednější a jednodušší než ten původní. Je to dáno tím, že využívá pouze dva laboratorní ukazatele, a to sérové koncentrace albuminu a β_2 -mikroglobulinu stanovujících se v době diagnózy (Stevenson a kol., 2014; Maisnar, Hájek, 2008).

Tab. IV: Mezinárodní prognostický systém pro mnohočetný myelom (Stevenson a kol., 2014).

Klinické stádium I	β_2 -mikroglobulin < 3,5 a albumin > 35g/l nebo = 35g/l
Klinické stádium II	β_2 -mikroglobulin < 3,5 a albumin < 35g/l nebo β_2 -mikroglobulin 3,5-5,5 a albumin >35g/l nebo = 35g/l
Klinické stádium III	β_2 -mikroglobulin > 5,5

1.7 Léčba

Při potvrzení diagnózy MM je nutné co nejdříve zahájit vhodnou intenzivní léčbu. V dnešní době je díky zdokonalování léčebných procesů a novým lékům stále vyšší medián přežití. Mnohé studie tak díky inovativní léčbě uvádí dobu přežití nad 10 let zhruba u 20% pacientů. U těch, kteří podstupují intenzivnější léčbu spolu s transplantací tkáně je to až 30%. Avšak vždy záleží na celkovém stavu pacienta, a především na stádiu, ve kterém se nemoc podaří zachytit. Někteří lékaři se dokonce shodují na možnosti úplného vyléčení pacienta s MM, a to právě díky správné kombinaci nových léků (Adam, Maisnar, 2008).

Hlavním cílem komplexní protinádorové léčby je dosažení remise nemoci, tedy stavu, kdy dojde k částečnému nebo úplnému zmizení jak laboratorních známek, tak klinických projevů MM. V momentě docílení tohoto stavu se terapie přerušuje a pacient je sledován. Léčba se obnovuje, jakmile dojde k znovu vzplanutí nemoci, tak zvanému relapsu (Adam, Vorlíček, 2007). Mezi základní formy léčby patří chemoterapie a autologní transplantace kostní dřeně či kmenových krvetvorných buněk (Adam, Vorlíček, 2001).

Cílem této komplexní léčby, do které spadá také podpůrná léčba např. pomocí bisfosfonátů, je jak redukce počtu patologických plazmatických buněk, tak řešení komplikací, spojené s touto nemocí (Adam, Vorlíček, 2007).

1.7.1 Chemoterapie

Léčba chemoterapií je standartním postupem u pacientů starších 65 let nebo i mladších pacientů s kontraindikací autologní transplantace kostní dřeně. K zahájení dojde až při nepochybné progresi nemoci a zároveň tedy i při symptomatických projevech uvedených výše (viz. Tab. III). Klasická chemoterapie se podává se ve většině případů podává po dobu 7 až 9 měsíců, pokud není doporučeno jinak, až do doby, kdy je dosaženo maximálního snížení monoklonálního imunoglobulinu, tedy remise nemoci. Správné zvolení léčebného protokolu je velmi důležité a je to i předmětem několika studií posledních let. Mezi kombinace léků s rychlým nástupem patří melfalan a prednison, jejichž výhodou je rychlejší zlepšení kvality života u pacientů s bolestivými či jinak závažnými příznaky. Proto je častěji aplikována u spíše starších jedinců s velmi pozvolně probíhající chorobou. Tento léčebný postup byl porovnáván s řadou polychemoterapeutických režimů. Tyto postupy dosahují na rozdíl od AP kombinace léčebné odpovědi u agresivních rychle probíhajících forem MM (Adam, Vorlíček, 2001).

1.7.2 Vysokodávková chemoterapie s autologní transplantací krvetvorné tkáně

Tento typ léčby je považován od 90. let 20. století za standartní léčbu pro pacienty mladší 65 let, kteří jsou v dobrém celkovém stavu. Pacient nejprve podstupuje 3 až 5 cyklů klasické indukční chemoterapie, která je následně zakončena vysokodávkovou chemoterapií s autologní transplantací kostní dřeně nebo kmenových hematopoetických buněk, které jsou získány z periferní krve. Za vhodnou indukční chemoterapii před samotnou transplantací je považována chemoterapie VAD. Je to díky tomu, že výrazně nepoškozuje kmenové krvetvorné buňky a také umožňuje jejich sběr v dostatečném množství pro několik autologních transplantací (Adam, Vorlíček, 2001). U nemocného dochází po podání štěpu k obnově krvetvorby zhruba za 14 dnů. Nicméně v tomto 14denním období, při nedostatku krvinek nutných k obraně, je pacient velice náchylný k různým infekčním komplikacím. Ty se sice daří bez větších rizik kontrolovat a potlačit kombinovanou léčbou antibiotiky a růstovým faktorem krvetvorby, ale nejlepší je pacienta umístit na speciální izolační pokoj, který umožňuje omezený možný přenos infekcí zvnějšku. Vhodnost této léčby u mladších pacientů dokazují i studie, poukazující na stále se prodlužující délku remise i celkového přežití (Adam, Maisnar, 2009).

2 Cíle práce a hypotézy

Cíl práce:

- Sledování odpovědi na chemoterapeutickou léčbu u pacientů s mnohočetným myelomem pomocí stanovení paraproteinu elektroforézou bílkovin a stanovení volných lehkých řetězců

Hypotézy:

- 1) Obě metody jsou pro tento účel použitelné a ve většině případů podávají velice podobné informace.
- 2) Individuálně lze najít pacienty, u kterých se vývoj paraproteinu a volných lehkých řetězců odlišuje.
- 3) Účinnost jednotlivých léčebných protokolů se liší.

3 Metody práce

Vzorky krve sledované skupiny pacientů byly analyzovány v LKCHI laboratoři nemocnice České Budějovice a.s.. Mezi základní vyšetření patří elektroforéza bílkovin a stanovení volných lehkých řetězců. Tyto testy lze provést jak v séru, tak v moči.

3.1 Elektroforéza bílkovin

Jde o rutinní, běžně používanou techniku klinickými laboratořemi ke screeningu bílkovinných abnormalit ve vzorcích. Výsledkem je potom profil bílkovin pro kvalitativní a kvantitativní analýzu. Nejčastěji používaným dělicím médiem, tedy nosičem, bývá agaróza a acetylovaná celulóza. Ovšem v posledních 3 letech se čím dál častěji používá i kapilární elektroforéza. Jako stěžejní screeningová metoda se využívá zejména pro stanovení paraproteinů v séru nebo i moči. Při rutinní elektroforéze bývá paraprotein prokazován asi v 1% frekvenci (Tichý, Maisnar, 2006). Elektroforéza je velmi citlivá metoda, která dokáže zachytit M-gradienty kolem 0,5g/l. Komplikace nastávají například při přítomnosti monoklonálních lehkých řetězců kappa nebo lambda, kdy M-gradient nemusí být v elektroforeogramu séra přítomen. Kromě stanovení paraproteinu poskytuje elektroforetický obraz řadu informací i pro monoklonální, polyklonální a oligoklonální hypergamaglobulinemii, nefrotický syndrom, akutní či chronický zánět a další (Tichý a kol., 2006).

Systém přístroje CAPILLARYS od firmy Sebia, v mém případě sada CAPILLARYS PROTEIN(E) 6 používaná LKCHI laboratoří nemocnice České Budějovice a.s., je určena pro separaci proteinů v lidské moči a séru, kdy je používán princip kapilární elektroforézy ve volném (alkalickém tlumícím) roztoku. CAPILLARYS provádí všechny operace automaticky a jeho výsledkem je profil bílkovin pro kvantitativní či kvalitativní analýzu. Elektricky nabitě molekuly jsou separovány dle své elektroforetické pohyblivosti v alkalickém pufru o daném pH. Tato separace je dále závislá i na elektroosmotickém toku a pH elektrolytu. Celý systém obsahuje 8 kapilár, které umožňují 8 paralelních analýz. Ředění vzorku puftrem je připraveno a vpraveno aspirací na anodickém kapilárním konci. Poté následuje vysokovoltážní separace proteinů a jejich přímá detekce při 200nm na katodickém konci kapiláry. Tyto kapiláry jsou dále ihned promývány promývacím roztokem a připraveny k další analýze. Výsledný profil bílkovin je potom následovný: gamaglobuliny, beta-2 globuliny, beta-1 globuliny, alfa-2 globuliny, alfa-1 globuliny a albumin. Každá zóna obsahuje jednu nebo více bílkovin (Sebia, 2014).

3.2 Stanovení volných lehkých řetězců

Jedná se o analytickou metodu, která dokáže stanovit volné lehké řetězce v séru, popřípadě v moči. Provádí se buď imunoturbidimetry, imunonefelometry nebo nově enzymoimunoanalytickým stanovením. Zvýšené hodnoty monoklonálních volných lehkých řetězců a abnormální poměr FLC kappa/lambda bývají spojeny s maligní proliferací plazmatických buněk, jako je právě MM, či chorobou spojenou s depony lehkých řetězců. Tato metoda využívá protilátky, která je zaměřena na vnitřní epitop lehkého řetězce. Tím odliší volné lehké řetězce od těch vázaných. Tato velice citlivá metoda je schopná stanovit koncentraci FLC od 1mg/l, což umožňuje určit jinak obtížně diagnostikovatelný tzv. nesekretorický myelom. (Tate a kol., 2007; Ščudla a kol., 2005). Další výhodou FLC při monitorování je jejich krátký biologický poločas pohybující se okolo 3 hodin. V případě imunoglobulinů se biologický poločas pohybuje v řádech dnů (Ščudla a kol., 2008). Stanovení FLC kappa a lambda a indexu klonality FLC je tedy doporučeno pro screening, diagnostiku, stanovení prognózy a monitoring pacientů s MM s produkcí intaktního imunoglobulinu, MM s produkcí lehkých řetězců, nesekrečním MM, indolentním MM, solitárním plasmocytomem, Waldströmovou makroglobulinémií, MGUS, AL amyloidózou, chorobou spojenou s depony lehkých řetězců, autoimunitní chorobou (Anonymous6, 2017).

LKCHI laboratoř nemocnice České Budějovice a.s. provádí stanovení volných lehkých řetězců nefelometry pomocí systému N Latex FLC kappa a N Latex FLC lambda od firmy Siemens na přístroji Siemens BNTM. Principem této metody jsou polystyrenové latexové částice s navázanými monoklonálními protilátkami proti lidským FLC epitopům, typu kappa nebo lambda, které jsou v podstatě aglutinovány při smíchání se vzorky obsahujícími FLC. Shluky vzniklé aglutinací následně rozptylují paprsek světla procházejícího skrz vzorek. Intenzita rozptýleného světla je potom úměrná množství shluků ve vzorku a tím tedy i koncentraci antigenu ve vzorku. Výsledek se vyhodnotí porovnáním vzorku se standardem o známé koncentraci (Siemens, 2015).

3.3 Statistické zpracování dat

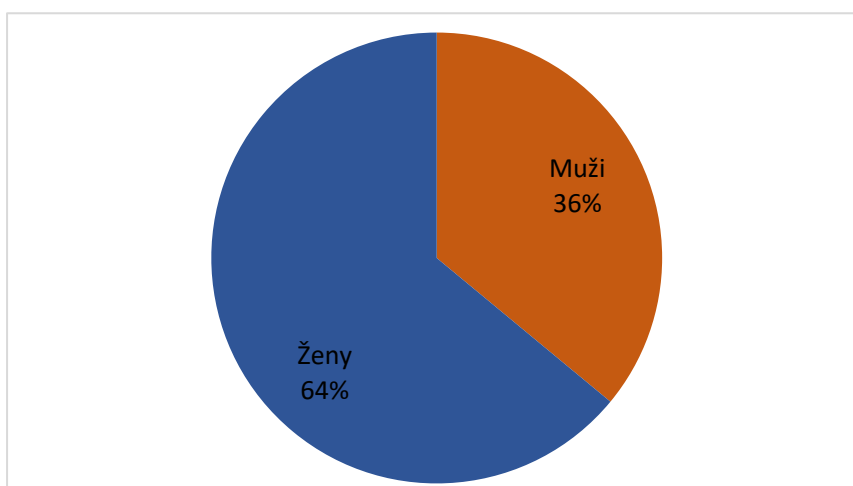
Veškerá data byla sesbírána na oddělení klinické hematologie nemocnice České Budějovice a.s. z klasických a elektronických karet pacientů. Poté byla zpracována v programu MS Excel. Nejprve byl u jednotlivých pacientů spočten procentuální pokles nebo naopak vzestup hodnot měření paraproteinu a FLC vztažený vždy k prvnímu měření. Druhým krokem bylo roztrídění nemocných podle typu léčebného režimu a zvolení časových intervalů, které v mém případě odpovídaly měsíčním rozestupům. Všechny spočtené hodnoty každého

pacienta byly zařazeny do tabulky daného typu léčby ke svým časovým intervalům a poté z nich byla vypočtena průměrná hodnota pro každé časové rozmezí. Tyto konečné hodnoty pak byly vyneseny do grafu závislosti dynamiky měření (v procentech) na čase (v měsících). Nakonec byla stanovena standardní chyba průměru a také zaznamenána do grafu. Tento postup byl aplikován u každého typu léčby.

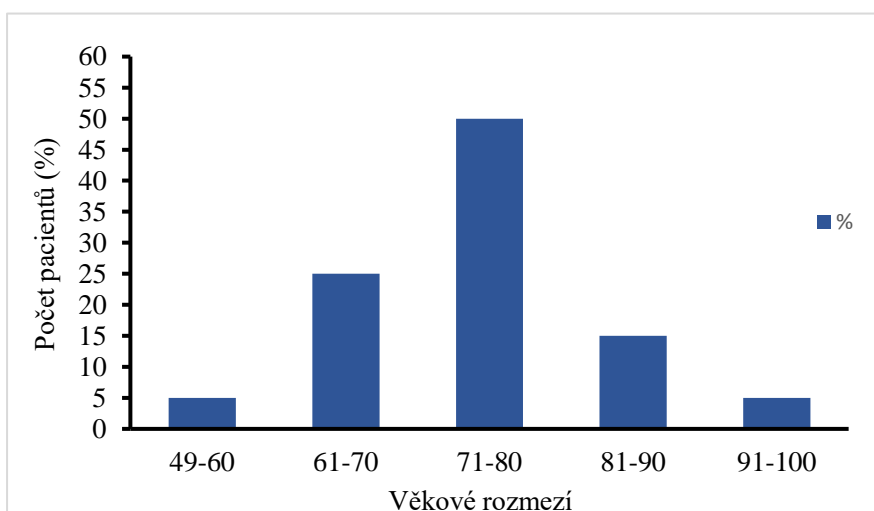
4 Výsledky

4.1 Obecná charakteristika vzorku pacientů

Pro sledování a následné vyhodnocení bylo v období od 1.1.2015 do 31.12.2016 z celkového počtu pacientů s MM diagnózou hematologického oddělení nemocnice České Budějovice a.s. vybráno 40 pacientů. Konkrétně se jednalo o 15 mužů a 25 žen (Obr. 7) ve věkovém rozmezí 50-92 let, s průměrem 74 let (Obr. 8). Základním výběrovým kritériem bylo alespoň 5 dohledatelných laboratorních měření paraproteinu (PP) či volných lehkých řetězců (FLC) ať už s kappa nebo lambda dominancí, aby tato měření mohla být aplikovaná pro časovou řadu. Další podmínkou byla nutná přítomnost prvního měření, tedy měření v období zahájení léčby, což bylo potřebné pro pozdější stanovení hodnot vynášených do grafů.



Obr. 7: Procentuální podíl mužů a žen v pozorovaném vzorku v rozmezí let 2015-2016.



Obr. 8: Věkové rozčlenění vzorku pacientů v procentech v rozmezí let 2015-2016.

U každého pacienta byla po kompletním vyšetření zahájena léčba, respektive zvolena kombinace chemoterapeutických léčiv, případně s následnou autologní transplantací.

Jednotlivé léčebné protokoly potom měly určitý vliv na sledované hodnoty, tedy na stav paraproteinu a FLC, který by měl při vhodně zvolené léčbě klesat.

Pacientům byla aplikována buď autologní transplantace nebo následující léčebný protokol:

- VD – bortezomib + dexamethason
- CVD – cyklofosfamid + bortezomib + dexamethason
- VMP – bortezomib + melphalan + prednison
- AP – melphalan + prednison
- RD – lenalidomid + dexamethason
- CAD – cyklofosfamid + adriamycin + dexamethason
- CTD – cyklofosfamid + thalidomid + dexamethason
- VTD – bortezomib + thalidomid + dexamethason

Pro cíl mé práce byli jednotliví pacienti rozděleni podle jednotlivých u nich zvolených léčebných protokolů a poté byla pozorována dynamika hodnot paraproteinu a FLC. Léčby VD, CVD a VMP byli sloučeny do jednoho grafu a následně vzájemně porovnány.

4.2 VD, CVD a VMP léčebné protokoly

Typy léčebných režimů VD, CVD a VMP byli nejčastěji aplikovanými režimy sledovaného vzorku pacientů. Pravděpodobně je to díky léku bortezomib, který je považován za jeden z nejúčinnějších léků MM současnosti. Věkový rozsah vzorku pacientů s těmito typy léčby je 68-92 let, jak je patrné z tabulky V (Tab. V). Na procentuální podíl mužů a žen potom odkazuje tabulka VI (Tab. VI).

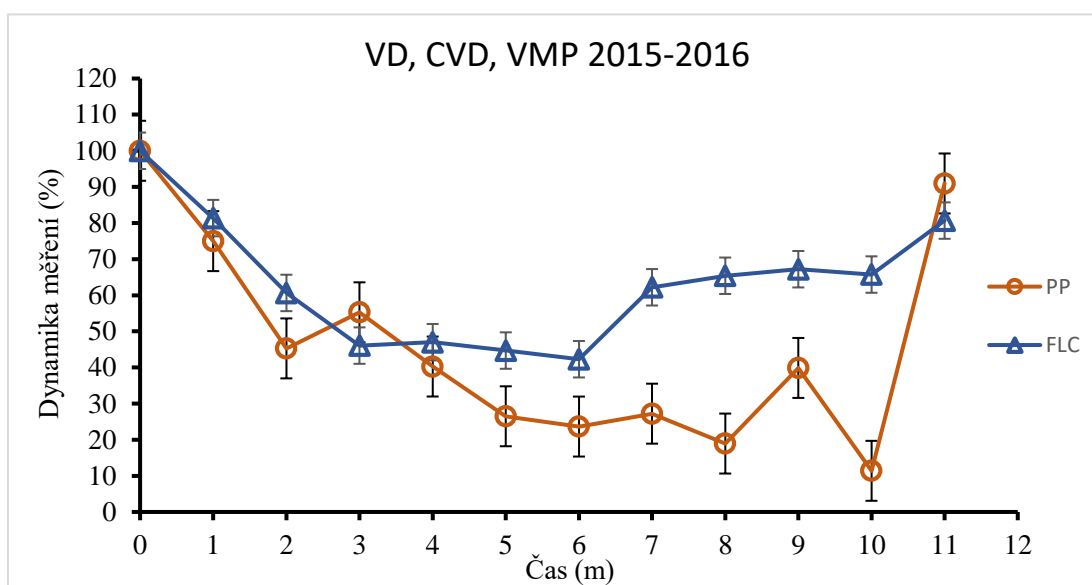
Tab. V: Procentuální věkové podíly pacientů léčebných režimů VD, CVD a VMP v rozmezí let 2015-2016.

Věkové rozmezí	49-60	61-70	71-80	81-90	91-100
%	0	17	61	18	4

Tab. VI: Procentuální zastoupení mužů a žen léčebných režimů VD, CVD a VMP v rozmezí let 2015-2016.

Pohlaví	Muži	Ženy
%	39	61

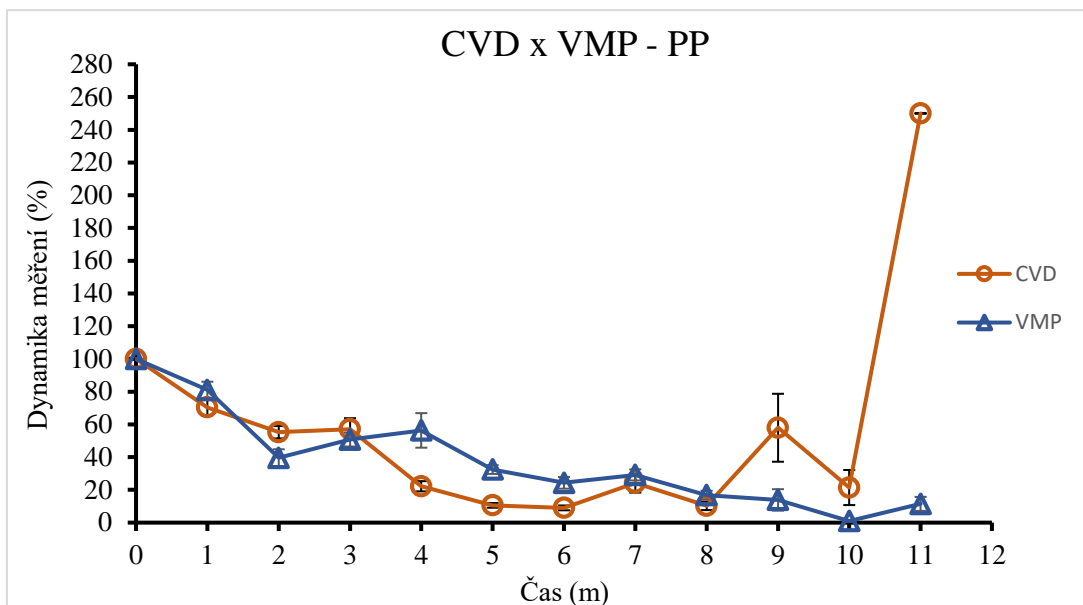
Všichni pacienti léčebných protokolů VD, CVD a VMP splňovali hlavní výběrové kritérium, tedy alespoň 5 dohledatelných hodnot měření paraproteinu nebo FLC. Vzájemné porovnání dynamiky hodnot paraproteinu a FLC reagujících na jeden ze tří výše zmíněných typů léčby je vidět v grafu závislosti dynamiky měření na čase (Obr. 9).



Obr. 9: Vzájemné porovnání průměrných hodnot měření paraproteinu a FLC jako odpověď na VD, CVD a VMP léčbu daného vzorku pacientů v rozmezí let 2015-2016.

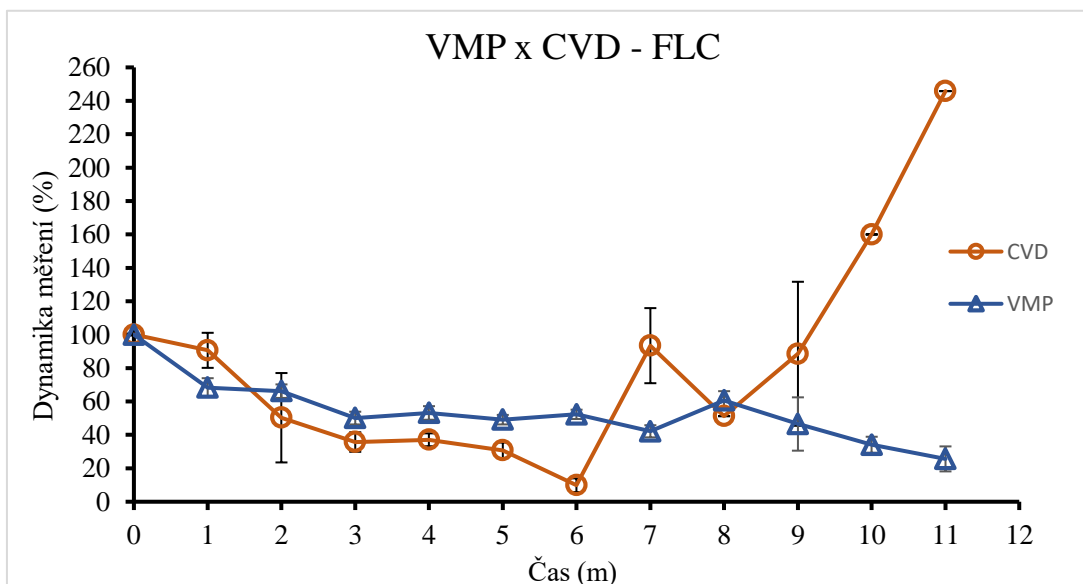
Z grafu (Obr. 9) je zřejmé, že vývoj trendu v první půli, během prvních 6 měsíců, odpovídá očekávanému výsledku, tedy poklesu obou pozorovaných parametrů v důsledku odpovědi na léčbu. Od šestého měsíce se křivky pro paraprotein a FLC rozcházejí s tím, že hodnoty paraproteinu stále pozvolna klesají, zatímco FLC křivka opět narůstá. To může být způsobeno například přerušением léčby, na které rychleji zareagovala změna FLC. Také se může jednat o konkrétního pacienta, který se svými hodnotami měření vymyká průměrnému trendu, čímž vychyluje především konečný vývoj změn.

Podrobnější srovnání účinnosti CVD a VMP léčebného protokolu, a tedy i reakce FLC a paraproteinu na tyto režimy ukazují následující dva grafy (Obr. 10), (Obr. 11).



Obr. 10: Vzájemné porovnání účinku CVD a VMP léčebného režimu na hodnoty paraproteinu.

Z tohoto grafu (Obr. 10) je patrné, že účinky obou typů chemoterapeutické léčby na hladinu paraproteinu jsou velice podobné. Průměrná hodnota v 11. měsíci u CVD režimu, která je vidět i v předchozím sloučeném grafu (Obr. 9) je tedy opět způsobena abnormální hodnotou naměřenou u konkrétního pacienta.



Obr. 11: Vzájemné porovnání účinku CVD a VMP léčebného režimu na hodnoty FLC.

Také na hladinu FLC mají dle grafu (Obr. 11) oba typy léčby víceméně stejný účinek. Konečný vývoj trendu u CVD protokolu je zde pravděpodobně opět dán výskytem nestandardních hodnot pacienta.

4.3 RD léčebný protokol

Kombinace léků lenalidomidu a dexamethasonu je další velice účinnou protinádorovou léčbou, která dokáže pozměnit a upravit fungování imunitního systému. Pacienti s aplikací tohoto režimu opět splnili jak 5 dohledatelných měření paraproteinu či FLC, tak výskyt první naměřené hodnoty alespoň u jednoho z parametrů. Věkové rozmezí sledovaného vzorku nemocných je 61-79 let (Tab. VII). Rozložení mužů a žen je vidět v tabulce VIII (Tab. VIII).

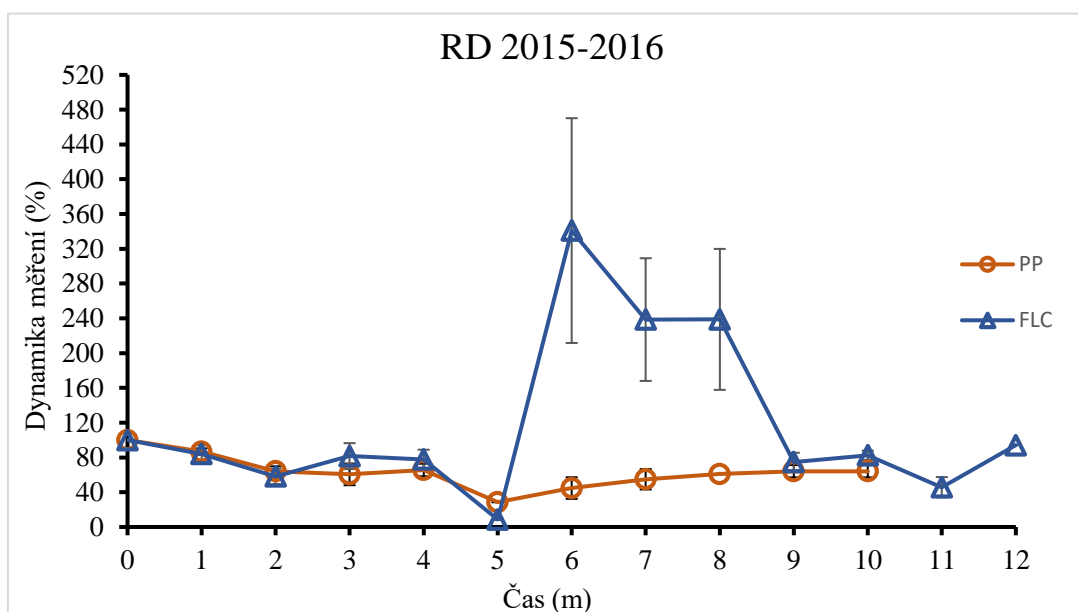
Tab. VII: Procentuální věkové rozložení vzorku pacientů léčebného režimu RD v rozmezí let 2015-2016.

Věkové rozmezí	49-60	61-70	71-80	81-90	91-100
%	0	33	67	0	0

Tab. VIII: Procentuální zastoupení mužů a žen chemoterapeutického typu léčby RD v rozmezí let 2015-2016.

Pohlaví	Muži	Ženy
%	67	33

Léčebná odpověď na příslušný léčebný protokol, respektive reakce hladin paraproteinu a FLC na RD léčbu jsou znázorněny v následujícím grafu (Obr.12).



Obr. 12: Vzájemné porovnání průměrných hodnot měření paraproteinu a FLC v důsledku působení RD léčebného režimu u daného vzorku pacientů v rozmezí let 2015-2016.

V grafu (Obr. 12) je dobře vidět, že do 5. měsíce jsou obě křivky trendu téměř identické, což avizuje stejně rychlou odezvu na podání RD léčebného režimu. Náhlý odskok pouze FLC hodnot není zcela jasný, protože v konečné fázi se oba parametry opět schází. Z grafu (Obr. 12) je dále zřejmé, že sledovaný vzorek pacientů poskytoval měřené hodnoty paraproteinu pouze do 10. měsíce od zahájení léčby.

4.4 CTD léčebný protokol

Velice účinnou komponentou této kombinace je lék thalidomid, který je také poměrně hojně využíván v protinádorové terapii. Každý nemocný pozorovaného vzorku pacientů s tímto typem léčebného režimu také splňuje všechna nezbytná kritéria pro sledování dynamiky hodnot paraproteinu a FLC v důsledku použití CTD léčby. Věková struktura pacientů se pohybuje v rozmezí 62-80 let (Tab. IX). Složení vzorku podle pohlaví je v tomto případě vyrovnané (Tab. X).

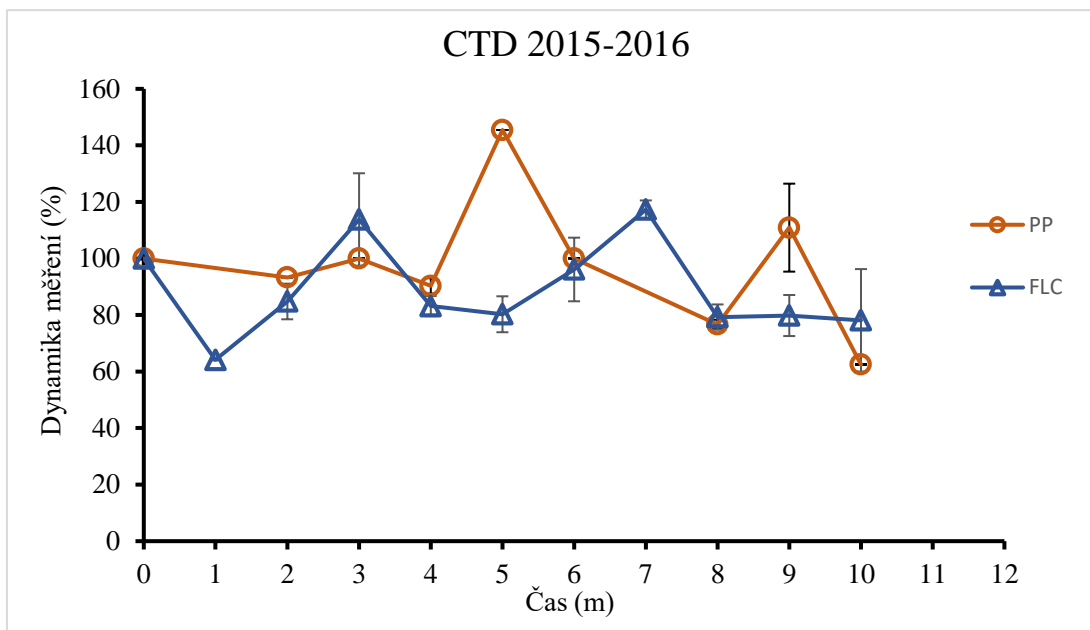
Tab. IX: Věkové rozložení vzorku pacientů léčebného režimu CTD v rozmezí let 2015-2016.

Věkové rozmezí	49-60	61-70	71-80	81-90	91-100
%	0	67	33	0	0

Tab. X: Procentuální zastoupení mužů a žen pro CTD léčebný režim v rozmezí let 2015-2016.

Pohlaví	Muži	Ženy
%	50	50

Vzájemné srovnání vývojových změn průměrných hodnot paraproteinu a FLC v reakci na CTD typ chemoterapie je prokazatelné z grafu (Obr. 13) se zvolenými měsíčními intervaly měření.



Obr. 13: Vzájemné porovnání průměrných hodnot měření paraproteinu a FLC v důsledku působení CTD typu léčby u daného vzorku pacientů v rozmezí let 2015-2016.

Celkový průběh trendu tohoto grafu (Obr. 13) se odlišuje od očekávaného výsledku. Pokles hodnot obou sledovaných parametrů vztažený k prvnímu měření je velmi malý, ve většině případů hodnoty stagnují nebo vzrůstají se střídavou tendencí. Je tedy pravděpodobné, že hodnoty měření většiny pacientů sledovaného vzorku s CTD režimem neodpovídají běžnému vývoji s očekávaným průměrem.

4.5 AP léčebný protokol

Léčebná terapie pomocí melfalan-prednisonu dříve patřila k prvním poměrně úspěšným klasickým režimům chemoterapie. Hojně se využívá i dnes. Základním výběrovým kritériím odpovídalo z celkového vzorku pacientů i několik nemocných majících AP léčebný protokol. Jejich věkové složení se pohybovalo od 74 do 83 let (Tab. XI). Podíl mužů a žen byl podobný jako u předcházejících typů léčeb (Tab. XII).

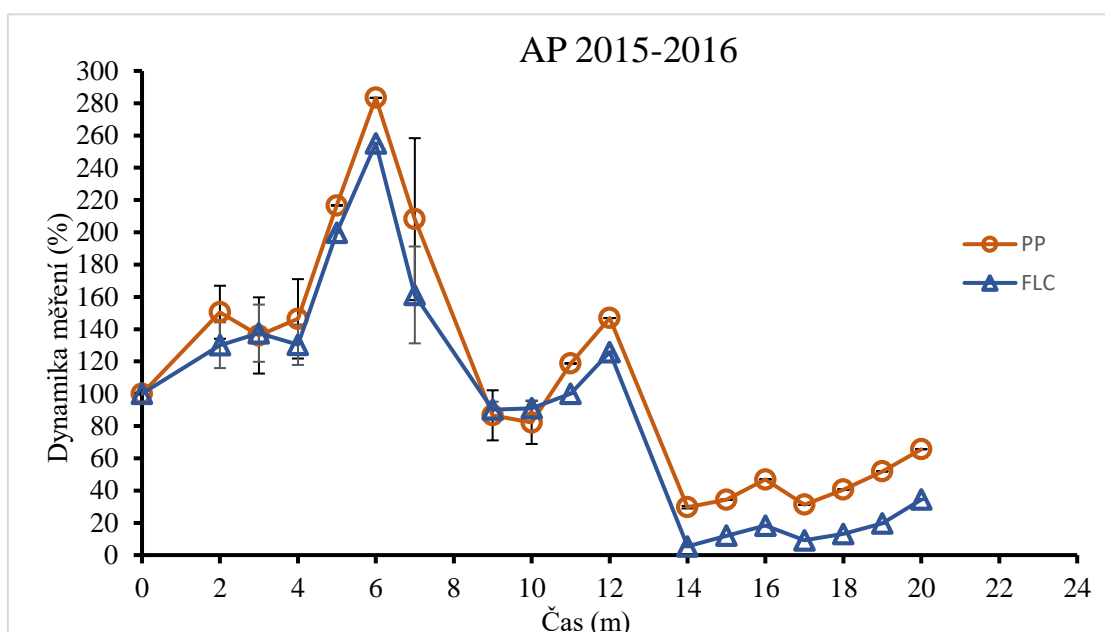
Tab. XI: Procentuální věkové rozložení vzorku pacientů léčebného režimu AP v rozmezí let 2015-2016.

Věkové rozmezí	49-60	61-70	71-80	81-90	91-100
%	0	33	67	0	0

Tab. XII: Procentuální zastoupení mužů a žen pro AP léčebný režim v rozmezí let 2015-2016.

Pohlaví	Muži	Ženy
%	33	67

Pro porovnání všech průměrných hodnot paraproteinu a FLC u AP režimu bylo nutné prodloužit časovou osu o jeden rok, aby mohla být výsledná data aplikovaná na časovou řadu řádně konfrontována spolu s účinkem daného typu léčby (Obr. 14). Jednalo se o důsledek kontinuálního sběru dat několika pacientů, kteří nepřerušili v tomto období léčbu.



Obr. 14: Vzájemné porovnání průměrných hodnot měření paraproteinu a FLC v důsledku působení AP léčebného protokolu u daného vzorku pacientů v rozmezí let 2015-2016.

Informace získané z grafu (Obr. 14) udávají téměř shodné výsledky sledovaných parametrů. Vývoj trendu paraproteinu i FLC se pohybuje v rámci očekávání, až na vychýlení mezi 4. až 7. měsícem a také během měření po 12 měsících došlo k mírnému vzestupu hodnot. Prodloužení časové osy mělo význam při celkovém hodnocení vlivu AP léčby na obě sledované hodnoty, vzhledem k jejich pravidelnému měření po dobu 1 roku a 8 měsíců. Jak je vidět i v předchozích grafech, skoro u každého léčebného režimu lze najít pacienta vymykajícího se standartnímu průběhu léčby, to znamená náhodným výkyvům hodnot paraproteinu či FLC bez jasných důvodů. Lze považovat za neobvyklý vývoj i prudký pokles hodnot v konečné části grafu.

4.6 CAD léčebný protokol

CAD léčebný protokol se v praxi využívá o něco méně, což je dáno jeho menší účinností v porovnání například s bortezomibem či lenalidomidem. Nicméně tento typ léčby je zase o něco dostupnější a byl také aplikován i několika pacientům ze sledovaného vzorku nemocných oddělení klinické hematologie nemocnice České Budějovice a. s. v časovém období let 2015-2016. Tito pacienti tedy opět splnili veškerá výběrová kritéria této práce a jejich věkové rozmezí je 50-72 let (Tab. XIII). Procentuální podíl mužů a žen je vyrovnaný (Tab. XIV).

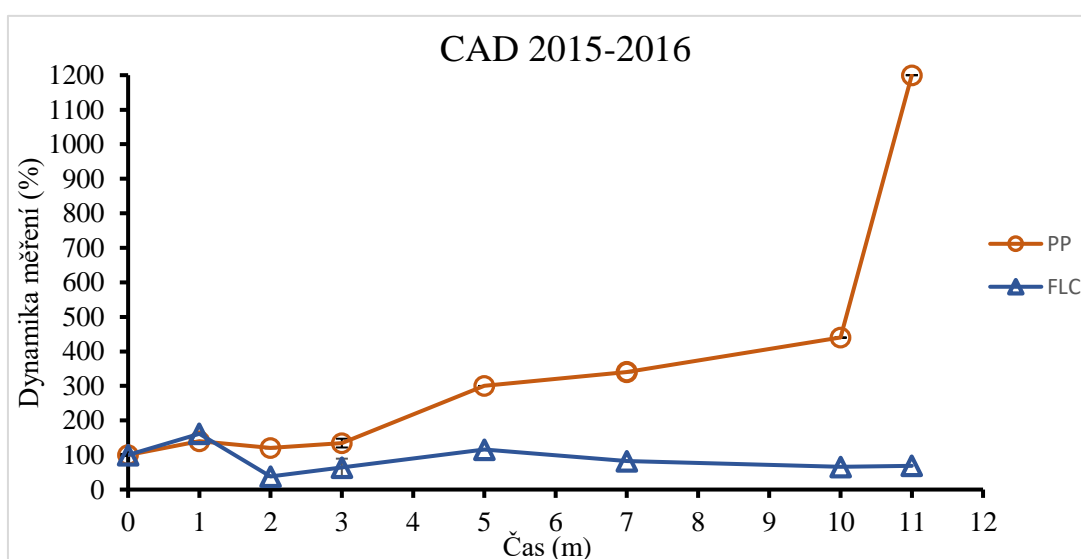
Tab. XIII: Procentuální zastoupení věkové struktury vzorku pacientů léčebného režimu CAD v rozmezí let 2015-2016.

Věkové rozmezí	49-60	61-70	71-80	81-90	91-100
%	50	0	50	0	0

Tab. XII: Procentuální podíl mužů a žen pro CAD léčebný režim v rozmezí let 2015-2016.

Pohlaví	Muži	Ženy
%	50	50

Porovnání vývoje trendu průměrných hodnot paraproteinu a FLC vzhledem k účinnosti aplikovanému typu CAD léčby je zobrazeno v následujícím grafu (Obr. 15).



Obr. 15: Vzájemné porovnání průměrných hodnot měření paraproteinu a FLC v důsledku působení CAD léčebného protokolu u daného vzorku pacientů v rozmezí let 2015-2016.

Z tohoto grafu (Obr. 15) je zřejmé, že odpověď jednotlivých parametrů na CAD léčbu je odlišná. Hodnoty FLC, jak se zdá, reagují na léčbu a s drobnými výkyvy se stále drží v sestupné tendenci. Zatímco hodnoty paraproteinu výrazně stoupají již od 3. měsíce a při měření po 10 měsících se absolutně vychylují.

4.7 VTD léčebný protokol

Kombinace léků thalidomidu s bortezomibem je považována za velice účinnou a využívá se například před autologní transplantací krvetvorné tkáně. Vybraní pacienti sledovaného vzorku s touto léčbou tedy také splnili výběrové požadavky nezbytné pro vyhodnocení odpovědi paraproteinu a FLC na daný typ léčby. Této skupině pacientů odpovídá věkové rozmezí 50-57 let (Tab. XV). Rozdělení mužů a žen je v tomto případě uniformní, sledovaný vzorek pacientů tvoří pouze ženy (Tab. XVI).

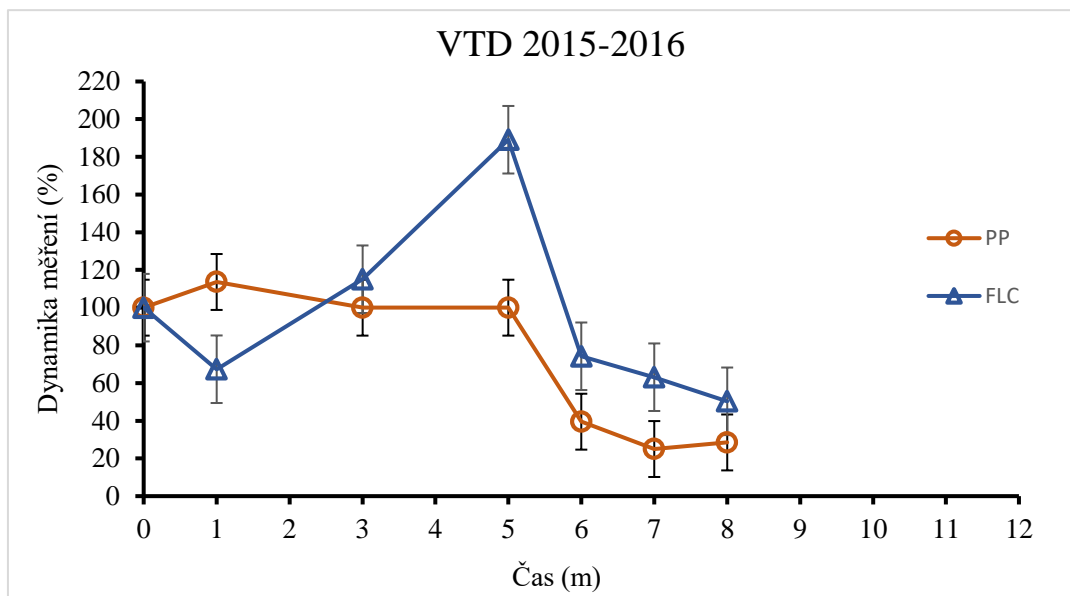
Tab. XV: Procentuální podíl věkové struktury vzorku pacientů léčebného režimu VTD v rozmezí let 2015-2016.

Věkové rozmezí	49-60	61-70	71-80	81-90	91-100
%	100	0	0	0	0

Tab. XVI: Procentuální podíl mužů a žen pro VTD léčebný režim v rozmezí let 2015-2016.

Pohlaví	Muži	Ženy
%	0	100

Výsledné průměrné hodnoty sledovaných proměnných, tedy paraproteinu a FLC, vztažených k účinnosti léčby VTD léčebného protokolu jsou zobrazeny v grafu (Obr. 16).

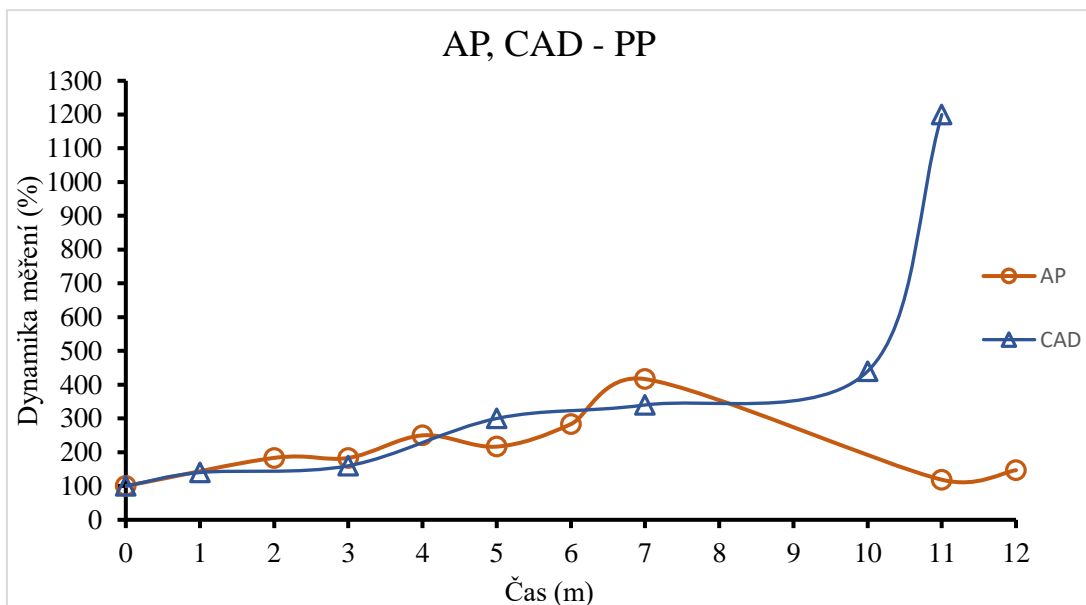


Obr. 16: Vzájemné porovnání průměrných hodnot měření paraproteinu a FLC v důsledku působení VTD léčebného režimu u daného vzorku pacientů v rozmezí let 2015-2016.

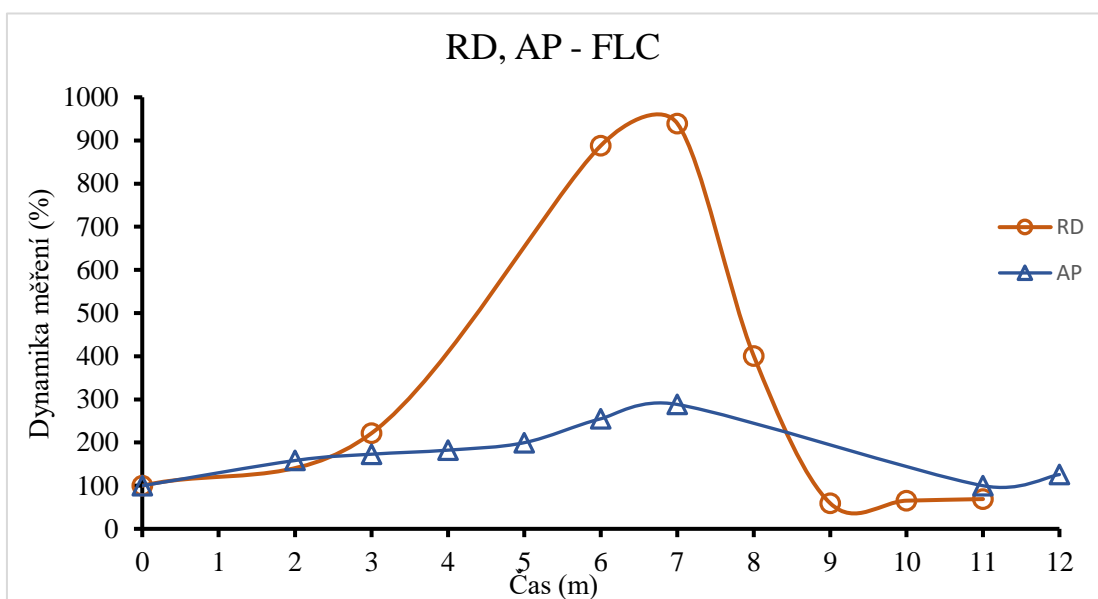
Z grafu (Obr. 16) je vidět, že změny trendu jsou pro každou ze sledovaných os odlišné. Zatímco hodnoty paraproteinu v první půlce spíše stagnují a poté klesají, průměrné hodnoty FLC měření sice po prvním měsíci klesly, ovšem následně došlo k vzestupu až do 5. měsíce. Následný pokles hodnot už odpovídá standardnímu průběhu.

4.8 Individuální odchylky

Při aplikaci léčebného protokolu se předpokládá určitý vývoj jak hodnot paraproteinu tak FLC. V případě účinnosti léčby by měly hodnoty obou parametrů klesat. Ovšem ne vždy je výsledek podle očekávání. Individualita každého pacienta, to znamená fáze nemoci, typ předchozí chemoterapie nebo celkový zdravotní stav, se odráží i na typu a účinku jednotlivých léčebných režimů. I rychlost odpovědi nemocného na chemoterapii se pacient od pacienta liší. Samotné odchylky mohou být v rámci jediného měření jako výjimka nebo to může být zcela vychylující se řada hodnot určitého časové období.



Obr. 17: Příkladné zobrazení odchýlených hodnot měření paraproteinu u pacientů léčebných režimů AP a CAD.



Obr. 18: Příkladné zobrazení odchýlených hodnot měření FLC u pacientů s léčebnými protokoly RD a AP.

V obou případech jsou v grafech (Obr. 17), (Obr. 18) uvedené konkrétní hodnoty vzestupů/poklesů vždy jednoho pacienta pro příkladný typ léčby, nikoli celkové průměry časových intervalů.

4.8.1 Účinnost jednotlivých léčebných protokolů

Jak jsem již výše zmiňovala, účinnost jednotlivých léčebných režimů se liší a také jsou velice důležité další okolnosti přispívající k výsledné odpovědi pacienta na danou léčbu. U sledovaného vzorku 40 pacientů vyšetřených na oddělení klinické hematologie nemocnice

České Budějovice a.s. za časové období 2015-2016 bylo použito 7-8 chemoterapeutických protokolů, přičemž každý vykazoval jinou účinnost (viz Obr. 9-16).

Srovnání jednotlivých typů léčebných režimů sleduje tabulka (Tab. XVII), ve které jsou zaznamenány průměrné hodnoty měření po šesti měsících od měření počátečního.

Tab. XVII: Porovnání průměrných hodnot měření paraproteinu a FLC u jednotlivých léčebných režimů šestý měsíc od prvního měření.

Typ léčebného protokolu	Paraprotein (%)	Volné lehké řetězce (%)
CVD	9,00	9,90
VMP	24,30	52,30
RD	44,79	340,93
CTD	100,00	96,11
AP	283,33	255,10
CAD	340,00	82,43
VTD	39,50	74,21

Hodnota FLC u RD cyklu a hodnota PP u CAD režimu jsou zcela zavádějící. Takto vysoké hodnoty jsou způsobeny malým počtem pacientů u obou zmíněných léčeb.

4.9 Individuální odchylky vývoje paraproteinu a FLC

Jedná se o odlišný vývoj paraproteinu a FLC vztažený k určitému typu léčby v rámci jednoho nebo i více pacientů. Tento případ se objevil i u mnou sledovaného vzorku pacientů. V prvním případě došlo k vychýlení hodnot paraproteinu (viz Obr. 15). Druhým případem je naopak odchylka hodnot FLC, zatímco paraprotein se vyvíjí dle očekávání (viz Obr. 16).

5 Diskuze

Cílem mé práce bylo sledovat odpověď na chemoterapeutickou léčbu stanovením paraproteinu elektroforézou a stanovením volných lehkých řetězců. Obě tyto metody spolu s imunofixační elektroforézou patří mezi základní vyšetření při stanovení mnohočetného myelomu (Šálek, 2008). V praktické části své práce jsem se tedy zaměřila na sledování průběhu křivek průměrných hodnot paraproteinu a FLC vztažených k měsíčním časovým intervalům. Dosud byl za charakteristický ukazatel výskytu a vývoje MM považována zejména koncentrace paraproteinu. Dále jsem tedy pozorovala, jak se od sebe liší informace jednotlivých parametrů, to znamená, jestli se vývoj paraproteinu lišil či nelišil od vývoje FLC v závislosti na příslušný typ léčby. Bohužel studie pojednávající o vývoji hodnot paraproteinu a FLC vzhledem k jednotlivým léčebným protokolům v podstatě nejsou k dohledání, protože se danou tematikou s tímto konkrétním zaměřením nikdo nezabýval. Stejně tak pro vlastní porovnání obou parametrů navzájem s takto malým vzorkem pacientů není žádná studie k dispozici.

Celková charakteristika sledovaného vzorku pacientů svým věkovým průměrem 74 let spadá do obecně považovaného kritického věku výskytu MM. Dle studie Stevenson a kol. (2014) je tento věk 70 let, což se od mého zjištěného průměru příliš neliší. Některé studie jako například Raab a kol. (2009) uvádí tento věk ještě nižší, 61-65 let. Ovšem při pohledu na podíl mužů a žen v mé práci jasně dominují ženy i když rizikovějším pohlavím diagnostiky této nemoci jsou právě muži. Tento opačný poměr je pravděpodobně dán redukcí původního počtu všech pacientů s MM za období 2015-2016 na ty, kteří splňují výše zmíněná výběrová kritéria. Vzhledem k menšímu počtu sledovaných pacientů u některých léčebných protokolů potom vznikaly zkreslené výsledky, které nemusí podávat stejné informace uváděné ve studiích s tímto zaměřením.

Jako první jsem sledovala bortezomibové cykly a jejich účinek na sérové hladiny paraproteinu a FLC. VD, CVD a VMP jsou nejčastěji aplikované léčebné cykly, a to převážně u nově diagnostikovaných pacientů, jedná se tedy o léky první linie (CMG, 2017e). Nicméně dle studie Aguiar a kol. (2017) jde o vhodný lék také pro předléčené pacienty, či pacienty v kterékoliv fázi nemoci. Má práce tak potvrdila fakt, že jde o jedny z nejčastěji aplikovaných léčebných protokolů. Z celkového počtu sledovaných pacientů bylo 57% z nich léčeno právě jedním ze tří bortezomibových režimů. Výsledný graf (Obr. 9), který porovnává tyto tři cykly vypovídá o téměř shodném vývoji trendu obou sledovaných sérových parametrů Až do 4.

měsíce. Hodnoty paraproteinu poté dále lehce klesají, zatímco FLC již začíná stoupat. To naznačuje postupnou ztrátu účinnosti léčby a pacient začíná relabovat. Při konečném 11. měření se oba parametry opět sešly a relaps byl potvrzen i vygradovanou hodnotou paraproteinu. V dalších dvou grafech (Obr. 10), (Obr. 11) je vidět detailnější porovnání dvou nejužívanějších cyklů CVD a VMP. U VMP typu se paraprotein i FLC souměrně pohybují sestupným trendem, kdežto CVD léčba, která zprvu lemuje průběh VMP, ke konci prudce stoupá jak u paraproteinu, tak u FLC. To znamená, že ve sloučeném grafu je původcem vysokých hodnot pravděpodobně pacient či skupina pacientů s aplikovanou CVD léčbou. Z toho lze usoudit, že když FLC, v tomto případě rychleji reagující na léčbu, dříve naznačilo blížící se relaps, je dobré sledovat obě hodnoty současně, nikoli pouze dynamiku paraproteinu.

S druhou nejvyšší četností byl v mé práci podáván RD léčebný protokol. Na rozdíl od bortezomibových cyklů se RD aplikuje až v druhé nebo spíše třetí léčebné linii. Podle studie Palumbo a kol. (2012) by tento lék mohl mít v budoucnu statistický vliv při celkovém přežití pacientů, proto se využití tohoto léku bude zřejmě ubírat směrem dlouhodobé udržovací léčby. Z grafu (Obr. 12) vztahujícímu se na tento typ léčby je vidět téměř identický vývoj paraproteinu i FLC. Zatímco hodnoty paraproteinu dosáhly fáze plató, FLC hodnoty v rozmezí 6. až 8. měsíce z neznámých důvodů výrazně stouply a poté opět klesly pod hodnotu prvního měření.

Dalším cyklem byl CTD s velice účinnou thalidomidovou složkou. Na základě mnoha studií byl zpočátku považován za jeden z nejúčinnějších léků druhé linie, později byl prosazen i jako velice efektivní léčebný režim první linie, který se testoval jak pro mono-, tak pro polyléčbu například s dexamethasonem (Hájek a kol., 2005). Výsledný graf (Obr. 13) sledovaného vzorku pacientů s touto léčbou poukazuje na velice dobrý průběh v prvním měsíci, kdy hodnoty FLC avizují remisi nemoci. Do tohoto stavu se ovšem pacient nedostává, hodnoty FLC opět stoupají a dostávají se do stagnujícího stavu se střídavou tendencí paraproteinu a FLC, což je v mém případě malého počtu pacientů možno považovat za uspokojující výsledek.

AP chemoterapeutický režim je typickým režimem podávaným starším pacientům jako udržovací léčba. Tuto věkovou statistiku potvrzuje i sledovaný vzorek nemocných AP léčby vybraných pro mou práci. 67% pacientů se nachází ve věkovém rozmezí 71-80 let. Od této léčby se v podstatě neočekává dosažení remise nemoci. Proto je velice překvapivé, že v grafu

(Obr. 14) první rok měření sice hodnoty stoupají (oba parametry se vyvíjí téměř identicky), ale po 12. měsíci paraprotein i FLC prudce klesá až na cca 50% hodnotu prvního měření.

Léčebný protokol CAD nedosahuje u nepředléčených pacientů takové účinnosti jako například cykly obsahující bortezomib nebo thalidomid, je ale mnohem dostupnější, a proto i poměrně hojně využíván. Léčebné odpovědi dosahuje u 63-72% pacientů (Hájek a kol., 2009; Rajkumar, Kyle, 2009; Dispenzieri a kol., 2007). Graf (Obr. 15) této léčebné terapie svým vývojem do 3. měsíce odpovídá určitým očekáváním. Nicméně další jeho průběh je v porovnání směru pohybu paraproteinu a FLC diametrálně odlišný. FLC hodnoty dosahují fáze plató, ovšem hodnoty paraproteinu vykazují jasný relaps pacienta. Tato individuální odchylka je způsobena nízkým počtem sledovaných nemocných s tímto léčebným protokolem, proto jsou tyto výsledky statisticky nevýznamné.

VTD typ léčby je pro svou účinnou kombinací léků bortezomib a thalidomid jedním z protokolů aplikovaných pacientům před autologní transplantací krevetvorné tkáně. Tato transplantace je prováděna u mladších pacientů, do 65 let (Gahrton a kol., 2004; Lonial, 2008). S tímto faktem se shodují i moje výsledky – rozmezí věku sledovaného vzorku pacientů s VTD protokolem je 49-60 let. Graf (Obr. 16) odkazující na VTD léčebnou odpověď je dalším příkladem individuální odchylky – avšak na rozdíl od CAD léčebného protokolu je zde vychýlený trend FLC, který má nejprve tendenci dosáhnout remise nemoci, následně ale z neznámých důvodů stoupá a v 6. měsíci opět klesá k hodnotám podobným paraproteinu, jehož vývoj byl do té doby stagnující.

Ve většině případů se jako odpověď na danou léčbu sleduje pouze dynamika paraproteinu, nikoli FLC. FLCr je sledováno pouze u MM z lehkých řetězců. Faktem ovšem zůstává, že biologický poločas paraproteinu činí řádově několik dní, zatímco biologický poločas FLC je v rozmezí 2-6 hodin (Špička, 2005). Při obecně známém faktu současného poklesu intaktního paraproteinu spolu s FLC z toho dle studie Radocha (2012) plyne, že k predikci časnější odpovědi na léčbu u MM pacientů by mohl sloužit právě FLCr. Tím by se dali vytipovat pacienti nereagující na příslušný typ léčebného protokolu, což by v celkovém výsledku do značné míry přispělo k zefektivnění léčby a dále by to umožnilo ušetřit čas a vysoké náklady s tím spojené.

Samotná účinnost jednotlivých léčebných protokolů je do jisté míry velice individuální, a to vzhledem k okolnostem pacienta. V mém případě je ovšem kvůli malému počtu sledovaných pacientů znemožněno vytvořit statisticky významný výsledek.

6 Závěr

- Sledování odpovědi na chemoterapeutickou léčbu u pacientů s mnohočetným myelomem pomocí stanovení paraproteinu elektroforézou bílkovin a stanovení volných lehkých řetězců proběhlo sestavením grafů pro jednotlivé léčebné režimy, kromě autologní transplantace, poskytujících potřebné informace. Cíl práce byl tedy splněn.
- Obě metody se pro tento účel ukázaly použitelné a ve většině případů podávaly velice podobné informace. Hypotéza 1 je tudíž potvrzena.
- Individuálně se podařilo najít pacienty, u kterých se vývoj paraproteinu a volných lehkých řetězců odlišoval, čímž se potvrdila i druhá hypotéza.
- Účinnost jednotlivých léčebných protokolů se lišila jak pro vývoj paraproteinu, tak pro vývoj volných lehkých řetězců. Tím se potvrdila i třetí hypotéza.

7 Seznam použité literatury

ADAM, Zdeněk a Vladimír MAISNAR. *Mnohočetný Myelom, Jak v Čas Rozpoznat Tuto Nemoc a Jak s Ní Žít: Informace pro Nemocné a Jejich Blízké*. 3. Brno: MÚ, 2009. ISBN 987-80-210-4680-1.

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, 2008. ISBN 9788021046801.

ADAM, Zdeněk a Jiří VORLÍČEK. *Hematologie pro Praktické Lékaře*. Praha: Galén, 2007. ISBN 9788072624539.

ADAM, Zdeněk a Jiří VORLÍČEK. *Hematologie*. Praha: Grada, 2001. ISBN 8024701162.

ADAM Zdeněk, KREJČÍ Marta, NEUBAUER Jiří a VANÍČEK Jiří. *Mnohočetný Myelom. Zdraví Euro* [online]. 2011 [cit. 2017-02-25]. Dostupné z: <http://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/mnohocetny-myelom-459664>

AGUIAR, Patricia Melo, Tácio DE MENDONÇA LIMA, Gisele Wally Braga COLLEONI a Sílvia STORPIRTIS. Efficacy and Safety of Bortezomib, Thalidomide, and Lenalidomide in Multiple Myeloma: An overview of systematic reviews with meta-analyses. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* [online]. 2017, **113**, 195-212pp [cit. 2017-04-18]. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2017.03.014. ISSN 10408428. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1040842817301749>

ALEXANDER, Dominik D., Pamela J. MINK, Hans-Olov ADAMI, Philip COLE, Jack S. MANDEL, Martin M. OKEN a Dimitrios TRICHOPOULOS. Multiple Myeloma: A review of the epidemiologic literature. *International Journal of Cancer* [online]. 2007, **120**(S12), 40-61pp [cit. 2017-02-24]. DOI: 10.1002/ijc.22718. ISSN 00207136. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ijc.22718>

Anonymous, Plasma Cell Neoplasms (Including Multiple Myeloma)-Patient Version. *National Cancer Institute* [online]. 2016 [cit. 2017-02-17]. Dostupné z: <https://www.cancer.gov/types/myeloma>

Anonymous, Multiple Myeloma and MGUS: Multiple Myeloma and Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance. *National Cancer Institute* [online]. 2017 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: <https://dceg.cancer.gov/research/cancer-types/multiple-myeloma/multiple-myeloma-mgus>

Anonymous1, What Is Multiple Myeloma? *International Myeloma Foundation* [online]. 2017 [cit. 2017-02-18]. Dostupné z: <https://www.myeloma.org/what-is-multiple-myeloma>

Anonymous2, Multiple Myeloma: Statistic. *Cancer.Net* [online]. 2016 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: <http://www.cancer.net/cancer-types/multiple-myeloma/statistics>

Anonymous3, Mnohočetný Myelom. *Mnohočetný Myelom-Klub Pacientů* [online]. 2015 [cit. 2017-02-23]. Dostupné z: <http://www.mnohocetnymyelom.cz/?p=1275>

Anonymous4, Causes of Multiple Myeloma. *NHS* [online]. 2015 [cit. 2017-02-23]. Dostupné z: <http://www.nhs.uk/Conditions/Multiple-myeloma/Pages/Causes.aspx>

Anonymous5, Most Common Multiple Myeloma Symptoms. *Thrombocyte* [online]. 2016 [cit. 2017-03-04]. Dostupné z: <http://www.thrombocyte.com/multiple-myeloma-symptoms/>

Anonymous6, Volné lehké řetězce kappa, lambda-FLC kappa, FLC lambda. *Nemocnice Nové Město na Moravě, příspěvková organizace* [online]. 2017 [cit. 2017-04-14]. Dostupné z: <http://www.nnm.cz/oklt/vysetreni.php?vysetreni=368>

APOR, Emmanuel, Jennifer O'BRIEN, Merin STEPHEN a Jorge J. CASTILLO. Systemic Lupus Erythematosus Is Associated With Increased Incidence of Hematologic Malignancies: A meta-analysis of prospective cohort studies. *Leukemia Research* [online]. 2014, **38**(9), 1067-1071pp [cit. 2017-02-24]. DOI: 10.1016/j.leukres.2014.06.025. ISSN 01452126. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0145212614002045>

CAILLARD, Sophie, Lawrence Y. AGODOA, Erin M. BOHEN a Kevin C. ABBOTT. Myeloma, Hodgkin Disease, and Lymphoid Leukemia after Renal Transplantation: Characteristics, Risk Factors and Prognosis. *Transplantation* [online]. 2006, **81**(6), 888-895pp [cit. 2017-02-24]. DOI: 10.1097/01.tp.0000203554.54242.56. ISSN 00411337. Dostupné z: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00007890-200603270-00013>

CMG, Mnohočetný Myelom-Definice. *Česká Myelomová Skupina* [online]. 2017a [cit. 2017-02-17]. Dostupné z: <http://www.myeloma.cz/index.php?pg=mnohocetny-myelom--zakladni-udaje--definice>

CMG, Mnohočetný Myelom-Diagnostické Testy. *Česká Myelomová Skupina* [online]. 2017d [cit. 2017-03-10]. Dostupné z: <http://www.myeloma.cz/index.php?pg=mnohocetny-myelom--zakladni-udaje--diagnosticke-testy>

CMG, Mnohočetný myelom-léčba: bortezomib (Velcade). *Česká Myelomová Skupina* [online]. 2017e [cit. 2017-04-18]. Dostupné z: <http://www.myeloma.cz/index.php?pg=mnohocetny-myelom--lecba--bortezomib-velcade>

CMG, Mnohočetný Myelom-Příznaky. *Česká Myelomová Skupina* [online]. 2017c [cit. 2017-03-04]. Dostupné z: <http://www.myeloma.cz/index.php?pg=mnohocetny-myelom--zakladni-udaje--priznaky>

CMG, Mnohočetný Myelom-Statistika. *Česká Myelomová Skupina* [online]. 2017b [cit. 2017-02-20]. Dostupné z: <http://www.myeloma.cz/index.php?pg=mnohocetny-myelom--zakladni-udaje--statistika>

COHEN, Harvey Jay, Jeffrey CRAWFORD, Murali K. RAO, Carl F. PIEPER a Mark S. CURRIE. Racial Differences in the Prevalence of Monoclonal Gammopathy in a Community-

based Sample of the Elderly. *The American Journal of Medicine* [online]. 1998, **104**(5), 439-444pp [cit. 2017-02-23]. DOI: 10.1016/S0002-9343(98)00080-1. ISSN 00029343. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002934398000801>

DISPENZIERI, Angela, S. Vincent RAJKUMAR, Morie A. GERTZ, a kol. Treatment of Newly Diagnosed Multiple Myeloma Based on Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART): Consensus Statement. *Mayo Clinic Proceedings* [online]. 2007, **82**(3), 323-341pp [cit. 2017-04-19]. DOI: 10.4065/82.3.323. ISSN 00256196. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002561961161029X>

ENGELS, Eric A., Christina A. CLARKE, Ruth M. PFEIFFER, Charles F. LYNCH, Dennis D. WEISENBURGER, Todd M. GIBSON, Ola LANDGREN a Lindsay M. MORTON. Plasma Cell Neoplasms in US Solid Organ Transplant Recipients. *American Journal of Transplantation* [online]. 2013, **13**(6), 1523-1532pp [cit. 2017-02-24]. DOI: 10.1111/ajt.12234. ISSN 16006135. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/ajt.12234>

FONSECA, Rafael, David HARRINGTON, Martin M. OKEN, a kol. Biological and Prognostic Significance of Interphase Fluorescence in Situ Hybridization Detection of Chromosome 13 Abnormalities ($\Delta 13$) in Multiple Myeloma. *Cancer Research*. 2002, **62**(3), 715-720pp.

FRANK, Christoph, Mahdi FALLAH, Jianguang JI, Jan SUNDQUIST a Kari HEMMINKI. The Population Impact of Familial Cancer, a Major Cause of Cancer. *International Journal of Cancer* [online]. 2014, **134**(8), 1899-1906pp [cit. 2017-02-23]. DOI: 10.1002/ijc.28510. ISSN 00207136. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ijc.28510>

GAHRTON, Gösta., Brian G. M. DURIE a Diana M. SAMSON. *Multiple myeloma and related disorders*. New York, NY: Distributed in the United States of America by Oxford University Press, 2004. ISBN 0340810106.

GIULIANI, Nicola, Vittorio RIZZOLI a David G. ROODMAN. Multiple Myeloma Bone Disease: Pathophysiology of Osteoblast Inhibition. *Blood* [online]. 2006, **108**(13), 3992-3996pp [cit. 2017-03-07]. DOI: 10.1182/blood-2006-05-026112. ISSN 00064971. Dostupné z: <http://www.bloodjournal.org/cgi/doi/10.1182/blood-2006-05-026112>

HÁJEK, Roman, Zdeněk ADAM, Vlastimil ŠČUDLA, a kol. Diagnostika a Léčba Mnohočetného Myelomu. *Transfuze a Hematologie Dnes* [online]. 2012, **18**(4), 1-89pp [cit. 2017-03-18]. Dostupné z: <http://www.myeloma.cz/res/file/Trans%20suppl%201.pdf>

HÁJEK, Roman, Luděk POUR a Vladimír MAISNAR. Význam Autologní Transplantace u Mnohočetného Myleomu. *Onkologie (Bratislava)*. 2008, **3**(3), 164-169pp.

HÁJEK, Roman, Zdeněk ADAM a Vladimír MAISNAR a kol. Česká Myelomová Skupina. Souhrn doporučení 2009 „Diagnostika a léčba mnohočetného myelomu“. *Transfuze a Hematologie dnes*. 2009, **15**(2), 1-80pp.

HÁJEK, Roman, Vladimír MAISNAR a Marta KREJČÍ. Thalidomid. *Klinická Farmakologie a Farmacie*. 2005, **19**(1), 43-46pp.

KYLE, Robert A. Criteria for the Classification of Monoclonal Gammopathies, Multiple Myeloma and Related Disorders: A Report of the International Myeloma Working Group. *British Journal of Haematology* [online]. 2003, **121**(5), 749-757pp [cit. 2017-02-18]. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2003.04355.x. ISSN 00071048. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2141.2003.04355.x>

KYLE, Robert A. Multiple Myeloma: Review of 869 Cases. *Mayo Clinics Proceedings* [online]. 1975, **50**(1), 29-40pp [cit. 2017-03-04]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=1110582>

LANDGREN, Ola, Robert A. KYLE, Ruth M. PFEIFFER, a kol. Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance (MGUS) Consistently Precedes Multiple Myeloma: A Prospective Study. *Blood* [online]. 2009, **113**(22), 5412-5417pp [cit. 2017-02-19]. DOI: 10.1182/blood-2008-12-194241. ISSN 00064971. Dostupné z: <http://www.bloodjournal.org/cgi/doi/10.1182/blood-2008-12-194241>

LONIAL, Sagar. *Myeloma therapy: pursuing the plasma cell*. Totowa, N.J.: Humana, 2008. ISBN 9781934115824.

MAISNAR, Vladimír a Roman HÁJEK. Změny v Diagnostických Kritériích a Kritériích Léčebné Odpovědi u Mnohočetného Myelomu. *Klinická Biochemie a Matebolismus*. 2008, **16**(37), 84-88pp.

MANIATIS, Alice. Pathophysiology of Paraprotein Production. *Renal Failure* [online]. 2009, **20**(6), 821-828pp [cit. 2017-02-19]. DOI: 10.3109/08860229809045179. ISSN 0886022x. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/08860229809045179>

MCSHANE, Charlene M., Liam J. MURRAY, Ola LANDGREN, Michael A. O'RORKE, Neha KORDE, Andrew T. KUNZMANN, Mohammad R. ISMAIL a Lesley A. ANDERSON. Prior Autoimmune Disease and Risk of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance and Multiple Myeloma: A Systematic Review. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* [online]. 2014, **23**(2), 332-342pp [cit. 2017-02-24]. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-13-0695. ISSN 10559965. Dostupné z: <http://cebp.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/1055-9965.EPI-13-0695>

New England Journal of Medicine [online]. 2012, **366**(19) [cit. 2017-04-18]. ISSN 00284793.

PALUMBO, Antonio, Roman HAJEK, Michel DELFORGE, a kol. Continuous Lenalidomide Treatment for Newly Diagnosed Multiple Myeloma. *New England Journal of Medicine* [online]. 2012, **366**(19), 1759-1769pp [cit. 2017-04-18]. DOI: 10.1056/NEJMoa1112704. ISSN 00284793. Dostupné z: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa1112704>

RAAB, Marc S, Klaus PODAR, Iris BREITKREUTZ, Paul G RICHARDSON a Kenneth C ANDERSON. Multiple Myeloma. *The Lancet* [online]. 2009, **374**(9686), 324-339pp [cit.

2017-02-20]. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60221-X. ISSN 01406736. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014067360960221X>

RADOCHA, Jakub. *Stanovení volných lehkých řetězců jako pomocného markeru v hodnocení prognózy a odpovědi na léčbu u nemocných s mnohočetným myelomem a monoklonální gamapatií nejasného významu*. Hradec Králové, 2012. Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové. Vedoucí práce Vladimír Maisnar.

RAJKUMAR, S Vincent, Meletios A. DIMOPOULOS, Antonio PALUMBO, a kol. International Myeloma Working Group Updated Criteria For the Diagnosis of Multiple Myeloma. *The Lancet Oncology*. 2014, **15**(12), 538-548pp.

RAJKUMAR, S. Vincent. a Robert A. KYLE. *Treatment of multiple myeloma and related disorders*. New York: Cambridge University Press, 2009. ISBN 9780521515030.

ROBERTS, Darren L., Caroline DIVE a Andrew G. RENEHAN. Biological Mechanisms Linking Obesity and Cancer Risk: New Perspectives. *Annual Review of Medicine* [online]. 2010, **61**(1), 301-316pp [cit. 2017-02-23]. DOI: 10.1146/annurev.med.080708.082713. ISSN 00664219. Dostupné z: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.med.080708.082713>

SAWYER, Jeffrey R. The Prognostic Significance of Cytogenetics and Molecular Profiling in Multiple Myeloma. *Cancer Genetics* [online]. 2011, **204**(1), 3-12pp [cit. 2017-02-25]. DOI: 10.1016/j.cancergencyto.2010.11.002. ISSN 22107762. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165460810005649>

SEBIA návod-Czech, CAPILLARYS PROETIN(E) 6. 2014/11, 113-115pp [cit. 2017-04-18].

SIEMENS Healthcare Diagnostic Products GmbH, *N Latex FLC kappa and N Latex FLC lambda*. 2015/07, 1-6pp [cit. 2017-04-18].

SHEN, Kaini, Gufeng XU, Qing WU, Daobin ZHOU, Jian LI a Riccardo DOLCETTI. Risk of Multiple Myeloma in Rheumatoid Arthritis: A Meta-Analysis of Case-Control and Cohort Studies. *PLoS ONE* [online]. 2014, **9**(3), 1067-1071pp [cit. 2017-02-24]. DOI: 10.1371/journal.pone.0091461. ISSN 19326203. Dostupné z: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0091461>

SHIELS, Meredith S., Stephen R. COLE, Gregory D. KIRK a Charles POOLE. A Meta-Analysis of the Incidence of Non-AIDS Cancers in HIV-Infected Individuals. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* [online]. 2009, **52**(5), 611-622pp [cit. 2017-02-24]. DOI: 10.1097/QAI.0b013e3181b327ca. ISSN 15254135. Dostupné z: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00126334-200912150-00013>

SMADJA, Nicole Véronique, Christian BASTARD, Christophe BRIGAUDEAU, Dominique LEROUX a Christophe FRUCHART. Hypodiploidy Is a Major Prognostic Factor in Multiple Myeloma. *Blood*. 2001, **98**(7), 2229-2238pp.

STEVENSON, Jonathan Daniel, C. WALL, Amid D. PATEL a Justin LIM. Multiple Myeloma: A review. *Orthopaedics and Trauma* [online]. 2014, **28**(3), 187-193pp [cit. 2017-03-04]. DOI: 10.1016/j.mporth.2014.05.007. ISSN 18771327. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1877132714000633>

STRAUB, Jan, Zdeněk ADAM, Evžen GREGORA, a kol. Mnohočetný Myelom – Časná Diagnostika. *Medicína Pro Praxi*. 2009, **6**(4), 197-199pp.

ŠÁLEK, Tomáš. Laboratorní Diagnostika Mnohočetného Myelomu. *Interní Medicína*. 2008, **10**(9), 407-409pp.

ŠČUDLA, Vlastimil, Jiří MINAŘÍK a Petr SCHNEIDERKA. Význam sérových hladin volných lehkých řetězců imunoglobulinu v diagnostice a hodnocení aktivity mnohočetného myelomu a vybraných monoklonálních gamapatií. *Vnitřní lékařství*. 2005, **51**, 1249-1259pp.

ŠČUDLA, Vlastimil, Petr SCHNEIDERKA, Tomáš PIKA, Jiří MINAŘÍK, Jaroslav BAČOVSKÝ a Věra FARBIAKOVÁ. Klinický význam hodnocení sérových hladin volných lehkých řetězců imunoglobulinu u monoklonálních gamapatií. *Klinická Biochemie a Metabolismus*. 2008, **16**(37), 76-83pp.

ŠÍPEK Antonín, Mnohočetný Myelom. *Gate2Biotech* [online]. 2014 [cit. 2017-02-20]. Dostupné z: <http://www.gate2biotech.cz/mnohocetny-myelom/>

ŠPIČKA, Ivan. *Mnohočetný myelom a další monoklonální gamapatie*. Praha: Galén, 2005.

TATE, Jillian R., Peter MOLLEE, Goce DIMESKI, Andrew C. CARTER a Devinder GILL. Analytical performance of serum free light-chain assay during monitoring of patients with monoclonal light-chain diseases. *Clinica Chimica Acta* [online]. 2007, **376**(1-2), 30-36pp [cit. 2017-04-14]. DOI: 10.1016/j.cca.2006.07.011. ISSN 00098981. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009898106004414>

TESAŘ Vladimír, Z Dějin Světové a České Nefrologie. *Zdravotnictví, Medicína* [online]. 2011 [cit. 2017-02-21]. Dostupné z: <http://zdravi.euro.cz/clanek/mlada-fronta-zdravotnicke-noviny-zdn/z-dejin-svetove-a-ceske-nefrologie-461043>

TICHÝ, Miloš, Bedřich FRIEDECKÝ, Jaroslava VÁVROVÁ, Vladimír MAISNAR, Vladimír PALIČKA a Roman HÁJEK. Standardizace biochemických laboratorních vyšetření u mnohočetného myelomu. *Klinická Biochemie a Metabolismus*. 2006, **14**(35), 8-13pp.

TICHÝ, Miloš a Vladimír MAISNAR. Laboratorní průkaz monoklonálních imunoglobulinů. *Vnitřní Lékařství*. 2006, **52**(2), 41-45pp.

TRICOT, Guido. New Insights Into Role of Microenvironment in Multiple Myeloma. *The Lancet* [online]. 2000, **355**(9200), 248-250pp [cit. 2017-02-24]. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)00019-2. ISSN 01406736. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673600000192>

VAN MARION, A.M.W, H.M LOKHORST a J.G VAN DEN TWEEL. Pathology of Multiple Myeloma. *Current Diagnostic Pathology* [online]. 2003, **9**(5), 322-327pp [cit. 2017-02-26]. DOI: 10.1016/S0968-6053(03)00052-8. ISSN 09686053. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0968605303000528>

Seznam internetových zdrojů obrázků:

[1] - <http://www.thrombocyte.com/causes-of-multiple-myeloma-cancer>

[2] - https://cs.wikipedia.org/wiki/Otto_Kahler#/media/File:Kahler.JPG

[3] - <http://swww.myeloma.org/what-is-multiple-myeloma>

[4] - <http://www.svod.cz/report.phpdiag=C90>

[5] - <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014067360960221X>

8 Seznam použitých zkratek

MM – mnohočetný myelom

IgA– Imunoglobulin A

MGUS – monoklonální gamapatie neurčeného významu

BMI – index tělesné hmotnosti

HIV - Human Immunodeficiency Virus = virus lidské imunitní nedostatečnosti

AIDS- Acquired Immune Deficiency Syndrome = syndrom získaného selhání imunity

IL-6 - interleukin 6

TNF- β - Tumor necrosis factor- β

(NF)- κ B – nukleární faktor kappa B

IgH = IGH – těžký řetězec imunoglobulinu

CD4, CD8 - cluster of differentiation 4, 8

MR - magnetická rezonance

CT – počítačová tomografie

IMWG – International Myeloma Working Group

CMG – Česká Myelomová skupina

LKCHI – Laboratoř klinické chemie, hematologie a imunologie

FLC(r) – volné lehké řetězce (poměr)

PP – paraprotein

VD – bortezomib + dexamethason

CVD – cyklofosfamid + bortezomib + dexamethason

VMP – bortezomib + melphalan + prednisone

AP – melphalan + prednison

RD – lenalidomid + dexamethason

CAD – cyklofosfamid + adriamycin + dexamethason

CTD – cyklofosfamid + thalidomid + dexamethason

VTD – bortezomib + thalidomid + dexamethason