

Imunoterapija za multipli mijelom

Grenko, Tajana

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:758435>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-04-02**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Tajana Grenko

Imunoterapija za multipli mijelom

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2019.

Ovaj diplomski rad izrađen je pri Katedri za internu medicinu Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, na Zavodu za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti KBC-a Zagreb, pod vodstvom dr. sc. Josipa Batinića, dr. med. i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2018/2019.

POPIS I OBJAŠNENJE KRATICA

bFGF (engl. basic fibroblast growth factor) – bazični fibroblastni čimbenik rasta
COX-2 (engl. cyclooxygenase-2) – ciklooksigenaza tip 2
CSF-1 (engl. colony stimulating factor 1) – čimbenik poticanja kolonija 1
CT (engl. computed tomography) – kompjutorizirana tomografija
del(17p) – delecija p-kraka 17. kromosoma
DRd – daratumumab, lenalidomid, deksametazon
DVd – daratumumab, bortezomib, deksametazon
EMA (engl. European Medicines Agency) – Europska agencija za lijekove
ERd – elotuzumab, lenalidomid, deksametazon
FDA (engl. Food and Drug Administration) – Agencija za hranu i lijekove
FGF-2 (engl. fibroblast growth factor-2) – fibroblastni čimbenik rasta 2
HZZO – Hrvatski zavod za zdravstveno osiguranje
ICAM-1 (engl. intercellular adhesion molecule 1) – međustanična adhezijska molekula 1
Id – iksazomib, deksametazon
IgA, IgD, IgE, IgG, IgM – imunoglobulini razreda A, D, E, G i M
IRd – iksazomib, lenalidomid, deksametazon
KBC – klinički bolnički centar
Kd – karfilzomib, deksametazon
kDa – kilodalton
KRAS (engl. Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog) – vrsta onkogene
KRd – karfilzomib, lenalidomid, deksametazon
KROHEM - Hrvatska kooperativna udruga za hematološke bolesti
LDH (engl. lactate dehydrogenase) – laktatna dehidrogenaza
MP – melfalan, prednizon

MPT – melfalan, prednizolon, talidomid
MRI (engl. magnetic resonance imaging) – slikovna pretraga magnetskom rezonancijom
NCCN (engl. National Comprehensive Cancer Network) – Nacionalna sveobuhvatna mreža za rak
NRAS (engl. neuroblastoma RAS viral oncogene homolog) – vrsta onkogeno
PAD – bortezomib, doksorubicin, deksametazon
Pd – pomalidomid, deksametazon
PET-CT (engl. positron emission tomography - computed tomography) – pozitron emisijska tomografija udružena s kompjutoriziranom tomografijom
PVd – pomalidomid, bortezomib, deksametazon
Rd – bortezomib, deksametazon
RR (engl. response rate) – stopa odgovora na terapiju
RTG – rendgensko snimanje
RVd – lenalidomid, bortezomib, deksametazon
t(4;14), t(14;16) – translokacije kromosoma
TD – talidomid, deksametazon
TNF- α (engl. tumor necrosis factor alpha) – tumor nekrotizirajući čimbenik alfa
VAD – vinkristin, doksorubicin, deksametazon
VCAM-1 (engl. vascular cell adhesion protein 1) – vaskularna stanična adhezijska molekula 1
VCD – bortezomib, ciklofosfamid, deksametazon
Vd – bortezomib, deksametazon
VEGF (eng. vascular endothelial growth factor) – čimbenik rasta vaskularnog endotela
VMP – bortezomib, melfalan, prednizolon
VTD – bortezomib, talidomid, deksametazon
β 2-M (engl. beta-2 microglobulin) – beta-2 mikroglobulin

SADRŽAJ

SAŽETAK

SUMMARY

1. UVOD.....	1
2. MULTIPLI MIJELOM.....	2
2.1 EPIDEMIOLOGIJA.....	2
2.2 ETIOLOGIJA I PATOGENEZA.....	3
2.3 KLINIČKA SLIKA.....	5
2.4 DIJAGNOSTIKA.....	7
2.5 KLASIFIKACIJA I PROGNOZA.....	9
2.6 TERAPIJA.....	11
3. IMUNOTERAPIJA MULTIPLOG MIJELOMA.....	14
3.1 POVIJESNI PREGLED.....	14
3.2 IMUNOSUPRESIJSKI MEHANIZMI U MULTIPLOM MIJELOMU.....	16
3.3 MONOKLONSKA PROTUTIJELA.....	17
3.4 INHIBITORI IMUNOLOŠKIH KONTROLNIH TOČAKA.....	23
3.5 IMUNOMODULATORI.....	25
3.6 ALOGENA TRANSPLANTACIJA KRVOTVORNIH MATIČNIH STANICA.....	27
3.7 CAR-T-STANIČNA TERAPIJA.....	28
3.8 TUMORSKA CJEPIVA.....	31
4. ZAHVALE.....	34
5. LITERATURA.....	35
6. ŽIVOTOPIS.....	44

SAŽETAK

Naslov: Imunoterapija za multipli mijelom

Autorica: Tajana Grenko

Multipli mijelom je B-stanična neoplazma koju karakterizira nekontrolirani rast monoklonskih plazma stanica u koštanoj srži i snažna imunosupresija tumorskog mikrokoliša.

Liječenje multiplog mijeloma je uvelike napredovalo tijekom posljednjih nekoliko desetljeća, no unatoč otkriću novih imunomodulatora i inhibitora proteasoma te njihovom značajnom učinku na produljenje preživljenja, bolest je i dalje za većinu pacijenata neizlječiva.

Bolje razumijevanje složenih interakcija između imunološkog sustava i multiplog mijeloma dovelo je do ponovnog interesa medicinske znanosti za imunoterapiju. Za razliku od konvencionalne kemoterapije, koja se temelji na kočenju diobenog procesa tumorskih i ostalih brzo dijelećih stanica, imunoterapija je u svom djelovanju mnogo selektivnija te se stoga veže uz manji broj nuspojava.

Trenutne imunoterapijske opcije za multipli mijelom su monoklonska protutijela, inhibitori imunoloških kontrolnih točaka, imunomodulatori, alogena transplantacija krvotvornih matičnih stanica, liječenje CAR-T stanicama i tumorska cjepiva. Među novim lijekovima najviše obećavaju monoklonska protutijela daratumumab i elotuzumab, koja su odobrena od strane FDA-e i EMA-e za liječenje novodijagnosticiranog te relapsnog ili refraktornog multiplog mijeloma.

Budućnost liječenja multiplog mijeloma kreće se u smjeru individualiziranog pristupa svakom pacijentu te ka kombiniranju antigen-specifične terapije s antigen-nespecifičnom.

Ključne riječi: multipli mijelom, imunoterapija, novi lijekovi, monoklonska protutijela

SUMMARY

Title: Immunotherapy in multiple myeloma

Author: Tajana Grenko

Multiple myeloma is a B-cell malignancy characterized by unregulated proliferation of monoclonal plasma cells in bone marrow as well as strong immunosuppression in the tumor microenvironment.

The treatment of multiple myeloma has evolved dramatically over the past few decades. Despite enormous advances in survival due to the introduction of new immunomodulatory drugs and proteasome inhibitors, the disease remains incurable for the majority of patients.

Improvements in understanding of the complex interactions between the immune system and multiple myeloma have led to restored interest in immunotherapy. While conventional chemotherapy lacks of sensitivity, since it acts upon both tumor cells and rapidly multiplying healthy cells, immunotherapy is much more selective in its action and therefore related to fewer adverse effects.

Current immunotherapeutic options for multiple myeloma include monoclonal antibodies, immune checkpoint inhibitors, immunomodulators, allogeneic stem-cell transplantation, CAR-T therapy and tumor vaccines. One of the most promising novel agents are daratumumab and elotuzumab, FDA-approved monoclonal antibodies used in treatment of both newly diagnosed and relapsed disease.

The management of multiple myeloma is directing toward personalized therapy for each patient, by combining antigen-specific approaches with antigen-nonspecific.

Key words: multiple myeloma, immunotherapy, novel agents, monoclonal antibodies

1. UVOD

Multipli mijelom (MM) ili Kahlerova bolest je diseminirana maligna hematološka neoplazma obilježena progresivnim, nekontroliranim umnažanjem monoklonskih plazma stanica iz koštane srži, a koja prema posljednjoj reviziji klasifikacije Svjetske zdravstvene organizacije pripada skupini zloćudnih novotvorina zrelih limfocita B (1).

Unatoč svojoj malignoj transformaciji, klonovi plazma stanica uglavnom zadržavaju svojstvo proizvodnje značajnih količina cjelovitih molekula imunoglobulina ili njihovih lakih lanaca, a što se potvrđuje elektroforetskim nalazom monoklonskog (M) proteina u krvnom serumu i/ili urinu. Navedeno obilježje nije karakteristično samo za multipli mijelom, već za cijelu grupu monoklonskih gamopatija kojima i sam pripada. Uz taj biokemijski biljeg, u simptomatskom mijelomu obavezno je postojanje nekih od sistemskih obilježja, a najčešće oštećuje kosti, bubrege i hematopoezu (2).

Maligni klonovi su izuzetno skloni genskom mutiranju, radi čega ova bolest u relativno kratkom periodu postaje rezistentna na većinu primijenjenih terapijskih protokola. Štoviše, s dosadašnjim farmakološkim dostignućima neminovno je da u terminalnoj fazi postane potpuno refraktorna. Zbog svega navedenog, multipli mijelom se smatra neizlječivom bolesti (3). Većina terapije je usmjerena k maksimalnoj mogućoj redukciji tumorske mase, a kako bi se tijekom bolesti koliko-toliko stavio pod kontrolu, kombiniraju se razni modaliteti liječenja: kemoterapija, radioterapija, transplantacija krvotvornih matičnih stanica i posljednja među njima – imunoterapija.

Iako je prvi put primijenjena prije stotinjak godina, imunoterapija tek sada doživljava procvat u hematološkoj onkologiji i onkologiji uopće. Razlog tomu je što do unatrag nekoliko desetljeća nisu bili poznati niti osnovni mehanizmi razvoja malignog procesa, poput imunosupresije. Princip djelovanja imunoterapije temelji se upravo na restituciji funkcije imunološkog sustava – unošenjem egzogenih stanica i molekula potiče se aktivnost endogenih (4).

Cilj ovog rada je prikazati postojeća imunoterapijska dostignuća te istražiti mogućnost njihove primjene u liječenju multiplog mijeloma.

2. MULTIPLI MIJELOM

2.1 EPIDEMIOLOGIJA

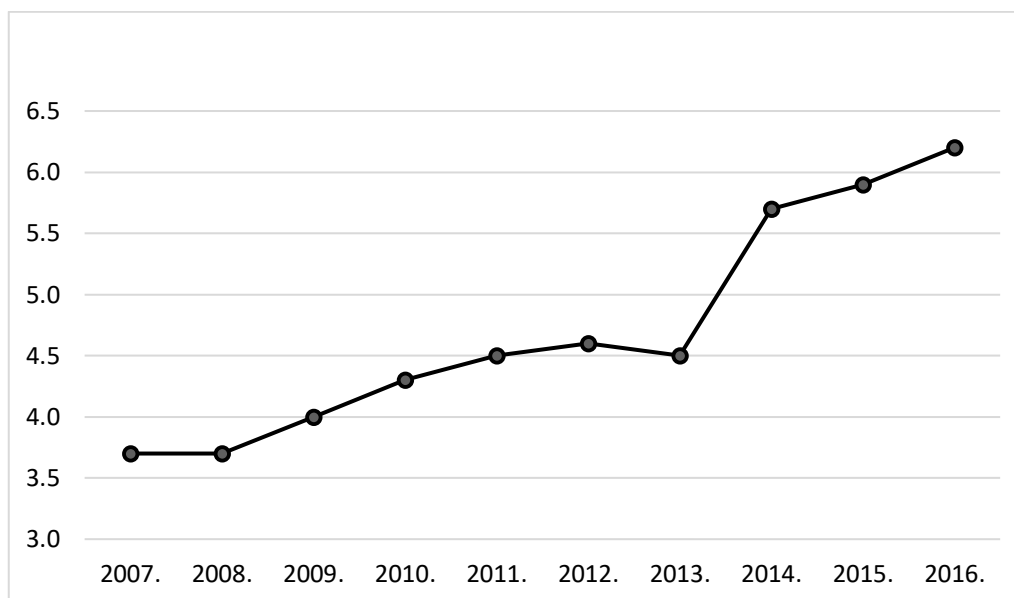
Incidencija multiplog mijeloma u konstantnom je porastu, poglavito u ekonomski razvijenijim zemljama svijeta (5,6), što se može pripisati starenju stanovništva, sveobuhvatnijoj zdravstvenoj zaštiti stanovništva, cjelovitijim javnozdravstvenim statističkim praćenjem te boljim dijagnostičkim metodama i kriterijima. Prema najnovijem izračunu GLOBOCAN-a, zauzima 22. mjesto po učestalosti među svim onkološkim bolestima, dok je među hematološkim malignitetima treći po redu nakon non-Hodgkinovog limfoma i leukemije (7,8). U svijetu se godišnje dijagnosticira oko 130, 000 novih slučajeva multiplog mijeloma (9).

Obzirom da učestalost raste s dobi te je izuzetno rijetka u osoba mlađih od 30 godina, smatra se bolešću stare populacije. Medijan dobi kod postavljanja dijagnoze je 66-70 godina (10). Iako je nekoć pojavnost u muškaraca bila dvostruko veća nego u žena (11), spolne razlike danas su sve manje uočljive (8). S druge strane, prisutne su razlike između rasa te se mijelom javlja 2-3 puta češće u Afroamerikanaca nego u pripadnika bijele rase (5,10,11).

U Europi je tijekom 2018. godine dijagnosticirano 48,300 novih slučajeva, što čini 1,2% udjela svih novodijagnosticiranih maligniteta i daje dobno standardiziranu stopu (za europsku populaciju) od 4,3 na 100,000 stanovnika godišnje. Apsolutni broj umrlih iznosio je 30,900, što čini udio od 1,6% ukupne smrtnosti od raka za tu regiju. Najveća pojavnost bilježi se u Sjevernoj Europi, zatim Zapadnoj i Južnoj Europi (12).

Broj novootkrivenih slučajeva multiplog mijeloma i malignog plazmocitoma u Republici Hrvatskoj za 2016. godinu iznosi 137 za muškarce i 121 za žene, s time da je najranija dijagnoza zabilježena u dobnoj skupini od 40-44 godine. Najčešće je pak bio dijagnosticiran u osoba između 65 i 84 godina starosti, što je u skladu sa svjetskom statistikom. Stopa incidencije za navedeno razdoblje iznosi 6,2 na 100.000 stanovnika godišnje, no uočava se blaga i kontinuirana tendencija njenog rasta (Grafikon 1) (13).

Grafikon 1. Gruba stopa incidencije multiplog mijeloma u Republici Hrvatskoj (izražena na 100.000 stanovnika godišnje), za razdoblje od 2007. – 2016.g. (13-22)



2.2 ETIOLOGIJA I PATOGENEZA

Etiologija multiplog mijeloma nije potpuno razjašnjena i smatra se multifaktorijalnom bolesti, na čiji nastanak utječu genetski i okolišni faktori. Uz već prethodno navedene biološke čimbenike među kojima su starija dob, muški spol i crna rasa, uočena je povezanost s izloženosti zračenju, spojevima benzena, herbicidima te insekticidima (2).

Općeprihvaćeni patogenetski model jest da se bolest razvija postupno, iz premalignog stanja poznatog kao monoklonska gamapatija neutvrđenog značaja (MGUS, od engl. monoclonal gammopathy of undetermined significance) (2,23).

Glavno obilježje MGUS-a je da u koštanoj srži postoji mutirana populacija plazma stanica zaslužna za klonalnu hiperprodukciju imunoglobulina, što se u elektroforetskom nalazu seruma i urina vidi kao šiljak koji nazivamo M-proteinom. Tri kriterija koja se moraju ispuniti za dijagnozu ovog poremećaja su: koncentracija M-proteina u serumu koja ne prelazi 30g/L, prisutnost monoklonskih plazma stanica s udjelom manjim od 10% u koštanoj srži te izostanak oštećenja ciljnih organa objedinjenih pod akronimom „CRAB“ simptomi – hiperkalcemija, bubrežno oštećenje, anemija i litičke lezije kostiju (engl. CRAB: C – hypercalcemia, R – renal damage,

A – anemia, B – bone lytic lesions). Nužno je isključiti ostale bolesti koje pripadaju skupini monoklonskih gamopatija (24).

Stvaranje monoklonskih plazma stanica vjerojatno je posljedica antigene stimulacije limfocita B u germinativnim centrima limfnih čvorova te njihovog posljedičnog poremećaja u proliferaciji i diferencijaciji na putu do razvoja u zrele plazma stanice. Naime, postoje opravdani dokazi da tijekom somatske hipermutacije varijabilnih regija (SHM, od engl. somatic hyper-mutation) i izotipskog prekapčanja razreda imunoglobulina (CSR, od engl. class-switch recombination) dolazi do nastanka primarnih kromosomskih mutacija u vidu translokacija, delecija i trisomija (23,25). Mutacijama je najčešće zahvaćen gen za teški lanac imunoglobulina na 14. kromosomu, a više od 50% translokacija zbiva se na lokusu 14q32 (2,26). Fuzijom gena stvaraju se onkogene formacije, koje za posljedicu imaju disregulaciju i pojačanu ekspresiju ciklina D1 (23).

Godišnje se u 1% osoba s MGUS-om zbiva progresija u neki od plazmastičnih maligniteta - multipli mijelom, limfoplazmocitom ili plazmastičnu leukemiju (23,24). Gotovo 80% slučajeva multiplog mijeloma potječe od ne-IgM MGUS, a preostalih 20% od MGUS lakih lanaca. Multipli mijelom koji producira IgM izuzetno je rijedak (27). Smatra se da su za daljnje napredovanje bolesti potrebne sekundarne kromosomske promjene, gdje značajnu ulogu igraju mutacije gena KRAS i NRAS sa signalnim putem preko MAPK (mitogen-activated protein kinase) (28). Rezultat dodatnih citogenetskih promjena je poremećaj staničnog ciklusa, kočenje procesa apoptoze, modifikacija međustaničnih interakcija u mikrookolišu koštane srži te utjecaj na procese angiogeneze i osteogeneze, što se isprva očituje razvojem indolentnog, a kasnije i simptomatskog oblika multiplog mijeloma (2,25,26).

Indolentni ili „šuljajući“ mijelom (SMM, od engl. smouldering multiple myeloma) prijelazni je oblik bolesti koji još uvijek nema kliničku manifestaciju tipičnih organskih oštećenja, ali mu koncentracija monoklonskog proteina u serumu i postotak monoklonskih plazma stanica u koštanoj srži prelaze granične vrijednosti definirane za MGUS (23). Za razliku od njega, simptomatski mijelom je diseminirana aktivna bolest te se očituje sistemskim i lokalnim simptomima i znakovima (Tablica 1). Relativna brzina napredovanja iz asimptomatske u simptomatsku fazu bolesti iznosi 10% godišnje za prvih 5 godina nakon dijagnoze, a kasnije se smanjuje (23, 24).

Tablica 1. Usporedba razlika u dijagnostičkim kriterijima za monoklonsku gamapatiju neutvrđenog značaja, indolentni multipli mijelom i simptomatski multipli mijelom (27)

	MGUS*	Indolentni MM**	Simptomatski MM
1. Koncentracija M-proteina u serumu (g/L)	< 30	≥ 30	prisutan***
2. Udio klonalnih plazma stanica u koštanoj srži (%)	< 10	10 - 60	≥ 10****
3. Oštećenja ciljnih organa i simptomi prema „CRAB“ kriterijima	NE	NE	DA
<p>* moraju biti zadovoljena sva tri kriterija; ** uz 3. kriterij, mora biti zadovoljen 1. ili 2. kriterij ili nalaz ≥ 500 mg monoklonskog proteina u 24h-urinu ; *** u serumu i/ili u urinu kod sekretornog tipa mijeloma; **** ili biopsijom dokazan solitarni plazmocitom kosti, odnosno ekstramedularni plazmocitom</p>			

2.3 KLINIČKA SLIKA

Kao i u većine onkoloških bolesti, inicijalna faza multiplog mijeloma obilježena je nespecifičnim stanjima poput kroničnog umora, malaksalosti, gubitka tjelesne težine, smanjenog apetita, mučnine, rekurentnih infekcija i kostobolje (28-31), koja se uglavnom javlja u lumbalnom dijelu kralježnice. Bolest je moguće dijagnosticirati i u njenom asimptomatskom periodu kroz slučajno pronađena odstupanja u laboratorijskim nalazima. Indikativni su nalazi povišene sedimentacije (31), monoklonskog proteina pri elektroforezi i imunofiksaciji seruma i/ili urina te Bence-Jonesove proteinurije u uzorku 24-satnog urina (28). Bence-Jonesovi proteini (BJP) su slobodni monoklonski laki lanci imunoglobulina koji se zbog svoje niske molekularne mase od 22-24 kDa filtriraju u bubregu te uslijed ekscesivne sinteze nadmašuju resorpcijski kapacitet tubula (10-30 g dnevno) (32). Uvijek predstavljaju patološki nalaz i ne nalaze se u zdravih osoba.

S napredovanjem bolesti razvijaju se laboratorijske i kliničke manifestacije tipične za multipli mijelom, a koje opisujemo akronimom „CRAB“ (28,29). Tumorske stanice sintetiziraju mnoge citokine koji djeluju u smjeru aktivacije osteoklasta i inhibicije funkcije osteoblasta, zbog čega u hematopoetski aktivnim kostima nastaju brojne litičke lezije. Karakteristične lokalizacije su kralježnica, lubanja, rebra, zdjelica i femur (28, 31, 33). Iako je većina lezija bezbolna, koštana bol je najčešći razlog posjete liječniku kod osoba s još nedijagnosticiranom bolesti. Najveći broj njih se javlja zbog perzistentne kronične boli (80%), dok akutizacija nastupa po nastaloj patološkoj frakturi (33). Na nju mogu ukazivati promjene u karakteru i intezitetu boli, neurološki ispadi, gubitak stabilnosti kosti i/ili pokretljivosti zglobova te smanjenje tjelesne visine za nekoliko ili više centimetara u poodmaklim slučajevima bolesti sa zahvaćanjem kralježnice (31). Posljedično pojačanoj razgradnji kostiju, u 15% pacijenata detektira se hiperkalcemija, a ona se u kliničkoj slici očituje kroz umor, mučninu, povraćanje, gubitak apetita, konstipaciju, konfuziju, bubrežno oštećenje i poliuriju (2, 28, 34). Infiltracija koštane srži i ekspanzivan rast tumorskih stanica suprimira normalnu hematopoezu te postepeno dovodi do anemije, leukopenije i trombocitopenije (28). Sva tri entiteta u okviru pancitopenije se rijetko pronalaze na početku bolesti, no učestalost raste s njenim trajanjem (35). Normocitna normokromna anemija je prisutna u oko 60% novootkrivenih bolesnika (2), koji se žale na klasične simptome umora, pospanosti, intolerancije fizičkog napora, kratkoću daha, palpitacije, vrtoglavice i nesvjestice (28,31). Nastanak anemije objašnjava se infiltracijom koštane srži malignim stanicama i smanjenom proizvodnjom eritropetina uslijed bubrežnog oštećenja (2).

Nekontrolirana proizvodnja monoklonskog proteina dovodi do kočenja proizvodnje normalnih imunoglobulina, odnosno nastaje hipogamaglobulinemija ili imunopareza (2, 28). Nije poremećena funkcija samo humoralne, već i stanične imunosti, poglavito B-limfocita. Upravo stoga, oboljeli su podložni rekurentnim infekcijama, koje su najčešće uzrokovane inkapsuliranim bakterijama (*Streptococcus Pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*). Unatoč profilaksi, infekcije su vodeći uzrok morbiditeta i mortaliteta među mijelomskim pacijentima te, prema nekim istraživanjima, njih između 45 i 65% ubrzo nakon postavljanja dijagnoze umire od pneumonije ili sepse (36).

Oko 15% pacijenata ima simptome hemoragijske diateze (37): epistaksu, produljeno menstrualno krvarenje, petehije, purpuru ili ekhimoze (28, 31). Krvarenje je posljedica kvantitativne i kvalitativne disfunkcije koagulacijskog sustava. Uz trombocitopeniju, glavni patofiziološki mehanizam uključuje interakciju monoklonskog proteina s trombocitima i faktorima zgrušavanja (28), koja rezultira inhibicijom polimerizacije fibrinskih monomera i inhibicijom aktivacije trombina (37).

Gotovo polovica pacijenata pri postavljanju dijagnoze ima povišene vrijednosti kreatinina, odnosno 20% njih se već tada nalazi u nekoj fazi zatajenja bubrega. Bubrežno oštećenje nastaje prvenstveno zbog precipitacije Bence-Jonesovih proteina s Tamm-Horsfallovim mukoproteinima, pri čemu se formiraju opstruktivni cilindri zaslužni za staničnu atrofiju u distalnim i sabirnim tubulima (tzv. mijelomski bubreg) (28, 29). Dodatni patofiziološki čimbenici su hiperkalcemija, dehidracija, hiperuricemija i amiloidoza lakih lanaca (2,29).

Od ostalih komplikacija treba spomenuti pridruženu amiloidozu lakih lanaca, čiji se netopljivi proteini talože u glomerulima, srčanom mišiću, jetri, jeziku, koštanim kanalima i drugim tkivima (2, 28, 38) Prisutna je u 10-15% oboljelih sa nekom od sljedećih manifestacija: nefrotski sindrom, restriktivna kardiomiopatija, hepatomegalija, makroglosija, kanalikularni sindromi (npr. obostrani sindrom karpalnog kanala), parestezije (38). Multipli mijelom može se prezentirati i neurološkom simptomatikom, koja je povezana ili s patološkim frakturama, ili s ekstramedularnim rastom mijeloma gdje tumorska masa vrši kompresiju na kralježničku moždinu i spinalne živce. Hiperviskozni sindrom se javlja rijetko, ali je uočena povezanost s IgA – sekretornim mijelomom (28). Karakteriziraju ga povećana sklonost krvarenju, purpura, epistaksa, smetnje vida, glavobolja, vrtoglavica, mučnina, poremećaji svijesti, parestezije, dispneja, znakovi zatajenja srca (2, 39).

2.4 DIJAGNOSTIKA

Ukoliko postoji klinički opravdana sumnja na multipli mijelom, preporuča se da početna laboratorijska obrada uključuje kompletnu krvnu sliku, diferencijalnu krvnu sliku, razmaz periferne krvi, sedimentaciju eritrocita, elektrolitni status, serumski kalcij (Ca), albumin (Alb), kreatinin, ureju i tireotropin (TSH) (2,30). Kod oboljelih je sedimentacija izrazito ubrzana, na krvnom razmazu uočavaju se eritrociti agregirani u

„rouleaux“ formacije, u krvnoj slici bude prisutna normocitna normokromna anemija, koja je u podmaklim stadijima udružena s granulocitopenijom i trombocitopenijom, a moguć je i nalaz hiperkalcemije, hipoalbuminemije, povišenog kreatinina i ureje (2). Proširena inicijalna obrada uključuje elektroforezu serumskih proteina te određivanje koncentracije BJP u serumu, odnosno slobodnih lakih lanaca κ -tipa, λ -tipa te njihovog međusobnog omjera. Ukoliko je u elektroforezi serumskih proteina pronađena monoklonska vrpca te je poremećen κ/λ omjer, provodi se daljnja dijagnostika kako bi se determiniralo o kojoj je monoklonskoj gamapatiji riječ. Imunofiksacijom se definira razred i tip monoklonskog proteina, a u 24h-urinu se ponavlja postupak mjerenja slobodnih lakih lanaca (SLL) (40). Obzirom da je imunofiksacija kvalitativna metoda, potrebno je kvantitativno procijeniti proizvodnju pojedinih razreda imunoglobulina, no treba imati na umu da ta pretraga ovisi o dodatnim čimbenicima kao što su volumen plazme i veličina hematokrita (28). Općenito, većina je mijeloma sekretorna (97%), dok samo 3% pripada nesekretornim oblicima. M-komponenta je najčešće IgG razreda (50%), zatim IgA (20%) ili tipa lakih lanaca (20%), a preostali razredi - IgM, IgD i IgE su izuzetno rijetki (<10%) (41).

Osim indirektno, tumorska masa mora se dokazati i direktnim metodama: punkcijom koštane srži i biopsijom kosti. Nakon toga se vrši citološka analiza punktata, imunofenotipizacija protočnim citometrom, histološka i imunohistokemijska pretraga bioptata, klasična citogenetika te molekularna dijagnostika uz pomoć fluorescentne *in situ* hibridizacije (FISH) (2, 28).

Kvalitetna radiološka obrada ima iznimno veliki značaj jer postojanje koštanih lezija slovi za jedan od dijagnostičkih kriterija multiplog mijeloma. Klasična rendgenska dijagnostika je široko rasprostranjena i financijski povoljna te se stoga, unatoč niskoj osjetljivosti i nemogućnosti detekcije ekstramedularnih tumorskih masa, još uvijek smatra zlatnim standardom. U većim centrima ju zamjenjuje kompjutorizirana tomografija (CT), no najveću osjetljivost za intraosealne i ekstraosealne promjene ima magnetska rezonancija (MRI) cijelog tijela (42). U procjeni stanja bolesti sve se više koristi i PET-CT, koji ne daje samo informaciju o morfologiji (CT), već i o metaboličkoj aktivnosti (PET).

Razvoj slikovnih metoda i citogenetike omogućio je precizniju dijagnostiku asimptomatske bolesti, a trenutni stav u svijetu je da se takva bolest liječi ukoliko ima visok rizik od progresije. Iz tih razloga uočena je potreba za revizijom smjernica iz

2003. godine te se simptomatski multipli mijelom danas dijagnosticira na temelju smjernica Međunarodne radne skupine za mijelom (IMWG, od engl. International Myeloma Working Group) koje su donesene 2014.godine (Tablica 2) (30).

Tablica 2. Ažurirane smjernice IMWG-a (2014.) za simptomatski multipli mijelom (27)

SIMPTOMATSKI MULTIPLI MIJELOM – oba kriterija moraju biti zadovoljena:
(1) klonalne plazma stanice u koštanoj srži $\geq 10\%$ ili biopsijom dokazani ekstramedularni ili solitarni koštani plazmocitom \pm monoklonski protein u serumu i/ili urinu (za sekretorni MM)
(2) bar jedan kriterij od navedenih: <ul style="list-style-type: none"> • CRAB kriteriji (≥ 1) <ul style="list-style-type: none"> - <i>hiperkalcemija</i>: serumski kalcij bar 0,25mmol/L iznad gornje granice dopuštenog ili ukupni serumski kalcij $> 2,75$mmol/L - <i>bubrežna insuficijencija</i>: klirens kreatinina < 40mL/min ili serumski kreatinin $> 177$$\mu$mol/L - <i>anemija</i>: hemoglobin (Hb) > 20g/L ispod donje granice dopuštenog ili ukupni Hb < 100g/L - <i>koštane promjene</i>: ≥ 1 osteolitička lezija na rendgenu skeleta/CT/MRI • klonalne plazma stanice u koštanoj srži $\geq 60\%$ • κ/λ omjer ≥ 100, uz ukupnu koncentraciju monoklonskih SLL > 100mg/L • ≥ 1 fokalna lezija veličine bar 5mm na MRI nalazu

2.5 KLASIFIKACIJA I PROGNOZA

Međunarodno su prihvaćene dvije klasifikacije za određivanje prognostičkog rizika u oboljelih od multiplog mijeloma: klasifikacija po Durie -Salmonu i revidirana ISS (engl. International Staging System) klasifikacija (Tablica 3).

Tablica 3. Usporedba prognostičkih kriterija dviju najupotrebljivanijih klasifikacija za multipli mijelom (43,44)

	Klasifikacija po Durie-Salmonu	Revidirana ISS klasifikacija
Stadij I	Svi kriteriji od navedenih: <ul style="list-style-type: none"> • Hb > 100 g/L • proizvodnja M-proteina: IgG<50g/L ili IgA<30g/L ili BJP<4g/24h-urin • serumski Ca uredan ili <12mg/dL • RTG skeleta uredan ili detektiran plazmocitom 	Svi kriteriji od navedenih: <ul style="list-style-type: none"> • Alb ≥ 35 g/L • β2-M ≤ 3.5 mg/L • LDH uredan • bez t(4;14), t(14;16), del(17p) <i>SR5=82% ; MP=nema podataka</i>
Stadij II	• ne zadovoljava sve kriterije za stadij I niti za stadij III	• ne zadovoljava sve kriterije za stadij I niti za stadij III <i>SR5=62% ; MP=83 mjeseci</i>
Stadij III	Bar 1 kriterij od navedenih: <ul style="list-style-type: none"> • Hb < 85 g/L • proizvodnja M-proteina: IgG>70g/L ili IgA>50g/L ili BJP>12g/24h urin • serumski Ca >12mg/dL • uznapredovale litičke lezije kostiju 	Oba kriterija od navedenih: <ul style="list-style-type: none"> • β2-M ≥ 5.5 mg/L • povišen LDH ili citogenetski nalaz neke od mutacija: t(4;14), t(14;16), del(17p) <i>SR=40% ; MP=43 mjeseci</i>
Podstadiji	A – kreatinin <177μmol/L B – kreatinin >177μmol/L	/
SR5 – stopa petogodišnjeg preživljenja; MP – medijan preživljenja		

Durie-Salmonovi kriteriji su starijeg datuma te se temelje na direktnoj procjeni veličine tumorske mase i prisutnosti određenih biokemijskih i slikovnih nalaza. Obzirom da interpretacija radioloških snimki uvelike ovisi o kvaliteti radiološkog uređaja i iskustvu samog stručnjaka, glavna zamjerka im je nedostatak objektivnosti. S druge strane, originalna ISS klasifikacija procjenjuje tumorsku masu indirektno, analizirajući samo serumsku koncentraciju albumina i β2-mikroglobulina (45). Razvojem citogenetike

uočene su mutacije koje nose veći rizik od progresije te su stoga uključene u novu, revidiranu ISS klasifikaciju.

2.6 TERAPIJA

U svibnju 2017. godine Radna skupina za multipli mijelom KROHEM-a, Referentni centar Ministarstva zdravstva za multipli mijelom i druge neoplastične poremećaje stanica koje luče imunoglobuline te Hrvatsko hematološko društvo Hrvatskog liječničkog zbora izradili su Hrvatske smjernice za liječenje oboljelih od multiplog mijeloma (46). U ovom radu prikazane su terapijske preporuke s razinom dokaza kategorije 1 i 2A prema NCCN-u (Tablica 4).

Terapijski pristup se bitno razlikuje ovisno o tome da li je oboljeli kandidat za liječenje autolognom transplantacijom krvotvornih matičnih stanica (ATKMS) ili ne. Bolesnici mlađi od 65 godina, odnosno mlađi od 70 godina, a koji su dobrog psihofizičkog stanja i bez komorbiditeta, podvrgavaju se nakon indukcijske terapije transplantaciji, dok oni koji izlaze izvan tih kriterija primaju konvencionalnu kemoterapiju različitog inteziteta (46). Bitna razlika naspram prijašnjih smjernica je u tome što se kao inicijalna terapija u predtransplantacijskom periodu više ne primjenjuje VAD protokol (vinkristin, adriamicin/doksorubicin, deksametazon), već protokoli koji pokazuju veći postotak postizanja kompletnih remisija i dulje ukupno preživljenje (28). Također, izbjegava se primjena mijelotoksičnih lijekova poput melfalana jer se u suprotnom kompromitira skupljanje dovoljnog broja matičnih stanica.

Ne postoji uniforman stav oko provođenja konsolidacije, no indicirana je ukoliko je nakon tandem ATKMS postignuta samo parcijalna remisija ili ukoliko je bolest visokorizične citogenetike. Terapija održavanja zasigurno ima pozitivan utjecaj na preživljenje pacijenata, no otvoreno je pitanje njene dugotrajne toksičnosti u pogledu razvoja sekundarnih maligniteta i smanjene kvalitete života.

Ukoliko se događaju relapsi ili je bolest refraktorna, izbor liječenja ovisit će o odgovoru na prethodnu terapiju i o duljini remisije. Smatra se zadovoljavajućim ako je remisija trajala barem 12 mjeseci te se u tim slučajevima može ponoviti uvodna terapija iz prethodne faze liječenja. Ukoliko je remisija bila kraća od 12 mjeseci, mora se promijeniti skupina lijekova, s time da prednost imaju protokoli temeljeni na

bortezomibu ili lenalidomidu. U slučaju rezistencije na ta dva lijeka, prelazi se na druge modalitete, među kojima mnogo obećavaju kombinacije sa specifičnim monoklonskim protutijelima.

Uz osnovnu bolest liječe se i njene komplikacije, no pregled simptomatske terapije nadilazi obuhvat ovog rada.

Tablica 4. Hrvatski model liječenja multiplog mijeloma (svibanj, 2017.) (46)

INDUKCIJSKA TERAPIJA	
<ul style="list-style-type: none"> • osobe koje su kandidati za ATKMS 	<ul style="list-style-type: none"> • osobe koje nisu kandidati za ATKMS
1. izbor* : VTD, VCD, PAD	1. izbor*** :
2. izbor* : Vd, RVd, Rd, CTD	VMP, MPT, VCD
prikupljanje krvotvornih matičnih stanica**	2. izbor*** :
+ 1 x ATKMS ukoliko je po njoj odmah postignuta remisija	Vd, VTD, CTD, TD, MP
+ tandem ATKMS ukoliko po prvoj transplantaciji nije postignuta remisija	
KONSOLIDACIJSKA TERAPIJA	
isti protokoli kao za indukcijsku terapiju, 2-4 ciklusa	
TERAPIJA ODRŽAVANJA	
1. izbor: lenalidomid	
2. izbor: bortezomib, talidomid	
TERAPIJA ZA RELAPSNU BOLEST	
<ul style="list-style-type: none"> • remisija < 12 mjeseci 	<ul style="list-style-type: none"> • remisija > 12 mjeseci
promijeniti terapijsku skupinu*** - preporuka: Vd, VCD, VTD, RVd, Rd, Kd, KRd, Id, IRd, Pd, PVd, protokoli temeljeni na daratumumabu ili elotuzumabu	ponoviti uvodnu terapiju iz prethodne faze liječenja
dodatne mogućnosti: + ATKMS ukoliko u prethodnoj fazi nije uopće učinjena ili je učinjena 1x + ALO-TKMS u mlađih bez značajnih komorbiditeta + konsolidacija ili održavanje	
* uglavnom 4 ciklusa, terapijski učinak se procjenjuje nakon 2-4 tj., cilj je postići minimalno parcijalnu remisiju ** vrši se uz visoke doze ciklofosfamida i G-CSF, optimalni broj skupljenih CD34+ stanica za 2 transplantacije je $2,35 \times 10^6 / \text{kgTT}$, kondicioniranje se provodi melfalanom u dozi 200mg/m^2 tijekom 2 dana *** 8-12 ciklusa	
[Napomena: Kratice za protokole navedene su u Popisu i objašnjenju kratica.]	

3. IMUNOTERAPIJA MULTIPLOG MIJELOMA

3.1 POVIJESNI PREGLED

Način liječenja multiplog mijeloma uvelike se mijenjao kroz vrijeme, no unatoč novim terapijskim otkrićima, bolest je još uvijek za većinu pacijenata neizlječivog karaktera (3) te predstavlja veliki izazov za suvremenu hematologiju.

Gledajući unatrag, iako je prvi slučaj multiplog mijeloma opisan 1844. godine (47), do otkrića djelotvornih lijekova trebalo je proći nešto više od čitavog stoljeća. Prvi lijek koji se pokazao donekle učinkovitim bio je alkilirajući agens melfalan. Primjenjivao se kao visokodozna monoterapija ili u kombinaciji s kortikosteroidima, što je desetljećima slovalo za najuspješniji i najkorišteniji terapijski protokol (48). Revolucionarni napredak u liječenju mijeloma ostvario se uvođenjem autologne transplantacije koštane srži, odnosno krvotvornih matičnih stanica, u kliničku praksu. Prva autologna transplantacija koštane srži u Hrvatskoj izvršena je pod vodstvom prof. dr. sc. Damira Nemeta 1988. godine pri Zavodu za hematologiju KBC-a Zagreb (49).

Devedesetih godina prošlog stoljeća standardni protokoli temeljili su se na agresivnoj kemoterapiji s toksičnim učinkom na hematopoezu, dok danas glavnu ulogu u liječenju preuzimaju inhibitori proteasoma i imunomodulatori (3). Petogodišnje preživljenje poraslo je s 29,7% (1990.) (3) na preko 50% (2019.) (50), no progresija bolesti je neminovna i naposljetku svi pacijenti imaju rezistentni oblik bolesti. U posljednje vrijeme sve je veće razumijevanje staničnih interakcija, funkcije mikrookoliša i imunosupresijskih mehanizama mijelomske bolesti, zbog čega se ponovno pobuđuje interes medicinske znanosti za imunoterapiju.

Osnovni postulati imunoterapije u onkologiji počivaju na teoriji imunološkog nadzora (engl. immunosurveillance hypothesis), koju su razvili Paul Erlich, Lewis Thomas i Frank Macfarlane Burnet (51). Uloga imunološkog sustava do tada se spominjala isključivo u kontekstu obrane od infekcija, no oni su tu ulogu proširili na prepoznavanje i destrukciju novonastalih tumorskih stanica. Teorija je znanstveno potvrđena otkrićem specifičnih tumorskih antigena eksprimiranih na površini neoplastičnih stanica, koje efektorske stanice prepoznaju kao strane i posljedično pokreću imunološku reakciju. Iako se ovom hipotezom može objasniti nastanak

neoplazmi u osoba s primarnom ili sekundarnom imunodeficijencijom, njen glavni nedostatak je u tome što ne pruža odgovor na pitanje zašto se ipak većina malignih bolesti javlja u imunokompetentnih osoba.

Dunn i Schreiber predložili su koncept imunološkog uređivanja (engl. immunoediting), koji polazi od pretpostavke da je razvoj tumora kontinuirani proces međudjelovanja između neoplazme i imunološkog sustava, gdje procesom selekcije preživljavaju najslabije imunogeni klonovi. U eliminacijskoj fazi prevagu ima imunološki sustav pa NK-stanice (engl. natural killer cells) i T-limfociti uništavaju tumor. Druga je faza ravnoteže, u kojoj se pod pritiskom mikrookoliša mijenja genska ekspresija tumorskih stanica. Kada se stvore dovoljno otporni klonovi, ulaze u tzv. „fazu bijega“ i očituju se kao klinički manifestna bolest. Primjenjujući ovu teoriju, osobe s MGUS-om nalaze se u prvoj fazi i imaju adekvatnu imunološku reakciju usmjerenu na premaligne stanice, dok u pacijenata s multiplim mijelomom ona nedostaje (51).

Za razliku od konvencionalne kemoterapije, koja se temelji na kočenju diobenog procesa tumorskih i ostalih brzo dijelećih stanica, imunoterapija je u svom djelovanju mnogo selektivnija te se stoga veže uz manji broj nuspojava. Cilj joj je demaskirati tumor i učiniti ga „vidljivim“ za naš obrambeni sustav.

Trenutni imunoterapijski dosezi obuhvaćaju nekoliko modaliteta terapije, koje dijelimo u tri velike skupine (4) :

1) adjuvantna, „booster“ imunoterapija – lijekovi koji ukidaju imunoparezu posredovanu tumorom,

npr. imunomodulatori (IMiDs, od engl. immunomodulators) i inhibitori imunoloških kontrolnih točaka (ICIs, od engl. immune checkpoint inhibitors);

2) pasivna imunoterapija – lijekovi koji selektivno prepoznaju maligne klonove,

npr. monoklonska protutijela (MoAbs, od engl. monoclonal antibodies);

3) aktivna imunoterapija – lijekovi koji aktiviraju imunološke stanice da same prepoznaju tumor,

npr. tumorska cjepiva, terapija limfocitima koji infiltriraju koštanu srž (MILs, od engl. marrow infiltrating lymphocytes), T-stanična terapija modificiranim T-staničnim receptorima (TCR-T, od engl. T-cell receptor-engineered T-cell

therapy), T-stanična terapija kimeričnim antigenskim receptorima (CAR-T, od engl. chimeric antigen receptor T-cell therapy).

3.2 IMUNOSUPRESIJSKI MEHANIZMI U MULTIPLOM MIJELOMU

Imunosupresija igra bitnu ulogu u patogenezi multiplog mijeloma, njegovom razvoju iz MGUS-a i imunološkoj selekciji klonova s genskom ekspresijom koja osigurava progresiju bolesti (52). Osim monoklonskim proteinom izazvane hipogamaglobulinemije, multipli mijelom izaziva promjene u aktivnosti signalnih putova, sekreciji citokina, ekspresiji površinskih membranskih antigena te preživljenju i proliferaciji stanica iz njegove neposredne blizine. Mikrokoliš koji je prije uspješno uklanjao tumorske stanice, sada gubi svoju imunoregulacijsku ulogu i prikriva njihovo sjelo, odnosno djeluje kao niša. Maskiranje tumora se odvija po principu direktne fizičke prepreke, ali i preko smanjene aktivnosti imunostimulacijskih i povećane aktivnosti imunoinhibicijskih mehanizama (3,4,52).

Molekularne i stanične interakcije proučavane su na mišjim modelima i kulturama humanih malignih stanica, a iz tih istraživanja može se zaključiti da je oštećena funkcija i urođene i stečene imunosti (3). Glavne disregulacije zapažene su kod dendritičkih stanica, regulacijskih T-limfocita, pomagačkih Th17-limfocita (engl. T-helper cells 17) i supresorskih stanica mijeloidnog podrijetla (52). Iako mijelomske stanice izražavaju HLA II molekule (HLA, od engl. human leukocyte antigen) i imaju sposobnost direktne prezentacije antigena, ipak se taj proces dominantno događa putem antigen prezentirajućih stanica (3). Dendritičke stanice na svojoj površini ekspimiraju molekule CD80/86 i preko njih stupaju u kontakt s mijelomskim CD28 biljegom, što ih potiče na sintezu interleukina 6 (IL-6) i indolaza-2,3-dioksigenaze (IDO). IL-6 slovi za najpotentniji faktor preživljenja malignih stanica, dok IDO razgrađuje rezerve esencijalne aminokiseline triptofan i posljedično dovodi do anergije T-limfocitnih prekursora. Nadalje, zbog promijenjene sekrecije citokina, diferencijacija naivnih T-limfocita usmjerava se prema Th17 te dovodi do smanjenog broja regulacijskih limfocita T, koji su ključni za kontrolu nad ekspanzijom T-stanica. Količina Th17 kolerira s litičkim lezijama kostiju, laktat-dehidrogenazom u plazmi, kreatininom i stadijem tumora te je stoga potencijalni indikator terapijskog odgovora (52). Makrofagi su najveći izvor imunosupresijskih citokina (IL-1 β , IL-10, TNF- α) u

mikrookolišu, a proizvode i mnoge angiogene faktore (VEGF, IL-8, FGF-2, CSF-1, COX-2). Nedavno je u koštanoj srži i perifernoj krvi oboljelih od mijeloma otkrivena heterogena populacija mijeloidnih stanica, tzv. supresorske stanice mijeloidnog podrijetla (MDSC, od engl. myeloid-derived supressor cells). One proizvode arginazu, dušični oksid i reaktivne okside te uzrokuju kočenje odgovora specifičnih T- stanica i rezistenciju na kemoterapiju. Smatraju se lošim prognostičkim faktorom. Općenito, pojačana je aktivnost inhibitornih puteva među kojima prednjači PD-1/PD-L1 (engl. programmed cell death protein 1 / programmed cell death-ligand 1) (3,4). Drugi izuzetno bitan signalni put je onaj putem NF- κ B (engl. nuclear factor-kappa B), koji rezultira ekscesivnim stvaranjem citokina za preživljenje mijelomskih stanica: IL-6, BAFF (engl. B-cell activating factor), APRIL (engl. Abn proliferation-inducing ligand) (52).

3.3 MONOKLONSKA PROTUTIJELA

Protutijela su nositelji specifične humoralne imunosti. Sintetiziraju se u limfocitima B fenotipa, no u najvećoj mjeri u terminalno diferenciranim plazma stanicama. Građena su od dva laka i dva teška lanca koji su međusobno povezani disulfidnim vezama, a prema kemijskom sastavu pripadaju glikoproteinima. Njihova uloga je vezivanje komplementarnih dijelova antigena, tzv. antigenih determinanta ili epitopa, a mjesto na protutijelu koje je odgovorno za to vezivanje zove se paratop. Upravo je specifičnost između epitopa i paratopa osnova terapije monoklonskim protutijelima (53).

Na protutijelima razlikujemo konstantne i varijabilne regije. Svaki varijabilni fragment sadrži 3 hipervarijabilne regije (CDR, od engl. complementarity determining region), koje su odrednice komplementarnosti za antigen. Konstantni dio protutijela, tj. Fc-fragment koji sadrži regije C_{H2} i C_{H3}, stupa u interakciju s mnogim staničnim receptorima te je zaslužan za distribuciju u tkivima i vršenje efektorskih funkcija. Osim vezanja za specifični antigen, uloga protutijela je inaktivirati i ukloniti spomenuti antigen ili stanicu što ga nosi. Mehanizmi koje u tu svrhu koristi su neutralizacija, precipitacija i aglutinacija kao oblici direktne inaktivacije, zatim indukcija apoptoze, citotoksičnost posredovana komplementom (CDC, od engl. complement-dependent

cytotoxicity) te stanična citotoksičnost posredovana protutijelima (ADCC, od engl. antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity) (53).

S obzirom na specifičnost, razlikujemo monoklonska i poliklonska protutijela. Poliklonska protutijela su osnova imunološkog odgovora *in vivo*, gdje se pri izlaganju antigenu iz različitih B-limfocita stvaraju velike količine protutijela specifičnih za različite epitope. Monoklonska protutijela pak nastaju iz jednog B-staničnog klona te se sva vežu za isti epitop (54). Korištenje monoklonskih protutijela u terapijske svrhe počinje 1975. godine otkrićem tehnike hibridoma stanica, za koju su Milstein i Köhler primili Nobelovu nagradu. Prva proizvedena protutijela bila su mišjeg podrijetla, no zbog velike imunogeničnosti i posljedične slabe efektivnosti postalo je jasno da moraju biti što sličnija ljudskima (55). Razvojem tehnologije rekombinantne DNA i transfekcije gena omogućeno je stvaranje kimeričnih protutijela (56). Najpoznatije među njima je rituksimab (MabThera[®], Rituxan[®]), revolucionarni lijek za Non-Hodgkinov limfom usmjeren na molekulu CD20 (57). Naposljetku, danas se u najvećoj mjeri koriste humanizirana i humana protutijela (Tablica 5), čija proizvodnja počiva na tehnici prikaza peptida na površini faga (engl. phage display) i lančanoj reakciji umnožavanja polimerazom (PCR, od engl. polymerase chain reaction) (58).

Tablica 5. Pregled osnovnih vrsta i karakteristika monoklonskih protutijela (59)

	Mišja protutijela	Kimerična protutijela	Humanizirana protutijela	Humana protutijela
Nastavak u imenu lijeka	-momab	-ksimab	-zumab	-mumab
Dio protutijela koji je mišjeg podrijetla	cijelo protutijelo	varijabilna regija	CDR regije	/
Sličnost s ljudskim protutijelima (%)	minimalna	60-70	90-95	100

Prilikom sinteze monoklonskih protutijela u terapijske svrhe, bitno je znati koji razred imunoglobulina je za to najprimjereniji. U suvremenoj imunoterapiji koriste se imunoglobulini G razreda, točnije IgG1, IgG2 i IgG4. Naime, njihova konstantna regija je neophodna za vršenje funkcije CDC i ADCC, a uz to im omogućava i dulje vrijeme

poluživota zbog sposobnosti vezanja za FcRn receptor (engl. neonatal fragment crystallizable receptor). U kompleksu s FcRn, protutijela cirkuliraju endosomima između citoplazme i stanične membrane, što ih spašava od brze razgradnje u lizosomima (60).

Za liječenje multiplog mijeloma trenutno su odobrena dva monoklonska protutijela, daratumumab (Darzalex[®]) i elotuzumab (Empliciti[®]). Prvo odobrenje dodijelila im je FDA 2015. godine (4), a 2016. isto je učinila i EMA za europsko tržište (Tablica 6). Indikacije za uporabu inicijalno su bile usmjerene na relapsne i refraktorne oblike bolesti, no u zadnje vrijeme uočava se korist njihovog ranijeg uključivanja u terapiju, za novodijagnosticirane multiple mijelome. U Republici Hrvatskoj daratumumab je od lipnja 2019. godine uvršten na osnovnu listu lijekova HZZO-a i primjenjuje se u bolesnika koji su već primili barem jednu liniju liječenja (61).

Tablica 6. Terapijske indikacije za korištenje daratumumaba (62) i elotuzumaba (63) u liječenju multiplog mijeloma (EMA, 2016.)

Darzalex [®]	Empliciti [®]
<ul style="list-style-type: none"> • kod pacijenata s novodijagnosticiranim MM koji nisu podobni za ATKMS, u kombinaciji s bortezomibom, melfalanom i prenizonom (VMP) 	<ul style="list-style-type: none"> • u kombinaciji s lenalidomidom i deksametazonom, nakon barem jedne primljene linije antimijelomske terapije
<ul style="list-style-type: none"> • kao monoterapija ukoliko je bolest refraktorna na inhibitore proteasoma i imunomodulatore, odnosno ukoliko se nakon njihove primjene dogodio relaps 	
<ul style="list-style-type: none"> • u kombinaciji s lenalidomidom i deksametazonom (DRd) ili bortezomibom i deksametazonom (DVd) za pacijente koji su prethodno primili barem jednu antimijelomsku terapiju 	

Daratumumab je humano monoklonsko protutijelo razreda IgG1 κ , usmjereno na glikoprotein CD38, koji predstavlja visokospecifičan biljeg za mijelomske stanice (3,4,64,65). Ipak, ekspresija CD38 nije ograničena samo na njih, već se u manjoj mjeri može naći na drugim limfoidnim i mijeloidnim stanicama, njihovim prekursorima te nekim nehematopoetskim stanicama poput moždanih, mišićnih i pankreasnih (4). Uloga ovog glikoproteina je usko povezana s imunotolerancijom: uključen je u regulaciju stanične adhezije, međustaničnu signalizaciju unutar mijeloma i interakciju s T-limfocitima (65). Daratumumab svoje antimijelomsko djelovanje ostvaruje putem CDC, ADCC, direktne apoptoze, protutijelima posredovane fagocitoze (ADCP, od engl. antibody dependent cellular apoptosis), a uz to pokazuje i imunomodulacijski učinak na mikrookoliš (64-67). Obzirom da je CD38 donekle izražena na regulacijskim T-limfocitima i supresorskim stanicama mijeloidnog podrijetla, monoklonsko protutijelo neutralizirajući tu molekulu dovodi do disinhibicije citotoksičnih T-limfocita u koštanoj srži (64,65).

Učinkovitost monoterapije daratumumabom za relapsno-refraktorni multipli mijelom (RRMM) dokazana je u dvama kliničkim istraživanjima: GEN501 i SIRIUS (Tablica 7). Studija GEN501 provodila se na dvije kohorte pacijenata, od kojih je jedna primala dozu daratumumaba 8 mg/kg, a druga dvostruko veću, 16 mg/kg. Ukupni odgovor na terapiju bio je trostruko uspješniji u visokodoznoj grupi (36%) nego u niskodoznoj (10%), a u skladu s time je korelirao i medijan preživljenja bez progresije bolesti (PFS, od engl. progression-free survival; 5,6 mj. naspram 2,4 mj.) (65). U drugoj, SIRIUS studiji, daratumumab je primijenjen u pacijenata koji su imali medijan prethodnih terapija 5, a 85% njih bilo je dvostruko rezistentno na bortezomib i lenalidomid. Postignuta stopa ukupnog odgovora (ORR, od engl. overall response rate) iznosila je 29,2%, medijan PFS 3,7 mjeseci i ukupno preživljenje 17,5 mjeseci. Nuspojave lijeka uključuju pretežno infuzijske reakcije i prolazne citopenije. Kombinirana analiza GEN501 i SIRIUS studije pokazala je PFS od 20 mjeseci, što je puno duže nego njihovi zasebni rezultati (64).

Uspješni rezultati kliničkih istraživanja faza 1 i 2 omogućili su provođenje niza randomiziranih kontroliranih studija faze 3, među kojima su najvažnije POLLUX i CASTOR iz 2016. godine (Tablica 7). U studiji POLLUX cilj je bio usporediti efikasnost standardiziranog terapijskog protokola lenalidomid-deksametazon (Rd) sa i bez dodatka daratumumaba (16mg/kg). Istraživanje je provedeno na 529 pacijenata

s relapsnim ili refraktornim multiplim mijelomom, koji su prethodno primili bar jednu liniju terapije. Tijekom medijana praćenja od 13,5 mjeseci, bolest je progredirala kod ukupno 169 osoba; za grupu s daratumumabom (DRd) taj udio je iznosio 18,5%, a za kontrolnu (Rd) čak 40%. Grupa koja je primala DRd tada je imala veću stopu PFS (83,2% naspram 60,1%) i viši ORR (92,9% naspram 76,4%) (66). Praćenje ispitanika se nastavilo i pri medijanu od 44,3 mjeseca procijenjeni PFS za pacijente pod DRd protokolom i dalje je bio viši (44,5 mj. naspram 17,5 mj.) (68). Učestalost nuspojava je u obje skupine bila podjednaka, izuzev infuzijskih reakcija i citopenija (neutropenija, trombocitopenija, anemija) koje su se u većoj mjeri javljale uz primjenu daratumumaba. Među blagim komplikacijama ističu se kašalj, proljev i akutne respiratorne infekcije, dok su najteže zabilježene komplikacije bile pneumonija i plućna embolija, iako u svega nekoliko pacijenata. Monoklonska protutijela interferiraju s indirektnim Coombsovim testom, no, unatoč tomu, u pacijenata koji su primili transfuziju eritrocita nije bio zabilježen niti jedan slučaj hemolize (66). Studija CASTOR imala je dizajn sličan POLLUX-u, no bavila se usporedbom djelotvornosti između standardiziranog protokola bortezomib-deksametazon (Vd) i njegove kombinacije s daratumumabom (DVd). Kriterije uključivanja zadovoljilo je 498 pacijenata, a oni zahtijevaju da je osoba primila minimalno jednu liniju antimijelomske terapije, zatim da je odgovor na tu terapiju barem jednom bio parcijalan te da je bolest prema IMWG kriterijima svrstana u progresivnu. U isto vrijeme, nisu se uključivale osobe refraktorne na bortezomib ili ikoji drugi inhibitor proteasoma te osobe koje imaju neuropatiju 2. stupnja ili višeg. Nakon medijana praćenja od 7,4 mjeseca, u 189 pacijenata bolest je rezultirala progresijom ili smrtnim ishodom; od toga ih je 67 bilo u kohorti koja je primala daratumumab, a 122 u kontrolnoj skupini. Stopa PFS pri 12 mjeseci praćenja bila je trostruko viša za skupinu pacijenata koja je pod DVd protokolom (60,7% naspram 26,9%) (67), a nakon 40 mjeseci medijan PFS za istu kohortu iznosio je 16,7 mjeseci nasuprot 7,1 mjeseca postignutih u Vd grupi (69). Također, odgovor na terapiju bio je brže induciran i duljeg trajanja nego u kontroli, što se odrazilo na vrijednosti ORR (82,9% za DVd i 63,2% za Vd). Javljale su se iste nuspojave kao i u prethodnim studijama, a najčešći razlozi prekidanja terapije bile su senzorna neuropatija i pneumonija. Zaključno, izračunato je da je rizik od progresije bolesti ili smrti 61,4% niži za kohortu koja je primala daratumumab (67).

Elotuzumab je humanizirano IgG1 monoklonsko protutijelo, koje je usmjereno na signalnu aktivacijsku molekulu limfocita SLAMF7 (engl. signaling lymphocytic activation molecule family member 7), poznatu i kao CS-1 (engl. CD2 subset-1) ili CD319. Nalazimo ju eksprimiranu samo na mijelomskim i NK-stanicama, što ju čini idealnim terapijskim biljegom. Elotuzumab ima dualni mehanizam djelovanja: aktivira NK-stanice direktno, prilikom vezivanja za svoj receptor ili pak indirektno putem ADCC (4, 65).

Iako istraživanja u fazi 1 nisu pokazala uspješan odgovor na monoterapiju elotuzumabom, neke pretkliničke studije uočile su da protutijelo posjeduje sinergistički učinak s imunomodulatorima i inhibitorima proteasoma (65). Revolucionarna studija za ovaj lijek je ELOQUENT-2 (Tablica 7), koja je dokazala postojanje spomenutog sinergizma i u kliničkom ispitivanju faze 3. Pacijenti s relapsnim ili refraktornim multiplim mijelomom podijeljeni su na jednu kohortu koja je primala elotuzumab, lenalidomid i deksametazon (ERd) i drugu kojoj je ordinirana kombinacija lenalidomida i deksametazona (Rd). Ukupna stopa odgovora na terapiju (ORR) bila je veća u skupini koja je primala ERd (79% napram 66%). Nakon jedne godine praćenja stopa PFS je iznosila 68% za grupu s elotuzumabom, dok je u kontrolnoj bila 57%, a pri dvije godine praćenja njene vrijednosti između dviju grupa su se razlikovale gotovo duplo (41% naspram 27%) (70). Stanje pacijenata se nastavilo evaluirati te je uočeno da su rezultati nakon 4 godine praćenja jednaki onima nakon dvije i tri godine, što elotuzumab čini prvim monoklonskim protutijelom s dokazanim učinkom na dugoročno preživljenje (71). Počele su se istraživati različite terapijske varijante, pa tako protokol pomalidomid-deksametazon (Pd) sa i bez dodatka elotuzumaba u osoba refraktornim na lenalidomid. I u ovom slučaju rizik progresije bolesti bio je niži u ispitivanoj skupini nego u kontrolnoj (72).

Tablica 7. Prikaz rezultata ključnih kliničkih istraživanja glede djelotvornosti monoklonskih protutijela u terapiji multiplog mijeloma (64)

	SIRIUS	GEN501	CASTOR	POLLUX	Eloquent-2
Godina	2016	2016	2016	2016	2015
Testirani lijek	Dar	Dar	Dar	Dar	Elo
RCT	/	/	DVd i Vd	DRd i Rd	ERd i Rd
Medijan primljenih TL	5	4	2	1	2
ATKMS (%)	80	76	62	63	55
Refraktorni na zadnju TL (%)	97	80	30	28	35
RR / CR (%)	29.2 / 2.8	36 / 5	83 / 19	93 / 43.1	79 / 7
Medijan PFS za 1. grupu / 2. grupu (mj.)	3.7	5.6	np / 7.2	np / 18.4	19.4 / 14.9
<p>ATKMS – autologna transplantacija krvotvornih matičnih stanica; CR – potpuni odgovor na terapiju; Dar – daratumumab; DRd – daratumumab, lenalidomid i deksametazon; DVd – daratumumab, bortezomib i deksametazon; Elo- elotuzumab; ERd – elotuzumab, lenalidomid i deksametazon; np – nije postignuto; PFS – preživljenje bez progresije bolesti; RCT – randomizirana kontrolirana studija; Rd – lenalidomid i deksametazon; RR – stopa odgovora na terapiju; TL – terapijska linija; Vd – bortezomib i deksametazon</p>					

U razvoju su mnoga druga monoklonska protutijela, među kojima se ističu isatuksimab (anti-CD38), lorvotuzumab (anti-CD56), MOR03087 (anti-CD38) i BT062 (anti-CD138) (3).

3.4 INHIBITORI IMUNOLOŠKIH KONTROLNIH TOČAKA

Inhibitori imunoloških kontrolnih točaka (engl. immune checkpoint inhibitors) po svojoj su građi također monoklonska protutijela, no zbog različitog mehanizma djelovanja svrstavamo ih u posebnu skupinu. Njihov se učinak temelji na blokadi koinhibicijskih signalnih puteva PD-1/PD-L1, PD-1/PD-L2, CTLA-4/B7-1. ili CTLA-4/B7-2 (engl. cytotoxic T-lymphocyte associated antigen 4 / B7-2 protein) (4,73-75). Transmembranski protein PD-1 (poznat i kao CD279) izražen je na površini aktiviranih B i T-limfocita, a PD-L1 (poznat i kao CD274 ili B7-H1) na antigen

prezentirajućim (dendritičke stanice, makrofazi) te raznim malignim stanicama. Prema nekim studijama, količina PD-L1 na mijelomskim plazma stanicama je zamjetno veća nego na plazma stanicama zdravih pojedinaca ili osoba s MGUS-om. Treba naglasiti da postoje i proturječne studije, koje nisu naišle na različitu ekspresiju u spomenutim grupama (75). Vezanjem molekula PD-1 i PD-L1 ostvaruje se blokada daljnje aktivacije, proliferacije i efektorske funkcije limfocita T, u prvom redu njihovog citotoksičnog protutumorskog djelovanja (4). Klasična uloga spomenutog signalnog puta je sprječavanje autoimunih reakcija te pretjeranih tkivnih oštećenja pri upalnom odgovoru organizma (75), no u ovom slučaju također pripomaže uspostavi imunotolerancije i omogućava tumoru preživljenje u koštanoj srži, iako je okružen mnogim T-stanicama (73).

James P. Allison i Tasuko Honjo dobitnici su Nobelove nagrade za fiziologiju i medicinu u 2018. godini, za neovisno otkriće ovog novog protutumorskog liječenja temeljenog na inhibiciji negativne imunoregulacije (76). Najpoznatija protutijela usmjerena na PD-1 su pembrolizumab, nivolumab, pidilizumab i cemiplimab, dok su među inhibitorima PD-L1 to durvalumab i atezolizumab. Primjena ovih lijekova dovela je do značajnog napretka u liječenju nekih solidnih tumora poput melanoma, adenokarcinoma bubrega, karcinoma pluća ne-malih stanica te karcinoma glave i vrata. No, njihova uspješnost u hematološkom svijetu trenutno je ograničena na Hodgkinov limfom. Što se tiče primjene u oboljelih od multiplog mijeloma, kliničke studije ne pokazuju ujednačene rezultate pa je djelotvornost na tom polju još uvijek upitna (75).

Monoterapija pembrolizumaba dala je razočaravajuće rezultate i nije inducirala odgovor niti u jednog pacijenta uključenog u studiju. Istraživanja su se okrenula traženju idealne terapijske kombinacije s pembrolizumabom u osoba koje boluju od RRMM (74,75). Najlogičniji izbor bili su imunomodulatori, jer pokazuju određenu mjeru sinergizma. Primjerice, lenalidomid smanjuje ekspresiju PD-1 na T-limfocitima i PD-L1 na stanicama mijeloma, potiče kostimulacijske signalne puteve NK i T-stanica te reducira broj regulacijskih limfocita T. Loša strana njihovog mehanizma djelovanja je pretjerana, nekontrolirana imunostimulacija te u vezi s time neočekivano visoka toksičnost. Najčešće zabilježene nuspojave bile su pneumonija, hiperglikemija, citopenije svih triju krvnih loza, infuzijske reakcije te imunoposredovani hepatitis, pneumonitis i hipotiroidizam (75). Zbog teških komplikacija te iznenađujuće niskih

ORR i PFS, FDA je obustavila niz kliničkih istraživanja i stavila ih na čekanje. Kao jedina donekle uspješna klinička studija spominje se KEYNOTE-023, koja je ispitala efikasnost protokola pembrolizumab-lenalidomid-deksametazon. Provedena je među pacijentima s relapsnim oblikom multiplog mijeloma (medijan prethodno primljenih linija liječenja = 4), a odgovor je postignut u njih 50% (74,75). Druge potencijalne terapijske opcije uključuju konsolidaciju inhibitorima kontrolnih točaka nakon ATKMS te njihove kombinacije s elotuzumabom, daratumumabom ili radioterapijom (75).

3.5 IMUNOMODULATORI

Do početka 21. stoljeća mogućnosti liječenja multiplog mijeloma bile su prilično ograničene, relapsi su nastupali brzo po završetku protokola i medijan preživljenja je iznosio između 2 i 3 godine. S otkrićem imunomodulatora i inhibitora proteasoma rezultati su se dramatično poboljšali te danas pacijenti preživljavaju i do 10 godina od postavljanja dijagnoze. Svoju primjenu imunomodulatori su našli u svim postojećim fazama liječenja, u raznim terapijskim kombinacijama i u pacijenata s različitim karakteristikama – u podobnih ili nepodobnih za ATKMS, s novodijagnosticiranom ili relapsnom bolesti (Tablica 4) (77).

Mehanizam djelovanja imunomodulatora je višestruk, složen i tek odnedavno bolje istražen, a očituje se direktnim protutumorskim, antiproliferativnim, imunomodulacijskim, protuupalnim i antiangiogenim učincima te promjenom svojstava mikrookoliša (77-79).

Imunomodulacijski učinak postižu putem pojačane sekrecije IL-2 i IFN- γ (engl. interferon γ), čime potiču NK-stanice na proliferaciju i učinkovitiju prezentaciju tumorskih antigena (77,79). Kako bi se potpuno aktivirali, T-limfociti trebaju primiti dva signala – prvi od njih je specifični, antigenski, a drugi kostimulacijski. Kostimulacija se vrši vezanjem molekule CD28 na površini limfocita s molekulama B7-1 (CD80) ili B7-2 (CD86), koje se nalaze na antigen prezentirajućim stanicama (53). Imunomodulatori djeluju i na tirozin fosfatazu, koja fosforilirajući CD28 pojačava kostimulacijske signale u CD4⁺ i CD8⁺ T-limfocitima (78). Nadalje, blokiraju sintezu VEGF i bFGF te time ometaju proces angiogeneze, ključan za daljnji razvoj tumora i njegovih metastaza. U mikrookolišu se smanjuje ekspresija ICAM-1, VCAM-1 i E-selektina, zbog čega slabi sposobnost adhezije mijelomskih stanica za stromalne.

Citokinska sekrecija promijenjena je tako da se koči stvaranje proinflamatornih citokina (TNF- α , IL-6, IL-12), a potiče stvaranje antiinflamatornih (IL-10). Interleukin-6 djeluje i kao inhibitor apoptoze neovisno o ekspresiji Bcl-2 (engl. B-cell lymphoma 2), stoga njegove niže koncentracije dovode do samouništenja malignih stanica. Glavni protutumorski učinak imunomodulatori ostvaruju vezanjem za protein Cereblon (CRBN), koji je dio kompleksa E3 ubikvitin ligaze. Time se povećava afinitet ligaze za ciljne proteine Ikaros (IKZF1) i Aiolos (IKZF3), inače ključne transkripcijske faktore u regulaciji diferencijacije B-staničnih linija. Degradacija tih faktora na mijelomske stanice djeluje citotoksično, a uz to dovodi i do smanjenog stvaranja IRF4 (engl. interferon regulatory factor 4), koji ima pozitivan učinak na njihovo preživljenje (77,79). Konačno, imunomodulatori se mogu ubrojiti u predstavnike simptomatske terapije budući da inhibiraju sintezu RANKL-a (engl. receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand), a time i funkciju osteoklasta (78).

Prvi sintetizirani imunomodulator bio je talidomid (Celgene[®]), a primarno se koristio među trudnicama za prevenciju jutarnjih mučnina i nesаницe. Nakon šokantnog otkrića o njegovom teratogenom djelovanju, 1961. godine je naglo povučen s tržišta. Trebalo je proći gotovo 30 godina da se počne ponovno koristiti i ovog puta je uočeno da pridonosi povlačenju raznih imunoloških bolesti poput sistemskog eritemskog lupusa, sarkoidoze, multifornog eritema i drugih. Uskoro ga se krenulo primjenjivati i u terapiji multiplog mijeloma, a 2006. godine FDA je odobrila njegovu primjenu s deksametazonom za novodijagnosticirane slučajeve bolesti. Izaziva niz nuspojava, a najčešće umor, somnolenciju, parestezije, hipestezije, poremećaje raspoloženja, tremor, konstipaciju, kožne osipe, edeme (77). Oboljeli od multiplog mijeloma uglavnom su starije životne dobi, što dodatno utječe na slabiju podnošljivost lijeka (78). Iz tih se razloga terapija talidomidom polako napušta, a prednost daje novijim generacijama imunomodulatora koji imaju povoljniji sigurnosni profil. Ipak, talidomid se još može susresti u određenim indukcijskim protokolima (MPT = melfalan, prednizon, talidomid; VTD = bortezomib, talidomid, deksametazon) te kao moguća opcija za konsolidaciju ili terapiju održavanja (77,80).

Lenalidomid (Revlimid[®]) je lijek druge generacije, koji je potentniji, ali u isto vrijeme i manje toksičan od talidomida, te stoga predstavlja najkorišteniji imunomodulator današnjice (78). Posebno je naglašena manja incidencija perifernih neuropatija, konstipacije i sedacije (81). Na europskom tržištu trenutno je odobren u kombinaciji s

deksametazonom za bolesnike koji su primili barem jednu liniju liječenja. Korisiti se i u kombiniranoj terapiji kod prethodno neliječenih pacijenata čije stanje nije prikladno za transplantaciju, te kao monoterapija za posttransplantacijsko održavanje (82). Na hrvatskom tržištu odobren je također s deksametazonom za bolesnike u 2. i 3. liniji liječenja, ali nakon korištenja bortezomiba, ako isti ne pokaže učinak ili prestane djelovati. Liječenje odobrava Bolničko povjerenstvo za lijekove (83).

Pomalidomid (Imnovid®) je predstavnik treće generacije imunomodulatora, čije je djelovanje 100 puta potentnije od talidomida i 10 puta od lenalidomida (79). Prema sadašnjim saznanjima, radi se o lijeku s najmanjim rizikom razvoja periferne neuropatije u cijeloj skupini (77). EMA ga je odobrila u protokolu s deksametazonom za liječenje oboljelih od RRMM, koji su prije toga primili barem dvije linije liječenja (uključujući lenalidomid i bortezomib), a bolest je nakon posljednje ipak napredovala (84). U tijeku su razne studije u kojima se ispituje njegova učinkovitost s inhibitorima proteasoma (karfilzomib, iksazomib), alikilirajućim agensima (ciklofosfamid), monoklonskim protutijelima (daratumumab, elotuzumab) (77). Bitna njegova značajka jest da inducira odgovor u pacijenata koji su primili velik broj terapijskih linija, čak i onih koji su rezistentni na bortezomib i lenalidomid ili imaju visokorizični citogenetički nalaz. Pomalidomid se stoga ne koristi u početnim terapijskim protokolima, već se čuva za kasnije faze relapsne bolesti (79).

3.6 ALOGENA TRANSPLANTACIJA KRVOTVORNIH MATIČNIH STANICA

Autologna transplantacija krvotvornih matičnih stanica (ATKMS) je terapijski standard današnjice, no alogena transplantacija (ALO-TKMS) ima potencijal za moguće potpuno izlječenje multiplog mijeloma (85). Alogeni transplantat za razliku od autogenog ne sadrži maligne stanice te proizvodi reakciju presatka protiv mijeloma (GVM, od engl. graft-versus-myeloma effect) (86).

U mnogim kliničkim istraživanjima pokazalo se da je mijeloablativna ALO-TKMS izuzetno toksična te povezana sa smrtonosnim komplikacijama i ranim mortalitetom. Općenito, vrlo je mali broj pacijenata uopće podoban za tako agresivnu terapiju, u prvom redu zbog dobi bolesnika, ali i zbog komorbiditeta. Nešto bolje, iako dvojbene rezultate imala je nemijeloablativna ALO-TKMS. Pozitivna strana je što njen učinak više ovisi o staničnoj imunosti donora nego o citotoksičnosti indukcijske kemoterapije,

stoga je povezana s manjim brojem komplikacija i nižom stopom mortaliteta nego mijeloablativni tretman, no iz istog razloga su relapsi učestaliji (86). Također, visok je rizik razvoja akutne ili kronične bolesti presatka protiv primatelja (GVHD, od engl. graft versus host disease) (85). Kada je uspoređena s autolognom transplantacijom, smrtnost je bila veća i terapijski odgovor potpuniji, no to u većini slučajeva nije rezultiralo duljim preživljenjem. S druge strane, povoljan ishod postignut je u pacijenata koji su primili singenični alogeni transplantat od svojih identičnih blizanaca, stoga je ovakav pristup moguća terapijska zamjena za ATKMS. Zbog svega navedenog, transplantacija alogeničnih krvotvornih matičnih stanica je eksperimentalna opcija za bolesnike s multiplim mijelomom, koji su mlađi od 65 godina te imaju visokorizični relapsni oblik bolesti i HLA-srodnog donora (86).

Trenutna saznanja su takva da, ukoliko pacijenti zadovoljavaju kriterije za transplantaciju, prednost se treba dati autolognoj transplantaciji krvotvornih matičnih stanica (86).

3.7 CAR-T-STANIČNA TERAPIJA

Adoptivna T-stanična terapija (ACT, od engl. adoptive cellular therapy) je oblik liječenja pri kojem se autologni limfociti T ekstrahiraju iz krvi oboljele osobe te potom podvrgavaju *ex vivo* genetičkom inženjeringu s ciljem razvoja potentnijih imunoloških stanica, koje će nakon reinfundiranja djelovati specifično protutumorski (87). Razlikujemo 3 osnovna modalitete ove vrste liječenja: terapiju limfocitima koji infiltriraju koštanu srž (MIL), T-staničnu terapiju T-staničnim receptorima (TCR-T) te kimeričnim antigenskim receptorima (CAR-T) (3).

U razdoblju prije razvoja genetičkog inženjeringa, ACT je koristila limfocite iz periferne krvi. Iako su bili lako dostupni, veliki problem je bio nedostatak njihove specifičnosti za tumor (88). Obzirom da za nastanak multiplog mijeloma mora postojati imunosuprimirani mikrookoliš, istraživači su došli na ideju korištenja imunoloških stanica iz njegove neposredne blizine. Ekscidirali su tumor, iz tumorske mase izolirali infiltrirajuće limfocite (MIL), te na ekspanziju i aktivaciju potaknuli one koji su imali pozitivan rezultat na testovima prepoznavanja tumorskih antigena. Nakon reinfundiranja, velika većina tih stanica se vratila u koštanu srž zahvaljujući tomu što na svojoj membrani imaju adhezijsku molekulu CXCR4 (od engl. CXC

chemokine receptor type 4) (89). Terapija pomoću MIL-a donekle je pokazala efektivnost, no bila je ograničena na prepoznavanje one vrste tumorskih antigena koje je inherentno i posjedovala (3). Zbog niske toksičnosti istražuje se njena primjena u vidu konsolidacije poslije izvršene ATKMS ili ALOTKMS. Moguće je da će se u budućnosti za genetsku modifikaciju koristiti upravo MIL, a ne T-stanice iz periferne krvi (89).

Koncept TCR inženjeringa sastoji se u modificiranju T-stanice na način da eksprimira antigenski receptor usmjeren na izabrane površinske tumorske biljege. Prepoznavanje i vezanje ovog receptora ovisno je o prisustvu HLA molekula I. razreda, odnosno bez njih je potpuno neefektivan. Već je otprije spomenuto da se svi tumori, pa tako i mijelom, nastoje „maskirati“ pred imunološkim sustavom, a jedan od mehanizama kojim to postižu je smanjeno stvaranje HLA. Stoga je glavni nedostatak terapije u tome što joj nedostaje inherentni aktivacijski signal za citotoksični učinak T-limfocita. Druga prepreka je u tome što se tumorski antigeni, za koje su receptori specifični, nalaze i na zdravom tkivu pa dolazi do križnih reakcija i posljedične toksičnosti (88).

Nastojeći nadvladati nedostatke TCR terapije, sintetizirani su kimerični antigenski receptori. Velika prednost ovog modaliteta liječenja je što CAR-T stanice prepoznaju ciljne antigene na malignim stanicama neovisno o HLA (87,88). Specifični kimerični receptor eksprimira se pomoću lentivirusnog, retrovirusnog ili nevirusnog transfera gena, a građen je od jednolančanog varijabilnog fragmenta protutijela (scFv, od engl. single-chain variable fragment) koji je zaslužan za komplementarnost s antigenom, te transmembranske domene i unutarstaničnih signalnih molekula. Prilikom vezanja receptora i njegovog antigena, dolazi do direktne aktivacije T-limfocita: oslobađaju se perforini i granzimi, ekspimiraju proapoptički ligandi i secerniraju proupalni citokini (IFN γ , IL-2) (87).

Prva generacija CAR-T-stanica imala je receptore koji su se sastojali od scFv, CD8 i signalizacijske molekule CD3 ζ , no proliferacijski učinak im je bio relativno slab. Zbog toga se u predstavnika druge generacije intracelularno dodaje po jedna kostimulacijska domena, dok treća generacija koristi multiple kostimulacijske signale. Četvrta generacija CAR-T unaprjeđuje funkciju modificiranog receptora te ga kombinira s raznim enzimima i citokinima (87).

Klinički postupak CAR-T-stanične terapije počinje leukaferozom i prikupljanjem T-limfocita, zatim se vrši transdukcija gena, stanična proliferacija, aktivacija te infundiranje po završetku kemoterapijskog protokola (87). Njihov učinak je trenutani, a istovremeno potiču i stvaranje dugoročne memorije putem CD8⁺ T-limfocita (89). Najopasnija zapažena nuspojava je sindrom otpuštanja citokina (CRS, od engl. cytokine release syndrome) (3,4,87,89), koji je intenzivniji pri većoj tumorskoj masi. Pacijenti se prezentiraju vrućicom, malaksalošću, mučninom, hipotenzijom, tahikardijom, edemima, respiratornim distresom i neurološkim simptomima. Iako je stanje samoograničavajuće, bolesnici zbog rizika od smrtnog ishoda moraju biti strogo nadzirani u jedinicama intenzivnog liječenja (87).

Učinak CAR-T-stanične terapije u multiplom mijelomu tek se istražuje, no u primjeni je za druge hematološke neoplazme (3). Tisagenlekleucel (Kymriah[®]), CAR-T specifičan za CD19, koristi se u osoba koje boluju od relapsnog ili refraktornog oblika akutne limfoblastične leukemije, a mlađe su od 25 godina. Uz to, indiciran je za difuzni B-velikostanični limfom (DLBCL, od engl. diffuse large B-cell lymphoma) koji pokazuje relapsna i refraktorna svojstva (90). Druga anti-CD19-CAR-T terapija, aksikaptagen ciloleucel (Yescarta[®]), primjenjuje se za DLBCL i primarni medijastinalni B-velikostanični limfom, u slučajevima kada ne pokazuju odgovor na prethodno liječenje (91). FDA je dopuštenje za ove lijekove dala 2017., a EMA 2018. godine. Velika zapreka CAR-T terapiji je skup proces proizvodnje i nedostatak visokokvalificiranih centara za njeno provođenje (87).

Najbolje rezultate u pogledu multiplog mijeloma trenutno pokazuje CAR-T usmjerena na CD19 i na BCMA (engl. B-cell maturation antigen) (4). CD19 nije klasičan biljeg za većinu populacije mijelomskih stanica, no dokazano je da može biti eksprimiran na manjem broju klonova odgovornih za propagaciju bolesti (92). Garfall i suradnici proveli su istraživanje na pacijentima koji su u prošlosti primili ATKMS, no u kojih je bolest unatoč tomu progredirala te se klasificira kao RRMM. Nakon indukcije melfalanom, izvršena je još jedna ATKMS, a nakon toga infundirane su i anti-CD19-CAR-T stanice. Rezultati su bili skromni i produljeno PFS postignuto je u svega 2 pacijenta, no unatoč tomu dobiveni su odgovori na neka pitanja. U obojice je bolest naposljetku progredirala kao ekstramedularni plazmocitom, zbog čega se nameće zaključak da CAR-T stanice svoje protumijelomsko djelovanje primarno ostvaruju unutar koštane srži. Nadalje, obje progresije su se dogodile poprilično vremena

nakon što CAR-T stanice nisu bile detektibilne ni u krvi niti u koštanoj srži. Pretpostavlja se da su nakon destrukcije CD19⁺ klonova izložile mnoge epitope imunološkom sustavu te na taj način potaknule sekundarne imunološke odgovore. Pacijent s najduljim PFS po završetku ovog protokola imao je kliničku sliku indolentne bolesti, a kasnije je pokazivao dulji odgovor od prosjeka na sve linije liječenja (92). Ali i suradnici proveli su prvo istraživanje djelotvornosti anti-BCMA-CAR-T terapije na ljudima. BCMA (engl. B-cell maturation antigen) je molekula koja se nalazi na zdravim i malignim plazma stanicama, ali nije izražena na hematopoetskim prekursorima. Studija je provedena na 12 pacijenata s RRMM, koji su prethodno primili između 3 i 13 linija terapija. Inicijalno im je ordinirana kombinacija ciklofosfamida s fludarabinom radi leukocitne deplecije koja se pokazala korisnom za primanje CAR-T presatka. Odgovor na terapiju je u svih pacijenata zabilježen po primitku 2. doze kimeričnih T-limfocita. U konačnici, od 12 pacijenata progresija je zabilježena u jedne osobe, osmero njih je zadržalo stabilnu bolest, a dvoje postiglo vrlo dobar parcijalan odgovor te jedna osoba potpuni. Bitno je naglasiti da je u posljednjeg bolest bila nedetektibilna do 28. tjedna od primitka terapije (93).

3.8 TUMORSKA CJEPIVA

Krajem 19. stoljeća William B. Coley proveo je prvu uspješnu vakcinaciju onkološkog bolesnika, što mu je priskrbilo titulu osnivača imunoterapije (87,94). Naime, prilikom opservacije pacijenata hospitaliziranih zbog sarkoma, Coley je uočio da se postizanje remisije poklapa s obolijevanjem od erizipela. Vodeći se tim opažanjem, proveo je vlastito istraživanje te direktno u sarkome pacijenata injicirao inaktivirane streptokoke (*Streptococcus pyogenes*) i seracije (*Serratia marcescens*), što je rezultiralo značajnom redukcijom tumorske mase i poboljšanjem kliničkog statusa. Time je potvrdio svoju teoriju postojanja bakterijskih toksina s protutumorskim djelovanjem, no kasnije će se ispostaviti da se radilo o imunološkom odgovoru na bakterijske antigene, koji su potentni agonisti TLR-a (engl. Toll-like receptors) i PRR-a (engl. pattern recognition receptors) (94). Od tada se na razne načine pokušava suprimirati imunološki sustav potaknuti na prepoznavanje malignih stanica te stvaranje tumorspecifičnih efektoru imunosti i dugotrajne stanične memorije (73).

Osnovna podjela cjepiva je na stanična i nestanična. Predstavnici posljednje skupine su peptidna i genetička (DNA, mRNA) cjepiva, dok stanična mogu biti bazirana na tumorskim ili dendritičkim stanicama (4).

Peptidne vakcine sastoje se od cjelovitih antigena povezanih s tumorom (TAA, od engl. tumor-associated antigens) ili njihovih dijelova (epitopa) (95,96). U organizam se mogu injicirati sistemnim (intravenski) ili perifernim (subkutano, intradermalno, intramuskularno, intranodalno) putem, a humoralni i celularni imunološki odgovor postižu preko antigen-prezentirajućih stanica. Trenutna saznanja prednost daju intravenskoj primjeni peptida (95). Genetička cjepiva svoje djelovanje ostvaruju transfekcijom stanica domaćina uz pomoć virusne DNA, bakterijskih plazmida ili mRNA. Kod dendritičkih cjepiva karakteristično je artifično unošenje antigena u dendritičke stanice, što se može postići na više načina: fuzijom s mijelomskim stanicama, direktnim injiciranjem TAA ili transfekcijom (96). Fuzija dovodi do individualizacije terapijskog pristupa, jer ne samo da se prezentiraju otprije poznati tumorski antigeni sa stanične površine, već i oni nedetektirani, intracelularno smješteni i specifični za pojedinog pacijenta (97). Najstarija vrsta celularnih cjepiva su inaktivirane maligne stanice autolognog ili alogenog podrijetla. Klasičan način pripreme ovog cjepiva podrazumijeva iradijaciju izoliranih tumorskih stanica te potom njihovo kombiniranje s adjuvansima (npr. GM-CSF) (96). Daljnji pregled mehanizama i razvoja tumorskih vakcina nadilazi obuhvat ovog rada.

Djelotvornost tumorskih cjepiva za multipli mijelom je upitna. Iako su preklinička istraživanja pokazala uspješne imunološke odgovore uz minimalnu toksičnost, rezultati kliničkih studija mnogo su skromniji (98). Među svim terapijskim opcijama, donekle obećava multipeptidno cjepivo PVX-410 (OncoPep, Inc). Ono je kompleks kemijski sintetiziranih peptida koji su izvorne sastavnice antigena specifičnih za multipli mijelom – XBP1 (engl. X-box binding protein 1), CD138, SLAMF7. Nooka i suradnici proveli su nerandomizirano kliničko istraživanje faze 1/2 za pacijente sa SMM te usporedili djelotvornost PVX-40 samog (kohorta za nižu i višu dozu lijeka) i u kombinaciji s lenalidomidom. Terapija se pokazala kao dobro tolerirana, a istaknutije nuspojave bile su zimica, febrilitet, umor, mijalgija te reakcije na mjestu injiciranja. Imunološki odgovor postignut je u 19 od 20 pacijenata, a mjerio se povećanjem koncentracije IFN γ i postotka CD3⁺CD8⁺ T-stanica. Najbolji rezultat u grupe koja je primila monoterapiju bilo je zadržavanje stabilne bolesti, dok je u kombiniranoj terapiji

u jednog pacijenta induciran parcijalni odgovor. Medijan vremena do nastupa progresije bolesti (TTP, engl. time to progress) za prvu grupu iznosio je 36 tjedana, dok za drugu nije postignut. Zaključno, kombinacija PVX-40 s lenalidomidom postigla je bolje antimijelomsko djelovanje te dublji i dulji odgovor na terapiju (99). Drugo cjepivo koje je postiglo bolji učinak u kombinaciji s lenalidomidom bilo je MM GVAX. Radi se o cjelostaničnom cjepivu koje sačinjavaju dvije mijelomske stanične linije pomiješane s linijom K562 koja proizvodi GM-CSF (engl. granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) (97).

Budućnost liječenja multiplog mijeloma kreće se u smjeru individualiziranog pristupa svakom pacijenta te ka kombiniranju antigen-specifične terapije (npr. CAR-T, vakcine) s antigen nespecifičnom (npr. imunomodulatori, inhibitori imunoloških kontrolnih točaka) (97).

4. ZAHVALE

Prvenstveno zahvaljujem svojim roditeljima Adrijani i Ivici te bratu Franu koji su mi bili najveća podrška kako kroz studij, tako i cijelog života. Naučili su me da se upornim trudom i radom snovi doista ostvaruju.

Hvala djedu Živku koji mi je držao palčeve tijekom svih usmenih i pismenih ispita. Hvala baki Dinki za prijeko potrebne razgovore i stalno podsjećanje na prijavu ispita na Studomatu. Hvala baki Zlati na redovitoj brizi o mom režimu prehrane.

Hvala mojoj cijeloj obitelji, Vaše zasluge ne stanu na jedan list papira.

Veliko hvala mom Damiru - za ljubav, snagu, razmišljanje, smijeh i opuštanje. Volim te.

Zahvaljujem svojim prijateljima i prijateljicama na bezuvjetnom razumijevanju i veselim trenucima provedenim zajedno.

Posebno zahvaljujem svojem mentoru, dr.sc. Josipu Batiniću na srdačnosti, susretljivosti i stručnoj pomoći ukazanoj pri izradi ovog rada.

Svim nastavnicima i profesorima koji su svojim znanjem pridonijeli da postanem ovo što jesam danas – hvala.

Uz ovakav tim bilo je nemoguće ne uspjeti.

5. LITERATURA

1. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* 2016;127(20):2375-2390.
2. Labar B i sur. Hematologija. U: Labar B (ur.). Zagreb:Medicinska naklada 2017.
3. Hoyos V, Borrello I. The immunotherapy era of myeloma: monoclonal antibodies, vaccines, and adoptive T-cell therapies. *Blood* 2016;128(13):1679-1687.
4. Neri P, Bahlis NJ, Lonial S. New Strategies in multiple myeloma: immunotherapy as a novel approach to treat patients with multiple myeloma. *Clin Cancer Res* 2016;22(24),5959–5965.
5. Ríos-Tamayo R, Rodríguez DS, Chang-Chan YL et al. Epidemiology of multiple myeloma. *Intechopen* 2018. [INTERNET]
Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.75396> ; Pristupljeno: 28.04.2019.
6. Cowan AJ, Allen C, Barac A et al. Global burden of multiple myeloma: a systematic analysis for the global burden of disease study 2016. *JAMA Oncol* 2018;4(9):1221-1227.
7. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018;68(6):394-424.
8. CANCER TODAY [INTERNET]
Dostupno na: <https://gco.iarc.fr/today/home> ; Pristupljeno: 28.04.2019.
9. INTERNATIONAL MYELOMA FOUNDATION [INTERNET]
Dostupno na: <https://www.myeloma.org/what-is-multiple-myeloma> ; Pristupljeno: 28.04.2019.
10. Kazandjian D. Multiple myeloma epidemiology and survival, a unique malignancy. *Semin Onc* 2016;43(6):676–681.
11. Waxman AJ, Mink PJ, Devesa SS et al. Racial disparities in incidence and outcome in multiple myeloma: a population-based study. *Blood* 2010;116:5501-5506.

12. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries and 25 major cancers in 2018. *Eur J Cancer* 2018;103:356-387.
13. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2016., Bilten 41, Zagreb, 2019.
Dostupno na: <https://www.hzjz.hr/sluzba-epidemiologija-prevencija-nezaraznih-bolesti/publikacije-odjel-za-maligne-bolesti/> ; Pristupljeno: 30.04.2019.
14. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2007., Bilten 32, Zagreb, 2009.
15. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2008., Bilten 33, Zagreb, 2010.
16. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2009., Bilten 34, Zagreb, 2011.
17. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2010., Bilten 35, Zagreb, 2012.
18. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2011., Bilten 36, Zagreb, 2013.
19. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2012., Bilten 37, Zagreb, 2014.
20. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2013., Bilten 38, Zagreb, 2015.
21. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2014., Bilten 39, Zagreb, 2016.
22. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2015., Bilten 40, Zagreb, 2018.
23. Kuehl WM, Bergsagel PL. Molecular pathogenesis of multiple myeloma and its premalignant precursor. *J Clin Invest* 2012;122(10):3456–3463.
24. Kaseb H, Babiker HM. Monoclonal Gammopathy Of Undetermined Significance (MGUS). StatPearls Publishing 2019. [INTERNET]

Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507880/> ; Pristupljeno: 28.04.2019.

25. Bianchi G, Munshi NC. Pathogenesis beyond the cancer clone(s) in multiple myeloma. *Blood* 2015;125:3049-3058.

26. Rajan AM, Rajkumar SV. Interpretation of cytogenetic results in multiple myeloma for clinical practice. *Blood Cancer J* 2015;5(10):e365.

27. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo a et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2014;15:e538–48.

28. Batinić J. Otkrivanje rezidualne bolesti u bolesnika s multiplim mijelomom [Detection of residual disease in multiple myeloma patients]. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, 2015.

29. Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE et al. Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clin Proc* 2003;78(1):21-33.

30. Michels TC, Petersen KE. Multiple Myeloma: Diagnosis and Treatment. *Am Fam Physician* 2017;95(6):373-383.

31. Pomper LJ. Multipli Mijelom – Priručnik namijenjen bolesnicima s multiplim mijelomom i članovima njihovih obitelji (2. izdanje). Zagreb: Stega tisak 2012.

32. Marshall WJ, Lapsley M, Day AP et al. (ur.) *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*; (3rd Edition). Elsevier Churchill Livingstone 2014.

33. Whitelaw DM. Pain in multiple myeloma. *Can Med Assoc J* 1963;88(25):1242-1243.

34. Sambol K, Cikač T. Dijagnostički i terapijski pristup bolesniku s multiplim mijelomom – prikaz bolesnika; *Med Jad* 2018;48(4):257-267.

35. Hanaganahalli BS, Rai S, Suresh PK et al. Pancytopenia in multiple myeloma- an enigma: our experience from tertiary care hospital. *J Clin Diagn Res* 2015;9(11):EC04–EC06.

36. Al-Jasser AM, Al-Anazi KA. Infections in patients with multiple myeloma in the era of novel agents and stem cell therapies. Intechopen 2018.

Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.81683> . Pristupljeno: 10.05.2019.

37. Saif MW, Allegra CJ, Greenberg B. Bleeding diathesis in multiple myeloma. J Hematother Stem Cell Res 2001;10(5):657–660.

38. Madan S, Dispenzieri A, Lacy MQ et al. Clinical features and treatment response of light chain (AL) amyloidosis diagnosed in patients with previous diagnosis of multiple myeloma. Mayo Clin Proc 2010;85(3):232-238.

39. Hemingway TJ, Savitsky EA, Kupas DF. Hyperviscosity syndrome. Medscape 2018. [INTERNET]

Dostupno na: <https://emedicine.medscape.com/article/780258-overview> ; Pristupljeno: 15.05.2019.

40. Matišić D. Laboratorijska dijagnostika monoklonskih gamopatija. U: Sertić J. i sur. (ur.). Klinička kemija i molekularna dijagnostika u kliničkoj praksi. Zagreb: Medicinska naklada, 2015.; 475-484.

41. Škrtić, A. Izraženost proteina NOTCH1 i JAGGED1 u monoklonoj gamopatiji neodređenog značenja i multiplom mijelomu. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, 2011.

42. Derlin T, Bannas P. Imaging of multiple myeloma: current concepts. World J Orthop 2014;5(3):272–282.

43. Durie BG, Salmon SE. A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment and survival. Cancer 1975;36:842-854.

44. Palumbo A, Avet-Loiseau H, Oliva S et al. Revised International Staging System for multiple myeloma: a report from International Myeloma Working Group. J Clin Oncol 2015;33(26):2863-2869.

45. RA Kyle, SV Rajkumar. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma. Leukemia 2009;23(1):3-9.

46. Bašić-Kinda S, Batinić J, Pulanić D et al. Hrvatske smjernice za liječenje multiplog mijeloma. Bilten Krohema 2017;9(1):3-13.
47. Solly S. Remarks on the pathology of mollities ossium with cases. Med Chir Trans 1844;27:435-461.
48. Kyle RA, Rajkumar SV. An overview of the progress in the treatment of multiple myeloma. Expert Rev Hematol 2014;7(1):5-7.
49. Pulanić D. Tisuću transplantacija autolognih matičnih krvotvornih stanica KBC-a Zagreb. Medix 2009;15(80-81):38-40.
50. Cancer.Net [INTERNET]
Dostupno na: <https://www.cancer.net/cancer-types/multiple-myeloma/statistics> ;
Pristupljeno: 20.05.2019.
51. Ribatti D. The concept of immune surveillance against tumors: the first theories. Oncotarget 2017; 8(4):7175-7180.
52. Romano A, Conticello C, Cavalli M et al. Immunological dysregulation in multiple myeloma environment. BioMed Research International 2014:1-10.
53. Andreis I, Batinić D, Čulo F et al. Imunologija. U: Taradi M (ur.). Zagreb: Medicinska naklada 2010.
54. Casadevall A. Passive antibody administration (immediate immunity) as a specific defense against biological weapons. Emerg Infect Dis 2002;8:833-841.
55. Ribatti D. From the discovery of monoclonal antibodies to their therapeutic application: an historical reappraisal. Immunol Lett 2014;161:96-99.
56. Chintalacheruvu K, Morrison S. Chimeric antibodies: production and applications. Methods: a companion to methods in enzymology 1995;8:73–82.
57. European Medicines Agency (EMA). MabThera. [INTERNET]
Dostupno na: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/mabthera> ;
Pristupljeno: 15.05.2019.
58. Lonberg N. Fully human antibodies from transgenic mouse and phage display platforms. Curr Opin Immunol 2008;20:450-459.

59. Davis J, Deng R, Boswell C. Monoclonal antibodies: from structure to therapeutic application. U: Crommelin D, Sindelar R, Meibohm B (ur.). Pharmaceutical Biotechnology. New York: Springer Science+Business Media, 2013;143-178.
60. Lee J. ADME of monoclonal antibody biotherapeutics: knowledge gaps and emerging tools. *Bioanalysis* 2013;16:2003-2014.
61. Hrvatski zavod za zdravstveno osiguranje [INTERNET]
Dostupno na: <https://www.hzzo.hr/novi-lijekovi-na-listama-lijekova-3/> ; Pristupljeno: 21.05.2019.
62. European Medicines Agency (EMA). Darzalex. [INTERNET]
Dostupno na: https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/darzalex-epar-medicine-overview_en.pdf ; Pristupljeno: 21.05.2019.
63. European Medicines Agency (EMA). Empliciti. [INTERNET]
Dostupno na: https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/empliciti-epar-summary-public_en.pdf ; Pristupljeno: 21.05.2019.
64. Chim CM, SK Kumar, Orlowski RZ et al. Management of relapsed and refractory multiple myeloma: novel agents, antibodies, immunotherapy and beyond. *Leukemia* 2018;32:252-262.
65. Batinić J, Aurer I, Dreta B et al. Next generation antimyeloma agents: A review. *Ann Hematol Oncol* 2016;3(9):1111.
66. Dimopoulos MA, Oriol A, Nahi H et al. Daratumumab, lenalidomide and dexamethasone for multiple myeloma. *NEJM* 2016;375(14):1319-1331.
67. Palumbo A, Chenan-Khan A, Weisel K et al. Daratumumab, bortezomib and dexamethasone for multiple myeloma. *NEJM* 2016; 357(8):754-766.
68. Bahlis NJ, Dimopoulos MA, Whited et al. Three-year follow-up of the phase 3 POLLUX study of daratumumab plus lenalidomide and dexamethasone (D-Rd) versus lenalidomide and dexamethasone alone in relapsed or refractory multiple myeloma (RRMM). [poster presented at 60th ASH annual meeting, 2018.]
69. Matheos MV, Sonneveld P, Hungria V. Efficacy and safety of daratumumab, bortezomib, and dexamethasone (D-Vd) versus bortezomib and dexamethasone (Vd)

in first relapse patients with multiple myeloma: update of CASTOR. [poster presented at 60th ASH annual meeting, 2018.]

70. Lonial S, Dimopoulos MA, Palumbo A et al. Elotuzumab therapy for relapsed or refractory multiple myeloma. *NEJM* 2015;373(7),621–631.

71. Dimopoulos MA, Lonial S, Betts KA et al. Elotuzumab plus lenalidomide and dexamethasone in relapsed/refractory multiple myeloma: extended 4-year follow-up and analysis of relative progression-free survival from the randomized ELOQUENT-2 trial; *Cancer* 2018;124(20):4032-4043.

72. Dimopoulos MA, Dytfeld D, Grosicki S et al. Elotuzumab plus pomalidomide and dexamethasone for multiple myeloma. *NEJM* 2018;379(19):1811–1822.

73. Boussi L, Niesvizky R. Advances in immunotherapy in multiple myeloma. *Curr Opin Oncol* 2017;29(6):460–466.

74. Mateos MV, Orłowski RZ, Ocio EM et al. Pembrolizumab combined with lenalidomide and low-dose dexamethasone for relapsed or refractory multiple myeloma: phase 1 KEYNOTE-023 study. *Br J Haematol* 2019. [u pripremi objave]

75. Jelinek T, Paiva B, Hajek R. Update on PD-1/PD-L1 inhibitors in multiple myeloma. *Front Immunol* 2018;9:2431.

76. Zang, X. 2018 Nobel Prize in medicine awarded to cancer immunotherapy: immune checkpoint blockade – a personal account. *Genes Dis* 2018;5(4):302–303.

77. Holstein SA, McCarthy PL. Immunomodulatory drugs in multiple myeloma: mechanisms of action and clinical experience. *Drugs* 2017;77(5):505-520.

78. Andhavarapu S, Roy V. Immunomodulatory drugs in multiple myeloma. *Expert Review of Hematology* 2013;6(1):69-82.

79. Engelhardt, M., Ajayi S, Reinhardt H. Pomalidomide. *Recent Results Cancer Res* 2018;212:169-185.

80. European Medicines Agency (EMA). Thalidomide. [INTERNET]

Dostupno na: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/thalidomide-celgene-epar-product-information_hr.pdf ; Pristupljeno: 26.5.2019.

81. Kotla V, Goel S, Nischal S et al. Mechanism of action of lenalidomide in hematological malignancies. *J Hematol Oncol* 2009;2(1):36.

82. European Medicines Agency (EMA). Revlimid. [INTERNET]

Dostupno na: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/revlimid-epar-product-information_hr.pdf ; Pristupljeno: 26.05.2019.

83. MijelomCRO [INTERNET]

Dostupno na: <http://mijelom.hr/novi-lijek-za-multipli-mijelom-na-listi-hzzo-a/> ; Pristupljeno: 26.05.2019.

84. European Medicines Agency (EMA). Imnovid. [INTERNET]

Dostupno na: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/imnovid-epar-product-information_hr.pdf ; Pristupljeno: 26.05.2019.

85. Yin X, Tang L, Fan F et al. Allogeneic stem-cell transplantation for multiple myeloma: a systematic review and meta-analysis from 2007 to 2017. *Cancer Cell Int* 2018;18(1):62

86. Rajkumar SV. Multiple myeloma: Use od allogeneic hematopoietic cell transplantation. *UpToDate* 2018. [INTERNET] ; Pristupljeno: 28.05.2019.

87. Zelić Kerep A. Chimeric antigen receptor T-cells – od ideje do komercijalno dostupnog proizvoda. *Bilten Krohema* 2018;10(1):33-35.

88. Yang F, Jin H, Wang J et al. (2016). Adoptive cellular therapy (ACT) for cancer treatment. U: Zhang S (ur.). *Progress in cancer immunotherapy*; Springer Netherlands 2016;169-239.

89. Vallet S, Pecherstorfer M, Podar K. Adoptive cell therapy in multiple Myeloma. *Expert Opin Biol Ther* 2017;17(12):1511-1522.

90. European Medicines Agency (EMA). Kymriah. [INTERNET]

Dostupno na: https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/kymriah-epar-medicine-overview_en.pdf ; Pristupljeno: 30.05.2019.

91. European Medicines Agency (EMA). Yescarta. [INTERNET]
Dostupno na: https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/yescarta-epar-medicine-overview_en.pdf ; Pristupljeno: 30.05.2019.
92. Garfall AL., Stadtmauer EA., Hwang WT et al. Anti-CD19 CAR T cells with high-dose melphalan and autologous stem cell transplantation for refractory multiple myeloma. *JCI Insight* 2018;3(8):e120505.
93. Ali SA., Shi V, Maric I et al. T cells expressing an anti-B-cell maturation antigen chimeric antigen receptor cause remissions of multiple myeloma. *Blood* 2016;128(13):1688–1700.
94. Decker WK, Safdar A. Bioimmunoadjuvants for the treatment of neoplastic and infectious disease: Coley's legacy revisited. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2009;20(4),271-281.
95. Kumai T, Kobayashi H, Harabuchi Y. Peptide vaccines in cancer - old concept revisited. *Curr Opin Immunol* 2017;45:1-7.
96. Guo C, Manjili MH, Subjeck JR. Therapeutic cancer vaccines: past, present and future. *Adv Cancer Res* 2013;119:421-475.
97. Garfall AL, Stadtmauer EA. Cellular and vaccine immunotherapy for multiple myeloma. *Hematology* 2016;2016(1), 521-527.
98. Tahri S, Mouhieddine TH, Ghobrial IM. Can we vaccinate our way out of multiple myeloma progression. *The hematologist ASH News and Reports* 2018;15(6):10.
99. Nooka AK, Wang M, Yee AJ. Assessment of safety and immunogenicity of PVX-410 vaccine with or without lenalidomide in patients with smoldering multiple myeloma. *JAMA Oncol* 2018;4(12):e183267.

6. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 11.07.1993. u Rijeci, a odrasla u Delnicama.

Pohađala sam OŠ Ivana Gorana Kovačića Delnice i SŠ Delnice, smjer prirodoslovno-matematička gimnazija. Paralelno sam završila Osnovnu glazbenu školu Ive Tijardovića Delnice i stekla naobrazbu za instrument glasovir.

U tom periodu bavim se raznim sportovima: šahom, stolnim tenisom, odbojkom i plivanjem. Od uspjeha izdvojila bih osvojeno 2. mjesto na Državnom prvenstvu Hrvatske u šahu 2002. godine te potom 15. mjesto na Europskom natjecanju mladih. Za posebna postignuća na tom polju, iste sam godine proglašena najperspektivnijom sportašicom grada Delnica. Također, državna sam prvakinja u utrkama na 50 i 100 metara delfinovim stilom za „B“ klubove (2011.). Školske godine 2010./2011. zauzela sam prvo mjesto na županijskom natjecanju iz biologije. Cijelo srednjoškolsko obrazovanje završila sam s odličnim uspjehom (5,00) te sam proglašena najboljom učenicom u generaciji.

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisala sam 2012. godine. Tijekom studija bila sam dvije godine demonstrator na Katedri za histologiju i embriologiju. Pisala sam za studentski časopis Medicinar, a akademske 2017./2018. postajem članica uredništva istog. Redovito predstavljam Fakultet na pojedinačnim i ekipnim Sveučilišnim natjecanjima u šahu, gdje nižemo brojna odličja. Pohađam medicinske simpozije i sudjelujem u javnozdravstvenim akcijama koje organizira studentska udruga CROMSIC.

Članica sam HPD Petehovac Delnice i HGSS stanice Delnice, a u Službi djelujem i kao instruktorski kandidat za prvu pomoć te provodim edukaciju kolega spašavatelja iz cijele Hrvatske.

Posjedujem licencu za BLS.

Aktivno se služim engleskim jezikom u govoru i pismu.