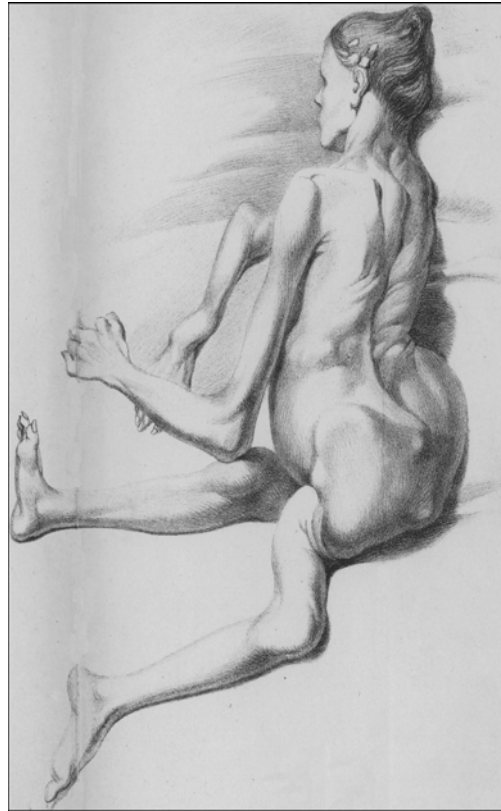
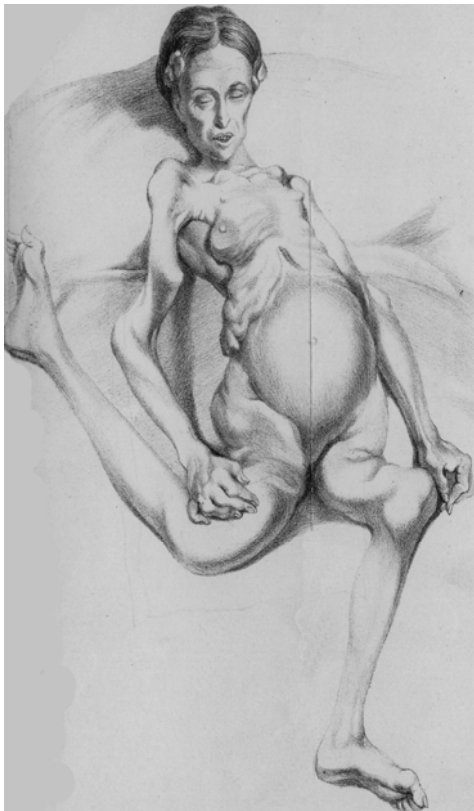


ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Η ΜΕΛΕΤΗ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΤΙΚΩΝ
ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΚΑΙ ΔΕΙΚΤΩΝ ΟΣΤΙΚΗΣ
ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ
ΠΟΛΛΑΠΛΟ ΜΥΕΛΩΜΑ



Αικατερίνη Σφυριδάκη
Αιματολόγος

Διδακτορική Διατριβή

Ηράκλειο 2012

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

**Η ΜΕΛΕΤΗ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΤΙΚΩΝ
ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΚΑΙ ΔΕΙΚΤΩΝ ΟΣΤΙΚΗΣ
ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ
ΠΟΛΛΑΠΛΟ ΜΥΕΛΩΜΑ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Αικατερίνη Σφυριδάκη

Αιματολόγος

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2012

Επιβλέπων:

Μ. Αλεξανδράκης, Αναπληρωτής Καθηγητής Αιματολογίας

Μέλη τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής:

Α. Μαργιωρής, Καθηγητής Κλινικής Βιοχημείας

Ε. Σταθόπουλος, Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής

Εικόνα εξωφύλλου: Sarah Newbury, η πρώτη ασθενής στη βιβλιογραφία με πολλαπλό μύελωμα, όπου είναι σαφής η εκτεταμένη οστική νόσος. *Solly S. Remarks on the pathology of mollities ossium; with cases. Med Chir Trans. 1844;27:435-498.8.*

Ευχαριστίες

Για την εκπόνηση αυτή της διδακτορικής διατριβής θα ήθελα πρωτίστως να ευχαριστήσω τον Αναπληρωτή Καθηγητή Αιματολογίας κ Μιχάλη Αλεξανδράκη για την επίβλεψη, τη στήριξη και το ενδιαφέρον. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της τριμελούς επιτροπής καθηγητές κ.Μαργιωρή και κ.Σταθόπουλο για την βοήθεια τους, καθώς και όλα τα μέλη της επταμελούς επιτροπής

Ιδιαίτερος σημαντική για την ολοκλήρωση της διατριβής ήταν η συνεισφορά του ιατρού Γιώργου Τσιράκη , γι'αυτό και τον ευχαριστώ.

Δε θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω τις αιματολόγους ιατρούς Αιμιλία Σταυρουλάκη, Μαρία Καπαρού και Πέγκυ Κανέλλου, όχι μόνο για την επιστημονική τους συνδρομή αλλά κυρίως για την ηθική και ψυχολογική υποστήριξη.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου, που βρίσκεται πάντα δίπλα μου σε κάθε βήμα.

*Κατερίνα Σφυριδάκη
Ηράκλειο, 2012*

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Όνοματεπώνυμο	Αικατερίνη Ιωάννου Σφουριδάκη
Χρόνος και τόπος γέννησης	3 Μαρτίου 1961-Ηράκλειο Κρήτης
Υπηκοότητα	Ελληνική
Οικογενειακή κατάσταση	Έγγαμη με 2 παιδιά
Διεύθυνση κατοικίας Κρήτη	Κανάρη 66 , Ηράκλειο 71307 ,
Τηλέφωνο	(81) 242987
E-mail	ksfiridaki@yahoo.gr
Αρ. Δελτίου ταυτότητας	AZ 963617
Άδεια ασκήσεως επαγγέλματος	Αρ πρωτ 618 , 16/01/1985 , Διεύθυνση Υγιεινής Νομαρχίας Ηρακλείου

ΠΡΟΫΠΗΡΕΣΙΑ

- 1972-1975 Καποδιστριακό Γυμνάσιο Αιγίνης
- 1975-1978 1^ο Γενικό Λύκειο Ηρακλείου
- 1978-1984 Τμήμα Ιατρικής Σχολής Επιστημών Υγείας Πανεπιστημίου Πατρών
- 1985-1986 Υπηρεσία υπαίθρου-Αγροτικός ιατρός στις Μαργαρίτες Ρεθύμνου
- 1986-1987 Ειδίκευση στην Παθολογία στην Γ Παθολογική Κλινική του «Βενιζέλειου-Πανάνειου» ΓΠΙΝΗ
Δ/ντής : Κορτσιδάκης Στέφανος
- 1987-1988 Ειδίκευση στην Παθολογία στην Α Παθολογική Κλινική του «Βενιζέλειου-Πανάνειου» ΓΠΙΝΗ
Δ/ντρια : Μόραλη Αγοραστή
- 1988-1990 Ειδίκευση στην Αιματολογία στο Αιματολογικό Τμήμα του «Βενιζέλειου-Πανάνειου» ΓΠΙΝΗ .
Δ/ντής : Ηλιάκης Πολύβιος
- 1990-1992 Ειδίκευση στην Αιματολογία στο Κέντρο Αιμοδοσίας του «Βενιζέλειου-Πανάνειου» ΓΠΙΝΗ
Δ/ντρια: Μαλλιαράκη Ελισάβετ
- 1994-1998 Επιμελήτρια Β στο Κέντρο Αιμοδοσίας του «Βενιζέλειου-Πανάνειου» ΓΠΙΝΗ . Στο διάγραμμα αυτό οργανώθηκε και λειτούργησε το Τμήμα Αιμόστασης και Αντιπηκτικής Αγωγής του νοσοκομείου
Δ/ντρια : Μαλλιαράκη Ελισάβετ
- 1995 Εκπαιδευτική άδεια (για διάστημα 2 μηνών) προκειμένου να εκπαιδευθώ στην Αιμόσταση και την παρακολούθηση ασθενών σε αντιπηκτική αγωγή στο «Ιπ-

ποκράτειο» ΓΠΠΝΑ
Δ/ντρια: Κοντοπούλου Ειρήνη

- 1999-2001 Επιστημονική υπεύθυνη Μονάδας πρόληψης Μεσογειακής Αναιμίας Βενιζελείου Νοσοκομείου
Δ/ντρια : Μαλλιαράκη Ελισσάβητ
- 1998-2007 Επιμελήτρια Α στο Κέντρο Αιμοδοσίας του «Βενιζέλειου-Πανάνειου» ΓΠΠΝΗ . Στο διάστημα αυτό οργανώθηκε και λειτούργησε το Τμήμα Αιμόστασης και Αντιπηκτικής Αγωγής του νοσοκομείου
Δ/ντρια : Μαλλιαράκη Ελισσάβητ
Καντιδάκη Ερμιόνη
- Ιούνιος 2007-Σήμερα Αναπληρώτρια Διευθύντρια στο Κέντρο Αιμοδοσίας του «Βενιζέλειου-Πανάνειου» ΓΠΠΝΗ .
Δ/ντρια : Καντιδάκη Ερμιόνη
- Δεκέμβριος 2007-Σήμερα Επιστημονική υπεύθυνη του Κέντρου Μοριακού ελέγχου Αίματος Κρήτης
- Οκτώβριος 2010-Σήμερα Υπεύθυνος Προιστάμενος Κέντρου Μονάδας Πρόληψης Μεσογειακής Αναιμίας και Κέντρου Αναφοράς AIDS Ηρακλείου Κρήτης

ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ ΣΕ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΠΟΥ ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΝΤΑΙ ΣΤΟ INDEX MEDICUS

1. Arnaiz-Villena A, Iliakis P, Gonzalez-Hevilla M, Longas J, Gomez-Casado E, **Sfyridaki K**, Trapaga J, Silvera-Redondo C, Matsouka C, Martinez-Laso J.

The origin of Cretan populations as determined by characterization of HLA alleles.

Tissue Antigens. 1999 Mar;53(3):213-26.

2. Koutroubakis IE, **Sfyridaki A**, Mouzas IA, Maladaki A, Kapsoritakis A, Roussomoustakaki M, Kouroumalis EA, Manousos ON.

Resistance to activated protein C and low levels of free protein S in Greek patients with inflammatory bowel disease.

Am J Gastroenterol. 2000 Jan;95(1):190-4.

3. Kapsoritakis AN, Potamianos SP, **Sfyridaki AI**, Koukourakis MI, Koutroubakis IE, Roussomoustakaki MI, Manousos ON, Kouroumalis EA.

Elevated thrombopoietin serum levels in patients with inflammatory bowel disease.

Am J Gastroenterol. 2000 Dec;95(12):3478-81

4. Kapsoritakis AN, Koukourakis MI, **Sfyridaki A**, Potamianos SP, Kosmadaki MG, Koutroubakis IE, Kouroumalis EA.

Mean platelet volume: a useful marker of inflammatory bowel disease activity.

Am J Gastroenterol. 2001 Mar;96(3):776-81.

5. Koutroubakis IE, **Sfyridaki A**, Theodoropoulou A, Kouroumalis EA.

Role of acquired and hereditary thrombotic risk factors in colon ischemia of ambulatory patients.

Gastroenterology. 2001 Sep;121(3):561-5.

6. Paspatis GA, **Sfyridaki A**, Papanikolaou N, Triantafyllou K, Livadiotaki A, Kapsoritakis A, Lydataki N.

Resistance to activated protein C, factor V leiden and the prothrombin G20210A variant in patients with colorectal cancer.

Pathophysiol Haemost Thromb. 2002 Jan-Feb;32(1):2-7.

7. Dimoulios P, Koutroubakis IE, **Sfyridaki A**, Theodoropoulou A, Kouroumalis EA.

Acquired and hereditary thrombotic risk factors in patients with acute mesenteric vein thrombosis.

Am J Gastroenterol. 2002 Mar;97(3):768-9.

8. Nikitovic D, Zacharis EA, Manios EG, Malliaraki NE, Kanoupakis EM, **Sfyridaki KI**, Skalidis EI, Margioris AN, Vardas PE.

Plasma Levels of Nitrites/Nitrates in Patients with Chronic Atrial Fibrillation are Increased after Electrical Restoration of Sinus Rhythm.

J Interv Card Electrophysiol. 2002 Oct;7(2):171-6.

9. Alexandrakis MG, Passam FH, Ganotakis ES, **Sfyridaki K**, Xilouri I, Perisinakis K, Kyriakou DS.

The clinical and prognostic significance of erythrocyte sedimentation rate (ESR), serum interleukin-6 (IL-6) and acute phase protein levels in multiple myeloma.

Clin Lab Haematol. 2003 Feb;25(1):41-6.

10. Alexandrakis MG, Passam FH, **Sfyridaki A**, Kandidaki E, Roussou P, Kyriakou DS.

Elevated serum concentration of hepatocyte growth factor in patients with multiple myeloma: correlation with markers of disease activity.

Am J Hematol. 2003 Apr;72(4):229-33.

11. Kapsoritakis A, **Sfyridaki A**, Maltezos E, Simopoulos K, Giatromanolaki A, Sivridis E, Koukourakis MI.

Vascular endothelial growth factor in inflammatory bowel disease.

Int J Colorectal Dis. 2003 Sep;18(5):418-22. Epub 2003 May 22.

12. Koutroubakis IE, Theodoropoulou A, **Sfyridaki A**, Kouroumalis EA.

Low plasma protein Z levels in patients with ischemic colitis.

Dig Dis Sci. 2003 Sep;48(9):1673-6.

13. Alexandrakis MG, Passam FH, **Sfiridaki A**, Kyriakou DS, Petreli E, Roussou P.

Elevated serum angiogenin in multiple myeloma.

Hematol J. 2003;4(6):454-5

14. Germanakis I, Stiakaki E, **Sfyridaki C**, Katampekios S, Danilatou V, Kalmanti M.

Stroke in an infant heterozygous carrier of both Factor V G1691A and the G20210A prothrombin mutation.

Thromb Haemost. 2003 Oct;90(4):760-3.

15. Alexandrakis MG, Passam FH, **Sfiridaki K**, Moschandrea J, Pappa C, Liapi D, Petreli E, Roussou P, Kyriakou DS

Interleukin-18 in multiple myeloma patients: serum levels in relation to response to treatment and survival.

Leuk Res. 2004 Mar;28(3):259-66.

16. Alexandrakis MG, Passam FH, **Sfiridaki A**, Pappa CA, Moschandrea JA, Kandidakis E, Tsirakis G, Kyriakou DS.

Serum levels of leptin in multiple myeloma patients and its relation to angiogenic and inflammatory cytokines.

Int J Biol Markers. 2004 Jan-Mar;19(1):52-7.

17. Samonakis DN, Koutroubakis IE, **Sfiridaki A**, Malliaraki N, Antoniou P, Romanos J, Kouroumalis EA.

Hypercoagulable states in patients with hepatocellular carcinoma.

Dig Dis Sci. 2004 May;49(5):854-8.

18. Antoniou KM, Alexandrakis MG, **Sfiridaki K**, Tsiligianni I, Perisinakis K, Tzortzaki EG, Siafakas NM, Bouros DE.

Th1 cytokine pattern (IL-12 and IL-18) in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) before and after treatment with interferon gamma-1b

(IFN-gamma-1b) or colchicine in patients with idiopathic pulmonary fibrosis (IPF/UIP).

Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis. 2004 Jun;21(2):105-10.

19. Alexandrakis MG, Passam FH, **Sfiridaki K**, Kafarakis P, Karydi E, Liapi D, Perisinakis K, Kyriakou DS.

Clinical significance of circulating endothelial adhesion molecules (sE-selectin and sICAM) in untreated multiple myeloma patients.

Clin Chim Acta. 2004 Nov;349(1-2):39-43.

20. Koutroubakis IE, Theodoropoulou A, Xidakis C, **Sfiridaki A**, Notas G, Kolios G, Kouroumalis EA.

Association between enhanced soluble CD40 ligand and prothrombotic state in inflammatory bowel disease.

Eur J Gastroenterol Hepatol. 2004 Nov;16(11):1147-52.

21. Koutroubakis IE, Xidakis C, Karmiris K, **Sfiridaki A**, Kandidaki E, Kouroumalis EA.

Serum angiogenin in inflammatory bowel disease.

Dig Dis Sci. 2004 Nov-Dec;49(11-12):1758-62.

22. Alexandrakis MG, Passam FH, Pappa CA, **Sfiridaki K**, Tsirakis G, Damilakis J, Stathopoulos EN, Kyriakou DS.

Relation between bone marrow angiogenesis and serum levels of angiogenin in patients with myelodysplastic syndromes.

Leuk Res. 2005 Jan;29(1):41-6.

23. **Sfiridaki A**, Miyakis S, Tsirakis G, Alegakis A, Passam AM, Kandidaki E, Margioris AN, Alexandrakis MG.

Systemic levels of interleukin-6 and matrix metalloproteinase-9 in patients with multiple myeloma may be useful as prognostic indexes of bone disease.

Clin Chem Lab Med. 2005;43(9):934-8.

24. Antoniou KM, Tzortzaki EG, Alexandrakis MG, Zervou M, Tzanakis N, **Sfiridaki K**, Bouros DE, Siafakas NM.

Investigation of IL-18 and IL-12 in induced sputum of patients with IPF before and after treatment with interferon gamma-1b.

Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis. 2005 Oct;22(3):204-9.

25. Stiakaki E, Germanakis I, **Sfyridaki C**, Katzilakis N, Danilatou V, Kalmanti M.

Prevalence of Factor V Leiden and other thrombophilic traits among Cretan children with malignancy.

Pediatr Blood Cancer. 2005 Apr;44(4):386-9.

26. Passam FH, Alexandrakis MG, Moschandrea J, **Sfyridaki A**, Roussou PA, Siafakas NM.

Angiogenic molecules in Hodgkin's disease: results from sequential serum analysis.

Int J Immunopathol Pharmacol. 2006 Jan-Mar;19(1):161-70.

27. Koutroubakis IE, Xidakis C, Karmiris K, **Sfyridaki A**, Kandidaki E, Kouroumalis EA.

Potential role of soluble angiopoietin-2 and Tie-2 in patients with inflammatory bowel disease.

Eur J Clin Invest. 2006 Feb;36(2):127-32.

28. Antoniou KM, Tzouvelekis A, Alexandrakis MG, Tsiligianni I, Tzanakis N, **Sfyridaki K**, Rachiotis G, Bouros D, Siafakas NM

Upregulation of Th1 cytokine profile (IL-12, IL-18) in bronchoalveolar lavage fluid in patients with pulmonary sarcoidosis.

J Interferon Cytokine Res. 2006 Jun;26(6):400-5.

29. Kapsoritakis AN, Psychos AK, **Sfyridaki A**, Zintzaras E, Potamianos SP.

Finger clubbing and erythropoietin serum levels in active IBD.

Inflamm Bowel Dis. 2006 Jun;12(6):535-6.

30. Germanakis I, **Sfyridaki C**, Papadopoulou E, Raissaki M, Rammos S, Sarris G, Kalmanti M.

Stroke following Glenn anastomosis in a child with inherited thrombophilia.

Int J Cardiol. 2006 Aug 28;111(3):464-7. Epub 2005 Oct 4.

31. Kochiadakis GE, Marketou ME, Arfanakis DA, **Sfiridaki K**, Skalidis EI, Igoumenidis NE, Hamilos MI, Kolyvaki S, Chlouverakis G, Kantidaki E, Castanas E, Vardas PE.

Reduced systemic inflammatory response to implantation of sirolimus-eluting stents in patients with stable coronary artery disease.

Atherosclerosis. 2006 Sep 22

32. Antoniou KM, Tzouveleakis A, Alexandrakis MG, **Sfiridaki K**, Tsiligianni I, Rachiotis G, Tzanakis N, Bouros D, Milic-Emili J, Sifakas NM.

Different angiogenic activity in pulmonary sarcoidosis and idiopathic pulmonary fibrosis.

Chest. 2006 Oct;130(4):982-8

33. Alexandrakis MG, Pappa CA, Miyakis S, **Sfiridaki A**, Kafousi M, Alegakis A, Stathopoulos EN.

Serum interleukin-17 and its relationship to angiogenic factors in multiple myeloma.

Eur J Intern Med. 2006 Oct;17(6):412-6.

34. Koutroubakis IE, **Sfiridaki A**, Tsiolakidou G, Theodoropoulou A, Livadiotaki A, Paspatis G, Kouroumalis EA.

Genetic risk factors in patients with inflammatory bowel disease and vascular complications: Case-control study.

Inflamm Bowel Dis. 2006 Dec 19

35. Alexandrakis MG, **Sfiridaki A**, Miyakis S, Pappa C, Kandidaki E, Alegakis A, Margioris AN.

Relationship between serum levels of vascular endothelial growth factor, hepatocyte growth factor and matrix metalloproteinase-9 with biochemical markers of bone disease in multiple myeloma.

Clin Chim Acta. 2006 Dec 16

36. Pappa C, Miyakis S, Tsirakis G, **Sfiridaki A**, Alegakis A, Kafousi M, Stathopoulos EN, Alexandrakis MG.

Serum levels of interleukin-15 and interleukin-10 and their correlation with proliferating cell nuclear antigen in multiple myeloma.

Cytokine. 2007 Feb;37(2):171-5.

37. Passam FH, **Sfiridaki A**, Pappa C, Kyriakou D, Petreli E, Roussou PA, Alexandrakis MG.

Angiogenesis-related growth factors and cytokines in the serum of patients with B non-Hodgkin lymphoma; relation to clinical features and response to treatment.

Int J Lab Hematol. 2008 Feb;30(1):17-25.

38. Economidou F, Antoniou KM, Tzanakis N, **Sfiridaki K**, Siafakas NM, Schiza SE.

Angiogenic molecule Tie-2 and VEGF in the pathogenesis of pleural effusions.

Respir Med. 2008 May;102(5):774-9. Epub 2008 Mar

39. Theodoropoulou A, **Sfiridaki A**, Oustamanolakis P, Vardas E, Livadiotaki A, Boumpaki A, Paspatis G, Koutroubakis IE.

Genetic Risk Factors in Young Patients With Ischemic Colitis.

Clin Gastroenterol Hepatol. 2008 Jun 2.

40. Koutroubakis IE , **Sfiridaki A** , Tsiolakidou G , Koukoutsis K , Kouroumalis EA

Plasma thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor and plasminogen activator inhibitor-1 levels in inflammatory bowel disease.

Eur J Gastroenterol Hepatol. 2008 Sep;20(9):912-6

41. Theodoropoulou A , **Sfiridaki A** , Oustamanolakis P , Vardas E , Livadiotaki A , Mpoumpaki A , Paspatis G , Koutroubakis IE

Genetic risk factors in young patients with ischemic colitis

Clin Gastroenterol Hepatol. 2008 Aug;6(8):907-11

- 42 . Symvoulakis EK, Vardavas CI, Fountouli P, Stavroulaki A, Antoniou KM, Duijker Tzatzarakis MN, **Sfiridaki K**, Bolonaki E, Alegakis T, Tsatsakis AM.

Time interval from cigarette smoke exposure to blood donation and markers of inflammation: should a smoking cut-off be designated?

Xenobiotica. 2010 Sep;40(9):613-20.

43. Oustamanolakis P, Koutroubakis IE, Messaritakis I, Malliaraki N, **Sfiridaki A**, Kouroumalis EA

Serum hepcidin and prohepcidin concentrations in inflammatory bowel disease.

Eur J Gastroenterol Hepatol. 2011 Mar;23(3):262-8.

44. Travlou A, Gialeraki A, Merkouri E, Politou M, **Sfyridaki A**, Neerman-Arbez M

Coexisting dysfibrinogenemia (gamma Arg275His) and FV Leiden associated with thrombosis (Fibrinogen Crete).

Thromb Res. 2010 Aug;126(2):e162-4

45. **Sfiridaki K**, Pappa CA, Tsirakis G, Kanellou P, Kaparou M, Stratinaki M, Sakellaris G, Kontakis G, Alexandrakis MG.

Angiogenesis-related cytokines, RANKL, and osteoprotegerin in multiple myeloma patients in relation to clinical features and response to treatment.

Mediators Inflamm. 2011;2011:867576.

46. **Sfiridaki A**, Miyakis S, Pappa C, Tsirakis G, Alegakis A, Kotsis V, Stathopoulos E, Alexandrakis M.

Circulating osteopontin: a dual marker of bone destruction and angiogenesis in patients with multiple myeloma.

J Hematol Oncol. 2011 May 8;4:22.

47. Oustamanolakis P, Koutroubakis IE, Messaritakis I, Malliaraki N, **Sfiridaki A**, Kouroumalis EA.

Serum hepcidin and prohepcidin concentrations in inflammatory bowel disease.

Eur J Gastroenterol Hepatol. 2011 Mar;23(3):262-8.

48. Konstantinidis K, Theodoropoulou A, **Sfiridaki A**, Georgousaki C, Tsatsaki D, Paspatis GA, Koutroubakis IE.

The Janus tyrosine kinase-2 V617F mutation is not implicated in the pathogenesis of ischemic colitis in young patients.

J Clin Gastroenterol. 2012 May-Jun;46(5):433-4

ΔΕΙΚΤΗΣ ΒΑΡΥΤΗΤΑΣ (IMPACT FACTOR) *

ΕΡΓΑΣΙΑ	ΠΕΡΙΟΔΙΚΟ	ΔΕΙΚΤΗΣ ΒΑΡΥΤΗΤΑΣ
1	Tissue Antigens	1,737
2	American Journal of Gastroenterology	4,172
3	American Journal of Gastroenterology	4,172
4	American Journal of Gastroenterology	4,172
5	Gastroenterology	12.7
6	Pathophysiol Haemost Thromb.	1.3
7	American Journal of Gastroenterology	4,172
8	J Interv Card Electrophysiol	0.704
9	Clin Lab Haemato	0.612
10	Am J Haematol	1,667
11	Int J Colorectal Dis	1,848
12	Dig Dis Sci	1,385
13	Hematol J	1,242
14	Thromb Haemost	4,91
15	Leuk Res	2,333
16	Int J Biol Markers	1,092
17	Dig Dis Sci	1,385
18	Sarcoidosis Vasc Duffuse Lung Dis	3
19	Clin Chim Acta	1,633
20	Eur J of Gastroenerol Hepatol	1,578
21	Dig Dis Sci	1,385
22	Leuk Res	2,333
23	Clin Chem Lab Med	1,407
24	Sarcoidosis Vasc Duffuse Lung Dis	3
25	Pediatr Blood Cancer	0.557
26	Int J Immunopathol Pharmacol	4,091
27	Eur J Clin Invest	2,193
28	J Interferon Cytokine Res	1,885
29	Inflamm Bowel Dis	3,098

30	Int J Cardiol	1,632
31	Atherosclerosis	3,469
32	Chest	2,48
33	Eur J Intern Med	0.632
34	Inflamm Bowel Dis	3,098
35	Clin Chim Acta	1,633
36	Cytokine	2,374
37	Int J Lab Hematol	1,362
38	Respir Med	1,496
39	Clin Gastroent Hepat	1,536
40	Eur J Gastroen Hepat	5.5
41	Clin Gastroent Hepat	1,536
42	Xenobiotica	1,918
43	Eur J Gastroen Hepat	5,5
44	Thromb Res	2,278
45	Mediators of inflammation	2,059
46	J Haematol Oncol	2,93
47	Eur J Gastroent Hepatol	1,598
48	J Clin Gastroenterol	2,752

*Στοιχεία από Science Citation Index

Αθροιστικός Impact Factor : 21.247

Μέσος όρος Impact Factor : 3.03

Citations : 400

Average Citations per Item :7.84

h-index :12

Συμμετοχές σε ελληνικές εκδηλώσεις : 102

Συμμετοχές σε διεθνείς επιστημονικές εκδηλώσεις: 28

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη	6
Abstract	7
A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	8
1. Εισαγωγή	9
2. Επιδημιολογία του Πολλαπλού Μυελώματος	11
3. Παθοφυσιολογία του Πολλαπλού Μυελώματος	13
3.1 Το αρχέγονο μυελωματικό κύτταρο	13
3.2 Γενετικές αλλαγές	14
3.3 Δυσλειτουργία κυτταρικού κύκλου	16
3.4 Απορρύθμιση της απόπτωσης	17
3.5 Κυτταροκίνες και μετατροπές σημάτων μετάδοσης	18
4. Αγγειογένεση στο Πολλαπλό Μυέλωμα	21
4.1 Αγγειογενετικές κυτταροκίνες	21
4.2 Ο ρόλος του μυελικού μικροπεριβάλλοντος	23
4.3 Ο ρόλος των ενδοθηλιακών κυττάρων	23
5. Οστική νόσος στο Πολλαπλό Μυέλωμα	25
6. Κλινικές εκδηλώσεις στο Πολλαπλό Μυέλωμα	31
6.1 Οστική νόσος	32
6.2 Νεφρική ανεπάρκεια	34
6.3 Νευρολογικά συμπτώματα	34
6.4 Υπεργλυαιμία	35
6.5 Αμυλοείδωση	35
6.6 Λοιμώξεις	36
B.ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	37
1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	38
2. ΥΛΙΚΟ- ΜΕΘΟΔΟΙ	40
Α. Ασθενείς	40
Β. Υλικά	42

Γ. Μέθοδοι	43
Δ. Στατιστική ανάλυση	49
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	51
Α. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΧΕΣΗΣ ΤΩΝ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ VEGF, HGF ΚΑΙ MMP-9 ΜΕ ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ	51
Β. ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΟΡΟΥ ΤΗΣ IL-6 ΚΑΙ ΤΗΣ MMP-9 ΕΙΝΑΙ ΧΡΗΣΙΜΟΙ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΤΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ	56
Γ. ΣΧΕΣΗ ΑΓΓΕΟΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ, ΤΟΥ RANKL ΚΑΙ ΤΗΣ ΟΡG ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ	59
Δ. ΕΠΙΠΕΔΑ ΟΣΤΕΟΠΟΝΤΙΝΗΣ ΣΤΟΝ ΟΡΟ: ΕΝΑΣ ΔΙΠΛΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΚΑΙ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗΣ	67
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	70
Α. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΧΕΣΗΣ ΤΩΝ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ VEGF, HGF ΚΑΙ MMP-9 ΜΕ ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ	70
Β. ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΟΡΟΥ ΤΗΣ IL-6 ΚΑΙ ΤΗΣ MMP-9 ΕΙΝΑΙ ΧΡΗΣΙΜΟΙ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΤΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ	73
Γ. ΣΧΕΣΗ ΑΓΓΕΟΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ, ΤΟΥ RANKL ΚΑΙ ΤΗΣ ΟΡG ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ	76
Δ. ΕΠΙΠΕΔΑ ΟΣΤΕΟΠΟΝΤΙΝΗΣ ΣΤΟΝ ΟΡΟ: ΕΝΑΣ ΔΙΠΛΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΚΑΙ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗΣ	79
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	80
Βιβλιογραφία	81
Παράρτημα	103
Πίνακας 1: Διάγνωση ΠΜ	103
Πίνακας 2: Σταδιοποίηση ΠΜ	104
Πίνακας 3: Βαθμονόμηση οστικής νόσου με βάση την ακτινολογική εικόνα	105

Περίληψη

Υπάρχοντα δεδομένα: Το πολλαπλό μυέλωμα (ΠΜ) είναι κακοήθης νόσος των πλασμακυττάρων που αναπτύσσονται στο μυελικό περιβάλλον. Προκειμένου τα μυελωματικά πλασματοκύτταρα να επιβιώσουν και ακολούθως να επεκταθούν, αλληλεπιδρούν με τα στοιχεία του μυελού, οπότε και ενεργοποιούνται μηχανισμοί που αποσκοπούν είτε άμεσα (πλασματοκυτταρικός πολλαπλασιασμός), είτε έμμεσα (επαγωγή αγγειογένεσης για προσφορά οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών, πρόκληση οστικής καταστροφής για δημιουργία χώρου όπου θα επεκταθεί η νόσος) στην εξέλιξη της νόσου. Είναι δε ενδιαφέρον ότι αυτές οι αλληλοεπιδράσεις δρουν πολύ συχνά σε πολλαπλά επίπεδα, προκαλώντας έτσι σημαντική αλλαγή στο μικροπεριβάλλον του μυελού, που ευνοεί τελικά την ανάπτυξη του μυελωματικού κλώνου. Ένα σημαντικό στοιχείο στην αλλαγή του μυελικού περιβάλλοντος είναι η παθολογική έκφραση διαφόρων κυτταροκινών, με πολλαπλές ιδιότητες.

Σκοπός της μελέτης: Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν να μελετήσει το ρόλο διαφόρων μορίων στην αγγειογένεση και στην οστική νόσο στο ΠΜ. Μετρήθηκε η περιφερική έκφραση διαφόρων μορίων και εξετάσθηκε η σχέση αυτής της έκφρασης, τόσο με την αγγειογενετική δραστηριότητα του μυελού, όσο και με την οστική νόσο.

Υλικά και μέθοδοι: Μελετήθηκαν 78 ασθενείς κατά τη διάγνωση του ΠΜ, 35 από αυτούς που μπήκαν σε ύφεση μετά από θεραπεία και 30 υγιείς μάρτυρες. Η μελέτη έγινε σε 4 ανεξάρτητα στάδια: στο πρώτο στάδιο μελετήθηκε η σχέση γνωστών αγγειογενετικών παραγόντων (**MMP-9**, VEGF, HGF) με δείκτες οστικής νόσου (βαθμός οστικής νόσου και δείκτες οστικού μεταβολισμού: PICP ορού και Ntx ούρων) και φορτίου νόσου (B2M, λευκωματίνη και στάδιο). Στο δεύτερο στάδιο μελετήθηκαν τα επίπεδα της IL-6 και της **MMP-9**, σε συνδιασμό με δείκτες οστικής νόσου (Nxx, F-Pyd και F-Dpd ούρων, βαθμός οστικής νόσου) και φορτίου νόσου (στάδιο νόσου και βαθμός διήθησης μυελού), προκειμένου να εκτιμηθεί κατά πόσο είναι χρήσιμοι προγνωστικοί δείκτες της οστικής νόσου. Στο τρίτο στάδιο μελετήθηκε η σχέση των **RANKL** και της **οστεοπροτεγερίνης** με γνωστούς δείκτες αγγειογενετικής δραστηριότητας (HGF, VEGF), δραστηριότητας νόσου (IL-6, LDH, B2M, CRP, στάδιο νόσου, πριν και μετά από αποτελεσματική θεραπεία) και οστικού φορτίου (βαθμός οστικής νόσου). Στο τέταρτο στάδιο, μετρήθηκαν τα επίπεδα της **οστεοποντίνης** και του VEGF, η μικροαγγειακή πυκνότητα μυελού (ως δείκτες αγγειογενετικής δραστηριότητας), τα Ntx ούρων και ο βαθμός οστικής νόσου (ως δείκτες οστικής νόσου) και η διήθηση του μυελού από τα μονοκλωνικά πλασματοκύτταρα, το στάδιο της νόσου και όλα αυτά και μετά από αποτελεσματική θεραπεία (ως δείκτες φορτίου νόσου).

Αποτελέσματα: Η **MMP-9** σχετίσθηκε με το στάδιο της νόσου, το βαθμό οστικής συμμετοχής, τις αγγειογενετικές κυτταροκίνες VEGF και HGF, την IL-6 και τους δείκτες οστικού μεταβολισμού (NTx, F-Pyd, FDpd και αρνητικά με το PICP). Ο **RANKL** ήταν σημαντικά αυξημένος στους ασθενείς, αλλά όχι η **OPG** και η αναλογία RANKL/OPG. Ο RANKL και η αναλογία RANKL/OPG, αλλά όχι η OPG, αυξήθηκαν παράλληλα με το στάδιο της νόσου και το βαθμό οστικής συμμετοχής. Όλες οι τιμές έπεσαν στη φάση του πλατώ. Ο RANKL συσχετίσθηκε με τους δείκτες αγγειογένεσης και φορτίου νόσου, ενώ η αναλογία RANKL/OPG συσχετίσθηκε επιπρόσθετα και με την OPG. Τέλος, η **OPN**, αν και δεν ήταν σημαντικά αυξημένη στους ασθενείς, σχετίσθηκε με το βαθμό οστικής συμμετοχής, το στάδιο και το φορτίο της νόσου, ενώ τιμές >100ng/ml ήταν ενδεικτικές προχωρημένης νόσου.

Συμπεράσματα: Τα επίπεδα των παραπάνω μορίων φαίνεται να συμμετέχουν στη διαδικασία της αγγειογένεσης αλλά και της οστικής καταστροφής. Η μέτρηση αυτών των παραγόντων ίσως να λειτουργούσε συμπληρωματικά στην εκτίμηση της οστικής νόσου. Επιπλέον η οστεοποντίνη φαίνεται να έχει και προγνωστική αξία. Οι πληροφορίες αυτές θα μπορούσαν να βοηθήσουν στην κλινική πράξη εντοπίζοντας ομάδες ασθενών υψηλού κινδύνου και θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως συμπληρωματικοί δείκτες ανταπόκρισης στη θεραπεία ή υποτροπής.

Abstract

Existing data: Multiple myeloma (MM) is a plasma cell malignancy, locating in bone marrow environment. In order to survive and subsequently to expand, myeloma plasma cells interact with bone marrow's elements, activating various mechanisms that aim, directly (plasma cell proliferation) and indirectly (induction of angiogenesis in order to carry oxygen and nutrients, creation of bone disease in order to provide space for the expansion of the disease) the evolution of the disease. It is of interest that those interactions usually operate in multiple levels, causing significant alteration of bone marrow microenvironment that favors the development of the myeloma clone. An important characteristic of the altered environment is the pathologic expression of various versatile cytokines.

Aim of the study: The research of the role of various molecules in angiogenesis and bone disease in MM. We measured the peripheral expression of various molecules and examined the relation between this expression, both with bone marrow angiogenic activity and bone disease.

Patients and methods: We studied 78 MM patients in diagnosis, 35 of them in remission after treatment and 30 healthy controls. The study was performed in 4 independent stages: in *the first stage* we studied the relation between known angiogenic factors (**MMP-9**, VEGF, HGF) with indices of bone disease (grade of bone disease and indices of bone metabolism: serum PICP and urine Ntx) and burden of disease (B2M, albumin and clinical stage). In *the second stage* we studied serum levels of IL-6 and **MMP-9** in combination with indices of bone disease (Ntx, F-Pyd and F-Dpd in urine, grade of bone disease) and disease activity (stage and infiltration), in order to estimate if they are useful prognostic indices for the bone disease. In the *third stage* we studied the relation of **RANKL** and **osteoprotegerin** with known markers of angiogenesis (HGF, VEGF), disease activity (IL-6, LDH, B2M, CRP, stage, before and after effective treatment) and bone disease (grade of bone disease). In *the fourth stage*, we measured the levels of circulating **osteopontin** and VEGF, the microvascular density of bone marrow (markers of angiogenesis), urine Ntx and grade of bone disease (markers of bone disease), bone marrow infiltration and clinical stage (markers of myeloma burden), both in diagnosis and after effective treatment.

Results: **MMP-9** was correlated to clinical stage, bone disease grade, angiogenic cytokines VEGF and HGF, IL-6 and indices of bone metabolism (positively with Ntx, F-Pyd, FDpd and negatively with PICP). **RANKL** but not **OPG** neither the rate RANKL/OPG, was increased in MM patients. RANK and the rate, but not OPG, increased in parallel with disease stage and grade of bone disease, whereas all values failed in the plateau phase. RANKL correlated with markers of angiogenesis and disease activity, whereas the rate RANKL/OPG additionally correlated with OPG. Finally, **OPN**, although not significantly elevated in MM patients, correlated with grade of bone disease, stage and burden of the disease, failed in the plateau phase, whereas values >100ng/ml were suggestive of progressed disease.

Conclusions: The circulating levels of the above molecules seem to participate in the process of angiogenesis and bone destruction. Measuring their levels might add in the assessment of bone disease, whereas osteopontin has prognostic value. That information might help in the clinical practice, since they could detect high risk patients, or be used as additional markers of response to treatment or even relapse.

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

The right one alone was divided, and in this the disease had made such progress in the centre of it, that the whole of the osseous matter had been removed, and nothing but periosteum and membranous matter left; while at the upper part of the lower third of the bone the red matter was abundant, exhibiting various hues, from a deep Modena red to a bright scarlet crimson, the osseous laminated shell remaining, but almost as thin as a wafer; then towards the condyles a portion of the bone was nearly of its natural colour, only yellower and softer, from an abundance of fatty deposit. The extremity of the bone, to the extent of about one-third of an inch, was of a bright red colour, contrasting beautifully with the clear healthy colour of the cartilage. This redness was evidently the effect of inflammatory injection of the vessels.

Μόνο το δεξί (μηριαίο οστό) ήταν χωρισμένο, και σ' αυτό η νόσος είχε κάνει τέτοια πρόοδο στο κέντρο του, ώστε όλη η οστική ύλη είχε απομακρυνθεί, και τίποτα παρά μόνο το περιόστεο και η μεμβράνη παρέμεναν. Ενώ στο άνω μέρος του κατώτερου τρίτου του οστού η ερυθρή ύλη ήταν άφθονη και παρουσίαζε διάφορες αποχρώσεις, από ένα βαθύ κόκκινο της Modena έως ένα λαμπρό πορφυρό κόκκινο, στο συγκολλημένο οστικό κέλυφος που παρέμενε, αλλά τόσο λεπτό όσο μία γκοφρέτα. Κατόπιν προς τους κονδύλους, ένα τμήμα του οστού ήταν σχεδόν στο φυσικό του χρώμα, μόνο πιο κίτρινο και μαλακό, από την άφθονη εναπόθεση λίπους. Το άκρο του οστού, στην έκταση περίπου ενός τρίτου της ίντσας, είχε ένα φωτεινό κόκκινο χρώμα, σε όμορφη αντίθεση με το καθαρό υγιές χρώμα του χόνδρου. Αυτή η ερυθρότητα ήταν προφανώς το αποτέλεσμα της φλεγμονώδους ένεσης των αγγείων.

Περιγραφή της οστικής νόσου στην πρώτη βιβλιογραφική αναφορά του πολλαπλού μυελώματος. *Solly S. Remarks on the pathology of mollities ossium; with cases. Med Chir Trans. 1844;27:435-498.8*

1. Εισαγωγή

Το πολλαπλό ή πλασματοκυτταρικό μυέλωμα (ΠΜ) είναι ένα νεόπλασμα των τελικώς διαφοροποιημένων, μετά το βλαστικό κέντρο, Β λεμφοκυττάρων, των πλασματοκυττάρων. Χαρακτηρίζεται από πολυεστιακό πολλαπλασιασμό μακρόβιων πλασματοκυττάρων, κυρίως στο μυελό των οστών με συνεπακόλουθη απόθεση των φυσιολογικών αιμοποιητικών σειρών και πενίες στο περιφερικό αίμα, από οστική καταστροφή, παρουσία παραπρωτεΐνης στον ορό, ανοσοκαταστολή και νεφρική ανεπάρκεια. Το ΠΜ είναι συνήθως η εξέλιξη μιας προνεοπλασματικής κατάστασης, που ονομάζεται μονοκλωνική παραπρωτεΐναιμία αδιευκρίνιστης σημασίας (monoclonal gammopathy of undetermined significance- MGUS). Η εξέλιξη από τη σταθερή MGUS στο ενεργό μυέλωμα είναι μια σύνθετη διαδικασία, στην οποία συμμετέχουν πολλές επίκτητες αλλαγές στη συμπεριφορά των πλασματοκυττάρων και αλληλεπιδράσεις τους με το μικροπεριβάλλον του μυελού. Η συμμετοχή του μυελικού μικροπεριβάλλοντος στη μυελωματική νόσο είναι πολύ σημαντική και αποσκοπεί στην καθεαυτή ανάπτυξη του όγκου, στην αγγειογένεση, στην οστική νόσο αλλά και στην αντοχή στη θεραπεία, και συνίσταται στις αλληλεπιδράσεις του με τα μυελωματικά πλασματοκύτταρα. Έτσι, αρχικά, τα μυελωματικά πλασματοκύτταρα ενεργοποιούν τους ινοβλάστες, που με τη σειρά τους παράγουν αυξητικούς παράγοντες, και τα ενδοθηλιακά κύτταρα προκειμένου να αρχίσει η αγγειογενετική απάντηση. Επίσης διεγείρουν ανοσολογικά και φλεγμονώδη κύτταρα και τέλος διαταράσσουν την ισορροπία μεταξύ οστεοβλαστών και οστεοκλαστών, δημιουργώντας τις οστεολύσεις. Φαίνεται μάλιστα ότι το μυελικό μικροπεριβάλλον είναι αυτό που συμβάλλει περισσότερο στην εξέλιξη της MGUS σε ΠΜ και όχι τόσο οι γενετικές αλλαγές.

Η αγγειογένεση είναι ένα σταθερό σημείο στην πρόοδο του ΠΜ και έχει προγνωστική δυνατότητα. Ήδη από το 1994 διαπιστώθηκε ότι η αγγειογένεση συμμετέχει στην ανάπτυξη πολλών αιματολογικών κακοηθειών, σε σημείο μάλιστα που να φαίνεται ότι η πρόοδος αρκετών εξ αυτών σχετίζεται με το βαθμό της αγγειογένεσης. Έτσι, διαπιστώθηκε ότι η μικροαγγειακή πυκνότητα (microvascular density- MVD) στο μυελό αυξάνεται με την

πρόοδο από MGUS σε μη ενεργό και ακολούθως σε ενεργό ΠΜ και σχετίζεται με το ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού των νεοπλασματικών πλασματοκυττάρων. Θεωρώντας λοιπόν ότι η MVD εξαρτάται από την αγγειογένεση, φαίνεται ότι η αγγειογένεση προάγει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, ευνοώντας έτσι την αύξηση της μυελωματικής μάζας.

Η παθοφυσιολογία της επαγομένης από το ΠΜ αγγειογένεσης περιλαμβάνει τόσο την άμεση παραγωγή αγγειογενετικών κυτταροκινών από τα μυελωματικά πλασματοκύτταρα όσο και την επαγωγή τους από τα στρωματικά κύτταρα του μικροπεριβάλλοντος του μυελού. Αυτές οι κυτταροκίνες προάγουν την αγγειογένεση, συνεπώς την ανάπτυξη, επιβίωση και μετανάστευση των πλασματοκυττάρων και τελικώς την εξέλιξη της νόσου. Φαίνεται λοιπόν ότι οι αλληλοεπιδράσεις των νεοπλασματικών πλασματοκυττάρων με τα στρωματικά κύτταρα του μυελού είναι πολύ σημαντικές και ειδικές για το ΠΜ. Σε αυτό το πλαίσιο, ένα σημαντικό επακόλουθο αυτών των αλληλεπιδράσεων είναι η δημιουργία της τυπικής μυελωματικής οστικής νόσου. Είναι χαρακτηριστικό ότι η μυελωματική οστική νόσος διαφοροποιείται από την οστική νόσο των οστικών μεταστάσεων συμπαγών όγκων, καθώς και ότι σε άλλες αιματολογικές κακοήθειες με διηθημένο μυελό συνήθως δεν υπάρχει οστική νόσος.

Σκοπός της παρούσας διατριβής είναι η διερεύνηση του ρόλου διαφόρων κυτταροκινών στην αγγειογένεση και κυρίως στην οστική νόσο του ΠΜ. Αρχικά γίνεται λόγος για την επιδημιολογία και την παθοφυσιολογία του ΠΜ, στη συνέχεια για το ρόλο της αγγειογένεσης στην πρόοδο της νόσου και τελικώς για την παθοφυσιολογία της μυελωματικής οστικής νόσου.

2. Επιδημιολογία του Πολλαπλού Μυελώματος

Το ΠΜ αφορά το 1% όλων των νεοπλασιών και το 13.5-15% των αιματολογικών νεοπλασμάτων. Είναι υπεύθυνο για το 19% των θανάτων από αιματολογικές κακοήθειες και το 2% των συνολικών θανάτων από κακοήθειες [1, 2, 3]. Η ετήσια επίπτωσή του είναι 3-4 περιστατικά ανά 100000 πληθυσμού και ο δια βίου κίνδυνος είναι 1 στα 159 (0.63%) [1]. Η διάμεση ηλικία διάγνωσης των ασθενών είναι τα 66 έτη στις ΗΠΑ, και σε άλλες περιοχές τα 69 έτη για τους άνδρες και τα 71 για τις γυναίκες. Το 10 και 5% των περιπτώσεων αφορούν άτομα μικρότερα των 50 και 40 ετών αντίστοιχα [1]. Η επίπτωση της νόσου είναι διπλάσια στους μαύρους σε σχέση με τους λευκούς και σημαντικά υψηλότερη στους άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες (1.4:1) [3]. Στους λευκούς διαγιγνώσκονται 4 νέα περιστατικά στους άντρες και 3 στις γυναίκες ανά 100000 πληθυσμού ετησίως [4]. Το ΠΜ δεν συναντάται στην παιδική ηλικία και σπανιότατα σε ηλικία μικρότερη των 30 ετών. Η εμφάνιση της νόσου αυξάνεται προοδευτικά με την ηλικία, ώστε το 90% των περιπτώσεων αφορά ηλικίες μεγαλύτερες των 50 ετών [4].

Παράγοντες κινδύνου

Φαίνεται ότι το ΠΜ προέρχεται στις περισσότερες, αν όχι σε όλες, περιπτώσεις από τη μονοκλωνική γαμμαπάθεια αδιευκρίνιστης σημασίας (Monoclonal gammopathy of undetermined significance-MGUS). Και οι δύο αυτές οντότητες χαρακτηρίζονται από την παρουσία παραπρωτεΐνης στον ορό και πλασματοκυττάρων στο μυελό αλλά χωρίς τη βλάβη τελικού οργάνου που χαρακτηρίζει το ενεργό ΠΜ, δηλαδή της οστικής νόσου, αναιμίας, υπερασβεστιαμίας και νεφρικής βλάβης, οφειλόμενων στην πλασματοϋπερπλαστική διαταραχή. Ο κίνδυνος εξέλιξης σε ΠΜ ή σχετικές διαταραχές είναι 1% ανά χρόνο [1].

Η αιτιολογία της νόσου δεν είναι πλήρως εξακριβωμένη. Πιθανόν η γενετική προδιάθεση, το περιβάλλον, η επαγγελματική έκθεση και ο χρόνιος αντιγονικός ερεθισμός να εμπλέκονται στην παθοφυσιολογία της νόσου [4]. Η γενετική ευπάθεια σχετίζεται με τον τρόπο που τα άτομα έρχονται σε επαφή με περιβαλλοντικές τοξίνες και αντιγόνα. Έχει προταθεί ότι η κακοήθης

εξαλλαγή αφορά κάποια κύτταρα που ευθύνονται για την ανοσολογική απάντηση. Έτσι, το ΠΜ έχει συσχετισθεί με ιστορικό ιογενούς ή βακτηριακής λοίμωξης, ανοσοποίησης, αλλεργιών, θεραπείας απευαισθητοποίησης από αλλεργία, αυτοάνοσων νοσημάτων, αλλά συχνά τα αποτελέσματα είναι αντιφατικά [5]. Παρολαυτά, φαίνεται να υπάρχει σχέση μεταξύ ΠΜ και ρευματοειδούς αρθρίτιδας, και αυτό έχει να κάνει με το ρόλο της χρόνιας αντιγονικής διέγερσης στην ανάπτυξη της νόσου [6, 7]. Επίσης αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης ΠΜ υπάρχει σε ακτινολόγους, με μακρόχρονη έκθεση σε χαμηλή δόση ακτινοβολίας και σε εργάτες πυρηνικών εργοστασίων υποδεικνύουν [8]. Ο ρόλος της επαγγελματικής έκθεσης στον κίνδυνο ανάπτυξης μυελώματος παραμένει άγνωστος. Οι περισσότερες επαγγελματικές συσχετίσεις με το μυέλωμα αφορούν τη γεωργία, την ενασχόληση με τη σκόνη και τα μέταλλα, τις εξατμίσεις από γεωργικό εξοπλισμό και τη χρήση φυτοφαρμάκων [9, 10, 11]. Ειδικά για τα φυτοφάρμακα, ο κίνδυνος ανάπτυξης της νόσου αυξάνεται 2.5 φορές [11] και ειδικά 5.66 φορές μετά από αυξημένη και μακροχρόνια επαφή με το κοινό φυτοφάρμακο alachlor [9]. Το βενζένιο επίσης έχει προταθεί ως αιτιολογικός παράγοντας, λόγω των γνωστών τοξικών, για το μυελό, μεταβολιτών του [12, 13]. Τέλος έχει τεκμηριωθεί η οικογενής προδιάθεση [14, 15]. Ο κίνδυνος για εμφάνιση ΠΜ είναι 3,7 φορές υψηλότερος σε ενήλικες με συγγενείς πρώτου βαθμού με τη νόσο [16].

3. Παθοφυσιολογία Πολλαπλού Μυελώματος

3.1 Το αρχέγονο μυελωματικό κύτταρο

Η προέλευση του κακοήθους πλασματοκυττάρου δεν είναι ξεκάθαρη. Παρά το γεγονός ότι το κυρίαρχο κύτταρο στο ΠΜ είναι το πλασματοκύτταρο ή η πλασμαβλάστη, υπάρχουν δεδομένα που υποδεικνύουν ότι και άλλοι τύποι λεμφοκυττάρων σχετίζονται με την κακοήθη διαδικασία. Ένα σημαντικό ποσοστό περιφερικών λεμφοκυττάρων φέρουν τη μοναδική ιδιοτυπική παραπρωτεΐνη που υπάρχει και στα νεοπλασματικά πλασματοκύτταρα [17] και φέρει κλωνικές αναδιατάξεις όμοιες με αυτές που βρίσκονται στα πλασματοκύτταρα του μυελού [18, 19]. Αυτά τα δεδομένα προτείνουν ότι το ογκογενετικό συμβάν που προκαλεί την ανάπτυξη ΠΜ μπορεί να συμβαίνει στο στάδιο του pre-B λεμφοκυττάρου. Φαίνεται όμως να υπάρχει και η συμμετοχή τμήματος του αρχέγονου κυττάρου, χωρίς όμως να είναι ξεκάθαρο ποιο κύτταρο είναι κλωνογονικό με δυνατότητα αυτοανανέωσης. Παρολαυτά, στις περισσότερες κακοήθειες υπάρχει αρκετή πλαστικότητα, που επιτρέπει σε περισσότερα, ώριμης εμφάνισης, κύτταρα να αναλαμβάνουν εναντίον των κακοηθών κυττάρων. Υπάρχουν στοιχεία που συνηγορούν ότι το pre-B ή το παρθένο B λεμφοκύτταρο μεταναστεύει από το μυελό στο λεμφαδένα, όπου γίνονται η αναγνώριση του αντιγόνου, η επιλογή και οι σωματικές υπερμεταλλάξεις. Τα προδρομικά μυελωματικά κύτταρα φαίνεται να εντάσσονται στα μνημονικά B λεμφοκύτταρα, που εκφράζουν κυτταροπλασματική ανοσοσφαιρίνη, και που στη συνέχεια υφίστανται την ανοσοσφαιρική μεταλλαγή στο λεμφαδένα [18]. Η κλωνικότητα και η αλληλουχία των V_H γονιδίων στο μυελόμα δείχνουν πολλαπλές σωματικές μεταλλάξεις, χαρακτηριστικό διαδικασίας αντιγονικής καθοδήγησης. Αυτό το γεγονός υποδηλώνει ισχυρά ότι ο κακοήθης κλώνος στο ΠΜ αναπτύσσεται από ένα κύτταρο που βρίσκεται σε όψιμη B κυτταρική ανάπτυξη, έχει διεισδύσει στο βλαστικό κέντρο και έχει εκτεθεί σε μεγάλο βαθμό με το αντιγόνο [20].

Από τη στιγμή που το κακοήθες αρχικό κύτταρο φεύγει από το λεμφαδένα και εισέρχεται στην κυκλοφορία, έλκεται από μόρια προσκόλλησης που το κατευθύνουν στο μυελικό περιβάλλον. Η κατεύθυνση

στο μυελό ενισχύεται από την παρουσία στην επιφάνεια των πλασματοκυττάρων του υποδοχέα CXCR4. Ο συνδέτης του CXCR4 είναι ο SDF1 [21]. Τα αιμοποιητικά κύτταρα επίσης συνδέονται με το περιβάλλον του μυελού μέσω CXCR4, που εκφράζουν στην επιφάνεια τους, και γι' αυτό το ΠΜ αναπτύσσεται σε περιοχές του μυελού όπου υπάρχει φυσιολογική αιμοποίηση.

3.2 Γενετικές αλλαγές

Τα κύτταρα στο ΠΜ μπορεί διαχωριστούν σε ομάδες υπερδιπλοειδικών (48 με 74 χρωμοσώματα) και μη υπερδιπλοειδικών (λιγότερα από 48 ή περισσότερα από 74 χρωμοσώματα) ανάλογα με τον αριθμό των χρωμοσωμάτων. Σχεδόν ο μισός πληθυσμός με ΠΜ και MGUS δεν έχουν υπερδιπλοειδία και οι περισσότεροι έχουν μία από τις πέντε επαναλαμβανόμενες μεταλλάξεις της IgH. Ο υπόλοιπος πληθυσμός με υπερδιπλοειδία παρουσιάζει πολλαπλές τρισωμίες, που αφορούν κυρίως τα χρωμοσώματα 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 και 21 [22].

Οι μέχρι τώρα μελέτες έκφρασης γονιδίων έχουν δείξει μεγάλη ετερογένεια ανάμεσα στους ασθενείς με ΠΜ και υπερδιπλοειδία, με κάποιες ομάδες να έχουν πολύ φτωχή έκβαση και άλλες καλή ανταπόκριση στις καινούριες θεραπείες [23]. Η απώλεια του χρωμοσώματος 13 ανευρίσκεται στο 72% των μη υπερδιπλοειδικών όγκων και μόνο στο 33% των υπερδιπλοειδικών [24].

Υπάρχουν αντικρουόμενες αναφορές για το αν αυτοί οι δύο δείκτες (πχ έλλειψη του χρωμοσώματος 13 και μη υπερδιπλοειδία) αποτελούν ανεξάρτητες μεταβλητές πρόγνωσης ή αν απλώς ο ένας συμπληρώνει τον άλλον [25, 26]. Μονοπαραγοντική και πολυπαραγοντική ανάλυση έδειξε ότι η υπερδιπλοειδία, δεν προσθέτει καμία επιπλέον διαγνωστική πληροφορία στο αποτέλεσμα της ανάλυσης του χρωμοσώματος 13, όταν αυτή ανιχνεύεται με συμβατική κυτταρογενετική ανάλυση ή FISH [24].

3.2.1 IgH μεταλλάξεις.

Οι μεταλλάξεις των βαριών αλυσών των ανοσοσφαιρινών (IgH) αυξάνουν την έκφραση ενός ογκογονιδίου ή ενός άλλου γονιδίου, που βρίσκεται σε περιοχή ενδυνάμωσης της ανοσοσφαιρίνης. Τέτοιες μεταλλάξεις βρίσκονται στο 50% των ασθενών με MGUS ή έρπον ΠΜ, στο 55-73% με

ΠΜ, στο 85% με πλασμοβλαστική λευχαιμία και σε >90% των ανθρώπινων μυελωματικών κυτταρικών σειρών [27, 28].

3.2.1.α. Πρωτοπαθείς IgH μεταλλάξεις.

Οι IgH μεταλλάξεις, που συναντώνται στη MGUS και στο ΠΜ περιλαμβάνουν τις πέντε βασικές χρωμοσωμικές βλάβες 4p16, 6p21, 11q13, 16q23 και 20q11 [29, 30]. Στα αναγνωρίσιμα γονίδια περιλαμβάνονται η κυκλίνη D1 και άλλοι αυξητικοί παράγοντες (11q), ο fibroblast growth factor receptor 3 (4p), ο basic zipper C-MAF transcription factor (16q), ο interferon regulatory factor 4 (6p) και ο MAFB (20q) [30, 31, 32].

3.2.1.β. Δευτεροπαθείς IgH μεταλλάξεις.

Περίπου το 3% των ασθενών με ΠΜ εμφανίζουν δευτεροπαθείς IgH μεταλλάξεις, που αφορούν το ογκογονίδιο MYC (8q24). Οι μεταλλάξεις MYC είναι σπάνιες στο MGUS, αλλά στο ΠΜ ανευρίσκονται στο 15% των περιπτώσεων, στο 45% επί προχωρημένου σταδίου και στο 90% των μυελωματικών κυτταρικών σειρών [33, 34].

3.2.2 Χρωμοσωμιακές ανωμαλίες

3.2.2.α. Απώλεια του χρωμοσώματος 13

Η απώλεια του χρωμοσώματος 13 είναι μια συχνή χρωμοσωμική ανωμαλία στα μυελωματικά πλασματοκύτταρα [35]. Η έλλειψη του χρωμοσώματος 13 ανιχνεύεται με συμβατική κυτταρογενετική ή με FISH, που έχει και τη μεγαλύτερη ευαισθησία. Όταν ανιχνεύεται με συμβατική κυτταρογενετική ανάλυση τείνει να προκαλεί χειρότερη έκβαση σε σχέση με την ανίχνευση με FISH ανάλυση [36]. Με τη χρήση της FISH, η απώλεια του χρωμοσώματος 13 μπορεί να ανιχνευτεί σε όλα τα στάδια του ΠΜ, ακόμα και στο έρπον ΠΜ και στη MGUS. Αυτό σημαίνει ότι ο ρόλος του στην εξέλιξη του μυελώματος δεν είναι σαφής. Η επίπτωση κυμαίνεται από 30-86% [37]. Η συχνότερη εντόπιση αφορά κυρίως την 13q14 περιοχή, και ανιχνεύεται με FISH στο 86% των περιπτώσεων. Αυτή η περιοχή κωδικοποιεί το ογκοκατασταλτικό γονίδιο του ρετινοβλαστώματος (Rb1) [37]. Η έλλειψη του 13q14 σχετίζεται με αυξημένη αγγειογένεση στο μυελό, γεγονός που θα οδηγούσε στην αιτιολογική χρήση αντιαγγειογενετικών θεραπειών [38]. Η έλλειψη 13q14 προκαλεί σημαντική μείωση των ποσοστών ανταπόκρισης στη βασική χημειοθεραπεία (41% έναντι 79%) και στη συνολική επιβίωση (24 έναντι έναντι 60 μήνες) [39]. Οι ανωμαλίες στο χρωμόσωμα 13 σχετίζονται

με φτωχή πρόγνωση και ίσως αποτελούν το σημαντικότερο αρνητικό προγνωστικό δείκτη [26, 39, 40].

3.2.2.β. Η μετάλλαξη t(4;14)

Η μετάλλαξη t(4;14) του υποδοχέα τυροσινικής κινάσης FGFR3 στη IgH βρίσκεται στο 25% των μυελωματικών κυτταρικών σειρών και στο 15% των ασθενών με ΠΜ . Αποτελεί αρνητικό προγνωστικό δείκτη, με φτωχά αποτελέσματα στη χημειοθεραπεία [41].

3.2.2.γ. Έλλειψη 17p13

Η έλλειψη 17p13, που κωδικοποιεί την p53 πρωτεΐνη, ανευρίσκεται στο 10% των ασθενών με ΠΜ και σχετίζεται με αντοχή στη θεραπεία, μικρότερη επιβίωση, πρόοδο νόσου, πλασματοκυτταρική λευχαιμία και προσβολή του ΚΝΣ [27, 42].

3.2.2.δ. Μετάλλαξη t(11;14)

Η μετάλλαξη t(11;14)(q13;q32) σχετίζεται με καλή πρόγνωση των ασθενών όταν λάβουν μεγαθεραπεία και αυτόλογη μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων [43]. Έχει υψηλή επίπτωση στην αμυλοείδωση ελαφρών αλύσων (50%) και στο IgM ΠΜ (>90%) [44].

3.2.3. Άλλα ογκογονίδια.

Οι N και K-ras μεταλλάξεις αφορούν το 10-40% των ασθενών με ΠΜ στη διάγνωση, ενώ ανιχνεύονται πιο συχνά στα προχωρημένα στάδια [45]. Οι μεταλλάξεις των N-ras και K-ras σχετίζονται με χειρότερη επιβίωση [46]. Οι K-ras μεταλλάξεις είναι πιο συχνές στους ασθενείς που εκφράζουν τη t(11;14)(q13;q32) (50%), σε αντίθεση με τις άλλες πρωτοπαθείς αντιμεταθέσεις (<10%). Αυτές οι μεταλλάξεις αφορούν ασθενείς με επιθετική νόσο ή ακόμα πλασματοκυτταρική λευχαιμία [47] και σχετίζονται με φτωχή πρόγνωση [48] .

3.3 Η δυσλειτουργία του κυτταρικού κύκλου

Παρά το χαμηλό ρυθμό πολλαπλασιασμού, τα mRNA επίπεδα των κυκλινών D1, D2, και D3, που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη των B κυττάρων, είναι σχετικά υψηλά σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις ΠΜ και MGUS [49]. Περίπου το 25% των MGUS και ΠΜ όγκων, έχει IgH μεταλλάξεις, που προκαλούν δυσλειτουργία στην κυκλίνη D1 (11q13), κυκλίνη D3 (6p21), ή σε ένα MAF γονίδιο (MAFA, 16q23 ή MAFB, 20q11) που κωδικοποιεί ένα μεταγραφικό παράγοντα με στόχο την κυκλίνη D2. Έτσι

φαίνεται ότι η αύξηση της λειτουργίας της κυκλίνης D1 ή D3 μπορεί να προάγει την επανείσοδο στον κυτταρικό κύκλο και την πρόοδο της νόσου. Ο χρόνος των πρωτοπαθών IgH μεταλλάξεων, της ανευπλοειδίας και της απορρύθμισης της κυκλίνης D δεν έχουν ακόμη οριστεί.

Η απώλεια των αναστολέων κινάσης της κυκλίνης D (CdkI, γνωστοί ως p15, p16, p18, και p19) κατά τη διάρκεια επανεισόδου στον κυτταρικό κύκλο ή προόδου της νόσου, μπορεί επίσης να συμβάλλει στην παθογένεση της νόσου [50, 51]

3.4 Η απορρύθμιση της απόπτωσης

Η απορρύθμιση της απόπτωσης στο ΠΜ σχετίζεται με ποικιλία διαφορετικών παραγόντων. Σε αντίθεση με τα φυσιολογικά B κύτταρα, τα μυελωματικά πλασματοκύτταρα είναι ευαίσθητα στην *in vitro* απόπτωση από τον επαγόμενο από την απόπτωση συνδέτη του tumor necrosis factor (TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand-TRAIL). Όταν όμως ο TRAIL συνδεθεί με την οστεοπροτεγερίνη (OPG) στο μυελωματικό μυελό, αναστέλλεται η επαγωγή απόπτωσης των μυελωματικών κυττάρων [52]. Επίσης η απώλεια έκφρασης του Fas (CD95), λόγω σημειακής μετάλλαξης, μπορεί να αναστείλει την απόπτωση [53]. Στα B κύτταρα, ο Fas μπορεί να προκαλέσει απόπτωση, όταν συνδέεται με το Fas ligand (FasL) [54].

Η DAP (death-associated protein) κινάση ρυθμίζει την απόπτωση που προκαλείται από την ιντερφερόνη-α και μπορεί να επηρεάζει την συνολική πρόγνωση. Ο επαγωγέας της DAP κινάσης είναι υπερμεθυλιωμένος στο 65% των περιπτώσεων με ΠΜ [55]. Η ιντερλευκίνη (IL)-6 είναι ο πιο σημαντικός αντιαποπτωτικός παράγοντας για τα ανθρώπινα μυελωματικά κύτταρα και φαίνεται να είναι απορρυθμισμένη στο ΠΜ, με αποτέλεσμα την απώλεια της αυτόματης και προκαλούμενης μέσω φαρμάκων απόπτωσης [56, 57]. Η Mcl-1, είναι επίσης μία αντιαποπτωτική πρωτεΐνη, ανήκει στην οικογένεια Bcl-2 και φαίνεται να είναι υπεύθυνη για την μεταφορά των σημάτων της IL-6, συμβάλλοντας στην επιβίωση των ανθρώπινων πλασματοκυττάρων [58]. Η υπερέκφραση της Bcl-2 βρίσκεται στην πλειοψηφία των ασθενών με ΠΜ και στις μυελωματικές κυτταρικές σειρές [59]. Τα υψηλά επίπεδα πρωτεΐνης Bcl-2 μπορεί να συμβάλλουν στην αντοχή των μυελωματικών κυττάρων στην απόπτωση που θα προκαλούσε η χορήγηση δεξαμεθαζόνης ή άλλων φαρμάκων [56, 60].

3.5 Κυτταροκίνες και μετατροπές σημάτων μετάδοσης

Ο προσδιορισμός του ρόλου των αυξητικών παραγόντων και των επακόλουθων πολλαπλασιαστικών και αντιαποπτωτικών μονοπατιών μετάδοσης σημάτων έχει επιτρέψει την καλύτερη κατανόηση της παθογένεσης του ΠΜ.

3.5.1 Πυρηνικός παράγοντας-Nuclear factor-κB

Ο πυρηνικός παράγοντας-nuclear factor-κB (NF-κB) είναι ένας ευρέως διαδεδομένος μεταγραφικός παράγοντας, που μετέχει κυρίως στην ανοσολογική και αντιφλεγμονώδη απάντηση. Στα φυσιολογικά πλασματοκύτταρα, οι στόχοι των γονιδίων του NF-κB επηρεάζονται από τους αυξητικούς παράγοντες που εκκρίνονται από το μικροπεριβάλλον του μυελού. Τα κύτταρα στο ΠΜ χάνουν την εξάρτησή τους από το μικροπεριβάλλον του μυελού και εκφράζουν μόνιμα τον NF-κB [61, 62, 63]. Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, ο NF-κB βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα ως αδρανές ετεροδιμερές, που αποτελείται από τις p50, p65, και IκBa υποομάδες. Ο NF-κB ρυθμίζει την έκφραση διαφόρων γονιδίων, που παίζουν σημαντικό ρόλο στη χημειοαντίσταση και την ογκογένεση στο ΠΜ [64]. Η ενεργοποίηση του NF-κB στα μυελωματικά κύτταρα οδηγεί στην έκφραση Bcl-xL, που τα διασώζει από την απόπτωση που προκαλούν τα κορτικοειδή [61, 65]. Η παρακρινική έκθεση των μυελωματικών κυττάρων στον TNF μπορεί επίσης να ενεργοποιήσει τον NF-κB, με αποτέλεσμα την έκκριση IL-6 και την έκφραση μορίων προσκόλλησης. Ο συνδέτης του υποδοχέα του NF-κB, RANKL, μέλος της οικογένειας TNF και μπορεί επίσης να οδηγήσει στη ενεργοποίηση του NF-κB.

3.5.2 Ιντερλευκίνη 6

Η IL-6 κυρίως παράγεται από τα στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών (bone marrow stromal cells -BMSCs) και από τα μυελωματικά πλασματοκύτταρα [66]. Η ενεργοποίηση του CD40 ή κυτταροκινών (TNF, VEGF, IL-1) προκαλεί υπερέκκριση IL-6 από τα μυελωματικά κύτταρα [67, 68]. Η αλληλεπίδραση των μυελωματικών κυττάρων με τα κύτταρα του στρώματος του μυελού των οστών προκαλούν επίσης αυξημένη μεταγραφή IL-6 στα BMSCs, προκαλώντας την ενεργοποίηση του NF-κB. Τα περισσότερα μυελωματικά κύτταρα εκφράζουν τον υποδοχέα της IL-6 (που αποτελείται από τη gp80 υπομονάδα, με την οποία συνδέεται η IL-6 και τη

διαμεμβρανική gp130 υπομονάδα). Με τη σύνδεση της IL-6 στη gp80, επέρχεται η φωσφοριλίωση και ο ομοδιμερισμός της gp130, και ακολούθως η ενεργοποίηση διαφόρων μονοπατιών σηματοδότησης [Ras/Raf/mitogen-activated protein kinase (MAPK), MEK/extracellular signal-related kinase (ERK), Janus kinase (JAK)/signal transducer και τον activator of transcription (STAT) και phosphatidylinositol-3 kinase (PI3-K)/Akt (PKB)] [69, 70]. Η ενεργοποίηση αυτών των μονοπατιών προκαλεί την αύξηση των μυελωματικών κυττάρων, την επιβίωση και την αντοχή στη χημειοθεραπεία [71]. Η αυξημένη παραγωγή της IL-6 είναι επίσης υπεύθυνη, κατά ένα μέρος τουλάχιστον, για την αναιμία των ασθενών με ΠΜ, μέσω την υπερέκφρασης της εψιδίνης [72].

3.5.3 Insulin-like growth factor I

Ο **insulin-like growth factor I (IGF-I)** είναι ένας παράγοντας γνωστός για την πρόκληση την πολλαπλασιαστική και αντιαποπτωτική ικανότητας των μυελωματικών κυττάρων. Ο IGF-I φωσφοριλιώνει τον FKHR (forkhead transcription factor), προκαλεί την υπερέκφραση ενδοκυττάρων αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών και έτσι ελαττώνει την δραστηριότητα της απόπτωσης [73].

Ο **vascular endothelial growth factor (VEGF)**, **fibroblast growth factor (FGF)** και ο **basic fibroblast growth factor (bFGF)** είναι αγγειογενετικοί παράγοντες που παράγονται από τα μυελωματικά κύτταρα και τα BMSC. Ο VEGF συμμετέχει σε παρακρινικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μυελωματικών πλασματοκυττάρων και των στρωματικών κυττάρων. Η έκθεση των στρωματικών κυττάρων σε VEGF αυξάνει την έκκριση IL-6, ενώ και η έκθεση των μυελωματικών κυττάρων στην IL-6 αυξάνει την έκφραση και την έκκριση VEGF [68]. Η απορρύθμιση του bFGF λόγω της t(4;14) συμβάλλει στην αύξηση της αγγειογενετικής δράσης στο εξελισσόμενο ΠΜ. Η διέγερση των BMSCs με bFGF προκαλεί αύξηση της IL-6 ενώ η παρουσία του bFGF ανάμεσα στα μυελωματικά και στρωματικά κύτταρα οδηγεί σε αγγειογένεση και αύξηση του όγκου [74]. Προκλινικές μελέτες δείχνουν ότι η αναστολή του υποδοχέα FGF-receptor 3 (FGFR3), σε ανθρώπινα μυελωματικά κύτταρα σχετίζεται με μειωμένη επιβίωσή τους και καταστολή της ανάπτυξης του όγκου, δείχνοντας έτσι ότι ο FGFR3 θα μπορούσε να αποτελέσει θεραπευτικό στόχο στο ΠΜ [75].

3.5.4 Transforming growth factor- β (TGF- β)

Ο **transforming growth factor- β (TGF- β)** παράγεται από τα μυελωματικά κύτταρα και προκαλεί έκκριση της IL-6 από τα BMSCs [76]. Ο αναστολέας του υποδοχέα τυροσινικής κινάσης TGF- β (TGF- β receptor tyrosine kinase inhibitor) SD-208 μειώνει σημαντικά την IL-6 και τον VEGF από τα BMSCs καθώς και την προσκόλληση των μυελωματικών κυττάρων στα BMSCs.

3.5.5 Tumor necrosis factor

Ο **tumor necrosis factor (TNF)** εκφράζεται έντονα στα μυελωματικά και στα μονοπύρρηνα κύτταρα του μυελού (BM mononuclear cells-BMMCs). Προκαλεί απόπτωση μέσω του Fas (Fas-associated death domain/caspase-8 signaling), καθώς και ενίσχυση της επιβίωσης, μέσω τόσο της ενεργοποίησης του NF- κ B και όσο και της υπερέκφρασης αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών (Bcl-xL, XIAP, inhibitor of apoptosis protein [IAP]) [77, 78]. Ο TNF από μόνος του δεν προκαλεί αύξηση του πολλαπλασιασμού και της επιβίωσης, όμως μπορεί να αυξήσει μέσω του NF- κ B την έκφραση και έκκριση IL-6, VEGF ή TGF. Ο TNF, που εκκρίνεται από τα μυελωματικά κύτταρα, μπορεί επίσης να προκαλέσει, μέσω του NF- κ B, υπερέκφραση μορίων προσκόλλησης, τόσο στα μυελωματικά όσο και στα στρωματικά κύτταρα (CD49d, CD54). Με αυτόν τον τρόπο αυξάνεται η σύνδεση με τα BMSCs και προκαλείται η επαγωγή και έκκριση κυτταροκινών (IL-6, IGF-1, VEGF) [79, 80].

3.5.6 Stromal cell-derived factor 1

Ο **stromal cell-derived factor 1 (SDF-1)** είναι ο συνδέτης για τον υποδοχέα-χημειοκίνη CXCR4. Είναι γνωστός για την ανάμειξή του στην προσκόλληση, τον πολλαπλασιασμό και την μετακίνηση των μυελωματικών κυττάρων μέσα στο μικροπεριβάλλον του μυελού [81]. Προκαλεί την έκκριση IL-6 και VEGF από τα BMSCs, προάγοντας την ανάπτυξη, επιβίωση, μετακίνηση αλλά και αντοχή των μυελωματικών κυττάρων στη χημειοθεραπεία.

3.5.7 Άλλες κυτταροκίνες

Κυτταροκίνες όπως οι IL-21, IL-10, IL-15, IL-1b, leukemia inhibitory factor I και B-cell stimulating factor 3 [BSF3], έχουν αναφερθεί να παίζουν ρόλο στην παθογένεση του ΠΜ [82, 83, 84].

4. Αγγειογένεση στο Πολλαπλό Μυέλωμα

Το 1994 δημοσιεύθηκε για πρώτη φορά ότι η μικροαγγειακή πυκνότητα του μυελού ήταν σημαντικά αυξημένη στους ασθενείς με ΠΜ σε σχέση με τη MGUS, καθώς και στο ενεργό ΠΜ σε σχέση με το μη ενεργό. Έτσι συμπεραίνεται ότι η πρόοδος της MGUS βαίνει παράλληλα με την αύξηση της μικροαγγειακής πυκνότητας στο μυελό [85].

4.1 Αγγειογενετικές κυτταροκίνες

Έχει βρεθεί υπερέκφραση του **VEGF** από τα κλωνικά πλασματοκύτταρα, κάτι που οδηγεί σε ενεργοποίηση του πολλαπλασιασμού και της χημειοταξίας τόσο των στρωματικών κυττάρων του μυελού (μέσω του VEGFR-1 υποδοχέα), όσο και των ενδοθηλιακών κυττάρων (μέσω του VEGFR-2 υποδοχέα). Επίσης οδηγεί σε ενεργοποίηση παραγωγής της IL-6 και του VEGF από τα στρωματικά κύτταρα και αυτή η IL-6 προάγει τον πολλαπλασιασμό, επιβίωση και περαιτέρω παραγωγή VEGF από τα πλασματοκύτταρα [86, 87].

Επίσης έχουν βρεθεί αυξημένα επίπεδα **FGF-2** στο ενεργό ΠΜ σε σχέση με το μη ενεργό και την MGUS [88]. Φαίνεται ότι διεγείρει τις αλληλοεπιδράσεις των μονοκλωνικών πλασματοκυττάρων με τα στρωματικά κύτταρα του μυελού, μέσω της IL-6 [89], ενώ επίσης η συνδεκίνη (CD138), ένας υποδοχέας του χαμηλής συγγένειας, υπερεκφράζεται στο ΠΜ [90].

Επιπρόσθετοι αγγειογενετικοί παράγοντες στο ΠΜ είναι ο **HGF** και οι υποδοχείς του c-Met καθώς και η **Αγγειοποιητίνη-1 (Ang-1)** [91, 92, 93]. Έκφραση του HGF έχει βρεθεί τόσο σε κυτταρικές σειρές μυελωματικών πλασματοκυττάρων, όσο και σε φρέσκα μυελωματικά πλασματοκύτταρα [92], ενώ τα επίπεδά του στον ορό φαίνεται να βαίνουν παράλληλα με την έκταση και την πρόοδο της νόσου σε ένα μεγάλο ποσοστό ασθενών [94]. Επίσης έχει βρεθεί ότι η έκφραση της Ang-1 σχετίζεται με τη μικροαγγειακή πυκνότητα του μυελού στο ΠΜ [93], ενώ η έκφραση του υποδοχέα της Tie-2 ρυθμίζεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα του μυελού παρουσία μυελωματικών πλασματοκυττάρων. Είναι αξιοσημείωτο ότι αναστολή του υποδοχέα Tie-2, από ανασταλτικό αντίσωμα, μπλοκάρει την αγγειογένεση [93].

Ο **IGF-1** συμβάλλει στην αγγειογενετική διαδικασία διεγείροντας την παραγωγή VEGF από τα πλασματοκύτταρα [95], ενώ αυξημένα επίπεδα **IL-8** και **οστεοποντίνης** έχουν επίσης βρεθεί να σχετίζονται με τη μικροαγγειακή πυκνότητα του μυελού ασθενών με ενεργό μυέλωμα [96, 97].

Οι **matrix μεταλλοπρωτεάσες (Matrix metalloproteases-MMPs)** ανήκουν στην οικογένεια των εξαρτώμενων από τον ψευδάργυρο ενδοπεπτασών. Μέσω της πρωτεολυτικής αποδόμησης του εξωκυττάρου χώρου έχουν εμπλακεί στην εξέλιξη και εισβολή του όγκου, στην αγγειογένεση και στη μετάσταση [98, 99, 100, 101]. Η MMP-9 διασπά το κολλαγόνου IV, το κύριο συστατικό της βασικής μεμβράνης [102, 103]. Εκφράζεται κυρίως σε κύτταρα της μακροφαγικής σειράς, όπως είναι οι οστεοκλάστες [104, 105, 106, 107]. Εκκρίνεται και από μυελωματικά πλασματοκύτταρα και μυελωματικές κυτταρικές σειρές, προκαλώντας αύξηση της οστικής απορρόφησης, με άμεσο παρακρινή τρόπο [100, 102, 104]. Επίσης υπερεκφράζεται σε αγγειογενετικές βλάβες [108] και η έκκρισή της ρυθμίζεται από διάφορους αυξητικούς παράγοντες, όπως ο HGF και ο VEGF [109, 110]. Οι **μεταλλοπρωτεϊνάσες MMP 2 και 9** παράγονται από τα στρωματικά και ενδοθηλιακά κύτταρα του μυελού αλλά και από τα μονοκλωνικά πλασματοκύτταρα, είναι αυξημένες στο ενεργό ΠΜ [111]. Επίσης οι VEGF και MMP-9 εμπλέκονται στη ρύθμιση της παθολογικής οστεόλυσης. Η έκφρασή τους συσχετίζεται με την έκταση της οστικής καταστροφής και την τοπική υποτροπή [105]. Έχει αναφερθεί ότι η MMP-9 που παράγεται από τα μυελωματικά πλασματοκύτταρα, στο οστικό περιβάλλον, μπορεί να ενισχύσει την απορρόφηση της οργανικής οστικής ουσίας, με άμεσο-παρακρινή τρόπο [100, 102]. Έχει αποδειχθεί ότι η διήθηση από νεοπλασματικά πλασματοκύτταρα μπορεί να είναι άμεσα υπεύθυνη για τη αυξημένη επαναρρόφηση και την ανώμαλη αναδιαμόρφωση, είτε με τοπική αυτοκρινή ή παρακρινή παραγωγή ενεργοποιητών των οστεοκλαστών, είτε με άμεση κυτταρική επαφή [112]. Επιπλέον η παραγωγή MMP-9 από τα μυελωματικά πλασματοκύτταρα μπορεί να αυξηθεί τοπικά από κυτταροκίνες, χημοκίνες και αυξητικούς παράγοντες που παράγονται από τα οστικά κύτταρα, ενισχύοντας έτσι τη διηθητική συμπεριφορά των νεοπλασματικών κυττάρων, εγκαθιστώντας ένα τοπικό αυτοενισχυόμενο κύκλο [106]. Όντως, τα ενδοθηλιακά κύτταρα του μυελού μπορούν να ενισχύσουν την παραγωγή της

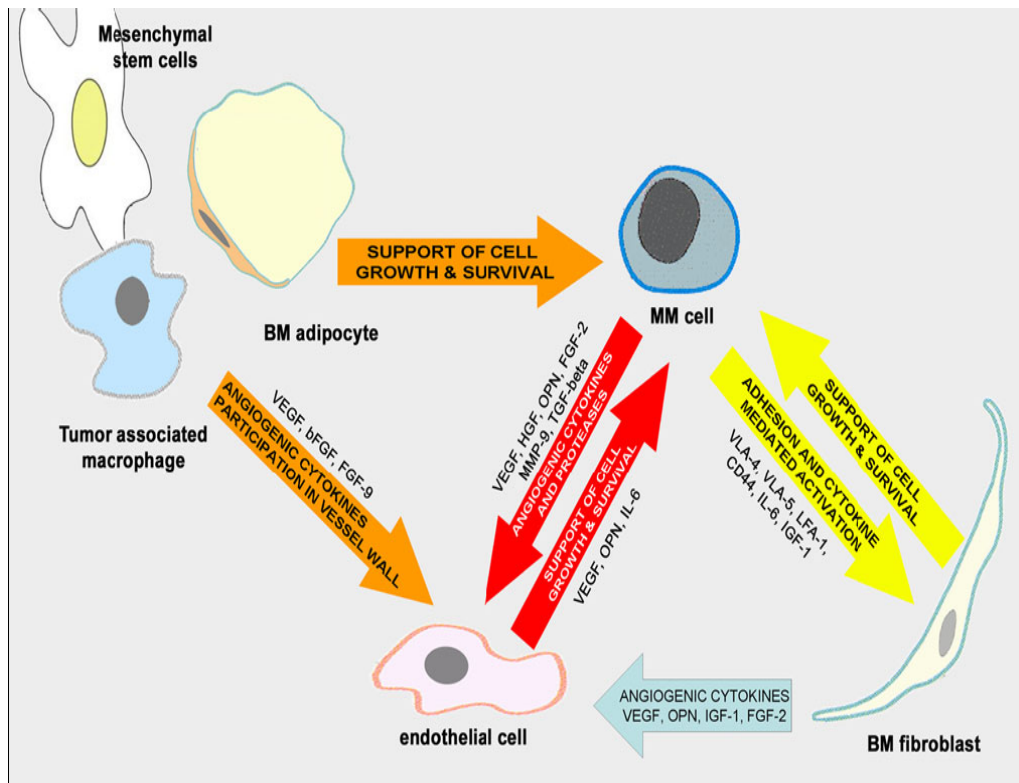
MMP-9 στο ΠΜ, υποδεικνύοντας έτσι ότι τα ενδοθηλιακά κύτταρα συνεισφέρουν στη διήθηση των μυελωματικών πλασματοκυττάρων μέσω έκκρισης της MMP-9 [100, 102, 113]. Οι δείκτες οστικού σχηματισμού και επαναρρόφησης αποτελούν ευαίσθητους δείκτες του ρυθμού του οστικού μεταβολισμού [114, 115, 116].

4.2 Ο ρόλος του μυελικού μικροπεριβάλλοντος

Το μυελωματικό μυελικό μικροπεριβάλλον αποτελείται από τα κλωνικά πλασματοκύτταρα, τις εξωκυττάρια πρωτεΐνες και τα στρωματικά κύτταρα, που όλα μαζί συμβάλλουν στην ανάπτυξη του μυελωματικού όγκου [117]. Υπάρχουν ποικίλες θετικές και αρνητικές αλληλοεπιδράσεις ανάμεσα στα πλασματοκύτταρα και τα στρωματικά κύτταρα, μέσω πλήθους κυτταροκινών, υποδοχέων και μορίων προσκόλλησης, που τελικώς οδηγούν στον πολλαπλασιασμό, μετανάστευση και τελικώς επιβίωση των πλασματοκυττάρων και στην αντοχή στη θεραπεία [118, 119, 120]. Τα πλασματοκύτταρα εκκρίνουν διάφορες κυτταροκίνες, όπως τους TNF-α [121], TGF-β, VEGF, FGF-2 [88], HGF [91, 92], Ang-1 [93] και MMP [88] στο μικροπεριβάλλον τους. Επιπλέον η σύνδεση των πλασματοκυττάρων με τα στρωματικά κύτταρα προάγει τη μεταγραφή και την έκκριση, από τα τελευταία, κυτταροκινών, όπως IL-6 [87], IGF-1 [122], VEGF [123], και CXCL12/SDF-1α [124] που μεσολαβούν στην ανάπτυξη (IL-6, IGF-1, VEGF), επιβίωση (IL-6, IGF-1), αντοχή στη θεραπεία (IL-6, IGF-1, VEGF), μετανάστευση (IGF-1, VEGF, MMP, SDF-1α) και αγγειογένεση (VEGF).

4.3 Ο ρόλος των ενδοθηλιακών κυττάρων

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα του μυελωματικού μυελού χαρακτηρίζονται από αυξημένη έκφραση διαφόρων αγγειογενετικών κυτταροκινών και των υποδοχέων τους όπως οι VEGF/VEGFR2, FGF-2/FGF2-R2 και Ang/Tie, ενώ έχει βρεθεί αυξημένη αγγειογενετική δραστηριότητα, τόσο *in vivo* όσο και *in vitro* [125]. Αυτά τα ενδοθηλιακά κύτταρα εκφράζουν περισσότερο mRNA διαφόρων CXC χημοκινών απ' ό,τι τα ενδοθηλιακά κύτταρα ομφαλίου λώρου. Φαίνεται λοιπόν ότι υπάρχει σύνδεση ανάμεσα στα πλασματοκύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα του μυελού μέσω των CXC χημοκινών και τους υποδοχείς τους, με τελικό αποτέλεσμα την εγκατάσταση και τον πολλαπλασιασμό των πλασματοκυττάρων [124].



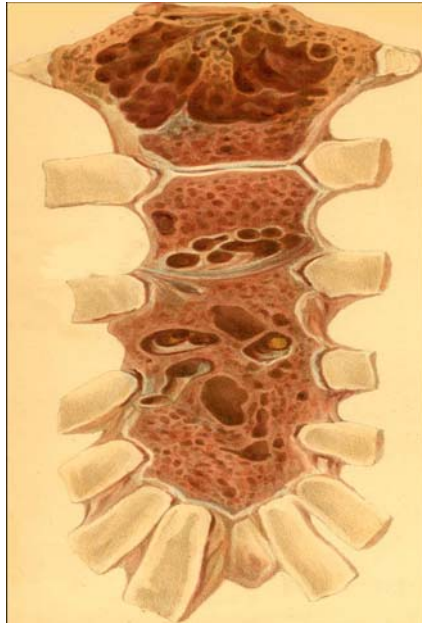
Παρακρινείς αλληλεπιδράσεις μεταξύ μυελωματικών πλασματοκυττάρων (MM cells), ινοβλαστών (fibroblast) και ενδοθηλιακών κυττάρων (endothelial cell) στο μυελό.

Τα μυελωματικά κύτταρα παράγουν αγγειογενετικές κυτταροκίνες που επηρεάζουν άμεσα τον πολλαπλασιασμό και μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων, και πρωτεάσες που συμβάλλουν στη διάσπαση της βασικής μεμβράνης και εξωκυττάριας ουσίας. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα υποστηρίζουν την εγκατάσταση και ανάπτυξη των πλασματοκυττάρων, εκκρίνοντας χυμοκίνες και αυξητικούς παράγοντες. Με άμεση σύνδεση με τους ινοβλάστες και με παρακρινή έκκριση αυξητικών παραγόντων, τα πλασματοκύτταρα αυξάνουν την παραγωγή αγγειογενετικών παραγόντων από τους ινοβλάστες. Τα λιποκύτταρα (adipocyte), τα φλεγμονώδη και τα μεσεγχυματικά κύτταρα εκκρίνουν αυξητικούς παράγοντες, ενώ τα μακροφάγα του όγκου (Tumor associated macrophage) μπορούν να μετατραπούν σε κύτταρα τύπου ενδοθηλιακών. (Από το Jacques E et al. Biological aspects of angiogenesis in multiple myeloma. Int J Hematol. 2011;94:505-518).

5. Οστική νόσος στο Πολλαπλό Μυέλωμα

Μια από τις πιο χαρακτηριστικές κλινικές εκδηλώσεις στο ΠΜ είναι η οστική νόσος, οφειλόμενη σε οστική καταστροφή, με οστεοπόρωση, οστεολύσεις και κατάγματα, με εκδηλώσεις υπερασβεστιαμίας. Είναι δε τόσο αξιοσημείωτη και συχνά τυπική ώστε μπορεί κανείς να συλλέξει ιστορικές πληροφορίες από ποικίλα αρχαιολογικά ευρήματα. Έτσι, με βάση το δεδομένο ότι οι οστικές μυελωματικές βλάβες είναι πολλαπλές, «αμιγώς λυτικές», σφαιροειδείς, με οξέα όρια και χωρίς ένδειξη σκλήρυνσης ή σχηματισμού νέου οστού [126], μπορεί κανείς να αναζητήσει την υποψία μυελωματικής νόσου σε σκελετικά ευρήματα από ανασκαφές. Οι πιο παλιοί σκελετοί με τέτοια εικόνα και συνεπώς πιθανή μυελωματική νόσο, ανευρέθησαν στη Δυτική Θήβα και στην Άβυδο της Άνω Αιγύπτου και αφορούσαν άνδρες ηλικίας 40 έως 60 ετών και χρονολογούνται από 3200-500 πΧ [127]. Είναι αξιοσημείωτο πάντως ότι αντίστοιχες τέτοιες βλάβες ανευρέθησαν και σε οστά δεινοσαύρων, πολύ προγενέστερης περιόδου [128]. Παρολαυτά, η πρώτη περιγραφή της μυελωματικής νόσου έγινε το 1844, σε νεκροτομικό υλικό μίας ασθενούς με εκτεταμένη οστική νόσο και νεφρική συμμετοχή [129].

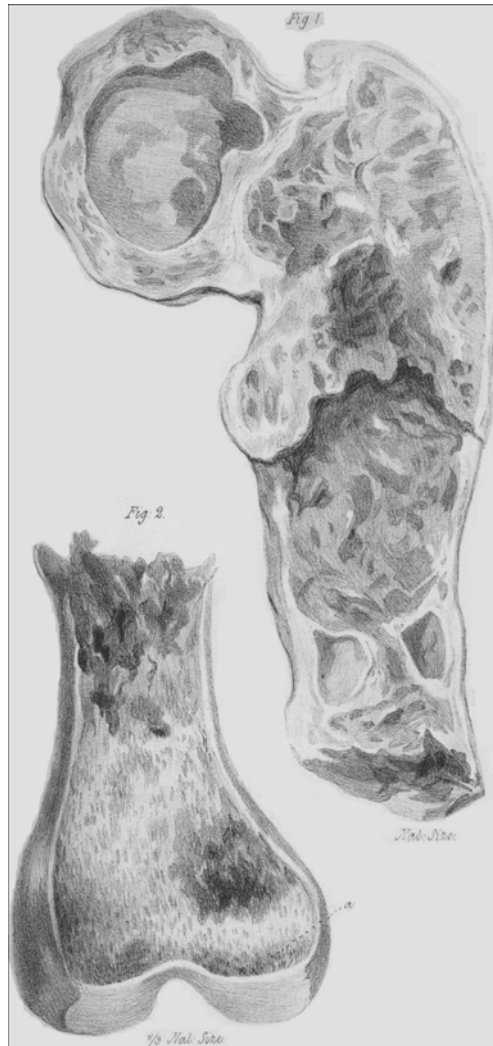
Στο ΠΜ, η διαταραχή της φυσιολογικής οστικής ομοιόστασης προκαλεί την τυπική οστική νόσο στο τουλάχιστον 90% των ασθενών και αποτελεί την κύρια αιτία νοσηρότητας. Τα μυελωματικά πλασματοκύτταρα μετά την εγκατάστασή τους στο μυελικό μικροπεριβάλλον, τις συνδετικές αλληλοεπιδράσεις με τα στρωματικά κύτταρα μέσω μορίων προσκόλλησης, όπως τα vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) και VLA4 [130], διεγείρουν την παραγωγή παραγόντων που ενεργοποιούν τους οστεοκλάστες [osteoclast activating factors (OAF)], όπως τα SDF1- α , IL-6, IL-1b, IL-3, IL-11 TNF- α , HGF, parathyroid hormone-related protein (PTHrP), macrophage inflammatory protein 1- α (MIP-1 α), και τον υποδοχέα του ενεργοποιητή του συνδέτη του NF- κ B [receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)] [131, 132, 133, 134].



Εκτεταμένες οστεολυτικές βλάβες στο στέρνο, στην πρώτη περιγραφή μυελωματικής νόσου στη βιβλιογραφία. (Από το Solly S. Remarks on the pathology of mollities ossium; with cases. Med Chir Trans. 1844;27:435-498.8)

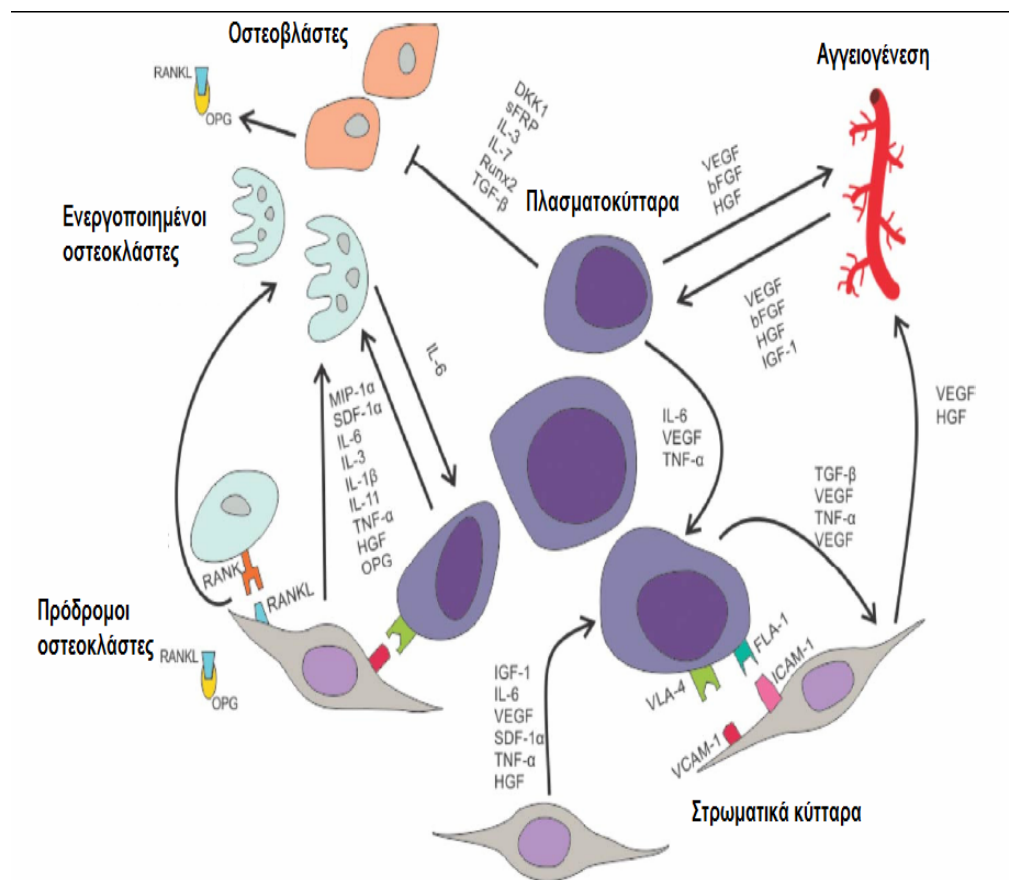
Ο RANKL εκφράζεται στην επιφάνεια των στρωματικών κυττάρων, των οστεοβλαστών και των ενεργοποιημένων λεμφοκυττάρων. Ο υποδοχέας του, RANK, εκφράζεται στην επιφάνεια των προδρομικών οστεοκλαστών και είναι ένας υποδοχέας της υπεροικογένειας των υποδιχέων του TNF. Η ενεργοποίησή του RANK μετά από τη σύνδεσή του με το RANKL διεγείρει το σχηματισμό και ενεργοποίηση των οστεοκλαστών, προκαλώντας αυξημένη οστική απορρόφηση. Φυσιολογικά η σύνδεση RANK/RANKL αναστέλλεται λόγω της σύνδεσης με την οστεοπρωτεγερίνη (OPG), ένα διαλυτό υποδοχέα που παράγεται από τους οστεοβλάστες και τα στρωματικά κύτταρα του μυελού. Στο ΠΜ υπάρχει υπερέκφραση του RANKL στο μυελό, είτε από τα στρωματικά κύτταρα, είτε από τους οστεοβλάστες, είτε από τα καθεαυτά πλασματοκύτταρα. [135, 136]. Επίσης τα επίπεδα στον ορό του RANKL σχετίζονται με πρόοδο της νόσου, οστεολυτική καταστροφή και κακή πρόγνωση [137]. Επιπλέον, τα μυελωματικά πλασματοκύτταρα, μετά από την αλληλοεπίδρασή τους με τα στρωματικά κύτταρα και τους οστεοβλάστες, επάγουν ελάττωση στην παραγωγή της OPG από αυτά. [138]. Τέλος, τα

μυελωματικά πλασματοκύτταρα συνδέονται με την OPG, μέσω της συνδεκάνης-1 (CD138), φαγοκυτταρώνοντας και αποδομώντας την [139]. Έτσι, ως αναμενόμενο, η χορήγηση ανασυνδιασμένης OPG μπορεί να ελαττώσει την οστική νόσο και το σχηματισμό οστεοκλαστών στα 5T2MM ποντίκια. [140].



Παρόμοιες οστεολυτικές βλάβες στο μηριαίο οστό, στην πρώτη περιγραφή μυελωματικής νόσου στη βιβλιογραφία. (Από το Solly S. Remarks on the pathology of mollities ossium; with cases. Med Chir Trans. 1844;27:435-498.8)

Η MIP1-α είναι ένας άλλος OAF που παράγεται από τα μυελωματικά πλασματοκύτταρα και παίζει ρόλο στην οστική μυελωματική νόσο [141, 142]. Τα επίπεδα της MIP1-α στον ορό συσχετίζονται με το μέγεθος της οστικής νόσου και την επιβίωση, ενώ η αναστολή της εμποδίζει την ανάπτυξη οστικής νόσου και αυξάνει την επιβίωση [143, 144, 145]. Εκτός από τη συμμετοχή της στην οστική ομοιόσταση, η MIP1-α εμπλέκεται και στη μετανάστευση, πολλαπλασιασμό και επιβίωση των πλασματοκυττάρων [145, 146, 147, 148].

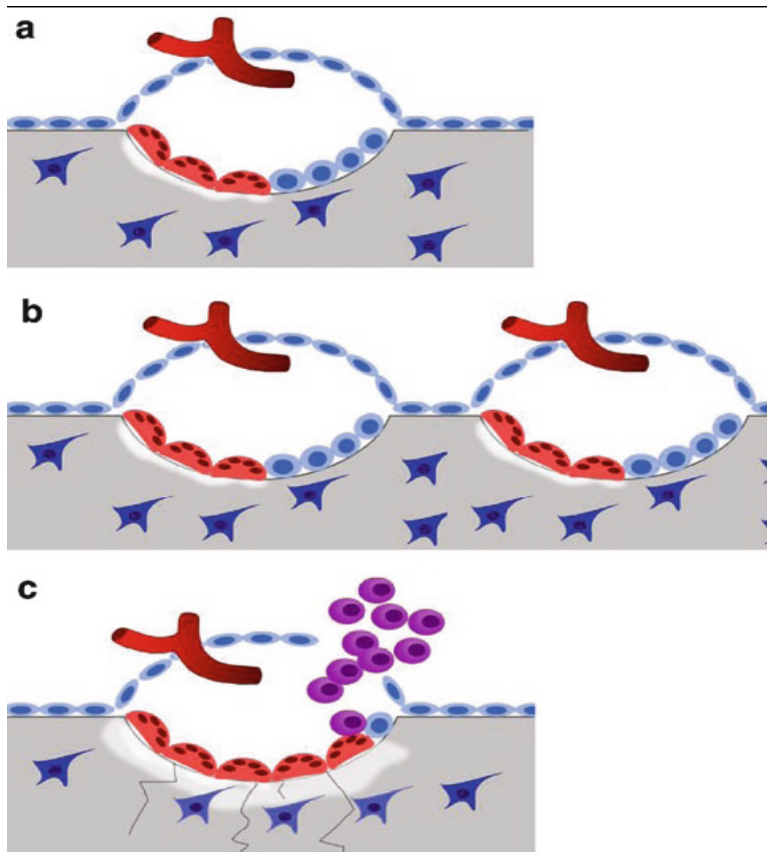


Αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στα μυελωματικά πλασματοκύτταρα και τα κύτταρα του μυελικού μικροπεριβάλλοντος. [Από το Miguel Lemaire et al. The Microenvironment and Molecular Biology of the Multiple Myeloma Tumor. Adv Cancer Res. 2011;110:19-42].

Εκτός όμως από την αυξημένη οστεοκλαστική δραστηριότητα, στο ΠΜ διαπιστώνεται και καταστολή της οστεοβλαστικής δραστηριότητας. Υπάρχουν ποικίλλοι παράγοντες που εμπλέκονται στην αναστολή της ωρίμανσης και δραστηριότητας των οστεοβλαστών, όπως οι dickkopf-1 (Dkk1), secreted frizzled-related proteins (sFRP), IL-3, IL-7, Runt-related transcription factor 2 (Runx2) και TGF- β (Edwards et al., 2008 πριν). Το σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt παίζει ένα σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του οστικού σχηματισμού, αφού διεγείρει τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των άωρων οστεοβλαστών. Οι οστεοβλάστες εκκρίνουν διαλυτούς παράγοντες του Wnt μονοπατιού, όπως οι Dkk1, sFRP και Wnt inhibitor factor-1 (WIF-1). Ο Dkk1 θεωρείται δυνητικός μεσολαβητής της οστεοβλαστικής δυσλειτουργίας στους ασθενείς με μυελωματικές οστεολύσεις. Ο Dkk1 εκφράζεται από τους οστεοβλάστες, τα στρωματικά και τα μυελωματικά κύτταρα και αναστέλλει *in vitro* το σχηματισμό οστού από τους οστεοβλάστες [149]. Συνεπώς θα μπορούσε να αποτελέσει στόχο για τη θεραπεία των οστεολύσεων, κάτι που συμβαίνει σε προκλινικές μελέτες [150, 151]. Η διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών κυττάρων σε οστεοβλάστες απαιτεί το μεταγραφικό παράγοντα Runx2/Cbfa1 [152]. Η αλληλοεπίδραση των μυελωματικών πλασματοκυττάρων με τις οστικές προβαθμίδες ελαττώνει την ενεργότητα του Runx2/Cbfa1 που με τη σειρά του αναστέλλει την οστεοβλαστική διαφοροποίηση και τελικώς τον αριθμό των ώριμων οστεοβλαστών. Επιπλέον, ο Runx2/Cbfa1 διεγείρει την παραγωγή OPG από τις οστικές προβαθμίδες και ίσως η αναστολή του στο ΠΜ να διεγείρει και το σχηματισμό οστεοκλαστών [153].

Αν και σε γενικές γραμμές έχει γίνει κατανοητός ο μηχανισμός της οστικής μυελωματικής νόσου, παρολαυτά δεν είναι σαφείς οι αιτίες των διαφόρων μοντέλων οστικών ελλειμάτων, δηλαδή τα εστιακά και τα διάχυτα. Επίσης η επούλωση των οστικών ελλειμάτων, αν αυτή πραγματοποιείται, εμφανίζεται στους ασθενείς με πλήρη ύφεση της νόσου, όμως πολύ περιορισμένα σε σχέση με την επούλωση καταγμάτων [154], αντίστοιχα με την καθυστερημένη επούλωση των οστεοπορωτικών καταγμάτων. Πιθανοί λόγοι είναι η παραμονή υπολειματικών πλασματοκυττάρων, που συνεχώς διεγείρουν την οστική απορρόφηση σε σχέση με τον οστικό σχηματισμό [132] και η απώλεια του ερεθίσματος για την επιδιόρθωση των οστικών ελλειμάτων.

Ταυτόχρονα, το μυελικό μικροπεριβάλλον ίσως θυμάται την προηγούμενη παρουσία των πλασματοκυττάρων, κάτι που υποδηλώνεται από το διαφορετικό προφίλ έκφρασης *in vitro* διαφοροποιημένων οστεοβλαστών σε μυελωματικούς και φυσιολογικούς δότες [155].



- a) Φυσιολογική κατάσταση. Ο σχηματισμός οστού από τους οστεοβλάστες (γαλάζιο) και η οστική απορρόφηση από τους οστεοκλάστες (κόκκινο) συνδέονται.
- b) Στο ΠΜ, αρχικά υπάρχει μεγαλύτερη οστική απορρόφηση, ενώ ο οστικός σχηματισμός διατηρείται ανέπαφος.
- c) Η αλληλοεπίδραση με τα μυελωματικά πλασματοκύτταρα (μωβ), αυξάνει την οστική απορρόφηση και ταυτόχρονα ελαττώνει σημαντικά τον οστικό σχηματισμό. (Από το Klein Bet al. *Molecular pathogenesis of multiple myeloma: chromosomal aberrations, changes in gene expression, cytokine networks, and the bone marrow microenvironment. Recent Results Cancer Res.* 2011;183:39-86.)

6. Κλινικές εκδηλώσεις στο Πολλαπλό Μυέλωμα

Οι κλινικές εκδηλώσεις στο ΠΜ σχετίζονται με τη διήθηση του μυελού από τα πλασματοκύτταρα, την παραγωγή μονοκλωνικής πρωτεΐνης στον ορό ή στα ούρα και την ανοσοανεπάρκεια. Το συμπτωματικό μυέλωμα χαρακτηρίζεται από την παρουσία βλάβης σε όργανο στόχο (CRAB: hypercalciemia, renal insufficiency, anemia, bone lesions).

6.1 Οστική νόσος

Το οστικό άλγος αφορά κυρίως την οσφύ και το στήθος και λιγότερο τα άκρα, και εμφανίζεται στο 60% των ασθενών κατά τη διάγνωση της νόσου [156]. Το άλγος επιδεινώνεται με τις κινήσεις. Το ύψος του ασθενούς μπορεί να μειωθεί λόγω συμπίεσης των σπονδύλων.

Υπάρχουν πολλοί τρόποι απεικόνισης των οστικών βλαβών στο ΠΜ ή στο μονήρες πλασμοκύττωμα [157]. Οι πιο χρήσιμες απεικονιστικές μέθοδοι είναι ο ακτινογραφικός έλεγχος και η μαγνητική τομογραφία (MRI). Οι **τυπικές ακτινογραφίες οστών** (φωτογραφία με οστεόλυση στο σώμα του σπονδύλου) αναδεικνύουν λυτικές βλάβες, διάχυτη οστεοπενία ή κατάγματα στο 80% των ασθενών με ΠΜ κατά τη διάγνωση [158]. Οι εστιακές λυτικές βλάβες ανευρίσκονται στο 60% των ασθενών, ενώ οστεοπόρωση, παθολογικά ή συμπίεστικά κατάγματα της σπονδυλικής στήλης, αφορούν 20% των ασθενών. Τα σπονδυλικά σώματα, το κρανίο, ο θωρακικός κλωβός, η λεκάνη, η ωμοπλάτη και τα μηριαία οστά είναι οι πιο συχνές θέσεις οστικών βλαβών. Οστεοσκληρυντικές βλάβες είναι σπάνιες. Παρόλα αυτά οι ακτινογραφίες ρουτίνας δεν είναι τόσο ευαίσθητες όπως άλλες απεικονιστικές μέθοδοι.



Ακτινογραφία σπονδυλικής στήλης, όπου διαπιστώνεται οστεοπόρωση και οστεολυτική εστία στο σώμα του σπονδύλου.

Οι **CT** (computered tomography) και **MRI** (magnetic resonance imaging) είναι ιδιαίτερα χρήσιμες σε ασθενείς με οστικό άλγος και χωρίς βλάβες στον ακτινογραφικό έλεγχο [159]. Η MRI μπορεί να έχει και προγνωστική σημασία στον καθορισμό της εξέλιξης του μυελώματος, ειδικά στις περιπτώσεις που οι ασθενείς έχουν μικρό φορτίο νόσου [160, 161]. Η MRI μπορεί να αποκαλύψει διάχυτες ή εστιακές βλάβες του μυελωματικού μυελού σε απουσία οστεοπενίας ή εστιακών οστεολυτικών βλαβών, στον ακτινογραφικό έλεγχο. Ωστόσο αυτές οι μέθοδοι λειτουργούν συμπληρωματικά, αφού η MRI μπορεί να αναδείξει εστιακές βλάβες στο 52% των αρνητικών περιπτώσεων οστικού ελέγχου, ενώ ο ακτινογραφικός έλεγχος αναδεικνύει εστιακές βλάβες στο 20% των περιπτώσεων αρνητικής MRI [156]. Η MRI αναδεικνύει σε υψηλότερα ποσοστά τις εστιακές βλάβες της ΣΣ, λεκάνης και στέρνου, ενώ ο ακτινογραφικός οστικός έλεγχος φαίνεται να υπερτερεί στην ανάδειξη των βλαβών στις πλευρές και στα μακρά οστά.

Το **σπινθηρογράφημα οστών με Tc-99m** καταδεικνύει οστεοβλαστική δραστηριότητα και δεν προσφέρει πληροφορίες για την έκταση της οστικής μυελωματικής νόσου [162]. Επίσης, η εμπειρία του **PET scanning** σε ασθενείς με ΠΜ είναι περιορισμένη [163, 164, 165]. Σε μικρές σειρές ασθενών έχουν αναδειχθεί βλάβες που δε βρέθηκαν σε άλλες απεικονιστικές τεχνικές, όμως διαπιστώνονται αρκετά ψευδώς θετικά και αρνητικά αποτελέσματα [165].

Υπάρχουν τέλος διάφοροι βιοχημικοί δείκτες οστικής βλάβης στο ΠΜ, όπως το deoxyryridinoline, carboxy-terminal telopeptide Type-1 collagen (ICTP), που έχουν αναπτυχθεί στη προσπάθεια να εκτιμήσουν την οστική συμμετοχή [166, 167]. Η κλινική σημασία αυτών των αναλύσεων παραμένει άγνωστη. Έχει διαπιστωθεί ότι η παρουσία οστικού πόνου και καταγμάτων σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα ICTP και οστικής αλκαλικής φωσφατάσης. Τα αυξημένα επίπεδα ICTP έχουν συσχετισθεί με υψηλότερο στάδιο νόσου κατά Durie-Salmon και μειωμένη επιβίωση. Υπάρχουν βιοχημικές παράμετροι που μπορούν να προσδιορίσουν με αρκετή ακρίβεια τα πραγματικά ποσοστά των οστικού μεταβολισμού. Ένα τμήμα από το Ntx, που προέρχεται από τη διάσπαση του οστικού κολλαγόνου, αποβάλλεται στα ούρα [168, 169, 170] και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ειδικός δείκτης οστικής απορρόφησης [170]. Το PICP απελευθερώνεται στην κυκλοφορία του αίματος και τα επίπεδά του στον ορό απεικονίζουν το ρυθμό σύνθεσης του κολλαγόνου τύπου I [171].

Η διεθνής ομάδα μελέτης του ΠΜ (IMWG) προτείνει τον παρακάτω έλεγχο κατά τη διάγνωση του ΠΜ, προκειμένου να εκτιμηθεί η οστική νόσος:

- Ακτινολογικός έλεγχος (σπονδυλική στήλη, λεκάνη, κρανίο, βραχιόνια, μηριαία).
- Η μαγνητική απεικόνιση της σπονδυλικής στήλης δίνει πολλές πληροφορίες, αλλά δεν είναι υποχρεωτική.
- Το ολόσωμο PET επίσης δεν είναι υποχρεωτικό. Παρολαυτά μπορεί να χρησιμοποιηθεί προκειμένου να επιβεβαιωθεί η MGUS (οπότε είναι αρνητικό) ή να αποκλεισθεί μη κλινικό ή εξωμυελικό μυέλωμα (οπότε είναι θετικό), λόιμωξη ή σχετιζόμενη άλλη κακοήθεια.

(www.myeloma.org- IMWG Criteria for the Diagnosis of Myeloma and Guidelines for the Diagnostic Work-Up of Myeloma)

6.2 Νεφρική ανεπάρκεια

Οι κύριες αιτίες νεφρικής ανεπάρκειας στο ΠΜ είναι ο μυελωματικός νεφρός και η υπερασβεστιαμία. Ο μυελωματικός νεφρός χαρακτηρίζεται από το σχηματισμό κυλίνδρων από μονοκλωνικές ελαφρές αλύσους που περιβάλλονται από επιθηλιακά κύτταρα και βρίσκονται στα νεφρικά σωληνάρια στα οποία προκαλούν διάταση, ατροφία και τελικά ίνωση [172]. Η υπερασβεστιαμία προκαλεί υπερασβεστιουρία, ωσμωτική διούρηση, απώλεια όγκου και τελικώς νεφρική ανεπάρκεια προνεφρικής αιτιολογίας. Επιπρόσθετα η υπερασβεστιαμία μπορεί να προκαλέσει εναπόθεση ασβεστίου και διάμεση νεφρίτιδα. Η υπερουριχαιμία καθώς και η χορήγηση ΜΣΑΦ, μειώνουν την αιματική ροή στο σπείραμα, προκαλώντας νεφρική ανεπάρκεια. Συνεπώς, οι ασθενείς με ΠΜ είναι πολύ ευαίσθητοι σε νεφροτοξικά φάρμακα.

6.3 Νευρολογικά συμπτώματα

Τα νευρολογικά συμπτώματα είναι συνήθως αποτέλεσμα συμπίεσης νεύρων από παρασπονδυλικό πλασμοκύττωμα και πιο σπάνια από συντριβή του ίδιου του οστού. Αφορούν κυρίως την θωρακική ή οσφυοϊερή περιοχή. Η συμπίεση της σπονδυλικής στήλης, από εξωοστικό πλασμοκύττωμα ή οστικά θραύσματα από κατάγματα σπονδυλικών σωμάτων, αφορά το 5% των ασθενών και απαιτεί επείγουσα ιατρική αντιμετώπιση. Εκδηλώνεται με σοβαρή οσφυαλγία και συνοδή αδυναμία ή διαταραχή κινητικότητας των κάτω άκρων και διαταραχή λειτουργίας της ουροδόχου κύστεως ή του εντέρου με ακράτεια.

Η περιφερική νευροπάθεια είναι ασυνήθιστη στο ΠΜ και συνήθως οφείλεται σε αμυλοείδωση και σε μία σπάνια ομάδα ασθενών με οστεοσκληρυντικό μύελωμα (POEMS syndrome), όπου η νευροπάθεια αφορά το 70 με 100% των ασθενών. Τέλος, μπορεί να οφείλεται στη νευροτοξική δράση διαφόρων χημειοθεραπευτικών παραγόντων (αλκαλοειδή της Vinca, θαλιδομίδη, bortezomib).

Η συμμετοχή του ΚΝΣ με την παρουσία ενδοκρανιακών πλασμοκυττωμάτων είναι σπάνια και σχεδόν πάντα σχετίζεται με την επέκταση μυελωματικών βλαβών στο κρανίο. Η λεπτομηνιγγική μυελομάτωση με παθολογικά ευρήματα στο ΕΝΥ είναι επίσης ασυνήθιστη και σχετίζεται με προχωρημένο στάδιο της νόσου [173] και φτωχή πρόγνωση [173, 174]. Σπάνια, και λόγω παραγωγής αμμωνίας με άγνωστο μηχανισμό από τα μυελωματικά πλασματοκύτταρα, διαπιστώνεται εγκεφαλοπάθεια [175, 176].

6.4 Υπεργλοιοότητα

Σε αντίθεση με την μακροσφαιριναιμία Waldenström, η υπεργλοιοότητα στο ΠΜ είναι σπάνια και αφορά λιγότερο από το 10% των ασθενών. Αυξημένο κίνδυνο εμφανίζουν οι ασθενείς με IgA (λόγω της μεγαλύτερης τάσης της παραπρωτεΐνης IgA να δημιουργεί πολυμερή) και IgG3 υποκλάσης παραπρωτεΐνης. Η υπεργλοιοότητα προκαλεί διαταραχές στην κυκλοφορία του αίματος, που οδηγούν σε εγκεφαλικές, πνευμονικές και νεφρικές εκδηλώσεις, ενώ συχνά σχετίζεται και με αιμορραγία. Μπορεί να δώσει κλινική και ακτινολογική εικόνα πνευμονικού οιδήματος, επιδεινούμενου με τη χορήγηση διουρητικών. Η θεραπεία εκλογής είναι η πλασμαφαίρεση. Η διάγνωσή της τίθεται με μέτρηση της γλοιοότητας του ορού.

6.5 Αμυλοείδωση

Η αμυλοείδωση είναι ένα κλινικό σύνδρομο, που οφείλεται στην εξωμυελική εναπόθεση αδιάλυτης ινώδους πρωτεΐνης. Στο 20% των περιπτώσεων AL αμυλοείδωσης επιβεβαιώνεται διάγνωση ΠΜ [177]. Σχεδόν το 3% των νεοδιαγνωσθέντων ασθενών με ΠΜ έχουν εμφανή αμυλοείδωση [178], ενώ η συχνότητα της ασυμπτωματικής αμυλοείδωσης στο ΠΜ είναι μεγαλύτερη, όπως τελικώς αποδεικνύεται από βιοψίες υποδόριου λίπους, ορθού και μυελού των οστών (~35%) [179]. Η πιο συχνή κλινική εκδήλωση είναι το σύνδρομο του καρπιαίου σωλήνα και το γενικευμένο οίδημα λόγω νεφρωσικού συνδρόμου. Λιγότερο συχνές εκδηλώσεις αποτελούν η καρδιομυοπάθεια, η μακρογλωσσία, οι εκτεταμένες εκχυμώσεις γύρω από τα βλέφαρα καθώς και οι διαταραχές του αυτόνομου νευρικού συστήματος. Η

παρουσία αμυλοείδωσης στους ασθενείς με ΠΜ αυξάνει τη νοσηρότητα και επιδεινώνει την πρόγνωση [178].

6.6 Λοιμώξεις

Οι ασθενείς με ΠΜ παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο λοιμώξεων λόγω δυσλειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος [180]. Αυτή οφείλεται στην επηρεασμένη λεμφοκυτταρική και πλασματοκυτταρική λειτουργία, με συνοδή υπογαμμασφαιριναιμία, ενώ επιδεινώνονται με τη χημειο και κορτικοθεραπεία. Σχεδόν το 45% των θανάτων τις πρώτες 60 ημέρες από την αρχική διάγνωση του μυελώματος οφείλονται σε βακτηριακές λοιμώξεις, κυρίως πνευμονίας (66%) και γενικευμένης σήψης (23%) [181]. Ο κίνδυνος λοίμωξης είναι αυξημένος τους πρώτους τρεις μήνες και μειώνεται όταν η νόσος ανταποκριθεί στη θεραπεία [182]. Οι πιο συχνά μικροοργανισμοί είναι ο πνευμονιόκοκκος, ο *Haemophilus influenzae* και η *E. coli*. Λιγότερο συχνά λοιμώξεις προκαλούν τα αναερόβια μικρόβια, το *Mycobacterium tuberculosis* και οι ερπητοϊοί.

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η μελέτη βασίστηκε στο γεγονός ότι στο μυελωματικό μυελικό μικροπεριβάλλον, παρατηρούνται αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στα μυελωματικά πλασματοκύτταρα με τα υπόλοιπα στοιχεία του μυελού. Αυτές οι σύνθετες αλληλεπιδράσεις αποσκοπούν άμεσα (πολλαπλασιασμός των πλασματοκυττάρων) και έμμεσα (δημιουργία νέων αγγείων, προκειμένου ο αναπτυσσόμενος κλώνος να προσλάβει οξυγόνο και τροφή- αγγειογένεση, οστική καταστροφή, προκειμένου ο αναπτυσσόμενος κλώνος να βρει χώρο για να επεκταθεί- οστική νόσος) στην ανάπτυξη του μυελωματικού κλώνου. Είναι δε ενδιαφέρον ότι αυτές οι αλληλοεπιδράσεις δρουν πολύ συχνά σε πολλαπλά επίπεδα, προκαλώντας έτσι σημαντική αλλαγή στο μικροπεριβάλλον του μυελού, που ευνοεί τελικά την ανάπτυξη του μυελωματικού κλώνου. Ένα σημαντικό στοιχείο στην αλλαγή του μυελικού περιβάλλοντος είναι η παθολογική έκφραση διαφόρων κυτταροκινών, με πολλαπλές ιδιότητες. Έτσι, κάτω από αυτό το πλαίσιο, σκοπός της μελέτης ήταν η μέτρηση παραγόντων σε ασθενείς με ΠΜ, που σχετίζονται με τον οστικό μεταβολισμό, η συσχέτιση προφανώς με το βαθμό της οστικής νόσου στάδιο αλλά και με φορτίο της νόσου, και το μέγεθος της αγγειογενετικής δραστηριότητας στο μυελό των οστών.

Η μελέτη έγινε σε 4 ανεξάρτητα στάδια:

- Αρχικά μελετήθηκε η σχέση γνωστών αγγειογενετικών παραγόντων με δείκτες οστικού μεταβολισμού. Έτσι σε αυτό το στάδιο σκοπός ήταν η μέτρηση στον ορό και στα ούρα, δεικτών οστικού μεταβολισμού (PICP ορού και Ntx ούρων) σε μυελωματικούς ασθενείς, με ποικίλου βαθμού σοβαρότητας της νόσου και η διερεύνηση της σχέσης τους με δείκτες αγγειογένεσης και φορτίου νόσου (**MMP-9**, VEGF, HGF, B2M, λευκωματίνη, στάδιο νόσου και βαθμός οστικής νόσου).
- Στη συνέχεια μελετήθηκαν τα επίπεδα της IL-6 και της **MMP-9**, σε συνδιασμό με δείκτες οστικής νόσου (Nxx, F-Pyd και F-Dpd ούρων, βαθμός οστικής νόσου) και φορτίου νόσου (στάδιο νόσου και βαθμός

διήθησης μυελού), προκειμένου να εκτιμηθεί κατά πόσο είναι χρήσιμοι προγνωστικοί δείκτες της οστικής νόσου.

- Ακολούθως μελετήθηκε η σχέση των **RANKL** και της **οστεοπροτεγερίνης** με γνωστούς δείκτες αγγειογενετικής δραστηριότητας (HGF, VEGF), δραστηριότητας νόσου (IL-6, LDH, B2M, CRP, στάδιο νόσου, πριν και μετά από αποτελεσματική θεραπεία) και οστικού φορτίου (βαθμός οστικής νόσου).
- Τέλος, μετρήθηκαν τα επίπεδα της **οστεοποντίνης**, μιας μη-κολλαγονικής matrix πρωτεΐνης, υπεύθυνης για τη μετανάστευση και την προσκόλληση των οστεοκλαστών στη στοιχειακή μήτρα των οστικών επιφανειών [88], που μαζί με τον VEGF ενισχύουν συνεργικά την αγγειογένεση στο ΠΜ [89, 90]. Μαζί μετρήθηκαν τα επίπεδα στον ορό του VEGF και η μικροαγγειακή πυκνότητα στο μυελό (ως δείκτες αγγειογενετικής δραστηριότητας), τα Nitx ούρων και ο βαθμός οστικής νόσου (ως δείκτες οστικής νόσου) και η διήθηση του μυελού από τα μονοκλωνικά πλασματοκύτταρα, το στάδιο της νόσου και όλα αυτά και μετά από αποτελεσματική θεραπεία (ως δείκτες φορτίου νόσου).

2. ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΙ

α. Ασθενείς

Συνολικά μελετήθηκαν 78 ασθενείς με ΠΜ (διάμεση ηλικία 63.7 έτη, εύρος 39-84) πριν από την έναρξη οποιασδήποτε θεραπείας, από τις αιματολογικές κλινικές του Πανεπιστημιακού και Βενιζελείου Νοσοκομείων Ηρακλείου.

Η διάγνωση του ΠΜ έγινε με βάση τα κριτήρια της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας (Πίνακας 1 Παραρτήματος), η σταδιοποίηση έγινε με βάση τα κριτήρια των Durie-Salmon (Πίνακας 2 Παραρτήματος) και η βαθμονόμηση της οστικής νόσου με βάση τα ακτινογραφικά ευρήματα (Πίνακας 3 Παραρτήματος).

Οι ασθενείς επίσης επανασταδιοποιήθηκαν και μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας. Η αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας έγινε με την εκτίμηση της φάσης του πλατώ, δηλαδή στην περίπτωση που διαπιστώθηκε ελάττωση της Μ-πρωτεΐνης >50% στον ορό ή στα ούρα 24ώρου, με ταυτόχρονη αποκατάσταση της αιμοποίησης, και διατήρησή τους για περισσότερο από 6 μήνες. Μελετήθηκαν 35 απ' αυτούς.

Κριτήρια αποκλεισμού ήταν η συνύπαρξη άλλης φλεγμονώδους νόσου ή κακοήθειας, η ανάπτυξη ΠΜ επί εδάφους γνωστής ανοσοκαταστολής (αυτοάνοση νόσος, λήψη ανοσοκατασταλτικών, HIV λοίμωξη), η νεφρική και η ηπατική ανεπάρκεια.

Τέλος, μελετήθηκαν και 35 εθελοντές μάρτυρες, αιματολογικά υγιείς (18 άνδρες και 17 γυναίκες, διάμεσης ηλικίας 62.3 έτη, εύρος 38- 85). Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ ασθενών και φυσιολογικών μαρτύρων στην κατανομή ηλικίας και φύλου, όπως αποδείχθηκε με την εφαρμογή του στατιστικού κριτηρίου χ^2 . Από τους μάρτυρες και όλους τους ασθενείς που εντάχθηκαν στη μελέτη, ελήφθη συγκατάθεση σύμφωνα με το πρωτόκολλο του Helsinki.

Τα επιδημιολογικά χαρακτηριστικά των ασθενών συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΠΜ, που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΣΘΕΝΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ	%
Φύλο		
Άνδρες	40	51.2
Γυναίκες	38	48.71
Στάδιο νόσου		
<i>Κατά Durie-Salmon</i>		
	12	15.38
	37	47.43
	29	37.18
Μ-πρωτεΐνη		
IgG	48	61.54
IgA	21	26.92
Ελαφρών αλύσων	9	11.54
Βαθμός οστικής νόσου		
	15	19.23
	12	15.38
	29	37.18
	23	29.49

β. Υλικά

Στους ασθενείς, ύστερα από συγκατάθεση και πριν από την έναρξη οποιασδήποτε αντιμυελωματικής θεραπείας (χημειοθεραπεία, ακτινοθεραπεία, διφωσφονικά, κορτικοειδή), και στους μάρτυρες, έγινε συλλογή δείγματος περιφερικού αίματος, όγκου 20-30 ml. Σε όλες τις περιπτώσεις είχε αποκλεισθεί η παρουσία φλεγμονής ή κάποιου τραυματισμού. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στις 3000 στροφές/λεπτό για 10 λεπτά. Ακολούθως, έγινε διαχωρισμός του ορού, ο οποίος και μοιράστηκε σε επιμέρους σωληνάκια και φυλάχθηκε στους -70°C, μέχρι τη μέτρηση. Η ίδια διαδικασία έγινε και σε κάποιους από τους ασθενείς που μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας μπήκαν στην φάση του πλατώ, ή σε CR, VGPR, και PR. Σημειώνεται ότι όλες οι μετρήσεις έγιναν στο τέλος της μελέτης προκειμένου να αποφευχθεί μεταβλητότητα ανάμεσα στις μετρήσεις.

Επιπλέον, οι ασθενείς, κατά τη διάγνωση αλλά και μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας, και οι μάρτυρες υπεβλήθησαν σε οστεομυελική βιοψία, από την οπίσθια άνω λαγόνια άκανθα, με τη συνήθη διαδικασία (βελόνα 10 G 11 cm; Allegiance Healthcare Corporation, McGaw Park, Illinois, USA).

γ. Μέθοδοι

Μέθοδος ELISA

Αρχή της μεθόδου

Η τεχνική που εφαρμόστηκε για τον προσδιορισμό όλων των μορίων στον ορό ήταν η ανοσοπροσοφορική ανάλυση στερεάς φάσης με σύνδεση ενζύμου μη συναγωνιστικού τύπου (sandwich ELISA). Η τεχνική βασίζεται στα παρακάτω βήματα:

- Το μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του υπό εξέταση μορίου προσροφάται στη βάση πηγαδιών δοκιμαστικού σωληναρίου.
- Σε αυτά τα πηγάδια προστίθενται τα δείγματα (που έχουν άγνωστη συγκέντρωση του υπό εξέταση μορίου), καθώς και δείγματα αναφοράς (με γνωστή συγκέντρωση του υπό εξέταση μορίου).
- Γίνεται επώαση για επαρκή χρόνο, ώστε να πραγματοποιηθεί η σύνδεση του προσροφηθέντος αντισώματος με το υπό εξέταση μόριο.
- Ακολουθεί πλύση του πλακιδίου για απομάκρυνση του ασύνδετου μορίου.
- Στη συνέχεια προστίθεται δεύτερο πολυκλωνικό (ή μονοκλωνικό) αντίσωμα, που είναι συνδεδεμένο με την υπεροξειδάση χρένου (horseradish peroxidase), έναντι του υπό εξέταση μορίου, και ακολουθεί νέα επώαση.
- Ακολουθεί πλύση για απομάκρυνση του ασύνδετου αντισώματος.
- Γίνεται προσθήκη χρωμογόνου υποστρώματος (tetramethylbenzidine) και υπεροξειδίου του υδρογόνου, που με την υπεροξειδάση μετατρέπουν το άχρωμο χρωμογόνο σε χρωστική.
- Γίνεται τερματισμός της αντίδρασης με προσθήκη θειικού οξέος.
- Τέλος, γίνεται φωτομετρική μέτρηση της έντασης του χρώματος στα 450nm.

Η ένταση του χρώματος που τελικά μετράται είναι ανάλογη της ποσότητας του, συνδεδεμένου με την υπεροξειδάση, υπό εξέταση μορίου.

Υπολογισμός της συγκέντρωσης του μορίου με βάση καμπύλη αναφοράς

Στη συσκευασία της κατασκευάστριας εταιρείας υπάρχει πρότυπο διάλυμα με γνωστή συγκέντρωση του υπό εξέταση μορίου, στο οποίο εκτελούνται διαδοχικές αραιώσεις και συνεπώς πολλαπλές γνωστές συγκεντρώσεις. Όταν γίνει η μέτρηση της χρωματικής έντασης σε αυτές τις γνωστές συγκεντρώσεις, προκύπτει μια καμπύλη αναφοράς, όπου στον ένα άξονα απεικονίζονται οι διαδοχικές γνωστές συγκεντρώσεις του πρότυπου διαλύματος, ενώ στον άλλο οι αντίστοιχες τιμές οπτικής απορρόφησης. Έτσι, με αυτή την καμπύλη μπορούν να υπολογισθούν οι τιμές στα υπό εξέταση δείγματα.

Με την τεχνική της ELISA μετρήθηκαν οι παρακάτω κυτταροκίνες στον ορό: hepatocyte growth factor-**HGF** (αρ. καταλόγου DHG00), vascular endothelial growth factor-**VEGF** (αρ. καταλόγου DVE00), ιντερλευκίνη-6 **IL-6** (αρ. καταλόγου D6050), matrix metalloprotease-9 **MMP-9** (αρ. καταλόγου DMP900), συνδέτης του RANK **RANK-L** (αρ. καταλόγου MTR00), οστεοποντίνη-**OPN** (αρ. καταλόγου DOST00) από την κατασκευάστρια εταιρεία *Quantikine, R&D, Minneapolis, MN, USA* και επιπλέον η οστεοπροτεγερίνη-**OPG** (αρ. καταλόγου RD194003200) από την κατασκευάστρια εταιρεία *BioVendor – Laboratorní medicína a.s., Brno, Czech Republic*, με βάση τις οδηγίες των κατασκευαστών.

Μέτρηση των υπόλοιπων μορίων

Το **N-τελικό προπεπτίδιο του προκολλαγόνου τύπου I (NTx)** στα ούρα μετρήθηκε με την τεχνική ELISA από την Ostex International (Seattle, WA, USA), χρησιμοποιώντας ένα μονοκλωνικό αντίσωμα για το NTx που σημάνθηκε με horse radish υπεροξειδάση. Οι μετρήσεις έγιναν σε ούρα 24ώρου και συσχετίστηκαν με την κρεατινίνη. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως nanomoles ανάλογου οστικού κολλαγόνου (bone collagen equivalent-BCE) ανά millimole κρεατινίνης (nmol BCE/mM creat).

Το **C-τελικό προπεπτίδιο του κολλαγόνου τύπου I (PICP)** μετρήθηκε στον ορό με RIA από το kit της Metra CICP, EIA. Τα αποτελέσματα του PICP εκφράστηκαν ως ng/ml.

Οι **F-Pyd** μετρήθηκαν στα ούρα με ανοσοτεχνική ανταγωνιστικού ενζύμου (METRA PYD EIA assay, Metra biosystems, Mountain View, CA, USA), χρησιμοποιώντας μονοκλωνικό αντίσωμα.

Τα **F-Dpd** μετρήθηκαν στα ούρα με το METRA DPD EIA assay (Metra biosystems). Τα αποτελέσματα για τα F-Pyd και τα F-Dpd αφορούσαν συγκέντρωση κρεατινίνης σε ούρα 24ώρου και εκφράσθηκαν σε nanomoles ανά millimole κρεατινίνης.

Η β2 μικροσφαιρίνη, η αλβουμίνη, η γαλακτική αφυδρογονάση και η C αντιδρώσα πρωτεΐνη μετρήθηκαν με τις συνήθεις τεχνικές διεκπεραίωσης εργαστηριακού ελέγχου, στα πλαίσια της τακτικής παρακολούθησης των ασθενών.

Ανοσοϊστοχημική χρώση ιστολογικών τομών

Αρχή της μεθόδου

Η ανοσοϊστοχημική μέθοδος χρησιμοποιείται προκειμένου να εντοπισθούν συγκεκριμένα αντιγόνα σε ιστολογικές τομές με τη χρήση σεσημασμένων αντισωμάτων. Όταν το αντίσωμα έναντι του αντιγόνου φέρει το σήμα, τότε γίνεται άμεσος προσδιορισμός του αντιγόνου (πχ άμεσος ανοσοφθορισμός), ενώ όταν το αντίσωμα έναντι του αντιγόνου δε φέρει το σήμα, αλλά απαιτείται χρήση δεύτερου αντισώματος με σήμα έναντι του πρώτου, τότε γίνεται έμμεσος προσδιορισμός. Το σήμα στο αντίσωμα μπορεί να είναι ένζυμο, ραδιοϊσότοπο, χρωστική ή κolloειδές χρυσού και είναι αυτό που καθιστά ορατή τη σύνδεση του αντισώματος με το αντιγόνο. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε ο έμμεσος προσδιορισμός με σήμα το ένζυμο αλκαλική φωσφατάση.

Η διαδικασία που ακολουθείται έχει ως εξής:

- Ο οστικός κύλινδρος σταθεροποιείται σε διάλυμα 10% φορμαλίνης, ακολούθως απασβεστώνεται σε 10% EDTA (Titriplex III, αριθμός καταλόγου 64271, Merck, Darmstadt, Germany) για 48 ώρες, και τελικώς ενσωματώνεται σε μπλοκ παραφίνης, με Paramat extra (BDH, Poole, Dorset, UK).
- Στο μπλοκ παραφίνης γίνονται ιστολογικές τομές, πάχους 3μm, με αυτόματο μικροτόμο, που τοποθετούνται σε αντικειμενοφόρες πλάκες SuperFrost Plus.
- Στη συνέχεια οι ιστολογικές τομές υποβάλλονται σε αποπαραφινολοποίηση σε διάλυμα ξυλόλης και ενυδάτωση με διαδοχικά διαλύματα αλκοόλης (100%, 95%, 75%, 50%, νερό, διάλυμα TBS).
- Ακολούθως, η ιστολογική τομή θερμαίνεται σε φούρνο μικροκυμάτων, με ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέος, με pH=6.0, προκειμένου να αποκαλυφθούν οι αντιγονικοί επίτοποι που είχαν καλυφθεί στα προηγούμενα στάδια.
- Κατόπιν προστίθεται ορός (blocking serum), που αποσκοπεί στη μείωση της μη-ειδικής σύνδεσης του χρησιμοποιούμενου αντισώματος.

- Ακολουθεί η τιτλοποίηση του αντισώματος, δηλαδή ο καθορισμός της ιδανικής συγκέντρωσης του πρωτογενούς αντισώματος, με διαδοχικές αραιώσεις, με βάση τις οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρείας, και εφαρμογή τους σε δοκιμαστικό δείγμα.
- Στη συνέχεια, εφαρμόζεται η κατάλληλη αραιώση του πρωτογενούς αντισώματος έναντι του υπό εξέταση αντιγόνου σε ολόκληρο το πλακίδιο, γίνεται επώαση σε υγρό θάλαμο και ακολούθως πλύσεις με διάλυμα TBS.
- Ακολουθεί προσθήκη του δευτερογενούς αντισώματος κονίκλου, έναντι ανοσοσφαιρινών ποντικού, που δρα ως γέφυρα, ενώνοντας το πρωτογενές αντίσωμα έναντι του αντιγόνου, με το τριτογενές αντίσωμα (αντίσωμα ποντικού έναντι ανοσοσφαιρινών κονίκλου) που φέρει το σύμπλεγμα αλκαλικής φωσφατάσης με δεξτράνη. Η αλκαλική φωσφατάση υδρολύει το υπόστρωμα parthol AS-BI phosphate σε aryl partholamide που, όταν συνδεθεί με το άλας Fast Red, δημιουργεί αδιάλυτο χρώμα, ορατό στο οπτικό μικροσκόπιο (Ultarvision LP Detection System, AP Polymer with Fast Red Chromogen, TL-015-AF, Lab Vision, Fremont, CA, USA). Η ενδογενής δραστηριότητα της αλκαλικής φωσφατάσης εξουδετερώθηκε με προσθήκη levamisol στο διάλυμα του υποστρώματος.
- Τελικά εφαρμόζεται αντίχρωση με αιματοξυλλίνη για 30 δευτερόλεπτα και οι τομές καλύπτονται με σταθεροποιητικό υλικό Glycergel (C-05630, DAKO, Carpinteria, CA 93013, USA).

Για κάθε μόριο που εξετάστηκε χρησιμοποιήθηκε θετικός και αρνητικός μάρτυρας. Ως θετικός μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε ιστός που προηγουμένως είχε αποδειχθεί ότι εξέφραζε ανοσοϊστοχημικά το αντιγόνο, ενώ ως αρνητικός χρησιμοποιήθηκε δείγμα όπου έγιναν όλα τα βήματα, χωρίς όμως να χρησιμοποιηθεί το πρωτογενές αντίσωμα. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων επιβεβαιώθηκαν από δύο ανεξάρτητους παρατηρητές, που δε γνώριζαν τα δεδομένα του δείγματος. Η διαφοροποίηση ανάμεσα στους παρατηρητές κυμάνθηκε σε <10%.

Τα μόρια που μετρήθηκαν στους οστικούς κυλίνδρους ήταν το CD38, για την τυποποίηση των πλασματοκυττάρων και το CD31, για την τυποποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων.

Εκτίμηση της πλασματοκυτταρικής διήθησης

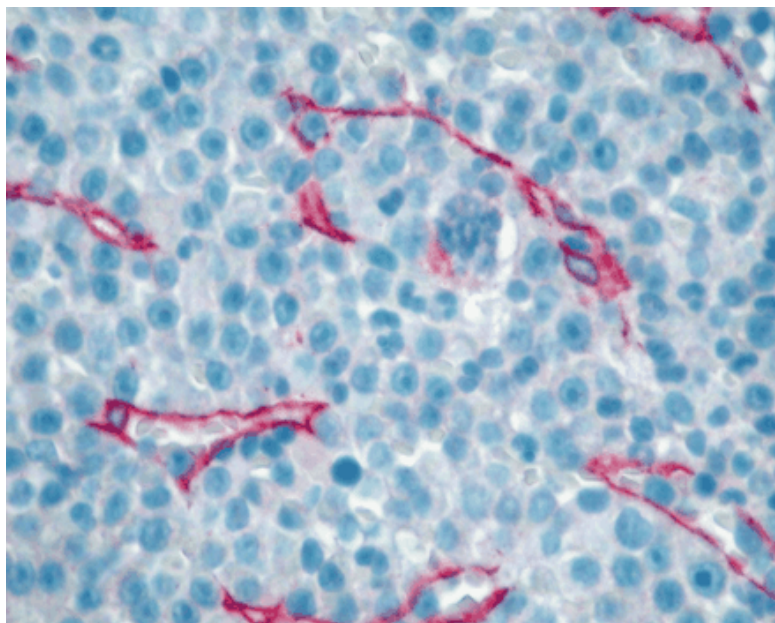
Το είδος και το ποσοστό πλασματοκυτταρικής διήθησης του μυελού των οσθενών με ΠΜ αναδείχθηκε με ανοσοχρώση των νεοπλασματικών πλασματοκυττάρων, χρησιμοποιώντας το αντι-CD38 μονοκλωνικό αντίσωμα (Code M7077; Dako, Glostrup, Denmark), τη μέθοδο αλκαλικής-αντιαλκαλικής φωσφατάσης (APAAP). Η μονοκλωνικότητα και τα ποσοστά των κ/λ νεοπλασματικών κυττάρων στο μυελό εκτιμήθηκαν με *in situ* υβριδισμό (SS ISH ανιχνευτικό σύστημα, αριθμός καταλόγου DA030-SS; Biogenex, San Ramon, California, USA; κ/λ mRNA peptide nucleic acid probes/fluorescein isothiocyanate; αριθμός καταλόγου Y5202; Dako).

Μέτρηση μικροαγγείων

Τα αγγεία στο μυελό αναδείχθηκαν με ανοσοχρώση των ενδοθηλιακών κυττάρων, χρησιμοποιώντας ένα μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού, έναντι του CD31 (Code MS 353; Neomarkers, Lab Vision Corp, Fremont, CA, USA), σε αραιώση 1:400. Η MVD εκτιμήθηκε, χρησιμοποιώντας ένα σταθερό 16 Zeiss μικροσκόπιο, εξοπλισμένο με κατάλληλα προσοφθάλμια. Η αναγνώριση και τυποποίηση των στοιχείων των μικροαγγείων έγινε με σταθερά κριτήρια. Επειδή διαπιστώθηκε ετερογένεια στην MVD των δειγμάτων, σε κάθε δείγμα εξετάστηκαν τρεις διαφορετικές περιοχές νεοπλασματικής διήθησης με το μέγιστο αριθμό μικροαγγείων (τριχοειδών και φλεβιδίων), αντιπροσωπεύοντας με αυτόν τον τρόπο τις περιοχές που είχαν την πιο έντονη αγγείωση (hot spots). Αρχικά, έγινε έλεγχος των τομών σε μικρή μεγέθυνση ($\times 100$) πριν τη μέτρηση των αγγείων, με σκοπό να εντοπισθούν τα hot spots. Τα μικροαγγεία που βρίσκονταν κοντά σε δοκίδες ή σε σκληρυντικές περιοχές δε συμπεριλήφθηκαν στη μέτρηση. Ακολούθως, και αφού αναγνωρίστηκαν τα hot spots, μετρήθηκαν τα μεμονωμένα μικροαγγεία σε μεγέθυνση $\times 400$. Για τη συστηματική εξέταση των δειγμάτων, τοποθετήθηκε

στον ένα προσοφθάλμιο φακό ένα αριθμημένο και τετραγωνισμένο προσοφθάλμιο τετραγωνίδιο (με 100 τετράγωνα, ίσων διαστάσεων, δείκτες, όπου $1 \mu\text{m}=1$ τετραγωνίδιο), διαστάσεων $1 \times 1 \text{ cm}$ (NE35 mm; Graticules Ltd, Kent, UK). Οι μετρήσεις έγιναν στην περιοχή του πεδίου που κάλυπτε επιφάνεια 0.0625 mm^2 . Κατά τη μέτρηση των μικροαγγείων, η κίνηση του μικροσκοπίου γινόταν με τρόπο ώστε να μετρηθεί ολόκληρη η επιφάνεια των hot spots. Έγινε προσπάθεια να επιβεβαιωθεί ότι κάθε μετρούμενο τετράγωνο ήταν καλυμμένο με ιστό. Κάθε βαμμένο ερυθρό, μορφολογικά συμβατό με ενδοθηλιακό κύτταρο ή/και σύμπλεγμα ενδοθηλιακών κυττάρων, με ή χωρίς (υποτυπώδη ή καλοσχηματισμένο) αυλό, θεωρήθηκε ότι είναι μικροαγγείο και προσμετρήθηκε. Με αυτόν το τρόπο υπολογίστηκε η μέση μέτρηση των μικροαγγείων από τα τρία hot spots και εκφράστηκε ως αγγεία/ 0.0625 mm^2 .

Στην παρακάτω εικόνα φαίνεται η αυξημένη μικροαγγειακή πυκνότητα που διαπιστώνεται σε δείγμα οστικού κυλίνδρου με εκτεταμένη πλασματοκυτταρική διήθηση, όπου χρησιμοποιώντας το αντι-CD31 μονοκλωνικό αντίσωμα και τη μέθοδο APAPP, τα αγγεία φαίνονται ερυθρά και συχνά με παρουσία αυλού (μεγέθυνση X200).



δ. Στατιστική ανάλυση

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέσες τιμές \pm SD και σε μεμονωμένες περιπτώσεις, όπου η διασπορά των τιμών στο δείγμα δεν ακολουθούσε κανονική κατανομή χρησιμοποιήθηκαν οι διάμεσες. Για την ανάλυση των διαφορών ανάμεσα στις ομάδες χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση ANOVA, με τη Kruskal-Wallis ή τη Mann-Whitney U δοκιμασία ως μη παραμετρικές εναλλακτικές. Η δοκιμασία Student-Newman-Keuls χρησιμοποιήθηκε για τη σύγκριση των υποομάδων ανά ζεύγη, προκειμένου να διαπιστωθούν διαφορές στις παραμέτρους ανάμεσα στα στάδια της νόσου. Η μη παραμετρική δοκιμασία συσχέτισης Spearman's rho χρησιμοποιήθηκε για να εκτιμήσει τη συσχέτιση των προ-θεραπείας τιμών των εξεταζόμενων παραμέτρων. *Πολυπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Kaplan-Meier.* Η ανάλυση έγινε με το πρόγραμμα SPSS 12.0/PC (SPSS Inc, Chicago, IL, USA). Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε στο 5%.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Α. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΧΕΣΗΣ ΤΩΝ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ VEGF, HGF ΚΑΙ MMP-9 ΜΕ ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ

Οι διάμεσες συγκεντρώσεις των μετρούμενων παραμέτρων, στους μάρτυρες, στο σύνολο των ασθενών και στα 3 στάδια της νόσου φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

	Μάρτυρες	Ασθενείς με ΠΜ	Στάδιο I	Στάδιο II	Στάδιο III
VEGF (pg/ml)	85	246 *	87	167	389 **
MMP-9 (ng/ml)	164	128	50	174	104 **
HGF (pg/ml)	494	1806 *	798	1587	2014 **
PICP (ng/ml)	97	104	129	79	104
NTx (nmol BCE/mM creat)	38	166 *	65	170	211 **
B ₂ μικροσφαιρίνη (mg/l)	1.21	2.93 *	1.63	2.71	3.88 **
Αλβουμίνη (g/dl)	3.92	3.70	3.34	3.37	3.09 **

* $p < 0.001$ για σύνολο ασθενών με πολλαπλό μυέλωμα συγκριτικά με τους μάρτυρες

** $p < 0.05$ ανάμεσα στα στάδια της νόσου

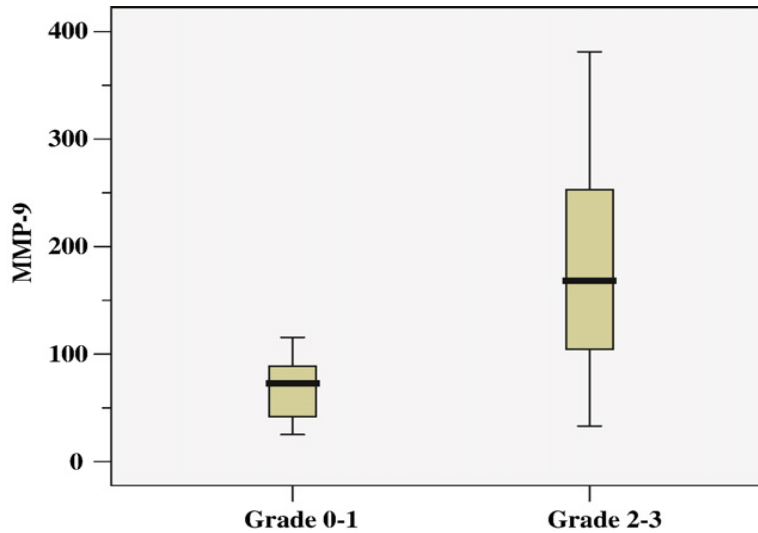
- Βρέθηκε ότι οι συγκεντρώσεις των VEGF και HGF ήταν σημαντικά υψηλότερες στους ασθενείς με μυέλωμα σε σχέση με τους μάρτυρες ($p < 0.001$ και $p < 0.0001$ αντίστοιχα). Επίσης οι μέσες τιμές των VEGF και HGF ήταν σημαντικά υψηλότερες με την αύξηση του σταδίου της νόσου ($p < 0.0001$ και $p < 0.001$ αντίστοιχα). Από την

άλλη, τα επίπεδα της MMP-9 ήταν χαμηλότερα στους ασθενείς σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες, χωρίς όμως να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά. Επίσης οι τιμές της MMP-9 ήταν σημαντικά υψηλότερες στα στάδια II και III σε σχέση με το στάδιο I ($p < 0.0001$, $p < 0.05$ αντίστοιχα), ενώ δεν βρέθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ του σταδίου II και III. Οι τιμές του PICP ήταν αυξημένες στους ασθενείς σε σύγκριση με τους μάρτυρες, χωρίς επίσης η διαφορά να είναι σημαντική. Οι τιμές NTx ούρων ήταν σημαντικά υψηλότερες στους ασθενείς σε σχέση με τους μάρτυρες ($p < 0.0001$). Οι τιμές τόσο του PICP όσο και του NTx διέφεραν σημαντικά στα στάδια της νόσου.

- Βρέθηκε θετική συσχέτιση ανάμεσα στην αύξηση του βαθμού οστικής συμμετοχής και τις μέσες συγκεντρώσεις ορού του MMP-9 (όπως φαίνεται στην Εικόνα 1), του VEGF, του HGF και των επιπέδων NTx ούρων (Εικόνα 2) ($p < 0.001$ σε όλες τις περιπτώσεις). Το PICP ορού μειώθηκε σημαντικά στον εκτεταμένο βαθμό οστικής νόσου (στους ασθενείς με χαμηλό σκορ: τα διάμεσα επίπεδα PICP ήταν 125.2 ng/ml ενώ σε αυτούς με υψηλό σκορ τα διάμεσα επίπεδα PICP ήταν 86 ng/ml ($p < 0.01$)).

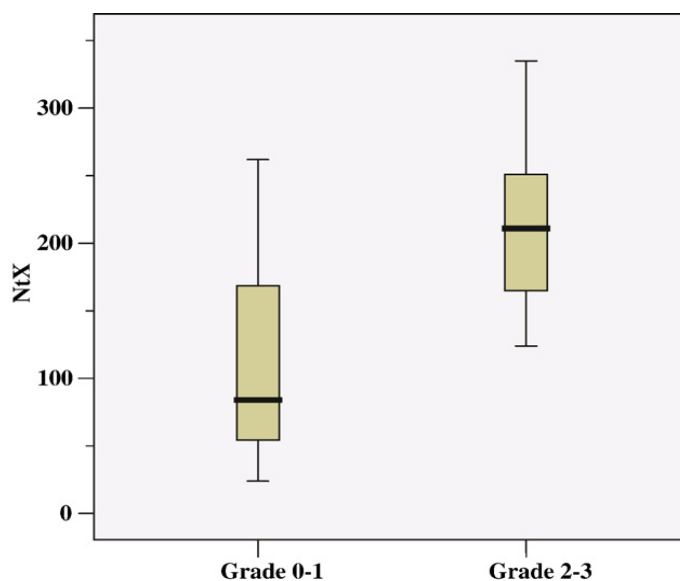
Εικόνα 1

Επίπεδα ορού της MMP-9 (σε ng/ml) σε σχέση με το βαθμό οστικής νόσου (χαμηλό σκορ: βαθμοί 0-1; υψηλό σκορ: βαθμοί 2-3). Τα κουτιά αντιπροσωπεύουν τα τεταρτημόρια 25-75%, η οριζόντια γραμμή τη διάμεση τιμή και οι κάθετες τα όρια εμπιστοσύνης 95% ($p < 0.001$).



Εικόνα 2

Επίπεδα ούρων του NTx (σε nmol BCE/mM creat) σε σχέση με το βαθμό οστικής νόσου (χαμηλό σκορ: βαθμοί 0–1; υψηλό σκορ: βαθμοί 2–3). Τα κουτιά αντιπροσωπεύουν τα τεταρτημόρια 25–75%, η οριζόντια γραμμή τη διάμεση τιμή και οι κάθετες τα όρια εμπιστοσύνης 95% ($p < 0.001$).

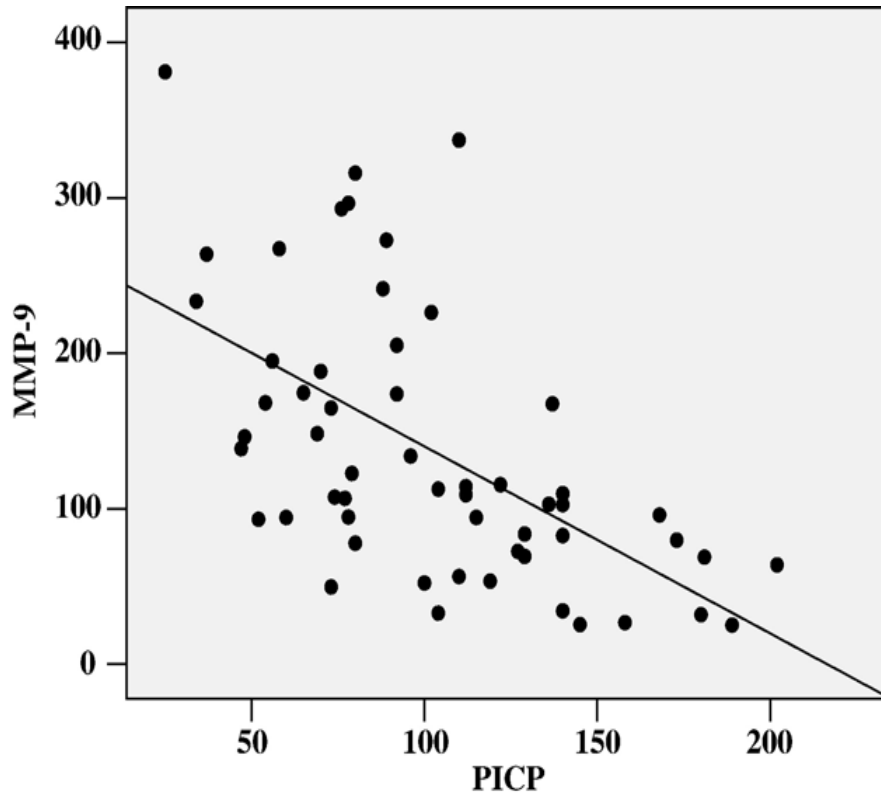


- Τα αυξημένα επίπεδα του VEGF συσχετίστηκαν θετικά με την MMP-9 ($r=0.38$, $p < 0.01$), τον HGF ($r=0.60$, $p < 0.0001$) και τα επίπεδα NTx ούρων ($r=0.56$, $p < 0.0001$). Θετική συσχέτιση βρέθηκε επίσης ανάμεσα στα επίπεδα ορού του HGF με την MMP-9 ($r=0.36$, $p < 0.01$) και το NTx ($r=0.41$, $p < 0.006$). Τα επίπεδα ορού της MMP-9 συσχετίστηκαν σημαντικά με τα NTx ($r=0.39$, $p < 0.01$), ενώ βρέθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ του επιπέδων MMP-9 ορού και των επιπέδων ορού του PICP ($r=-0.66$, $p < 0.0001$) (Εικόνα. 3). Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση ανάμεσα στις αγγειογενετικές κυτταροκίνες VEGF, HGF, MMP-9 και των επιπέδων ορού PICP. Θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε επίσης ανάμεσα στην τιμή της B2M και των τιμών HGF και VEGF ($r=0.61$, $p < 0.001$, $r=0.471$, $p < 0.002$, αντίστοιχα). Μια αρνητική συσχέτιση αποκαλύφθηκε μεταξύ του VEGF και επιπέδων λευκοματίνης ορού ($r=-0.34$, $p <$

0,03). Τέλος, το αυξημένο στάδιο νόσου συσχετίστηκε τόσο με τη B2M (θετικά) όσο και με τη λευκοματίνη (αρνητικά).

Εικόνα 3

Αρνητική συσχέτιση της MMP-9 με την παραγωγή PICP σε ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα ($r = -0.66, p < 0.0001$).



- Τέλος, όσον αφορά την επιβίωση, διαπιστώθηκαν διαφορές στους χρόνους επιβίωσης μεταξύ των ασθενών με υψηλές έναντι αυτών με χαμηλές τιμές του VEGF (διάμεση επιβίωση 46 έναντι 64 μήνες), του HGF (54 έναντι 62 μήνες) και της MMP-9 (56 έναντι 66 μήνες), αλλά σε καμία περίπτωση η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική.

B. ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΟΡΟΥ ΤΗΣ IL-6 ΚΑΙ ΤΗΣ MMP-9 ΕΙΝΑΙ ΧΡΗΣΙΜΟΙ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΤΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ

Η μέση συγκέντρωση της IL-6 σε ολόκληρη την ομάδα των ασθενών ήταν 6.69 ± 5.51 pg/ml και ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη από την τιμή των μαρτύρων ($p < 0.001$) (Πίνακας 1). Επίσης οι μέσες τιμές της διήθησης και της συγκέντρωση της IL-6 στον ορό ήταν σημαντικά αυξημένη στα προχωρημένα στάδια της νόσου ($p < 0.001$ και $p < 0.01$, αντίστοιχα) (Πίνακας 1).

Πίνακας 1

Τιμές της πλασματοκυτταρικής διήθησης, της IL-6, της MMP-9 και βιοχημικών δεικτών οστικής απορρόφησης σε 37 μη θεραπευμένους ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα με βάση το κλινικό στάδιο της νόσου, και στους μάρτυρες. Με την εξαίρεση της MMP-9, όλες οι μετρούμενες τιμές ήταν υψηλότερες στους ασθενείς συγκριτικά με τους μάρτυρες. Επίσης οι τιμές της διήθησης, της IL-6 και του NTx ούρων ήταν σημαντικά υψηλότερες στα προχωρημένα στάδια της νόσου.

	Ομάδα ΠΜ			Μάρτυρες
	Στάδιο I	Στάδιο II	Στάδιο III	
	Μέση ($\pm SD$)	Μέση ($\pm SD$)	Μέση ($\pm SD$)	
Διήθηση	22.56 \pm 16.09	33.58 \pm 19.78	56.25 \pm 16.78*	
IL-6, pg/ml	3.06 \pm 1.33	5.71 \pm 3.48	9.47 \pm 6.79**	0.98 \pm 0.64 ⁺
MMP-9, ng/ml	59.25 \pm 33.09	188.78 \pm 91.27***	131.2 \pm 96.32	289.8 \pm 110.46 ⁺
NTx	86 \pm 67.49	159 \pm 61.23	222.4 \pm 47.68*	32.67 \pm 3.11 ⁺
F-Pyd	26.6 \pm 6.5	54.3 \pm 19.6**	58.4 \pm 23.8*	20.83 \pm 2.62*
F-Dpd	5.7 \pm 1.6	12.3 \pm 5.3***	11.9 \pm 5.3***	4.17 \pm 0.72

*Για τα στάδια III έναντι I, $p < 0.001$, ** Για τα στάδια III έναντι I, $p < 0.002$, *** Για τα στάδια II έναντι I, $p < 0.004$, ⁺Για τους μάρτυρες έναντι της συνολικής ομάδας ασθενών με μυέλωμα, $p < 0.001$.

Η διήθηση του μυελού ήταν σημαντικά υψηλότερη στο βαθμό 3 απ' ό,τι στο βαθμό 0 (51.88 ± 21.28 , έναντι 28 ± 16.28 , $p=0.002$). Αντίθετα, η τιμή της IL-6 ήταν μεν υψηλότερη στο βαθμό 3, αλλά χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά.

Οι μέσες συγκεντρώσεις των NTx, F-Pyd και F-Dpd ήταν σημαντικά υψηλότερες στην ομάδα των ασθενών σε σχέση με τις αντίστοιχες των μαρτύρων ($p<0.001$ σε όλες τις περιπτώσεις) (Πίνακας 1). Στην ομάδα των ασθενών με μυέλωμα, οι μέσες συγκεντρώσεις των NTx, F-Dyp και F-Dpd ήταν σημαντικά υψηλότερες στα προχωρημένα στάδια της νόσου ($p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.003$, αντίστοιχα).

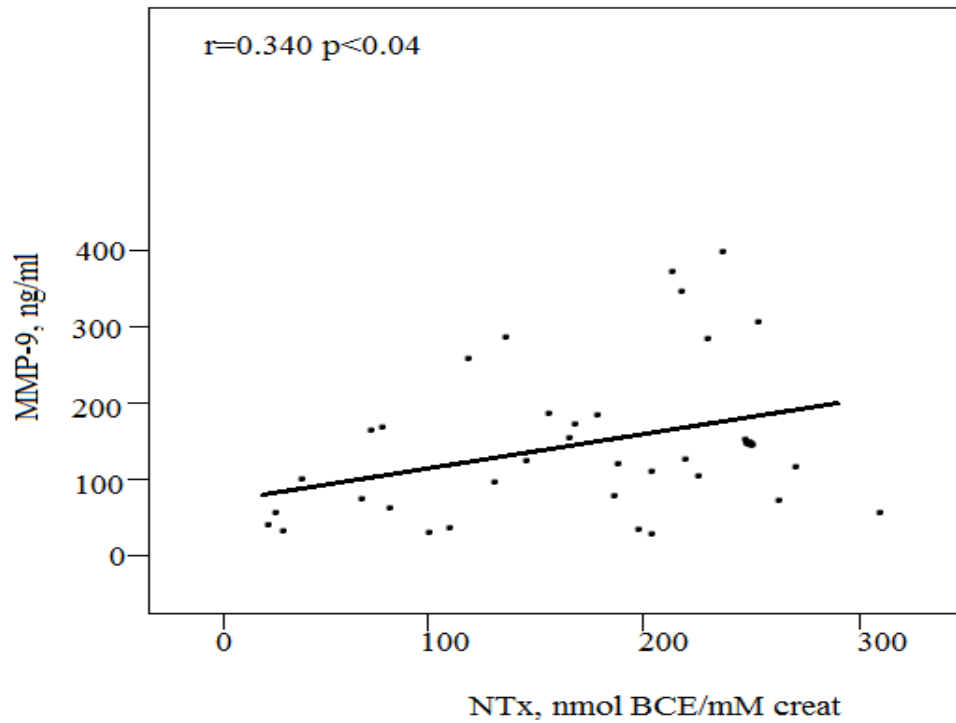
Οι βιοχημικοί παράμετροι εκτιμήθηκαν με βάση το βαθμό οστικής συμμετοχής, με βάση τα ακτινολογικά ευρήματα, κατά τη διάγνωση. Οι ασθενείς με προχωρημένη οστική νόσο είχαν αυξημένα επίπεδα F-Pyd και F-Dpd συγκριτικά με τους ασθενείς χωρίς οστεολύσεις, αφού οι μέσες συγκεντρώσεις τους ήταν υψηλότερες στο βαθμό 3 σε σχέση με το βαθμό 0 (61.81 ± 22.17 έναντι 30.55 ± 15.91 , $p<0.002$, για το F-Pyd, και 13.13 ± 5.46 έναντι 6.27 ± 2.72 , $p<0.003$, για το F-Dpd). Αντίθετα οι μέσες συγκεντρώσεις τους αυξάνονταν από το βαθμό 0 ως το βαθμό 2, αλλά χωρίς σημαντική διαφορά. Επιπλέον, οι μέσες συγκεντρώσεις του NTx ήταν υψηλότερες στο βαθμό 3 σε σχέση με τους βαθμούς 0, 1 και 2 ($p<0.001$ για όλες τις περιπτώσεις).

Οι μέσες συγκεντρώσεις της MMP-9 ήταν χαμηλότερες στους ασθενείς σε σχέση με τους μάρτυρες (132.37 ± 95.14 έναντι 289.8 ± 110.46 , $p<0.001$). Επιπλέον ήταν σημαντικά υψηλότερες στο στάδιο II σε σχέση με το στάδιο I ($p<0.004$). Τέλος, βρήκαμε ότι με βάση το βαθμό οστικής νόσου, τα επίπεδά της ήταν υψηλότερα στο βαθμό 2 έναντι των βαθμών 0 και 1 ($p<0.003$ και $p<0.02$ αντίστοιχα).

Βρέθηκαν θετικές συσχετίσεις ανάμεσα στα επίπεδα του NTx με το βαθμό διήθησης ($r=0.340$ $p<0.003$), τα επίπεδα της IL-6 ($r=0.340$ $p<0.04$) και της MMP-9 ($r=0.340$ $p<0.04$) (Εικόνα 1). Τέλος βρέθηκε ότι τα επίπεδα της MMP-9 έτειναν να συσχετισθούν με τις τιμές των F-Pyd και F-Dpd ($r=0.299$ $p=0.07$ και $r=0.228$ $p=0.08$ αντίστοιχα).

Εικόνα 1

Συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων ορού της MMP-9 και του NTx ούρων σε 37 νεοδιαγνωσμένους ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα.



Γ. ΣΧΕΣΗ ΑΓΓΕΟΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ, ΤΟΥ RANKL ΚΑΙ ΤΗΣ OPG ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Τα εργαστηριακά ευρήματα στους ασθενείς με ΠΜ και στους υγιείς μάρτυρες φαίνονται στον Πίνακα 1.

Η μέση τιμή της OPG ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς με ΠΜ σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες ($p < 0.03$) (Εικόνα 1). Οι μέσες συγκεντρώσεις της OPG στα στάδια I και II της νόσου ήταν υψηλότερες από ό, τι στο στάδιο III, χωρίς όμως η διαφορά αυτή να είναι στατιστικά σημαντική. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν επίσης ότι τα επίπεδα ορού της OPG ελαττώθηκαν σημαντικά μετά τη θεραπεία (11.5 ± 10.9 έναντι 13.3 ± 14.0 pmol/L, $p < 0.03$) (Εικόνα 2).

Οι συγκεντρώσεις του sRANKL ήταν επίσης αυξημένες στους ασθενείς σε σχέση με τους μάρτυρες, ενώ η αναλογία sRANKL/OPG δεν παρουσίασε σημαντική διαφορά. Από την άλλη, τόσο τα επίπεδα sRANKL όσο και η αναλογία sRANKL/OPG αυξήθηκαν με την εξέλιξη της νόσου και ελαττώθηκαν σημαντικά μετά από αποτελεσματική θεραπεία. Επίσης, οι συγκεντρώσεις των HGF, VEGF και IL-6 ήταν αυξημένες στους νεοδιαγνωσμένους ασθενείς με ΠΜ σε σχέση με τους μάρτυρες ($p < 0.001$, σε όλες τις περιπτώσεις). Τέλος, βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στις τιμές των HGF, VEGF και IL-6 ανάμεσα στα στάδια της νόσου (Πίνακας 2).

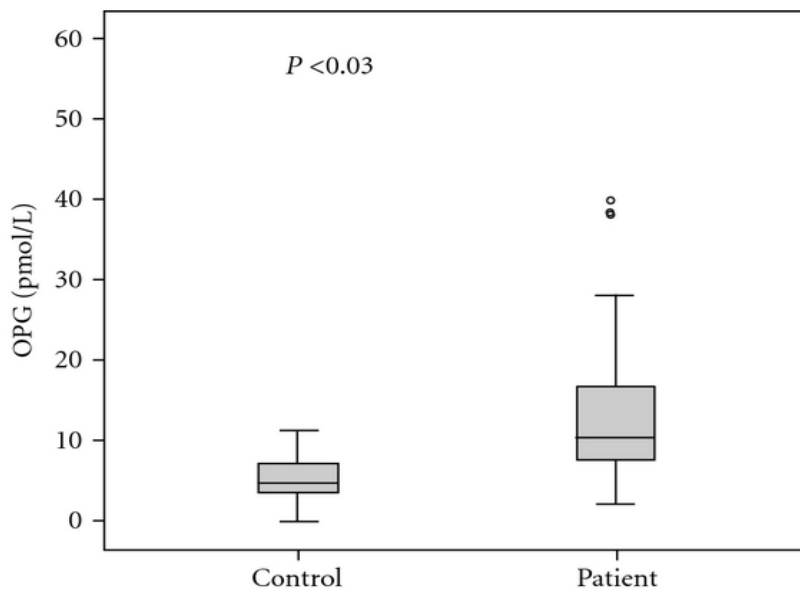
Πίνακας 1

Συγκεντρώσεις ορού των μετρούμενων παραμέτρων στους υγιείς μάρτυρες και στους ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα.

	<u>n</u>	<u>Mean ± SD</u>	<u>p</u>
OPG pmol/L			
Μάρτυρες	20	6.4 ± 5.3	< 0.03
Ασθενείς	54	12.5 ± 11.5	
RANKL pmol/L			
Μάρτυρες	20	13.54 ± 9.90	< 0.007
Ασθενείς	54	364.48 ± 393.63	
RANKL/OPG			
Μάρτυρες	20	14.44 ± 28.39	NS
Ασθενείς	54	51.69 ± 70.77	
HGF pg/mL			
Μάρτυρες	20	465.3 ± 163.4	< 0.001
Ασθενείς	54	1612.2 ± 1107.5	
LDH IU/L			
Μάρτυρες	20	163.1 ± 36.4	< 0.01
Ασθενείς	54	228.9 ± 77.2	
VEGF pg/mL			
Μάρτυρες	20	90.2 ± 14.4	< 0.001
Ασθενείς	54	272.3 ± 178.7	
B2M mg/dL			
Μάρτυρες	20	1.5 ± 0.6	< 0.001
Ασθενείς	54	3.9 ± 3.8	
CRP mg/L			
Μάρτυρες	20	0.4 ± 0.1	< 0.001
Ασθενείς	54	1.1 ± 1.3	
IL-6 pg/mL			
Μάρτυρες	20	0.8 ± 0.5	< 0.001
Ασθενείς	54	6.4 ± 5.1	

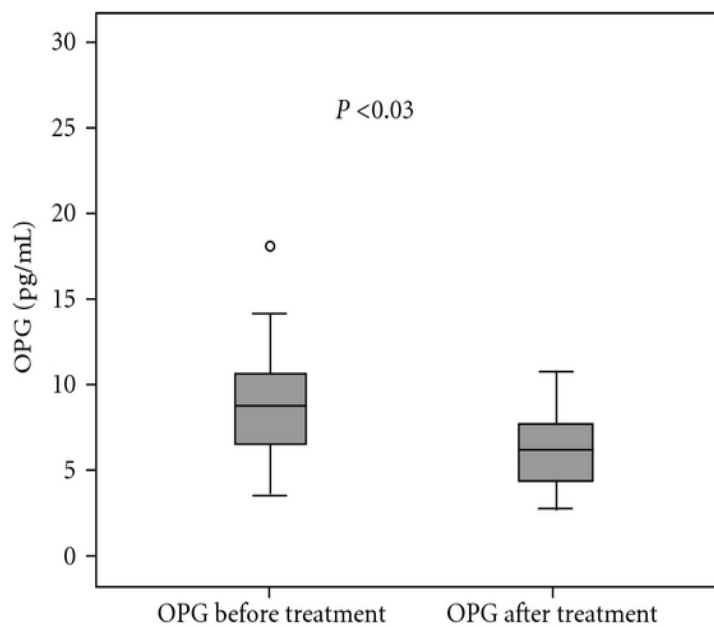
Εικόνα 1

Συγκεντρώσεις OPG ορού στους ασθενείς με μυέλωμα και σε υγιείς μάρτυρες.



Εικόνα 2

Συγκεντρώσεις OPG ορού πριν και μετά από αποτελεσματική θεραπεία.



Πίνακας 2

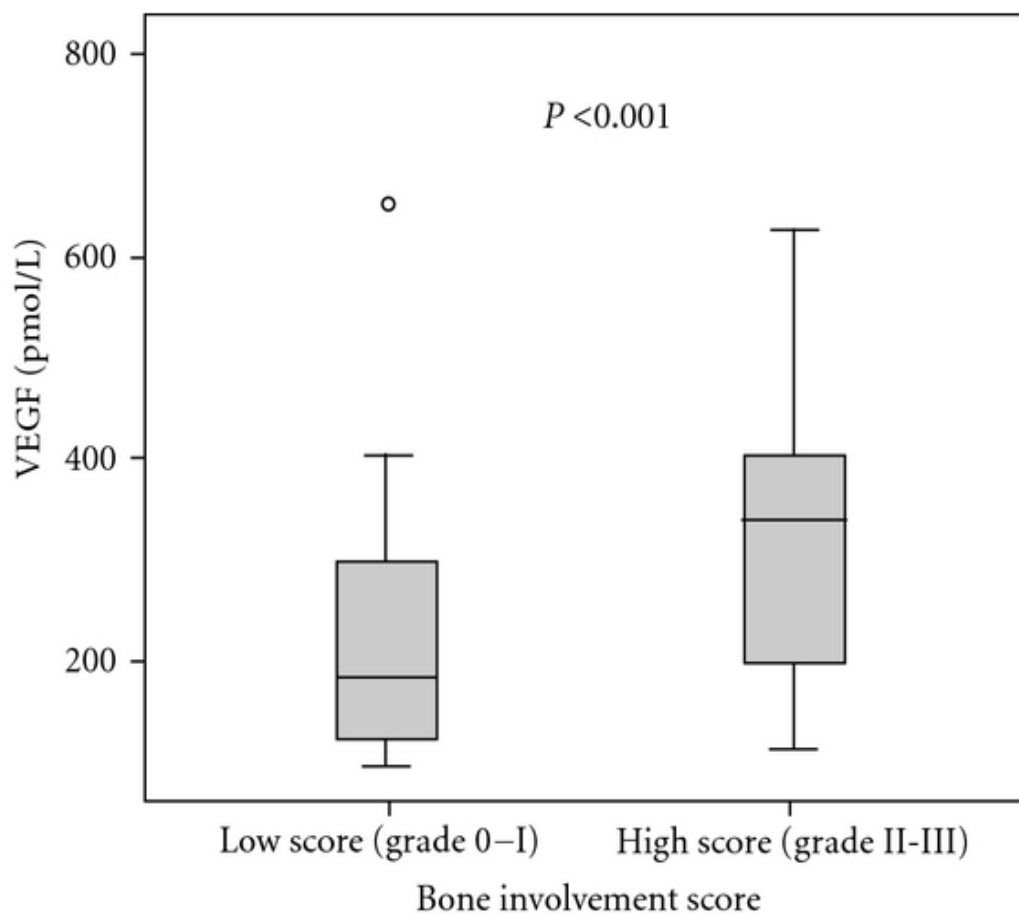
Μέσες±SD τιμές των παραμέτρων στα διάφορα στάδια του ΠΜ (ΜΣ=μη σημαντική)

	<i>Στάδιο</i>	<i>Mean ± SD</i>	<i>p</i>
OPG (pmol/L)	1	16.5 ± 16.2	ΜΣ
	2	11.1 ± 9.2	
	3	10.4 ± 7.9	
RANKL pmol/L	1	72.01 ± 64.05	< 0.001
	2	235.29 ± 107.45	
	3	739.98 ± 445.84	
RANKL/OPG	1	7.62 ± 8.90	< 0.001
	2	48.63 ± 84.75	
	3	91.87 ± 63.71	
HGF (pg/mL)	1	804.3 ± 294.9	< 0.001
	2	1547 ± 469.1	
	3	2356.8 ± 1466.1	
LDH (IU/L)	1	180.4 ± 31.1	< 0.002
	2	218.5 ± 62.2	
	3	280.2 ± 88.9	
VEGF (pg/mL)	1	140.1 ± 105.0	< 0.001
	2	230.9 ± 141.8	
	3	425.1 ± 150.8	
B2M (mg/dL)	1	2.1 ± 0.9	< 0.001
	2	4.4 ± 5.3	
	3	4.8 ± 3.2	
CRP (mg/L)	1	1.5 ± 2.1	ΜΣ
	2	0.9 ± 0.7	
	3	1.1 ± 0.6	
IL-6 (pg/mL)	1	3.4 ± 2.1	< 0.001
	2	5.8 ± 2.7	
	3	9.5 ± 6.9	

Υπήρξε μια θετική συσχέτιση μεταξύ της αυξημένου βαθμού οστικής βλάβης και στις μέσες συγκεντρώσεις ορού των sRANKL (p <0.001), sRANKL/OPG (p <0.001), VEGF (p <0.001) (Εικόνα 3), HGF (p <0.004), IL-6 (p <0.001), LDH (p <0.05) και B2M (p <0.04).

Εικόνα 3

Επίπεδα VEGF ορού με βάση την οστική συμμετοχή.



Από την άλλη, τα επίπεδα της OPG, ήταν υψηλότερα στους ασθενείς με χαμηλό σκορ (βαθμών 0-1) σε σύγκριση με υψηλό (βαθμών 2-3), αλλά η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική (Πίνακας 3).

Πίνακας 3

Μέσες \pm SD τιμές των μετρούμενων παραμέτρων στους ασθενείς με μνέλωμα, σύμφωνα με την οστική συμμετοχή (ΜΣ=μη σημαντική).

	Οστική συμμετοχή	Μέση τιμή \pm SD	p
OPG (pmol/L)	Χαμηλό σκορ (Βαθμοί 0-1)	13.8 \pm 13.6	ΜΣ
	Υψηλό σκορ (Βαθμοί 2-3)	11.3 \pm 9.3	
RANKL pmol/L	Χαμηλό σκορ (Βαθμοί 0-1)	103.08 \pm 79.29	< 0.001
	Υψηλό σκορ (Βαθμοί 2-3)	589.84 \pm 417.48	
RANKL/OPG	Χαμηλό σκορ (Βαθμοί 0-1)	14.66 \pm 21.97	< 0.001
	Υψηλό σκορ (Βαθμοί 2-3)	83.61 \pm 82.39	
HGF (pg/mL)	Χαμηλό σκορ (Βαθμοί 0-1)	1150.4 \pm 535.9	< 0.004
	Υψηλό σκορ (Βαθμοί 2-3)	2010.2 \pm 1312.0	
LDH (IU/L)	Χαμηλό σκορ (Βαθμοί 0-1)	209.9 \pm 74.7	0.05
	Υψηλό σκορ (Βαθμοί 2-3)	245.3 \pm 76.8	
VEGF (pg/mL)	Χαμηλό σκορ (Βαθμοί 0-1)	170.7 \pm 115.1	< 0.001
	Υψηλό σκορ (Βαθμοί 2-3)	359.9 \pm 178.7	
B2M (mg/dL)	Χαμηλό σκορ (Βαθμοί 0-1)	2.9 \pm 2.7	< 0.04
	Υψηλό σκορ (Βαθμοί 2-3)	4.7 \pm 4.5	
CRP (mg/L)	Χαμηλό σκορ (Βαθμοί 0-1)	1.3 \pm 1.7	ΜΣ
	Υψηλό σκορ (Βαθμοί 2-3)	1.0 \pm 0.7	
IL-6 (pg/mL)	Χαμηλό σκορ (Βαθμοί 0-1)	4.7 \pm 4.9	< 0.001
	Υψηλό σκορ (Βαθμοί 2-3)	7.8 \pm 4.9	

Βρέθηκαν σημαντικές θετικές συσχετίσεις μεταξύ του sRANKL με τους HGF, VEGF, LDH, VEGF, B2M και IL-6, ενώ ακόμα πιο ισχυρές ήταν οι συσχετίσεις που βρέθηκαν μεταξύ της αναλογίας sRANKL/OPG με την OPG και με τις παραπάνω παραμέτρους (Πίνακας 4).

Πίνακας 4

Συσχετίσεις ανάμεσα στο RANKL και την αναλογία RANKL/OPG με δείκτες αγγειογένεσης και δραστηριότητας της νόσου (ΜΣ: μη σημαντική).

		OPG	HGF	LDH	VEGF	B2M	CRP	IL-6
<i>RANKL</i>	<i>r</i>	ΜΣ	0.529	0.344	0.707	0.401	ΜΣ	0.422
	<i>p</i>	ΜΣ	< 0.0001	< 0.01	< 0.0001	< 0.003	ΜΣ	< 0.001
<i>RANKL/OPG</i>	<i>r</i>	-0.548	0.612	0.352	0.637	0.362	ΜΣ	0.390
	<i>p</i>	< 0.0001	< 0.0001	< 0.009	< 0.0001	< 0.007	ΜΣ	< 0.004

Τα επίπεδα HGF ορού συσχετίστηκαν θετικά με την LDH ($r=0.380$, $p<0.002$), VEGF ($r=0.590$, $p<0.0001$), B2M ($r=0.490$, $p <0.001$), η CRP ($r=0.420$, $p<0.001$), και IL-6 ($r=0.610$, $p<0.0001$).

Δεν παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην OPG με τις αγγειογενετικές κυτταροκίνες VEGF, HGF και IL-6 αλλά και ούτε με τους δείκτες δραστηριότητας της νόσου CRP, B2M και LDH.

Τέλος, στατιστικά σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν στα επίπεδα ορού, πριν και μετά τη θεραπεία, των OPG, HGF, LDH, VEGF και IL-6 (Πίνακας 5).

Πίνακας 5

Μέσες±SD τιμές των μετρούμενων παραμέτρων στους ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα πριν και μετά από αποτελεσματική θεραπεία.

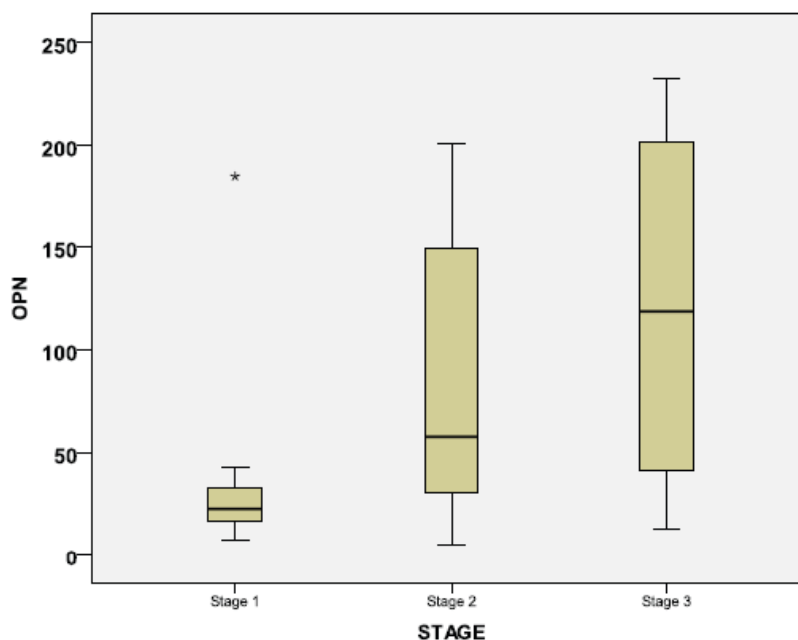
		Mean ± SD	p
OPG (pmol/L)	Προ θεραπείας	11.5 ± 10.9	< 0.03
	Μετά θεραπεία	13.3 ± 14.0	
RANKL (pmol/L)	Προ θεραπείας	335.10 ± 306.68	< 0.005
	Μετά θεραπεία	99.95 ± 108.52	
RANKL/OPG	Προ θεραπείας	76.55 ± 96.25	< 0.01
	Μετά θεραπεία	10.81 ± 9.91	
HGF (pg/mL)	Προ θεραπείας	1433.0 ± 1100.9	< 0.001
	Μετά θεραπεία	765.9 ± 210.5	
LDH (IU/L)	Προ θεραπείας	218.6 ± 76.0	< 0.002
	Μετά θεραπεία	176.1 ± 33.4	
VEGF (pg/mL)	Προ θεραπείας	243.8 ± 177.0	< 0.001
	Μετά θεραπεία	120.7 ± 40.4	
IL-6 (pg/mL)	Προ θεραπείας	3.5 ± 3.6	< 0.003
	Μετά θεραπεία	2.4 ± 1.2	

Δ. ΕΠΙΠΕΔΑ ΟΣΤΕΟΠΟΝΤΙΝΗΣ ΣΤΟΝ ΟΡΟ: ΕΝΑΣ ΔΙΠΛΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΚΑΙ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗΣ

- Η διάμεση τιμή της OPN στους ασθενείς με μυέλωμα ήταν 85 (εύρος: 5-232) ng/ml και ήταν υψηλότερη από την τιμή των μαρτύρων, 36 (2-190) ng/ml. Παρολαυτά η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Ωστόσο, η OPN ήταν σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς με στάδιο II ή III, σε σύγκριση με τους ασθενείς του σταδίου I ($p < 0.001$) (Εικόνα 1).

Εικόνα 1

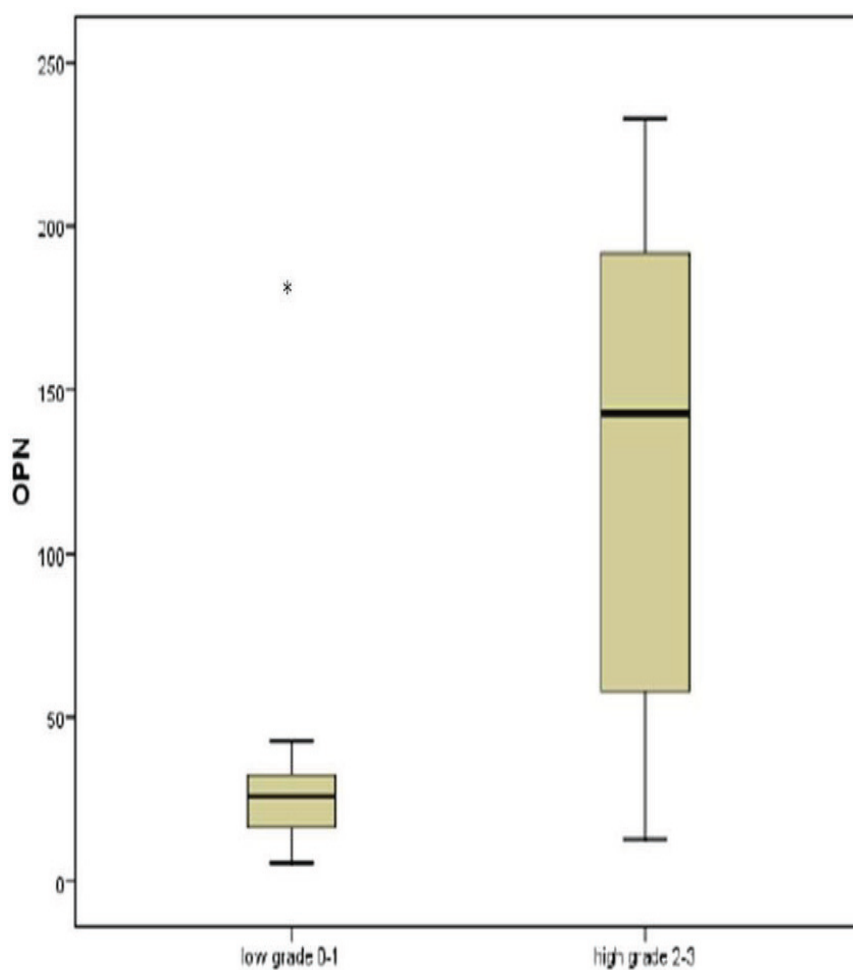
Επίπεδα οστεοποντίνης ορού (ng/ml) σύμφωνα με τα στάδια κατά Durie-Salmon, σε ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα. Οι στήλες εκφράζουν τις τιμές από 25-75%, η οριζόντια γραμμή τις διάμεσες τιμές και οι κάθετες τα όρια εμπιστοσύνης 95%. (* $p < 0.01$)



- Παρομοίως, υπήρξε μια σημαντική διαφορά στην OPN ανάλογα με τη βαθμό της οστικής νόσου (Εικόνα 2), όπου διαπιστώθηκαν αυξημένα επίπεδα με την αύξηση του βαθμού από 0 ως 3 ($p = 0.006$).

Εικόνα 2

Επίπεδα οστεοποντίνης ορού (ng/ml) σύμφωνα με το βαθμό οστικής νόσου σε ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα (χαμηλός βαθμός: βαθμοί 0 και 1, σε σύνολο 23 ασθενών έναντι υψηλού βαθμού: βαθμοί 2 και 3 σε σύνολο 27 ασθενών). Οι στήλες εκφράζουν τις τιμές από 25-75%, η οριζόντια γραμμή τις διάμεσες τιμές και οι κάθετες τα όρια εμπιστοσύνης 95%. (* $p < 0.01$ με τη δοκιμασία Kruskal Wallis).



- Η ανάλυση CART καθόρισε ότι τιμές OPN>100ng/ml είναι προγνωστικές προχωρημένης μυελωματικής νόσου. Έτσι, βρέθηκε ότι όλοι οι 17 ασθενείς με OPN> 100ng/ml είχαν προχωρημένο στάδιο νόσου (II ή III), ενώ όλοι οι 15 ασθενείς με στάδιο I είχαν τιμή OPN<100ng/ml ((Odds Ratio 1.5, 95% Confidence Intervals 1.2-2.0; p=0.036 Fisher's Exact test). Ομοίως, το υψηλού οστικού βαθμού (2 ή 3) ΠΜ συσχετίστηκε με τιμές OPN>100ng/ml ((OR 1.9, 95% CI 1.2-2.9, p= 0.001), όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα.

Κατάσταση ΠΜ	Επίπεδα Οστεοποντίνης ορού (ng/ml)		OR (95% CI)
	<100	≥100	
A. ΣΤΑΔΙΟ			1.5 (1.2-2.0)
Στάδιο I	15	0	
Στάδια II και III	18	17	
B. ΒΑΘΜΟΣ			1.9 (1.2-2.9)
Χαμηλός (0 και 1)	23	0	
Υψηλός (2 και 3)	15	12	

- Η OPN συσχετίστηκε σημαντικά με τον VEGF, την MVD, το NTx και την πλασματοκυτταρική διήθηση στο μυελό (r= 0.47, 0.30, 0.35 και 0.45 αντίστοιχα, με p <0.05 σε όλες τις περιπτώσεις).
- Στους ασθενείς που μπήκαν στη φάση πλατώ μετά από αποτελεσματική χημειοθεραπεία, η OPN μειώθηκε σημαντικά σε σχέση με τις προ θεραπείας τιμές (45 ng/ml έναντι 78 ng/ml με p<0.05). Επίσης οι τιμές των MVD, NTx, VEGF και πλασματοκυτταρικής διήθησης ελαττώθηκαν σημαντικά στη φάση πλατώ (p <0,001).

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

A. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΧΕΣΗΣ ΤΩΝ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ VEGF, HGF ΚΑΙ MMP-9 ΜΕ ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ

Στο ΠΜ, η αγγειογένεση του μυελού παραλληλίζεται με την εξέλιξη της νόσου [183, 184, 185]. Ο ειδικός μηχανισμός που προκαλεί τη μυελωματική οστική νόσο δεν είναι απόλυτα εξακριβωμένος, ωστόσο φαίνεται ότι υπάρχουν διάφορες κυτταροκίνες που αυξάνοντας τον πολλαπλασιασμό των μυελωματικών πλασματοκυττάρων, επιταχύνουν την οστική απορρόφηση [186, 187]. Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε για να εκτιμηθεί η σχέση μεταξύ γνωστών βιοχημικών δεικτών του οστικού μεταβολισμού με το βαθμό οστικής προσβολής, και να συσχετισθούν με τα επίπεδα αγγειογενετικών κυτατροκινών. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν υψηλότερα επίπεδα του VEGF σε ασθενείς με ΠΜ σε σχέση με τους μάρτυρες και μια θετική συσχέτιση μεταξύ του VEGF με τη MMP-9. Η MMP-9 έχει εμπλακεί σε μεγάλο βαθμό στη διάσπαση της βασικής μεμβράνης που σχετίζεται με την εισβολή του όγκου και την αγγειογένεση [100, 188].

Η οστική μυελωματική νόσος εκτιμάται συνήθως με απλές ακτινογραφίες, αλλά η έκταση της ακτινολογικής οστικής συμμετοχής από μόνη της δεν προσφέρει πάντα ακριβή εκτίμηση της νόσου. Βρήκαμε ότι τα επίπεδα ορού του VEGF και της MMP-9 διαφέρουν σημαντικά μεταξύ υψηλού και χαμηλού βαθμού οστικής νόσου. Επιπλέον, ο VEGF και η MMP-9 συσχετίζονται θετικά με το NTx, που θεωρείται ως ο πιο ειδικός βιοχημικός δείκτης οστικής απορρόφησης [189, 190]. Τα αυξημένα επίπεδα του VEGF μπορούν επομένως να συσχετίζονται με την έκταση της οστικής καταστροφής, και πιθανώς να παίζουν ρόλο συνεργικά με την MMP-9 στην εξέλιξη του μυελώματος [105, 191]. Επίσης βρήκαμε ότι τα επίπεδα της MMP-9 στον ορό ήταν υψηλότερα στα προχωρημένα στάδια της νόσου, αλλά τα επίπεδα της MMP-9 σε όλη την ομάδα ασθενών ήταν χαμηλότερα

σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Είναι δύσκολο να εξηγήσει κανείς αυτή τη διαφορά. Είναι εύλογο ότι τα χαμηλότερα επίπεδα της MMP-9 στους ασθενείς με ΠΜ μπορεί να οφείλονται στην ελαττωμένη παραγωγή τους από μη πλασματοκυτταρικές πηγές, όπως είναι τα κυκλοφορούντα λεμφοκύτταρα, ουδετερόφιλα και μονοκύτταρα [190, 192], καθώς τα κακοήγη πλασματοκύτταρα του μυελού μπορεί να τα καταστείλουν.

Ο HGF ενισχύει *in vitro* την εξάπλωση διαφόρων τύπων καρκινικών κυττάρων, αυξάνοντας τη παραγωγή πρωτεασών [100, 109]. Ο HGF αποτελεί μιτογόνο παράγοντα που συμμετέχει στο σχηματισμό των αιμοφόρων αγγείων. Επίσης αποτελεί προαγωγό του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της νεοπλασματικής εισβολής, προκαλώντας την καταστροφή των σφιχτών συνδέσεων [100, 193, 194]. Οι βιολογικές δράσεις του HGF γίνονται μέσω του ειδικού διαμεμβρανικού υποδοχέα του, *c-met*, μιας τυροσινικής κινάσης που εκφράζεται τόσο σε μυελωματικές κυτταρικές σειρές όσο και σε άλλα κύτταρα του μυελού [195, 196, 197]. Ο HGF παράγεται από διάφορους τύπους ενδοθηλιακών κυττάρων. Το αποτέλεσμα είναι η αυξημένη ενδογενής παραγωγή της MMP-9, που τελικώς διευκολύνει τη διαενδοθηλιακή μετανάστευση των μυελωματικών πλασματοκυττάρων [100, 198]. Ο HGF επίσης παράγεται και από τα μυελωματικά πλασματοκύτταρα, δείχνοντας έτσι τη δυνατότητα της αυτοκρινούς διέγερσης [100, 113]. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι τα επίπεδα του HGF ήταν σημαντικά υψηλότερα τόσο στα προχωρημένα στάδια και όσο και στους βαθμούς οστικής νόσου. Βρήκαμε επίσης ότι ο HGF συσχετίζεται σημαντικά με την MMP-9, όπου και οι δύο προάγουν τη οστεόλυση και την αγγειογένεση. Τέλος ο HGF συσχετίστηκε έντονα με το NTx.

Τα επίπεδα PICP ορού, που συντίθεται από τους οστεοβλάστες, αντανακλούν την οστική παραγωγή και μπορεί να είναι χρήσιμα για την παρακολούθηση της μυελωματικής οστικής νόσου [114]. Βρήκαμε αυξημένα επίπεδα PICP στο χαμηλό βαθμό οστικής νόσου, σε σχέση με τον υψηλό βαθμό. Επίσης βρήκαμε μια σημαντική αρνητική συσχέτιση μεταξύ της MMP-9 και του PICP στον ορό.

Στο σύνολό τους, αυτές οι παρατηρήσεις δείχνουν το σημαντικό ρόλο της MMP-9 στο μηχανισμό της οστεόλυσης στους ασθενείς με ΠΜ.

Επιπλέον, οι συσχετίσεις των MMP-9, VEGF και HGF με καθιερωμένους βιοχημικούς προγνωστικούς δείκτες, όπως η B2M και λευκοματίνη, προτείνουν ένα ρόλο αυτών των μορίων ως προγνωστικοί δείκτες για το μυέλωμα. Αυτό επιβεβαιώνεται αφού η διάμεση επιβίωση ήταν μικρότερη στους ασθενείς με υψηλά επίπεδα αυτών των παραγόντων, χωρίς όμως να είναι στατιστικά σημαντικό, πιθανώς λόγω μικρού μεγέθους του δείγματος.

Συμπερασματικά, τα επίπεδα ορού των MMP-9, VEGF και HGF μπορούν να προσφέρουν προγνωστικές ενδείξεις για την εξέλιξη της νόσου αλλά και για το βαθμό συμμετοχής των οστών στη μυελωματική νόσο.

B. ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΟΡΟΥ ΤΗΣ IL-6 ΚΑΙ ΤΗΣ MMP-9 ΕΙΝΑΙ ΧΡΗΣΙΜΟΙ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΤΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ

Βρέθηκε, όπως έχει ήδη αναφερθεί στο παρελθόν [173, 199, 200], ότι στο ΠΜ υπάρχει αυξημένη οστεοκλαστική δραστηριότητα, προκαλούμενη από παράγοντες που εκκρίνονται τοπικά από νεοπλασματικά και μη κύτταρα στο μικροπεριβάλλον του μυελού. Βρέθηκε ότι η MMP-9 μπορεί να παίζει ρόλο στην επιδείνωση της οστικής νόσου στους ασθενείς με ΠΜ.

Σε αυτή τη μελέτη διαπιστώθηκε ότι τα επίπεδα της MMP-9 στα στάδια II και III ήταν υψηλότερα απ' ό,τι στο στάδιο I, αλλά συνολικά τα επίπεδά της στην ομάδα των ασθενών ήταν χαμηλότερα σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες. Αυτή η ασυμφωνία είναι δυσεξήγητη. Στους ασθενείς με ΠΜ, έχουν βρεθεί ελαττωμένα επίπεδα MMP-9 σε όγκους με αυξημένα επίπεδα συνδεκάνης-1 [201], όμως τα ελαττωμένα επίπεδα της MMP-9 δε σχετίζονται με την έκφραση της συνδεκάνης από τα νεοπλασματικά κύτταρα [202]. Τα ελαττωμένα επίπεδα της MMP-9 στους ασθενείς με ΠΜ μπορεί να οφείλονται σε ελαττωμένη παραγωγή της από άλλες φυσιολογικές πηγές, με αποτέλεσμα την τελική ελαττωμένη ποσότητά της στον ορό [201]. Έχει αναφερθεί ότι στα φυσιολογικά άτομα η κύρια πηγή παραγωγής της MMP-9 είναι τα κυκλοφορούντα λεμφοκύτταρα, ουδετερόφιλα και μονοκύτταρα, όπου πιστεύεται ότι παίζει σημαντικό φυσιολογικό ρόλο [202]. Έτσι, στους ασθενείς με ΠΜ τα νεοπλασματικά πλασματοκύτταρα μπορεί να καταστέλλουν τα παραπάνω κύτταρα. Γι' αυτή όμως την υπόθεση χρειάζεται περισσότερη μελλοντική μελέτη. Από αυτή την άποψη, τα μαστοκύτταρα μπορεί να είναι σημαντικά, καθώς έχει αναφερθεί ότι μπορούν να παράγουν MMP-9 [203] και ότι η χυμάση τους ενεργοποιεί την προ-MMP-9 [204]. Τα μαστοκύτταρα απελευθερώνουν την MMP-9 μαζί με άλλα λυτικά ένζυμα και έχουν συσχετισθεί με εξέλιξη και επιθετική συμπεριφορά του όγκου [205].

Η εξέλιξη της νόσου στους μυελωματικούς ασθενείς συνοδεύεται από αυξημένη αγγειογένεση και παραγωγή πρωτεολυτικών ενζύμων [206, 207]. Επιπλέον, η ανάπτυξη των μυελωματικών πλασματοκυττάρων ρυθμίζεται από ένα δίκτυο κυτταροκινών όπου η IL-6 παίζει κύριο ρόλο. Βρήκαμε αυξημένα επίπεδα της MMP-9 στους ασθενείς με προχωρημένη οστική

νόσο. Αυτή η παρατήρηση υποθέτει ότι η αυξημένη ενεργότητα της MMP-9 στο μυελό παίζει λειτουργικό ρόλο στις παθολογικές καταστάσεις που σχετίζονται με το ΠΜ, όπως είναι η εξέλιξη του όγκου και η οστεόλυση.

Επίσης διαπιστώθηκε ότι τα επίπεδα της MMP-9 στον ορό συσχετίζονται σημαντικά με τον εκτιμώμενο ρυθμό οστικού μεταβολισμού. Έτσι υπήρξε θετική συσχέτιση του NTx ούρων με την MMP-9 και την IL-6. Με βάση αυτό το εύρημα, μπορούμε να υποθέσουμε, σε συμφωνία με άλλους, ότι ο αυξημένος οστικός μεταβολισμός στο μυελωμα είναι το αποτέλεσμα τοπικά εκκρινόμενων παραγόντων (όπως η MMP-9) στο μικροπεριβάλλον του μυελού, που είτε αυξάνουν τον οστικό μεταβολισμό [199], είτε αυξάνουν τη βιολογική τους δράση, μέσω της MMP-9. Στην πραγματικότητα, τα δεδομένα μας έδειξαν μια τάση για άμεση συσχέτιση της MMP-9 με τα F-Pyd και F-Dpd, προτείνοντας ένα πιθανό ρόλο της MMP-9, προερχόμενη τοπικά από τα νεοπλασματικά πλασματοκύτταρα, στην οστεολυτική διαδικασία. Έχει αναφερθεί ότι η MMP-9 παίζει σημαντικό ρόλο στην οστική απορρόφηση [102, 114] και ότι η παραγωγή της από τα νεοπλασματικά πλασματοκύτταρα επιταχύνει τη διηθητικότητα και την αγγειογένεση [208]. Η τελευταία, με τη σειρά της, σχετίζεται με την πολλαπλασιαστική δραστηριότητα των μυελωματικών πλασματοκυττάρων [209].

Στη μελέτη βρέθηκε ότι τα επίπεδα της IL-6 στον ορό συσχετίζονται καλά με τα επίπεδα NTx στα ούρα και, αντίθετα με την MMP-9, και με το στάδιο της νόσου. Επίσης βρέθηκε ότι ήταν αυξημένα στους ασθενείς σε σχέση με τους μάρτυρες (σε συμφωνία με προηγούμενες αναφορές). Έτσι η μέτρηση των επιπέδων της IL-6 θα μπορούσε να είναι ένας χρήσιμος δείκτης για την παρακολούθηση της δραστηριότητας της νόσου. Είναι ενδιαφέρον ότι τα επίπεδα της IL-6 συσχετίζονται καλά και με το βαθμό οστικής νόσου στους ασθενείς με συστηματική μαστοκυττάρωση [210].

Ένα άλλο εύρημα είναι ότι οι μέσες συγκεντρώσεις των NTx, F-Pyd και F-Dpd ήταν αυξημένες στους ασθενείς με ΠΜ σε σχέση με τους μάρτυρες και ότι τα επίπεδά τους αυξάνονταν με την πρόοδο της νόσου. Επιπλέον, αυτές οι βιοχημικές παράμετροι συσχετίστηκαν με το βαθμό της οστικής νόσου.

Συμπερασματικά, βρέθηκε ότι η MMP-9 και η IL-6 στην κυκλοφορία των ασθενών με ΠΜ συσχετίζονται τόσο με το ακτινολογικό σκορ της οστικής νόσου, όσο και με το ρυθμό οστικού μεταβολισμού, όπως καθορίζεται με τους βιοχημικούς δείκτες οστικής δημιουργίας και απορρόφησης. Με βάση αυτά τα ευρήματα προτείνεται η μέτρηση των επιπέδων MMP-9 στον ορό των ασθενών με ΠΜ, αφού αυτή η εκτίμηση μπορεί να προσφέρει σημαντικές πληροφορίες για την κατάσταση της μυελωματικής νόσου, αλλά και για την κατάσταση των οστών.

Γ. ΣΧΕΣΗ ΑΓΓΕΟΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ, ΤΟΥ RANKL ΚΑΙ ΤΗΣ OPG ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η αγγειογένεση είναι ένας σημαντικός παράγοντας για την ανάπτυξη και την εξέλιξη του ΠΜ [184, 211, 212]. Διάφορες κυτταροκίνες με αγγειογενετική δραστηριότητα έχουν χαρακτηριστεί ως ισχυρά μιτογόνα [213, 214]. Η νεοαγγείωση και η ικανότητα του μικροπεριβάλλοντος του μυελού να υποστηρίξει την εξάπλωση των νεοπλασματικών κυττάρων αλλά και τις αλληλεπιδράσεις των πλασματοκυττάρων με τους οστεοκλάστες, είναι σημαντικές διεργασίες για την παθογένεια του ΠΜ [215]. Ο VEGF είναι ένα ισχυρό μιτογόνο για τα ενδοθηλιακά κύτταρα και θεωρείται ως ένα από τα πιο σημαντικά μόρια στην αγγειογένεση εξαιτίας του ρόλου του στην αγγείωση των οστικών ιστών [216]. Ένας άλλος παράγοντας με ισχυρή αγγειογενετική δραστηριότητα είναι ο HGF. Ο HGF και ο υποδοχέας του c-met εκφράζονται ταυτόχρονα στα μυελωματικά κύτταρα [217]. Στους ασθενείς με ΠΜ έχουν βρεθεί αυξημένα επίπεδα HGF στον ορό και σχετίστηκαν με κακή πρόγνωση [184, 217]. Ο HGF φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην αγγειογένεση των όγκων διεγείροντας τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων, καθώς και το σχηματισμό του τριχοειδικού σωλήνα [218].

Έχουν περιγραφεί τρεις καινούριοι δυνητικοί ρυθμιστές της λειτουργίας των ενδοθηλιακών κυττάρων και της αγγειογένεσης. Αυτοί είναι η OPG, οι συνδέτες της, ο RANKL και ο TNF-Related Apoptosis Inducing Ligand (TRAIL) [219]. Έχει διαπιστωθεί ότι η OPG εκφράζεται σε νεοαγγεία που συνδέονται με κακοήθεις όγκους καθώς και σε και νεο-μικροαγγεία που συνδέονται με φλεγμονώδεις οστεοκαταστρεπτικές ασθένειες [219, 220, 221]. Επιπλέον, η OPG μαζί με άλλους αυξητικούς παράγοντες, όπως ο VEGF, βρέθηκε να ασκούν συνεργική δράση στα σχηματισμό του αγγειακού σωλήνα από τα ενδοθηλιακά κύτταρα [222]. Δεδομένου ότι η OPG είναι ένα υποδοχέας-δόλωμα για τους παραπάνω συνδέτες της οικογένειας TNF, φαίνεται ότι ασκεί επίδραση στην αγγειογένεση μέσω της αναστολής ενός ή και των δύο αυτών μορίων. Στην πραγματικότητα, χρησιμοποιώντας κάποιον

εκ των δύο, TRAIL ή RANKL, η αγγειογενετική δραστηριότητα της OPG μπορεί να μπλοκαρισθεί. Ωστόσο, μόνο ο RANKL βρέθηκε να είναι από μόνος του αναστολέας της αγγειογένεσης. Έτσι, ο RANKL ελαττώνει τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων και επάγει την απόπτωσή τους *in vitro* [223]. Ο ρόλος του στη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και επιβίωσης διαφέρει μεταξύ των διαφόρων κυτταρικών τύπων, κυρίως λόγω του περίπλοκου δικτύου σημάτων που υπάρχουν.

Η IL-6 έχει προταθεί ως ο σημαντικότερος παράγοντας ανάπτυξης των μυελωματικών πλασματοκυττάρων. Επιπλέον, η IL-6 έχει αποδειχθεί να είναι ένας ισχυρός παράγοντας οστικής απορρόφησης και μπορεί να συμμετέχει στην ανάπτυξη οστικών βλαβών στους ασθενείς με ΠΜ [224].

Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν αυξημένα επίπεδα της OPG στους ασθενείς με ΠΜ σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ($p < 0.01$). Τα επίπεδα της OPG στον ορό τείνουν να μειώνονται στα προχωρημένα κλινικά στάδια καθώς και στην προχωρημένη οστική νόσο (τα χαμηλότερα επίπεδα OPG ορού παρατηρήθηκαν στους ασθενείς με οστική νόσο βαθμού 3). Τα υψηλότερα επίπεδα της OPG βρέθηκαν στα αρχικά κλινικά στάδια και στους ασθενείς με ελάχιστες οστικές αλλοιώσεις. Πιθανώς, στους ασθενείς όπου δε διαπιστώνεται οστική συμμετοχή, η δραστηριότητα των οστεοβλαστών εξακολουθεί να συνδέεται με την οστεοκλαστική λειτουργία. Η λειτουργία των οστεοβλαστών μειώνεται καθώς η νόσος εξελίσσεται και είναι το αποτέλεσμα κατασταλτικών δράσεων των μυελωματικών πλασματοκυττάρων [225]. Τα αποτελέσματά μας είναι σε συμφωνία με άλλες μελέτες [225, 226] όπου βρέθηκαν στον ορό αυξημένα επίπεδα της OPG, ακόμη και σε ασθενείς, χωρίς οστικές βλάβες. Σε προχωρημένα στάδια της νόσου, ο οστικός σχηματισμός και η λειτουργία των οστεοβλαστών είναι μειωμένα και δικαιολογούν τα ελαττωμένα επίπεδα της OPG στους ασθενείς με αυξημένη οστική καταστροφή [225, 226, 227]. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των επιπέδων ορού της OPG στους ασθενείς πριν και μετά την αποτελεσματική θεραπεία. Επίσης, δε βρέθηκε σημαντική συσχέτισή τους με άλλες παραμέτρους δραστηριότητας της νόσου, τόσο κατά τη διάγνωση όσο και μετά τη θεραπεία, όπως τις LDH, CRP, B2M και IL-6. Έχει αναφερθεί ότι η OPG μπλοκάρει την επαγόμενη από καρκίνο οστική καταστροφή, ύστερα από πειραματική χορήγησή της σε ποντίκια με

οστεολύσεις λόγω σαρκώματος [228]. Πιθανόν, η μείωση των επιπέδων της OPG που διαπιστώνεται, να δικαιολογεί τη χορήγησή της, για την αντιμετώπιση της οστικής νόσου στο ΠΜ [229].

Επιπλέον, βρέθηκαν αυξημένα επίπεδα του sRANKL στον ορό ασθενών με ΠΜ σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Αυτό συμφωνεί με τις περισσότερες άλλες μελέτες [225, 230]. Ο RANKL και η αναλογία RANKL/OPG, αυξάνονται σημαντικά στα προχωρημένα στάδια νόσου και στη σοβαρού βαθμού οστική νόσο. Επιπλέον, ο RANKL και η αναλογία RANKL/OPG συσχετίζονται θετικά με το κλινικό στάδιο, το βαθμό της οστικής νόσου, τις αγγειογενετικές κυτταροκίνες (HGF και VEGF) και με παράγοντες δραστηριότητας της νόσου όπως η IL-6, B2M, και LDH. Η μόνη συσχέτιση της OPG ορού ήταν με την αναλογία RANKL/OPG.

Καμία άλλη μελέτη μέχρι σήμερα δεν έχει αξιολογήσει τη συσχέτιση των επιπέδων στον ορό των OPG, RANKL και της αναλογίας τους RANKL/OPG, με αγγειογενετικές κυτταροκίνες όπως HGF, VEGF και IL-6.

Εν κατακλείδι, οι OPG και RANKL είναι κυτταροκίνες, με σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία του ΠΜ, ως ρυθμιστές του οστικού μεταβολισμού, αλλά και ως σημαντικοί μεσολαβητές της αγγειογένεσης. Ο ακριβής ρόλος της OPG και του RANKL στους μηχανισμούς της αγγειογένεσης και την οστική μυελωματική νόσο παραμένει να αποσαφηνιστεί.

Δ. ΕΠΙΠΕΔΑ ΟΣΤΕΟΠΟΝΤΙΝΗΣ ΣΤΟΝ ΟΡΟ: ΕΝΑΣ ΔΙΠΛΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΚΑΙ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗΣ

Τα αποτελέσματά ενισχύουν τα ήδη υπάρχοντα δεδομένα που υποστηρίζουν τη σημαντική σχέση μεταξύ της κυκλοφορούσας οστεοποντίνης με τη μυελική αγγειογένεση στο ΠΜ. Ορίστηκε μια cut-off τιμή 100 ng/ml που συνδέεται με προχωρημένο στάδιο νόσου αλλά και με εκτεταμένη οστική καταστροφή. Αυτός ο ορισμός θα μπορούσε να είναι χρήσιμος για τη διαχείριση των ασθενών. Η εφαρμογή των αποτελεσμάτων μας σε ποικίλες ομάδες ασθενών ίσως θα επιβεβαίωναν περισσότερο τα δεδομένα.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα δεδομένα των μετρήσεων επιβεβαιώνουν ότι η αγγειογένεση είναι ένα σημαντικό κομμάτι στην παθοφυσιολογία της εξέλιξης της μυελωματικής νόσου. Η παθοφυσιολογία της είναι μεν σύνθετη, αλλά όχι ανεξάρτητη από τη δημιουργία της οστικής νόσου, καθότι υπάρχουν πολλά μόρια που συμμετάχουν και στις δύο διαδικασίες. Έτσι η μεταλλοπρωτεΐνάση της μήτρας-9 (MMP-9), ο RANKL, η οστεοπροτεγερίνη και η οστεοποντίνη συμμετέχουν με διάφορους μηχανισμούς και στις δύο διαδικασίες και επιπλέον συσχετίζονται και με το φορτίο της νόσου, που θα οδηγούσε στο συμπέρασμα ότι παρεμβαίνουν ίσως και άμεσα στον πλασματοκυτταρικό πολλαπλασιασμό.

Είναι ενδιαφέρον ότι οι καινούριες θεραπευτικές παρεμβάσεις στη μυελωματική νόσο έχουν ξεφύγει από τη λογική της κλασικής χημειοθεραπείας, που αποσκοπεί στο να σκοτώσει μη ειδικά τα νεοπλασματικά κύτταρα, και παρεμβαίνουν ανοσορυθμιστικά στο μυελικό μικροπεριβάλλον. Η λογική αυτής της παρέμβασης έχει να κάνει με το γεγονός ότι το μυελωματικό μυελικό περιβάλλον ευνοεί την ανάπτυξη και επέκταση της νόσου και συνεπώς τροποποιώντας το ίσως να περιορισθεί και η εξέλιξη της νόσου. Από την καθημερινή κλινική πρακτική φαίνεται ότι αυτή η λογική μάλλον δουλεύει, όμως ακόμα τα πράγματα έχουν ακόμα αρκετό δρόμο.

Τα δεδομένα της μελέτης προσφέρουν πληροφορίες για παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στην αγγειογένεση και στην οστική νόσο. Επίσης η μέτρηση αυτών των παραγόντων ίσως να λειτουργούσε συμπληρωματικά στην εκτίμηση της οστικής νόσου. Τέλος η οστεοποντίνη φαίνεται να έχει και προγνωστική σημασία. Οι πληροφορίες αυτές θα μπορούσαν να βοηθήσουν στην κλινική πράξη εντοπίζοντας ομάδες ασθενών υψηλού κινδύνου, που ίσως θα απαιτούσαν διαφορετικούς θεραπευτικούς χειρισμούς. Επίσης θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως συμπληρωματικοί δείκτες ανταπόκρισης στη θεραπεία ή υποτροπής.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. American Cancer Society. Multiple myeloma 2010. <http://cancer.org/cancer/multiplemyeloma/index>
2. Jemal A, Siegel R, Ward E et al. Cancer statistics, 2007. *CA Cancer J Clin* 57: 43, 2007.
3. Ries LA, et al (eds) SEER Cancer Statistics Review, 1975-2001. National Cancer Institute: Bethesda, MD, 2004.
4. Demers PA, Vaughan JA, Koepsell TD et al. A case-control study of multiple myeloma and occupation. *Am J Ind Med* 23:629, 1993.
5. Riedel DA, Pottern LM: The epidemiology of multiple myeloma. *Hematol Oncol Clin North Am* 6:225, 1992.
6. Eriksson M. Rheumatoid arthritis as a risk factor for multiple myeloma : a case-control study. *Eur J Cancer* 29A: 259, 1993.
7. Hakulinen T, Isomaki H, Knekt P. Rheumatoid arthritis and cancer studies based on linking nationwide registries in Finland. *Am J Med* 78:29, 1985
8. Dolphin GW: A comparison of the observed and the expected cancers of the haematopoietic and lymphatic systems among workers at Windscale:A first report. Harwell, England, National Radiation Protection Board NRPB-R54, 1976.
9. Lee WJ, Hoppin JA, Blair A et al. Cancer incidence among pesticide applicators exposed to alachlor in the Agricultural Health Study. *Am J Epidemiol* 159:373, 2004.
10. Preston DI, Kusumi S, Tomonaga M et al. Cancer incidence in atomic bomb survivors. Part III. Leukemia, lymphoma and multiple myeloma, 1950-1987. *Radiat Res* 137(2 Suppl):S68-97, 1994
11. Morris PD, Koepsell TD, Daling JR et al. Toxic substance exposure and multiple myeloma: A case-control study. *J Natl Cancer Inst* 76:987, 1986.
12. Goldstein BD: Is exposure to benzene a cause of human multiple myeloma? *Ann N Y Acad Sci* 609:225, 1990.
13. Rinsky RA, Smith AB, Hornung R, et al. Benzene and leukaemia: An epidemiologic risk assessment. *N Engl J Med* 316:1044, 1987.

14. Grosbois B, Jegou P, Attal M et al. Familial multiple myeloma: report of fifteen families. *Br J Haematol* 105:768, 1999.
15. Lynch HT, Sanger WG, Pirruccello S et al. Familial multiple myeloma: A family study and review of the literature. *J Natl Cancer Inst* 93: 1479, 2001.
16. Brown LM, Linet MS, Greenberg RS et al. Multiple myeloma and family history of cancer among blacks and whites in the U.S. *Cancer* 85:2385, 1999.
17. Bakkus MH, Van Riet I, De Greef C et al. The clonogenic precursor cell in multiple myeloma. *Leuk Lymphoma* 18:221, 1995.
18. Abdou NI, Abdou NL. The monoclonal nature of lymphocytes in multiple myeloma. Effects of therapy. *Ann Intern Med* 83:42, 1975.
19. Berenson J, Wong R, Kim K et al. Evidence for peripheral blood B lymphocyte but not T lymphocyte involvement in multiple myeloma. *Blood* 70:1550, 1987.
20. Van Riet I, Heirman C, Lacor P et al. Detection of monoclonal B lymphocytes in bone marrow and peripheral blood of multiple myeloma patients by immunoglobulin gene rearrangement studies. *Br J Haematol* 73:289,1989.
21. De Vos J, Couderc G, Tarte K et al. Identifying intracellular signaling genes expressed in malignant plasma cells by using complementary DNA arrays. *Blood* 98: 771, 2001.
22. Smadja, NV, Bastard, C, Brigaudeau, C, et al. Hypodiploidy is a major prognostic factor in multiple myeloma. *Blood* 2001; 98:2229.
23. Chng WJ, Kumar S, Vanwier S et al. Molecular dissection of hyperdiploid multiple myeloma by gene expression profiling. *Cancer Res* 2007; 67:2982.
24. Chiecchio L, Protheroe RK, Ibrahim AH et al. Deletion of chromosome 13 detected by conventional cytogenetics is a critical prognostic factor in myeloma. *Leukemia* 2006; 20:1610.
25. Barlogie B, Alexanian R, Dixon D et al. Prognostic implications of tumor cell DNA and RNA content in multiple myeloma. *Blood* 1985; 66:338.

26. Fassas AB, Spencer T, Sawyer J et al. Both hypodiploidy and deletion of chromosome 13 independently confer poor prognosis in multiple myeloma. *Br J Haematol* 2002; 118:1041.
27. Fonseca R, Blood E, Rue M et al. Clinical and biologic implications of recurrent genomic aberrations in myeloma. *Blood* 2003; 101:4569.
28. Avet-Loiseau H, Facon T, Grosbois B et al. Oncogenesis of multiple myeloma: 14q32 and 13q chromosomal abnormalities are not randomly distributed, but correlate with natural history, immunological features, and clinical presentation. *Blood* 2002; 99:2185.
29. Chesi M, Bergsagel PL, Brents LA et al. Dysregulation of cyclin D1 by translocation into an IgH gamma switch region in two multiple myeloma cell lines. *Blood* 1996; 88:674.
30. Chesi M, Bergsagel PL, Shonukan OO et al. Frequent dysregulation of the c-maf proto-oncogene at 16q23 by translocation to an Ig locus in multiple myeloma. *Blood* 1998; 91:4457.
31. Ronchetti D, Finelli P, Richelda R et al. Molecular analysis of 11q13 breakpoints in multiple myeloma. *Blood* 1999; 93:1330.
32. Janssen JW, Vaandrager JW, Heuser T et al. Concurrent activation of a novel putative transforming gene, myeov, and cyclin D1 in a subset of multiple myeloma cell lines with t(11;14)(q13;q32). *Blood* 2000; 95:2691.
33. Shou Y, Martelli ML, Gabrea A et al. Diverse karyotypic abnormalities of the c-myc locus associated with c-myc dysregulation and tumor progression in multiple myeloma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97:228.
34. Avet-Loiseau H, Gerson F, Magrangeas F et al. Rearrangements of the c-myc oncogene are present in 15% of primary human multiple myeloma tumors. *Blood* 2001; 98:3082.
35. Cigudosa JC, Rao PH, Calasanz MJ et al. Characterization of nonrandom chromosomal gains and losses in multiple myeloma by comparative genomic hybridization. *Blood* 1998; 91:3007.

36. Stewart AK, Fonseca R. Prognostic and therapeutic significance of myeloma genetics and gene expression profiling. *J Clin Oncol* 2005; 23:6339.
37. Shaughnessy J, Tian E, Sawyer J et al. High incidence of chromosome 13 deletion in multiple myeloma detected by multiprobe interphase FISH. *Blood* 2000; 96:1505.
38. Schreiber S, Ackermann J, Obermair A et al. Multiple myeloma with deletion of chromosome 13q is characterized by increased bone marrow neovascularization. *Br J Haematol* 2000; 110:605.
39. Zojer N, Konigsberg R, Ackermann J et al. Deletion of 13q14 remains an independent adverse prognostic variable in multiple myeloma despite its frequent detection by interphase fluorescence in situ hybridization. *Blood* 2000; 95:1925.
40. Tricot G, Barlogie B, Jagannath S et al. Poor prognosis in multiple myeloma is associated only with partial or complete deletions of chromosome 13 or abnormalities involving 11q and not other karyotype abnormalities. *Blood* 1995; 86:4250.
41. Chang H, Sloan S, Li D et al. The t(4;14) is associated with poor prognosis in myeloma patients undergoing autologous stemcell transplant. *Br J Haematol* 2004; 125:64.
42. Drach J, Kaufmann H, Urbauer E et al. The biology of multiple myeloma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2000; 126:441.
43. Fonseca R, Blood EA, Oken MM et al. Myeloma and the t(11;14)(q13;q32); evidence for a biologically defined unique subset of patients. *Blood* 2002; 99:3735.
44. Hayman SR, Bailey RJ, Jalal SM et al. Translocations involving the immunoglobulin heavy-chain locus are possible early genetic events in patients with primary systemic amyloidosis. *Blood* 2001; 98:2266.
45. Kalakonda N, Rothwell DG, Scarffe JH, Norton JD. Detection of N-Ras codon 61 mutations in subpopulations of tumor cells in multiple myeloma at presentation. *Blood* 2001; 98:1555.
46. Liu P, Leong T, Quam L et al. Activating mutations of N- and K-ras in multiple myeloma show different clinical associations: Analysis of the

- Eastern Cooperative Oncology Group Phase III Trial. *Blood* 1996; 88:2699.
47. Corradini P, Inghirami G, Astolfi M et al. Inactivation of tumor suppressor genes, p53 and Rb1, in plasma cell dyscrasias. *Leukemia* 1994; 8:758.
 48. Drach J, Ackermann J, Fritz E et al. Presence of a p53 gene deletion in patients with multiple myeloma predicts for short survival after conventional-dose chemotherapy. *Blood* 1998; 92:802.
 49. Bergsagel PL, Kuehl WM, Zhan F et al. Cyclin D dysregulation: an early and unifying pathogenic event in multiple myeloma. *Blood* 2005; 106:296.
 50. Kulkarni MS, Daggett JL, Bender TP et al. Frequent inactivation of the cyclin-dependent kinase inhibitor p18 by homozygous deletion in multiple myeloma cell lines: ectopic p18 expression inhibits growth and induces apoptosis. *Leukemia* 2002; 16:127.
 51. Tasaka T, Berenson J, Vescio R et al. Analysis of the p16INK4A, p15INK4B and p18INK4C genes in multiple myeloma. *Br J Haematol* 1997; 96:98.
 52. Shipman CM, Croucher PI. Osteoprotegerin is a soluble decoy receptor for tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand/Apo2 ligand and can function as a paracrine survival factor for human myeloma cells. *Cancer Res* 2003; 63:912.
 53. Landowski TH, Qu N, Buyuksal I et al. Mutations in the fas antigen in patients with multiple myeloma. *Blood* 1997; 90:4266.
 54. Silvestris F, Tucci M, Cafforio P et al. Fas-L up-regulation by highly malignant myeloma plasma cells: role in the pathogenesis of anemia and disease progression. *Blood* 2001; 97:1155.
 55. Ng MH, Chung YF, Lo KW et al. Frequent hypermethylation of p16 and p15 genes in multiple myeloma. *Blood* 1997 Apr 1; 89(7):2500-2506.
 56. Klein B, Zhang XG, Lu ZY et al. Interleukin-6 in human multiple myeloma. *Blood* 1995; 85:863.
 57. Lichtenstein A, Tu Y, Fady C et al. Interleukin-6 inhibits apoptosis of malignant plasma cells. *Cell Immunol* 1995; 162:248.

58. Derenne S, Monia B, Dean NM et al. Antisense strategy shows that Mcl-1 rather than Bcl-2 or Bcl-x(L) is an essential survival protein of human myeloma cells. *Blood*. 2002; 100:194.
59. Ong F, van Nieuwkoop JA, de Groot-Swings GM et al. Bcl-2 protein expression is not related to short survival in multiple myeloma. *Leukemia* 1995; 9:1282.
60. Schwarze MM, Hawley RG. Prevention of myeloma cell apoptosis by ectopic bcl-2 expression or interleukin 6-mediated up-regulation of bcl-xL. *Cancer Res* 1995; 55:2262.
61. Ni H, Ergin M, Huang Q et al. Analysis of expression of nuclear factor kappa B (NF-kappa B) in multiple myeloma: downregulation of NF-kappa B induces apoptosis. *Br J Haematol* 2001; 115:279.
62. Annunziata CM, Davis RE, Demchenko Y et al. Frequent engagement of the classical and alternative NF-kappaB pathways by diverse genetic abnormalities in multiple myeloma. *Cancer Cell* 2007; 12:115.
63. Keats JJ, Fonseca R, Chesi M et al. Promiscuous mutations activate the noncanonical NF-kappaB pathway in multiple myeloma. *Cancer Cell* 2007; 12:131
64. Shishodia S, Aggarwal BB. Nuclear factor-kappaB activation: a question of life or death. *J Biochem Mol Biol* 2002; 35:28.
65. Bharti AC, Donato N, Singh S et al. Curcumin (diferuloylmethane) down-regulates the constitutive activation of nuclear factor-kappa B and IkappaBalpha kinase in human multiplemyeloma cells, leading to suppression of proliferation and induction of apoptosis. *Blood* 2003; 101:1053.
66. Klein B, Zhang XG, Jourdan M et al. Paracrine rather than autocrine regulation of myeloma-cell growth and differentiation by interleukin-6. *Blood* 1989; 73:517.
67. Urashima M, Chauhan D, Uchiyama H et al. CD40 ligand triggered interleukin-6 secretion in multiple myeloma. *Blood* 1995; 85:1903.
68. Dankbar B, Padro T, Leo R et al. Vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in paracrine tumor-stromal cell interactions in multiple myeloma. *Blood* 2000; 95:2630.

69. Taga T, Hibi M, Hirata Y et al. Interleukin-6 triggers the association of its receptor with a possible signal transducer, gp130. *Cell* 1989; 58:573.
70. Zollinger A, Stuhmer T, Chatterjee M et al. Combined functional and molecular analysis of tumor cell signaling defines 2 distinct myeloma subgroups: Akt-dependent and Akt-independent multiple myeloma. *Blood* 2008; 112:3403.
71. Hideshima T, Nakamura N, Chauhan et al. Biologic sequelae of interleukin-6 induced PI3-K/Akt signaling in multiple myeloma. *Oncogene* 2001; 20:5991.
72. Sharma S, Nemeth E, Chen YH et al. Involvement of hepcidin in the anemia of multiple myeloma. *Clin Cancer Res* 2008; 14:3262.
73. Akiyama M, Hideshima T, Hayashi T et al. Cytokines modulate telomerase activity in a human multiple myeloma cell line. *Cancer Res* 2002; 62:3876.
74. Bisping G, Leo R, Wenning D et al. Paracrine interactions of basic fibroblast growth factor and interleukin-6 in multiple myeloma. *Blood* 2003; 101:2775
75. Trudel S, Ely S, Farooqi Y et al. Inhibition of fibroblast growth factor receptor 3 induces differentiation and apoptosis in t(4;14) myeloma. *Blood* 2004; 103:3521
76. Urashima M, Ogata A, Chauhan D et al. Transforming growth factor-beta1: differential effects on multiple myeloma versus normal B cells. *Blood* 1996; 87:1928
77. Bang S, Jeong EJ, Kim IK et al. Fas- and tumor necrosis factor-mediated apoptosis uses the same binding surface of FADD to trigger signal transduction. A typical model for convergent signal transduction. *J Biol Chem* 2000; 275:36217.
78. Badrichani AZ, Stroka DM, Bilbao G et al. Bcl-2 and Bcl-XL serve an anti-inflammatory function in endothelial cells through inhibition of NF-kappaB. *J Clin Invest* 1999; 103:543.
79. Hideshima T, Chauhan D, Schlossman RL et al. Role of TNF-a in the pathophysiology of human multiple myeloma: therapeutic applications. *Oncogene* 2001; 20:4519.

80. Chauhan D, Uchiyama H, Akbarali Y et al. Multiple myeloma cell adhesion-induced interleukin-6 expression in bone marrow stromal cells involves activation of NF- κ B. *Blood* 1996; 87:1104.
81. Sanz-Rodriguez F, Hidalgo A, Teixido J. Chemokine stromal cell-derived factor-1 α modulates VLA-4 integrin-mediated multiple myeloma cell adhesion to CS-1/fibronectin and VCAM-1. *Blood* 2001; 97:346.
82. Harada H, Kawano MM, Huang N et al. Phenotypic difference of normal plasma cells from mature myeloma cells. *Blood* 1993; 81:2658.
83. Burger R, Bakker F, Guenther A et al. Functional significance of novel neurotrophin-1/B cell-stimulating factor-3 (cardiotrophin-like cytokine) for human myeloma cell growth and survival. *Br J Haematol* 2003; 123:869.
84. Brenne AT, Ro TB, Waage A et al. Interleukin-21 is a growth and survival factor for human myeloma cells. *Blood* 2002; 99:3756.
85. Vacca A, Ribatti D, Roncali L et al. Bone marrow angiogenesis and progression in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 1994 ;87:503-8.
86. Vacca A, Ria R, Ribatti D et al. A paracrine loop in the vascular endothelial growth factor pathway triggers tumor angiogenesis and growth in multiple myeloma. *Haematologica*. 2003;88:176-185.
87. Dankbar B, Padró T, Leo R et al. Vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in paracrine tumor-stromal cell interactions in multiple myeloma. *Blood*. 2000;95:2630-2636.
88. Vacca A, Ribatti D, Presta M et al. Bone marrow neovascularization, plasma cell angiogenic potential, and matrix metalloproteinase-2 secretion parallel progression of human multiple myeloma. *Blood*. 1999;93:3064-73
89. Bisping G, Leo R, Wenning D et al. Paracrine interactions of basic fibroblast growth factor and interleukin-6 in multiple myeloma. *Blood*. 2003;101:2775-83.
90. Witzig TE, Kimlinger T, Stenson M et al. Syndecan-1 expression on malignant cells from the blood and marrow of patients with plasma cell proliferative disorders and B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 1998;31:167-75.

91. Borset M, Lien E, Espevik T et al. Concomitant expression of hepatocyte growth factor/scatter factor and the receptor c-MET in human myeloma cell lines. *J Biol Chem.* 1996 ;271:24655-61.
92. Børset M, Hjorth-Hansen H, Seidel C et al. Hepatocyte growth factor and its receptor c-met in multiple myeloma. *Blood.* 1996;88:3998-4004.
93. Giuliani N, Colla S, Lazzaretti M et al. Proangiogenic properties of human myeloma cells: production of angiopoietin-1 and its potential relationship to myeloma-induced angiogenesis. *Blood.* 2003;102:638-45.
94. Seidel C, Børset M, Turesson I et al. Elevated serum concentrations of hepatocyte growth factor in patients with multiple myeloma. The Nordic Myeloma Study Group. *Blood.* 1998;91:806-812.
95. Kuku I, Bayraktar MR, Kaya E et al. Serum proinflammatory mediators at different periods of therapy in patients with multiple myeloma. *Mediators Inflamm.* 2005;2005:171-4.
96. Cheriya V, Hussein MA. Osteopontin, angiogenesis and multiple myeloma. *Leukemia.* 2005;19:2203-5.
97. Colla S, Morandi F, Lazzaretti M et al. Human myeloma cells express the bone regulating gene Runx2/Cbfa1 and produce osteopontin that is involved in angiogenesis in multiple myeloma patients. *Leukemia.* 2005;19:2166-2176.
98. Nemeth JA, Yousif R, Herzog M, et al. Matrix metalloproteinase activity, bone matrix turnover, and tumor cell proliferation in prostate cancer bone metastasis. *J Natl Cancer Inst.* 2002;94:17-25.
99. Ko HM, Park YM, Jung B, et al. Involvement of matrix metalloproteinase-9 in platelet-activating factor-induced angiogenesis. *FEBS Lett.* 2005;579:2369-2375.
100. Vande Broek I, Asosingh K, Allegaert V, et al. Bone marrow endothelial cells increase the invasiveness of human multiple myeloma cells through upregulation of MMP-9: evidence for a role of hepatocyte growth factor. *Leukemia.* 2004;18:976-982.
101. Coussens LM, Werb Z. Matrix metalloproteinases and the development of cancer. *Chem Biol.* 1996;3:895-904.

102. Barillé S, Akhoundi C, Collette M, et al. Metalloproteinases in multiple myeloma: production of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), activation of proMMP-2, and induction of MMP-1 by myeloma cells. *Blood*. 1997;90:1649-1655.
103. Kelly T, Børset M, Abe E, et al. Matrix metalloproteinases in multiple myeloma. *Leuk Lymphoma*. 2000;37:273-281.
104. Van Valckenborgh E, Bakkus M, Munaut C, et al. Upregulation of matrix metalloproteinase-9 in murine 5T33 multiple myeloma cells by interaction with bone marrow endothelial cells. *Int J Cancer*. 2002;101:512-518.
105. Kumta SM, Huang L, Cheng YY, et al. Expression of VEGF and MMP-9 in giant cell tumor of bone and other osteolytic lesions. *Life Sci*. 2003;73:1427-1436.
106. Westermarck J, Kähäri VM. Regulation of matrix metalloproteinase expression in tumor invasion. *FASEB J*. 1999;13:781-792.
107. Benbow U, Schoenermark MP, Mitchell TI, et al. A novel host/tumor cell interaction activates matrix metalloproteinase 1 and mediates invasion through type I collagen. *J Biol Chem*. 1999;274:25371-25378.
108. Kurizaki T, Toi M, Tominaga T. Relationship between matrix metalloproteinase expression and tumor angiogenesis in human breast carcinoma. *Oncol Rep*. 1998;5:673-677.
109. Harvey P, Clark IM, Jaurand MC, et al. Hepatocyte growth factor/scatter factor enhances the invasion of mesothelioma cell lines and the expression of matrix metalloproteinases. *Br J Cancer*. 2000 Nov;83(9):1147-53.
110. Engsig MT, Chen QJ, Vu TH, et al. Matrix metalloproteinase 9 and vascular endothelial growth factor are essential for osteoclast recruitment into developing long bones. *J Cell Biol*. 2000;151:879-889.
111. Bataille R, Chappard D, Basle M. Excessive bone resorption in human plasmacytomas: direct induction by tumour cells in vivo. *Br J Haematol*. 1995;90:721-724.

112. Derksen PW, de Gorter DJ, Meijer HP, et al. The hepatocyte growth factor/Met pathway controls proliferation and apoptosis in multiple myeloma. *Leukemia*. 2003;17:764-774.
113. Abildgaard N, Glerup H, Rungby J, et al. Biochemical markers of bone metabolism reflect osteoclastic and osteoblastic activity in multiple myeloma. *Eur J Haematol*. 2000;64:121-129.
114. Corso A, Arcaini L, Mangiacavalli S, et al. Biochemical markers of bone disease in asymptomatic early stage multiple myeloma. A study on their role in identifying high risk patients. *Haematologica*. 2001;86:394-398.
115. Fonseca R, Trendle MC, Leong T, et al. Prognostic value of serum markers of bone metabolism in untreated multiple myeloma patients. *Br J Haematol*. 2000;109:24-29.
116. Barillé S, Akhoundi C, Collette M et al. Metalloproteinases in multiple myeloma: production of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), activation of proMMP-2, and induction of MMP-1 by myeloma cells. *Blood*. 1997; 90:1649-1655.
117. Kuehl WM, Bergsagel PL. Multiple myeloma: evolving genetic events and host interactions. *Nat Rev Cancer*. 2002;2:175-87
118. Damiano JS, Cress AE, Hazlehurst LA et al. Cell adhesion mediated drug resistance (CAM-DR): role of integrins and resistance to apoptosis in human myeloma cell lines. *Blood*. 1999;93:1658-67.
119. Hazlehurst LA, Damiano JS, Buyuksal I et al. Adhesion to fibronectin via beta1 integrins regulates p27kip1 levels and contributes to cell adhesion mediated drug resistance (CAM-DR). *Oncogene*. 2000;19(38):4319-27.
120. Hazlehurst LA, Enkemann SA, Beam CA et al. Genotypic and phenotypic comparisons of de novo and acquired melphalan resistance in an isogenic multiple myeloma cell line model. *Cancer Res*. 2003;63:7900-6.
121. Hideshima T, Chauhan D, Schlossman R et al. The role of tumor necrosis factor alpha in the pathophysiology of human multiple myeloma: therapeutic applications. *Oncogene*. 2001;20:4519-4527.

122. Ferlin M, Noraz N, Hertogh C et al. Insulin-like growth factor induces the survival and proliferation of myeloma cells through an interleukin-6-independent transduction pathway. *Br J Haematol.* 2000;111:626-634.
123. Gupta D, Treon SP, Shima Y et al. Adherence of multiple myeloma cells to bone marrow stromal cells upregulates vascular endothelial growth factor secretion: therapeutic applications. *Leukemia.* 2001;15:1950-1961.
124. Pellegrino A, Ria R, Di Pietro G et al. Bone marrow endothelial cells in multiple myeloma secrete CXC-chemokines that mediate interactions with plasma cells. *Br J Haematol.* 2005;129:248-256.
125. Vacca A, Ria R, Semeraro F et al. Endothelial cells in the bone marrow of patients with multiple myeloma. *Blood.* 2003;102:3340-3348.
126. Rothschild BM, Hershkovitz I, Dutour O. Clues potentially distinguishing lytic lesions of multiple myeloma from those of metastatic carcinoma. *Am J Phys Anthropol.* 1998;105:241-250.
127. Zink A, Rohrbach H, Szeimies U, et al. Malignant tumors in an ancient Egyptian population. *Anticancer Res.* 1999;19:4273-4277.
128. Capasso LL. Antiquity of cancer. *Int J Cancer.* 2005;113:2-13.
129. Solly S. Remarks on the pathology of mollities ossium; with cases. *Med Chir Trans.* 1844;27:435-498.8.
130. Gupta D et al. Adherence of multiple myeloma cells to bone marrow stromal cells upregulates vascular endothelial growth factor secretion: Therapeutic applications. *Leukemia.* 2001;15:1950–1961.
131. Edwards, CM, Zhuang J, Mundy GR. The pathogenesis of the bone disease of multiple myeloma. *Bone.* 2008;42: 1007–1013.
132. Esteve FR, Roodman GD. Pathophysiology of myeloma bone disease. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2007; 20: 613–624.
133. Roodman GD. Biology of osteoclast activation in cancer. *J Clin Oncol.* 2001;19:3562–3571.
134. Roodman GD. Mechanisms of bone metastasis. *N Engl J Med.* 2004;350: 655–1664.

135. Farrugia AN, et al. Receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand expression by human myeloma cells mediates osteoclast formation in vitro and correlates with bone destruction in vivo. *Cancer Res.* 2003;63:5438–5445.
136. Heider U, et al.. Expression of receptor activator of NF-kappaB ligand (RANKL) mRNA in human multiple myeloma cells. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2004;130: 469–474.
137. Jakob C, et al. Serum levels of total-RANKL in multiple myeloma. *Clin Lymph Myeloma.* 2009;9:430–435.
138. Giuliani N, et al. Myeloma cells induce imbalance in the osteoprotegerin/osteoprotegerin ligand system in the human bone marrow environment. *Blood.* 2001;98:3527–3533.
139. Standal T et al. Osteoprotegerin is bound, internalized, and degraded by multiple myeloma cells. *Blood.* 2002;100:3002–3007.
140. Croucher PI et al. Osteoprotegerin inhibits the development of osteolytic bone disease in multiple myeloma. *Blood.* 2001;98:3534–3540.
141. Abe M et al. Role for macrophage inflammatory protein (MIP)-1alpha and MIP-1beta in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma. *Blood.* 2002;100: 2195–2202.
142. Choi SJ, et al. Macrophage inflammatory protein 1-alpha is a potential osteoclast stimulatory factor in multiple myeloma. *Blood* 2000;96:671–675.
143. Hashimoto T, et al. Ability of myeloma cells to secrete macrophage inflammatory protein (MIP)-1alpha and MIP-1beta correlates with lytic bone lesions in patients with multiple myeloma. *Br J Haematol.* 2004;125:38–41.
144. Roussou M, et al. Increased expression of macrophage inflammatory protein-1alpha on trephine biopsies correlates with extensive bone disease, increased angiogenesis and advanced stage in newly diagnosed patients with multiple myeloma. *Leukemia* 2009;23: 2177–2181.
145. Terpos E, et al. Serum levels of macrophage inflammatory protein-1 alpha (MIP-1alpha) correlate with the extent of bone disease

- and survival in patients with multiple myeloma. *Br J Haematol.* 2003;123:106–109.
146. Choi S J, et al. Antisense inhibition of macrophage inflammatory protein 1-alpha blocks bone destruction in a model of myeloma bone disease. *J Clin Invest.* 2001 ;108:1833–1841.
147. Lentzsch S, et al. Macrophage inflammatory protein 1-alpha (MIP-1 alpha) triggers migration and signaling cascades mediating survival and proliferation in multiple myeloma (MM) cells. *Blood.* 2003;101:3568–3573.
148. Oyajobi BO, et al. Dual effects of macrophage inflammatory protein-1alpha on osteolysis and tumor burden in the murine5TGM1model of myeloma bone disease. *Blood.* 2003;102:311–319.
149. Rawadi G, et al. BMP-2 controls alkaline phosphatase expression and osteoblast mineralization by a Wnt autocrine loop. *J. Bone Miner Res.* 2003;18:1842–1853.
150. Heath DJ, et al.. Inhibiting Dickkopf-1 (Dkk1) removes suppression of bone formation and prevents the development of osteolytic bone disease in multiple myeloma. *J Bone Miner Res.* 2009;24:425–436.
151. Yaccoby S, et al. Antibody-based inhibition of DKK1 suppresses tumor-induced bone resorption and multiple myeloma growth in vivo. *Blood* 2007;109:2106–2111.
152. Franceschi RT, Xiao G. Regulation of the osteoblast-specific transcription factor, Runx2: Responsiveness to multiple signal transduction pathways. *J Cell Biochem.* 2003;88:446–454.
153. Giuliani N, et al. Myeloma cells block RUNX2/CBFA1 activity in human bone marrow osteoblast progenitors and inhibit osteoblast formation and differentiation. *Blood.* 2005;106:2472–2483.
154. Epstein J, Walker R. Myeloma and bone disease: “the dangerous tango”. *Clin Adv Hematol Oncol.* 2006;4:300–306.
155. Corre J, Mahtouk K, Attal M, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells are abnormal in multiple myeloma. *Leukemia.* 2007;21:1079–1088.

156. Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE et al. Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clin Proc.* 2003;78:21,.
157. 'Sa S, Abildgaard N, Tighe J et al. Guidelines for the use of imaging in the management of myeloma. *Br J Haematol.* 2007;137:49.
158. Kyle RA. Multiple myeloma: Review of 869 cases. *Mayo Clin Proc.* 1975;50:29.
159. Angtuaco EJ, Fassas AB, Walker R et al. Multiple myeloma: clinical review and diagnostic imaging. *Radiology.* 2004;231:11.
160. Baur A, Stabler A, Nagel D et al. Magnetic resonance imaging as a supplement for the clinical staging system of Durie and Salmon? *Cancer.* 2002;95:1334.
161. Mariette X, Zagdanski A-M, Guermazi A et al. Prognostic value of vertebral lesions detected by magnetic resonance imaging in patients with stage I multiple myeloma. *Br J Haematol.* 1999;104:723.
162. Walker R, Barlogie B, Haessler J et al. Magnetic resonance imaging in multiple myeloma: diagnostic and clinical implications. *J Clin Oncol.* 2007;25:1121.
163. Durie BG, Nguyen K, Joselson M et al. Technetium-99-MIBI scanning in multiple myeloma: Comparison with PET (FDG) scanning. *Cancer Res Ther Control.* 1998;6:93.
164. el-Shirbiny AM, Yeung H, Imbriaco M et al. Technetium-99m-MIBI versus fluorine-18-FDG in diffuse multiple myeloma. *J Nucl Med.* 1997;38:1208.
165. Bredella MA, Steinbach L, Caputo G et al. Value of FDG PET in the Assessment of Patients with Multiple Myeloma. *AJR Am J Roentgenol.* 2005;184:1199.
166. Woitge HW, Pecherstorfer M, Horn E et al. Serum bone sialoprotein as a marker of tumour burden and neoplastic bone involvement and as a prognostic factor in multiple myeloma. *Br J Cancer.* 2001;84:344.
167. Dizdar O, Barista I, Kalyoncu U et al. Biochemical markers of bone turnover in diagnosis of myeloma bone disease. *Am J Hematol.* 2007;82:185.

168. Alexandrakis MG, Kyriakou DS, Passam FH, et al. Urinary N-telopeptide levels in multiple myeloma patients, correlation with Tc-99m-sestaMIBI scintigraphy and other biochemical markers of disease activity. *Hematol Oncol.* 2003;21:17-24.
169. Hanson DA, Weis MA, Bollen AM, et al. A specific immunoassay for monitoring human bone resorption: quantitation of type I collagen cross-linked N-telopeptides in urine. *J Bone Miner Res.* 1992;7:1251-1258.
170. Lipton A, Demers L, Curley E, et al. Markers of bone resorption in patients treated with pamidronate. *Eur J Cancer.* 1998;34:2021-2026.
171. Melkko J, Niemi S, Risteli L, Risteli J. Radioimmunoassay of the carboxyterminal propeptide of human type I procollagen. *Clin Chem.* 1990;36:1328-1332.
172. Buxbaum J. Mechanism of disease: monoclonal immunoglobulin deposition: Amyloidosis, light chain deposition disease, and light and heavy chain deposition disease. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1992;6:323.
173. Petersen SL, Wagner A, Gimsing P. Cerebral and meningeal multiple myeloma after autologous stem cell transplantation. A case report and review of the literature. *Am J Hematol.* 1999;62:228.
174. Chamberlain MC, Glantz M. Myelomatous meningitis. *Cancer.* 2008 ;112:1562.
175. Kwan L, Wang C, Levitt L. Hyperammonemic encephalopathy in multiple myeloma. *N Engl J Med.* 2002 ;346:1674.
176. Otsuki T, Yamada O, Sakaguchi H et al. In vitro excess ammonia production in human myeloma cell lines. *Leukemia.* 1998;12:1149.
177. Kyle R. Multiple Myeloma and other plasma cell disorders. In Hoffman R (ed): *Hematology : Basic and Principles and Practice*, 2nd ed Churchill Livingstone, New York, p 1354, 1995.
178. Alexanian R, Franschini G, Smith L. Amyloidosis in multiple myeloma or without apparent cause. *Arch Intern Med.* 1984;144: 2158.
179. Desikan KR, Dhodapkar MV, Hough A et al. Incidence and impact of light chain associated (AL) amyloidosis on the prognosis of patients

- with multiple myeloma treated with autologous transplantation. *Leuk Lymphoma*. 1997;27:315.
180. Pratt G, Goodyear O, Moss P. Immunodeficiency and immunotherapy in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2007;138:563.
 181. Augustson BM, Begum G, Dunn JA et al. Early mortality after diagnosis of multiple myeloma: analysis of patients entered onto the United Kingdom Medical Research Council trials between 1980 and 2002--Medical Research Council Adult Leukaemia Working Party. *J Clin Oncol*. 2005;23:9219.
 182. Perri RT, Hebbel RP, Oken MM. Influence of treatment and response status on infection risk in multiple myeloma. *Am J Med*. 1981;71:935.
 183. Ribatti D, Vacca A, Nico B, et al. Bone marrow angiogenesis and mast cell density increase simultaneously with progression of human multiple myeloma. *Br J Cancer*. 1999;79:451-455.
 184. Alexandrakis MG, Passam FJ, Ganotakis E, et al. Bone marrow microvascular density and angiogenic growth factors in multiple myeloma. *Clin Chem Lab Med*. 2004;42:1122-1126.
 185. Di Raimondo F, Azzaro MP, Palumbo G, et al. Angiogenic factors in multiple myeloma: higher levels in bone marrow than in peripheral blood. *Haematologica*. 2000;85:800-805.
 186. Niesvizky R, Warrell RP Jr. Pathophysiology and management of bone disease in multiple myeloma. *Cancer Invest*. 1997;15:85-90
 187. Roodman GD. Role of the bone marrow microenvironment in multiple myeloma. *J Bone Miner Res*. 2002;17:1921-1925.
 188. Ribatti D, Surico G, Vacca A, et al. Angiogenesis extent and expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 correlate with progression in human neuroblastoma. *Life Sci*. 2001;68:1161-1168.
 189. Rosen HN, Dresner-Pollak R, Moses AC, et al. Specificity of urinary excretion of cross-linked N-telopeptides of type I collagen as a marker of bone turnover. *Calcif Tissue Int*. 1994;54:26-29.
 190. Sfiridaki A, Miyakis S, Tsirakis G, et al. Systemic levels of interleukin-6 and matrix metalloproteinase-9 in patients with multiple

- myeloma may be useful as prognostic indexes of bone disease. Clin Chem Lab Med. 2005;43:934-9348.
191. Sounni NE, Devy L, Hajitou A, et al. MT1-MMP expression promotes tumor growth and angiogenesis through an up-regulation of vascular endothelial growth factor expression. FASEB J. 2002;16:555-564.
 192. Stetler-Stevenson WG, Liotta LA, Kleiner DE Jr. Extracellular matrix 6: role of matrix metalloproteinases in tumor invasion and metastasis. FASEB J. 1993;7:1434-1441.
 193. Stoker M, Gherardi E, Perryman M, Gray J. Scatter factor is a fibroblast-derived modulator of epithelial cell mobility. Nature. 1987;327:239-242.
 194. Alexandrakis MG, Passam FH, Sfiridaki A, et al. Elevated serum concentration of hepatocyte growth factor in patients with multiple myeloma: correlation with markers of disease activity. Am J Hematol. 2003;72:229-233.
 195. Bottaro DP, Rubin JS, Faletto DL, et al. Identification of the hepatocyte growth factor receptor as the c-met proto-oncogene product. Science. 1991;251:802-804.
 196. Borset M, Lien E, Espevik T, et al. Concomitant expression of hepatocyte growth factor/scatter factor and the receptor c-MET in human myeloma cell lines. J Biol Chem. 1996;271:24655-24661.
 197. Børset M, Hjorth-Hansen H, Seidel C, et al. Hepatocyte growth factor and its receptor c-met in multiple myeloma. Blood. 1996;88:3998-4004.
 198. Nakamura T. Structure and function of hepatocyte growth factor. Prog Growth Factor Res. 1991;3:67-85.
 199. Mundy GR. Myeloma bone disease. Eur J Cancer. 1998;34:246-251.
 200. Anderson KC, Lust JA. Role of cytokines in multiple myeloma. Semin Hematol. 1999 ;36(1 Suppl 3):14-20.
 201. Dhodapkar MV, Kelly T, Theus A, et al. Elevated levels of shed syndecan-1 correlate with tumour mass and decreased matrix

- metalloproteinase-9 activity in the serum of patients with multiple myeloma. *Br J Haematol.* 1997;99:368-371.
202. Kaushal GP, Xiong X, Athota AB, et al. Syndecan-1 expression suppresses the level of myeloma matrix metalloproteinase-9. *Br J Haematol.* 1999;104:365-373.
203. Tanaka A, Matsuda H. IgE crosslinkage of Fcεpsilon receptor I induces both production and activation of matrix metalloproteinase-9 in mast cells. *Cell Immunol.* 2004;228:66-75.
204. Tchougounova E, Lundquist A, Fajardo I, et al. A key role for mast cell chymase in the activation of pro-matrix metalloproteinase-9 and pro-matrix metalloproteinase-2. *J Biol Chem.* 2005;280:9291-9296.
205. Theoharides TC, Conti P. Mast cells: the Jekyll and Hyde of tumor growth. *Trends Immunol.* 2004;25:235-241.
206. Vacca A, Ribatti D, Presta M, et al. Bone marrow neovascularization, plasma cell angiogenic potential, and matrix metalloproteinase-2 secretion parallel progression of human multiple myeloma. *Blood.* 1999;93:3064-3073.
207. Alexandrakis MG, Passam FH, Dambaki C, et al. The relation between bone marrow angiogenesis and the proliferation index Ki-67 in multiple myeloma. *J Clin Pathol.* 2004;57:856-860.
208. Vacca A, Ribatti D, Roccaro AM, et al. Bone marrow angiogenesis and plasma cell angiogenic and invasive potential in patients with active multiple myeloma. *Acta Haematol.* 2001;106:162-169.
209. Alexandrakis MG, Passam FH, Pappa CA, et al. Expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in multiple myeloma: its relationship to bone marrow microvessel density and other factors of disease activity. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2004;17:49-56.
210. Theoharides TC, Boucher W, Spear K. Serum interleukin-6 reflects disease severity and osteoporosis in mastocytosis patients. *Int Arch Allergy Immunol.* 2002 ;128:344-350.
211. Rajkumar SV, Leong T, Roche PC, et al. Dispenzieri A, Lacy MQ, Lust JA, Witzig TE, Kyle RA, Gertz MA, Greipp PR. Prognostic

- value of bone marrow angiogenesis in multiple myeloma. *Clin Cancer Res.* 2000; 6:3111-3116.
212. Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. *J Biol Chem.* 1992; 267:10931-10934.
213. Alexandrakis MG, Passam FH, Boula A, et al. Relationship between circulating serum soluble interleukin-6 receptor and the angiogenic cytokines basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor in multiple myeloma. *Ann Hematol.* 2003; 82:19-23.
214. Sezer O, Jakob C, Eucker J, et al. Serum levels of the angiogenic cytokines basic fibroblast growth factor (bFGF), vascular endothelial growth factor (VEGF) and hepatocyte growth factor (HGF) in multiple myeloma. *Eur J Haematol.* 2001; 66:83-88.
215. Yaccoby S, Pearse RN, Johnson CL, et al. Myeloma interacts with the bone marrow microenvironment to induce osteoclastogenesis and is dependent on osteoclast activity. *Br J Haematol.* 2002; 116:278-290.
216. Carlevaro MF, Cermelli S, Cancedda R, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in cartilage neovascularization and chondrocyte differentiation: auto-paracrine role during endochondral bone formation. *J Cell Sci.* 2000; 113:59-69.
217. Seidel C, Børset M, Turesson I, et al. Elevated serum concentrations of hepatocyte growth factor in patients with multiple myeloma. The Nordic Myeloma Study Group. *Blood.* 1998; 91:806-812.
218. Grant DS, Kleinman HK, Goldberg ID, et al. Scatter factor induces blood vessel formation in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993; 90:1937-1941.
219. Pritzker LB, Scatena M, Giachelli CM. The role of osteoprotegerin and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in human microvascular endothelial cell survival. *Mol Biol Cell.* 2004; 15:2834-2841.

220. Cross SS, Yang Z, Brown NJ, et al. Osteoprotegerin (OPG)-a potential new role in the regulation of endothelial cell phenotype and tumour angiogenesis? *Int J Cancer*. 2006; 118:1901-1908.
221. Haynes DR, Barg E, Crotti TN, et al. Osteoprotegerin expression in synovial tissue from patients with rheumatoid arthritis, spondyloarthropathies and osteoarthritis and normal controls. *Rheumatology (Oxford)*. 2003; 42:123-134.
222. Reid PE, Brown NJ, Holen I. Breast cancer cells stimulate osteoprotegerin (OPG) production by endothelial cells through direct cell contact. *Mol Cancer*. 2009; 8:49.
223. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*. 1997; 89:309-319.
224. Lauta VM. A review of the cytokine network in multiple myeloma: diagnostic, prognostic, and therapeutic implications. *Cancer*. 2003; 97:2440-2452.
225. Goranova-Marinova V, Goranov S, Pavlov P, Tzvetkova T. Serum levels of OPG, RANKL and RANKL/OPG ratio in newly-diagnosed patients with multiple myeloma. Clinical correlations. *Haematologica*. 2007; 92:1000-1001.
226. Corso A, Dovio A, Rusconi C, et al. Sartori ML, Klersy C, Varettoni M, et al. Osteoprotegerin serum levels in multiple myeloma and MGUS patients compared with age- and sex-matched healthy controls. *Leukemia*. 2004; 18:1555-1557.
227. Bataille R, Chappard D, Marcelli C, et al. Mechanisms of bone destruction in multiple myeloma: the importance of an unbalanced process in determining the severity of lytic bone disease. *J Clin Oncol*. 1989; 7:1909-1914.
228. Honore P, Luger NM, Sabino MA, et al. Osteoprotegerin blocks bone cancer-induced skeletal destruction, skeletal pain and pain-related neurochemical reorganization of the spinal cord. *Nat Med*. 2000; 6:521-528.

229. Seidel C, Hjertner Ø, Abildgaard N, et al. Nordic Myeloma Study Group. Serum osteoprotegerin levels are reduced in patients with multiple myeloma with lytic bone disease. *Blood*. 2001; 98:2269-2271.
230. Terpos E, Szydlo R, Apperley JF, et al. Soluble receptor activator of nuclear factor kappaB ligand-osteoprotegerin ratio predicts survival in multiple myeloma: proposal for a novel prognostic index. *Blood*. 2003 1;102:1064-1069.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Πίνακας 1: Διάγνωση του ΠΜ

Θα πρέπει να υπάρχουν τα τρία παρακάτω κριτήρια για τη διάγνωση του συμπτωματικού μυελώματος:

1. Η παρουσία Μ πρωτεΐνης στον ορό και /ή στα ούρα.

Σημείωση: δε χρησιμοποιείται ειδικό επίπεδο Μ πρωτεΐνης σαν κατώτερη τιμή αφού το 40% των ασθενών με συμπτωματικό μυέλωμα θα έχουν επίπεδα Μ πρωτεΐνης λιγότερο από 3 g/dL. Επίσης στο πραγματικό μη εκκριτικό μυέλωμα (σχεδόν το 3% των διαγνώσεων) η Μ πρωτεΐνη δε θα ανιχνεύεται στον ορό ή στα ούρα. Σ' αυτή την περίπτωση απαιτούνται $\geq 30\%$ μονοκλωνικά πλασματοκύτταρα στο μυελό ή/και ιστολογικά επιβεβαιωμένο πλασμοκύττωμα.

2. Η παρουσία $\geq 10\%$ μονοκλωνικών πλασματοκυττάρων στο μυελό.

Σημείωση: σχεδόν το 3% των ασθενών μπορεί να έχει λιγότερο από 10% πλασματοκύτταρα, αφού η συμμετοχή του μυελού των οστών μπορεί να είναι τοπική και όχι διάχυτη. Σε αυτές τις περιπτώσεις, αν πληρούνται άλλα διαγνωστικά κριτήρια, η διάγνωση μπορεί να γίνει μετά από ιστοπαθολογική επιβεβαίωση οστικού ή εξωοστικού πλασμοκυττώματος. Επίσης θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν η επανάληψη της βιοψίας.

3. Η συμμετοχή βλάβης οργάνου ή ιστού

Μπορεί να προκαλέσει αύξηση των επιπέδων του ασβεστίου του πλάσματος (>10.5 mg/l), νεφρική ανεπάρκεια (Κρεατινίνη ορού >2 mg/dl), αναιμία (Hb <10 g/dl ή $2g$ > από την κατώτερη φυσιολογική τιμή), και οστικές λυτικές βλάβες ανιχνεύσιμες με ακτινογραφικό έλεγχο (αποκαλείται συχνά με το ακρωνύμιο CRAB- increased plasma Calcium level, Renal insufficiency, Anemia and lytic Bone lesions).

Από το: Smith A, Wisloff F, Samson D. Guidelines on the diagnosis and management of multiple myeloma 2005. Br J Haematol 132:410, 2006.

Πίνακας 2: Σταδιοποίηση του ΠΜ

Σταδιοποίηση κατά Durie-Salmon

Στάδιο I:

- Χαμηλά επίπεδα M- πρωτεΐνης : IgG<5g/dL, IgA<3g/dL, BJ ούρων <4 g/24hr
- Απουσία ή μονήρης οστική βλάβη
- Φυσιολογική αιμοσφαιρίνη, ασβέστιο ορού, επίπεδα Ig (όχι M πρωτεΐνη)

Στάδιο II:

- Όλες οι τιμές μεταξύ I και II

Στάδιο III: Ένα ή περισσότερα από τα παρακάτω:

- Υψηλά επίπεδα M πρωτεΐνης: IgG>7g/dL, IgA>5g/dL, ελαφρές άλυστοι ούρων >12 g/24hr
- Προχωρημένες, πολλαπλές λυτικές οστικές βλάβες
- Αιμοσφαιρίνη <8,5g/ dL, ασβέστιο ορού >12 mg/dL

Υποταξινόμηση: Βασισμένη στη νεφρική λειτουργία

A= κρεατινίνη ορού <2 mg/dL, B= κρεατινίνη ορού ≥2 mg/dL

Από το: 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. 36:842, 1975.

Πίνακας 3: Βαθμονόμηση οστικής νόσου με βάση την ακτινολογική εικόνα

Βαθμός 0: Φυσιολογικός ακτινολογικός έλεγχος.

Βαθμός 1: Διάχυτη οστεοπόρωση.

Βαθμός 2: Ελάχιστες οστεολυτικές βλάβες (σε μονήρες οστό)

Βαθμός 3: Εκτεταμένες οστεολυτικές βλάβες, χωρίς παθολογικά κατάγματα (σε πολλαπλά οστά)

Βαθμός 4: Παθολογικά κατάγματα

Με βάση το συνήθη ακτινογραφικό έλεγχο στο κρανίο, σπονδυλική στήλη, λεκάνης, βραχιονίων και μηριαίων οστών.

Από το: Smith DB, Scarffe JH, Eddleston B. The prognostic significance of X-ray changes at presentation and reassessment in patients with multiple myeloma. Hematol Oncol. 1988;6:1-6.