



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών
ΜΠΣ Βιοϊατρικές μέθοδοι και τεχνολογία στη διάγνωση

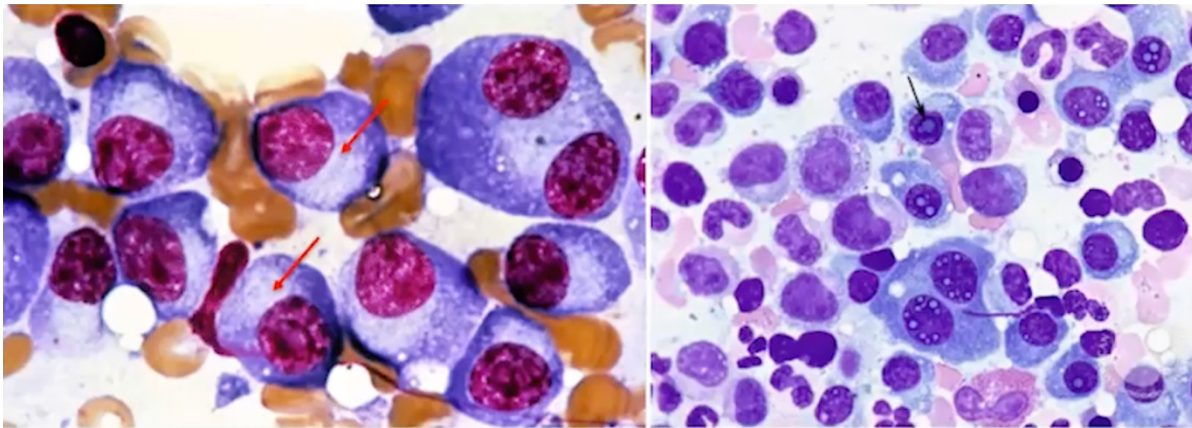


ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Βιοδείκτες στη Διάγνωση του Πολλαπλού Μυελώματος

POST GRADUATE THESIS

Biomarkers in the Diagnosis of Multiple Myeloma



ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ/NAME OF STUDENT

Μαρία Μέρτακκα

Maria Mertakka

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

Αναστάσιος Γ. Κριεμπάρδης

Anastasios G. Kriebardis

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2023



Faculty of Health and Caring Professions
Department of Biomedical Sciences
Postgraduate program:
Biomedical methods and technology in diagnosis



POST GRADUATE THESIS
Biomarkers in the Diagnosis of Multiple Myeloma

MARIA MERTAKKA
dml21018
mariamertakka@hotmail.com

FIRST SUPERVISOR
ANASTASIOS G. KRIEBARDIS

SECOND SUPERVISOR
SOTIRIOS FORTIS

AIGALEO 2023

Επιτροπή εξέτασης

Ημερομηνία εξέτασης: 02/10/2023

Όνόματα εξεταστών

Υπογραφή

1^{ος} Εξεταστής Αναστάσιος Γ. Κριεμπάρδης

2^{ος} Εξεταστής Σωτήριος Φόρτης

Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Μαρία Μέρτακκα του Γεωργίου, με αριθμό μητρώου dml21018 φοιτήτρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών Βοϊατρικές Μέθοδοι και Τεχνολογία στη Διάγνωση του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Η Δηλούσα

Μαρία Μέρτακκα

Ευχαριστίες

Η επίτευξη αυτής της προσπάθειας κλείνει έναν σημαντικό κύκλο ζωής δύο ετών για μένα, που αφορούσε στην απόκτηση γνώσεων και εφοδίων, τα οποία θα μπορέσουν να με καταστήσουν ικανή να υλοποιήσω τα όνειρα μου. Νιώθω λοιπόν την ανάγκη να εκφράσω τις ιδιαίτερες μου ευχαριστίες σε όλους αυτούς που συνέβαλαν σημαντικά και βοήθησαν στην εκπλήρωση αυτού του έργου.

Η ολοκλήρωση της παρούσας διπλωματικής εργασίας θα ήταν αδύνατη χωρίς την πολύτιμη υποστήριξη του καθηγητή μου, κύριου Αναστάσιου Γ. Κριεμπάρδη, καθώς και του Β' Επιβλέποντα, κύριου Σωτήρη Φόρτη. Η αμέριστη βοήθεια και το ενδιαφέρον τους ήταν καθοριστικά, ώστε να με ωθήσουν στην επιτυχή εκπόνηση της διπλωματικής μου εργασίας. Τους εκφράζω ένα βαθύ ευχαριστώ για το χρόνο που αφιέρωσαν για την αξιολόγηση αυτής της δουλειάς, για την εμπιστοσύνη και το αμείωτο ενδιαφέρον που μου έδειξαν εξ' αρχής, για την επιστημονική τους καθοδήγηση, καθώς και για τη συνεχή τους υποστήριξη. Η συμβολή και οι εποικοδομητικές τους υποδείξεις ήταν πολύτιμες για την ολοκλήρωση αυτής της εργασίας.

Οφείλω όχι ευχαριστίες, αλλά αιώνια ευγνωμοσύνη στην οικογένεια μου, που σμίλεψε τον χαρακτήρα και τον τρόπο σκέψης μου και με γαλούχησε με αξίες και αρχές. Τους χρωστάω ένα τεράστιο ευχαριστώ για την άμετρη συμπαράσταση, βοήθεια και κατανόηση που έδειξαν καθόλη την διάρκεια των μεταπτυχιακών μου σπουδών. Υπήρξαν ένα ανεκτίμητο στήριγμα για μένα και τους οφείλω όλη τη διαδρομή των σπουδών μου, μέχρι σήμερα.

Τελειώνοντας, θα ήθελα να ευχαριστήσω την καλή μου τύχη, που έστειλε νωρίς – νωρίς στο διάβα μου ξεχωριστούς ανθρώπους, ικανούς να με εμπνεύσουν και να με διαμορφώνουν συνεχώς προς την καλύτερη εκδοχή του εαυτού μου. Τίποτα δεν θα ήταν το ίδιο χωρίς την οικογένεια μου και αυτούς τους λίγους, αλλά σημαντικούς ανθρώπους. Τους είμαι βαθύτατα ευγνώμων.

Αφιερώσεις

Στην οικογένεια μου και στους ανθρώπους μου.

«Αν μπορείς να το ονειρευτείς, μπορείς και να το κάνεις».

«Είμαι απόλυτα βέβαιος πως σήμερα ορίζουμε το πεπρωμένο μας, πως το καθήκον που έχουμε μπροστά μας δεν υπερβαίνει τις δυνάμεις μας, πως οι πόνοι και οι μόχθοι που αυτό απαιτεί δεν είναι υπεράνω της αντοχής μας. Και για όσο διάστημα θα διατηρούμε την πίστη στον ίδιο μας το σκοπό και μια ασίγαστη θέληση να τον πετύχουμε, η νίκη δεν θα αποστρέψει το πρόσωπο της.»

Ουίνστον Τσόρτσιλ

Περίληψη

Εισαγωγή: Το πολλαπλό μυέλωμα (Multiple Myeloma ή MM), θεωρείται μια ανίατη κακοήθης νόσος των πλασματοκυττάρων (Plasma Cells ή PCs), που εμφανίζεται κυρίως στο χώρο του μυελού των οστών και αποτελεί περίπου το 10% των αιματολογικών κακοηθειών. Έτσι, τα μυελωματικά PCs αλληλεπιδρούν με στοιχεία του μυελικού μικροπεριβάλλοντος, μεταβάλλοντας το. Αυτό, έχει σαν αποτέλεσμα να μπορούν να εγκατασταθούν και στη συνέχεια να επεκταθούν. Σημαντικές πρόοδοι, έχουν σημειωθεί για τα διαγνωστικά κριτήρια, με σκοπό τη διάγνωση, την πρόγνωση και τη διαχείριση του MM. Επί του παρόντος, βρίσκεται σε εξελικτικό στάδιο εκτεταμένη έρευνα για την επικύρωση διαγνωστικών βιοδεικτών για τη διαχείριση του MM.

Σκοπός: Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν να συνοψίσει τους βιοδείκτες για τη διάγνωση του MM και αφού η νόσος παραμένει ανίατη μέχρι σήμερα, να αναφέρει κάποιους αναδυόμενους βιοδείκτες που ανακαλύφθηκαν σχετικά πρόσφατα και πιθανός να παίζουν σημαντικό ρόλο για την επιτυχή διάγνωση του MM.

Μέθοδος: Χρησιμοποιήθηκαν διαδικτυακές πλατφόρμες για την ανάσυρση δεδομένων, όπως PubMed, Google Scholar, καθώς και έγκριτα επιστημονικά περιοδικά.

Αποτελέσματα: Αναδείχθηκαν αρκετοί βιοδείκτες, μερικοί από τους πιο γνωστούς να αποτελούν, το σύστημα σταδιοποίησης Durie-Salmon (DSS), το διεθνές σύστημα σταδιοποίησης (ISS), το αναθεωρημένο σύστημα σταδιοποίησης (RISS), κάποιες χρωμοσωμικές / κυτταρογενετικές ανωμαλίες, το ποσοστό PCs, η ελεύθερη ελαφριά αλυσίδα ορού (S-FLC), διάφορες απεικονιστικές μέθοδοι (π.χ. PET-CT, MRI, FDG-PET), η πρωτεΐνη Bence-Jones στα ούρα, οι μεταβολικοί βιοδείκτες ασπαρτικού και θρεονίνης, τα microRNAs (oncomiRs και ογκοκατασταλτικά miRNAs), η τρανσγελίνη, τα λιποκύτταρα του μυελού των οστών, η ραδιοπυκνότητα του υποδόριου λιπώδους ιστού, η πρωτεΐνη Versican, ο ορός hsa_circ_0087776, τα NGAL και IGFBP-7, οι ανοσολογικοί δείκτες, οι ανοσοφαινοτυπικοί δείκτες / επιφανειακά αντιγόνα, τα κυκλοφορούντα πρωτεασώματα, τα εξωκυττάρια κυστίδια, οι υποομάδες των κλασικών μονοκυττάρων, οι αναδιατάξεις του γονιδίου IgH, η υγρή βιοψία / βιοψία αίματος, η τοποθέτηση βρωμοδεοξουριδίνης στην πολυπαραμετρική κυτταρομετρία ροής, η ανοσοπάρεση του ξενιστή στην κατανομή των T, B και NK κυττάρων, διάφοροι βιοδείκτες που σχετίζονται με προχωρημένη οστεολυτική νόσο, το syndecan-1, καθώς και πληθώρα άλλων βιοδεικτών.

Συμπεράσματα: Το επιστημονικό πεδίο της έρευνας, όσον αφορά το MM είναι πολλά υποσχόμενο, τόσο για την έγκαιρη διάγνωση και πρόγνωση, όσο και για τη θεραπεία, καθώς συνεχώς αναδύονται νέοι πιθανοί βιοδείκτες. Αυτή η ανασκόπηση επομένως, ανακεφαλαιώνει τους βιοδείκτες που εμπλέκονται κυρίως στη διάγνωση του MM.

Λέξεις κλειδιά: πολλαπλό μύελωμα, βιοδείκτες, διάγνωση, πρόγνωση, πλασματοκύτταρα

Abstract

Introduction: Multiple myeloma (MM), is considered an incurable malignant disease of plasma cells (PCs), which occurs mainly in the bone marrow and constitutes approximately 10% of hematological malignancies. Thus, myeloma PCs interact with elements of the myeloid microenvironment, changing it. This means that they can be installed and then expanded. Significant advances have been made in the diagnostic criteria for the diagnosis, prognosis and management of MM. Extensive research to validate diagnostic biomarkers for the management of MM is currently under development.

Purpose: The purpose of this thesis was to summarize the biomarkers for the diagnosis of MM and since the disease remains incurable, to mention some emerging biomarkers that have been discovered relatively recently and are likely to play an important role in the successful diagnosis of MM.

Method: Online platforms were used for data retrieval, such as Pub-Med, Google Scholar, as well as reputable scientific journals.

Results: Several biomarkers have emerged, some of the best known being the Durie-Salmon staging system (DSS), the International staging system (ISS), the revised staging system (RISS), some chromosomal / cytogenetic abnormalities, percentage of PCs, free light chain (S-FLC), various imaging modalities (e.g. PET-CT, MRI, FDG-PET), urinary Bence-Jones protein, aspartate and threonine metabolic biomarkers, microRNAs (oncomiRs and tumor suppressor miRNAs), transgelin, bone marrow adipocytes, radiodensity of subcutaneous adipose tissue, Versican protein, serum hsa_circ_0087776, NGAL and IGFBP-7, immune markers, immunophenotypic markers / surface antigens, circulating proteasomes, extracellular vesicles, classical monocyte subsets, IgH gene rearrangements, liquid biopsy / blood biopsy, bromodeoxyuridine placement in multiparametric flow cytometry, host immunoparesis in T, B distribution and NK cells, various biomarkers associated with advanced osteolytic disease, syndecan-1, as well as a host of other biomarkers.

Discussion: The scientific field of research regarding MM is very promising, for early diagnosis, prognosis and treatment, as new potential biomarkers are constantly emerging. This review therefore, summarizes the biomarkers most involved in the diagnosis of MM.

Key words: multiple myeloma, biomarkers, diagnosis, prognosis, plasma cells

Περιεχόμενα

Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας.....	iv
Ευχαριστίες.....	vi
Αφιερώσεις.....	vii
Περίληψη.....	viii
Abstract.....	x
Περιεχόμενα πινάκων.....	xiv
Συνομογραφίες.....	xvi
Πρόλογος.....	1
1. Εισαγωγή.....	3
1.1 Γενικά στοιχεία.....	3
1.2 Συμπτώματα του MM.....	3
1.3 Επιδημιολογία του MM.....	4
1.3.1 Ηλικία.....	4
1.3.2 Φυλή.....	5
1.3.3 Επίπτωση.....	6
1.3.4 Θνησιμότητα.....	7
1.4 Παράγοντες κινδύνου.....	9
1.4.1 Καπνός.....	9
1.4.2 Αλκοόλ.....	10
1.4.3 Διατροφή.....	10
1.4.4 Παχυσαρκία.....	10
1.4.5 Σωματική δραστηριότητα.....	11
1.4.6 Ορμονικοί παράγοντες.....	11
1.4.7 Περιβάλλον και επάγγελμα.....	11
1.4.8 Ιοντίζουσα ακτινοβολία.....	12
1.4.9 Οικογενειακό ιστορικό και γενετικοί παράγοντες.....	13
1.4.10 Ιοί.....	16
1.5 Παθοφυσιολογία του MM.....	17
1.5.1 Προκακοήθη στάδια του MM.....	18
1.5.1.1 MGUS.....	19
1.5.1.2 SMM.....	20
1.5.1.3 EMD.....	21

1.5.2 Προέλευση του κακοήθους PC	22
1.5.3 Μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών	23
1.5.4 Οστική νόσος	27
2. Βιοδείκτες για τη διάγνωση του MM	33
2.1 Σύστημα σταδιοποίησης Durie-Salmon (Durie-Salmon Staging System ή DSS)	33
2.2 Διεθνές σύστημα σταδιοποίησης (International Staging System ή ISS).....	33
2.3 Χρωμοσωμικές / κυτταρογενετικές ανωμαλίες.....	35
2.4 Ποσοστό PCs	39
2.5 Ελεύθερη ελαφριά αλυσίδα ορού (Serum-Free Light Chain ή S-FLC)	40
2.6 Μέθοδοι απεικόνισης	41
2.7 Αναθεωρημένα κριτήρια IMWG για τη διάγνωση του MM	43
2.8 Πρωτεΐνη ορού (Serum Protein Electrophoresis ή SPE)	44
2.9 Πρωτεΐνη Bence-Jones στα ούρα.....	45
2.10 Μεταβολικοί βιοδείκτες ασπαρτικού και θρεονίνης για διάγνωση και πρόβλεψη κινδύνου στο MM.....	46
2.11 microRNAs	49
2.11.1 OncomiRs.....	50
2.11.2 Ογκοκατασταλτικά miRNAs	51
2.12 Τρανσγελίνη	53
2.13 Λιποκύτταρα του μυελού των οστών (Bone Marrow Adipocytes ή BMAds)	53
2.14 Ραδιοπυκνότητα υποδόριου λιπώδους ιστού (Subcutaneous Adipose Tissue ή SAT)	53
2.15 Πρωτεΐνη Versican ή VCAN	54
2.16 Ορός hsa_circ_0087776.....	55
2.17 NGAL και IGFBP-7	55
2.18 Ανοσολογικοί δείκτες.....	55
2.18.1 Ρυθμιστικά κύτταρα Tregs	56
2.18.2 Κυτοκίνες	57
2.19 Ανοσοφαινοτυπικοί δείκτες / επιφανειακά αντιγόνα	62
2.20 Κυκλοφορούντα πρωτεασώματα.....	63
2.21 EVs.....	64
2.22 Υποομάδες κλασικών μονοκυττάρων (Classical Monocytes ή cMo).....	67
2.23 Αναδιατάξεις του γονιδίου IgH.....	67
2.24 Υγρή βιοψία (βιοψία αίματος)	67

2.24.1 CTCs.....	69
2.24.2 ct-DNA.....	69
2.25 Τοποθέτηση βρωμοδεοξουριδίνης (bromodeoxyuridine ή BrdU) στην MCF ...	70
2.26 Ανοσοπάρεση του ξενιστή στην κατανομή των T, B και NK κυττάρων.....	70
2.27 Βιοδείκτες που σχετίζονται με προχωρημένη οστεολυτική νόσο.....	71
2.28 Syndecan-1.....	72
3. Συζήτηση.....	72
Αναφορές	77

Περιεχόμενα πινάκων

Πίνακας 1. Πιθανότητα συγγενείς πρώτου βαθμού των ασθενών με μονοκλωνική γαμμαπάθεια απροσδιόριστης σημασίας (MGUS), να αναπτύξουν μονοκλωνική γαμμαπάθεια απροσδιόριστης σημασίας (MGUS), πολλαπλό μυέλωμα (MM), μακροσφαιριναιμία Waldenström και χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία. Υπάρχει μεγαλύτερη πιθανότητα οι συγγενείς αυτοί να αναπτύξουν μακροσφαιριναιμία Waldenström (4.0 φορές πιο πιθανόν)	14
Πίνακας 2. Ονομαστική αναφορά των τεσσάρων χαρακτηριστικών CRAB.....	19
Πίνακας 3. Χαρακτηριστικά πολλαπλού μυελώματος που σιγοκαίει (SMM), μονοκλωνικής γαμμαπάθειας απροσδιόριστης σημασίας (MGUS) και ετήσιος κίνδυνος εξέλιξης τους σε πολλαπλό μυέλωμα (MM)	19
Πίνακας 4. Ονομαστική κατηγοριοποίηση των τριών κλινικών υπότυπων της μονοκλωνικής γαμμαπάθειας απροσδιόριστης σημασίας (MGUS)	20
Πίνακας 5. Κατηγοριοποίηση μικροπεριβάλλοντος μυελού των οστών. Το μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών αποτελείται από ένα κυτταρικό διαμέρισμα, το οποίο διαιρείται περαιτέρω στους αιμοποιητικούς και μη αιμοποιητικούς τύπους κυττάρων, καθώς επίσης και από ένα μη κυτταρικό διαμέρισμα, το οποίο απαρτίζεται από την εξωκυττάρια μήτρα (extracellular matrix ή ECM), το υγρό περιβάλλον και την συγκέντρωση οξυγόνου	23
Πίνακας 6. Ονομαστική αναφορά κλασσικών και πιο πρόσφατων παραγόντων ενεργοποίησης οστεοκλαστών	30
Πίνακας 7. Ονομαστική αναφορά ανασταλτικών παραγόντων οστεοβλαστών	31
Πίνακας 8. Χαρακτηριστικά κριτήρια κατηγοριοποίησης σταδίων (I, II, III) με βάση το σύστημα σταδιοποίησης Durie-Salmon (DSS) στο πολλαπλό μυέλωμα (MM)	33
Πίνακας 9. Χαρακτηριστικά κριτήρια κατηγοριοποίησης σταδίων (I, II, III) με βάση το διεθνές σύστημα σταδιοποίησης (ISS) και το αναθεωρημένο διεθνές σύστημα σταδιοποίησης (RISS) στο πολλαπλό μυέλωμα (MM)	34
Πίνακας 10. Κυτταρογενετικές ανωμαλίες, όπως τρισωμίες, t(11;14), t(6;14), t(4;14), t(14;16), t(14;20), gain(1q21), del(17p) και σημαντικά στοιχεία για αυτές τις ανωμαλίες στο πολλαπλό μυέλωμα (MM)	35
Πίνακας 11. Πρωτογενείς μετατοπίσεις σε πολλαπλό μυέλωμα (MM). Αναφορά χρωμοσωμικής μετατόπισης, γενετικής θέσης, κατηγορίας κινδύνου, γονιδίου που υπερεκφράζεται από την μετατόπιση και επιρροή συγκεκριμένων λειτουργιών εξαιτίας των χρωμοσωμικών μετατοπίσεων	38
Πίνακας 12. Δευτερογενείς μετατοπίσεις σε πολλαπλό μυέλωμα (MM). Χαρακτηριστικές δευτερογενείς μετατοπίσεις αποτελούν μερικά κέρδη ή απώλειες χρωμοσωμάτων, ορισμένες μετακινήσεις, καθώς και σωματικές μεταλλάξεις (διάφορα μονοπάτια).....	38
Πίνακας 13. Κατηγοριοποίηση τεσσάρων τύπων σκελετικών βλαβών, οι οποίες μπορούν να βοηθήσουν σημαντικά στην έγκαιρη διάγνωση του πολλαπλού μυελώματος (MM) .	41
Πίνακας 14. Βιοδείκτες για τη διάγνωση του πολλαπλού μυελώματος (MM) σε ασθενείς που δεν παρουσιάζουν χαρακτηριστικά CRAB και σχετίζονται με περίπου 80% κίνδυνο εξέλιξης σε συμπτωματική βλάβη τελικών οργάνων	44
Πίνακας 15. Αναθεωρημένα κριτήρια IMWG για τη διάγνωση του πολλαπλού μυελώματος (MM)	44

Πίνακας 16. Τα miRNAs που δρουν ως oncomiRs στο πολλαπλό μυέλωμα (MM), οι μηχανισμοί δράσης τους και οι πιθανοί τους στόχοι. Τα oncomiRs, σκοπό έχουν την διευκόλυνση ανάπτυξης του όγκου, στοχεύοντας διάφορα ογκοκατασταλτικά γονίδια .	51
Πίνακας 17. Τα miRNAs που δρουν ως ογκοκατασταλτικά γονίδια στο πολλαπλό μυέλωμα (MM), οι μηχανισμοί δράσης τους και οι πιθανοί τους στόχοι. Τα ογκοκατασταλτικά γονίδια miRNAs, σκοπό έχουν την παρεμπόδιση ανάπτυξης του όγκου, στοχεύοντας διάφορα ογκογονίδια	52
Πίνακας 18. Προγνωστική αξία των επιμέρους συστατικών του ανοσοποιητικού συστήματος σε ασθενείς που νοσούν με πολλαπλό μυέλωμα (MM). Αναφέρονται παραδείγματα προφλεγμονωδών ιντερλευκινών, αντιφλεγμονωδών ιντερλευκινών, παραγόντων νέκρωσης όγκου, αυξητικών παραγόντων, ιντερφερόνης και χημειοκινών. Παρουσιάζεται η λειτουργία τους στο πολλαπλό μυέλωμα (MM), αλλά και η προγνωστική τους αξία (9,31,46,51,66,67).....	58
Πίνακας 19. Συσχέτιση διαφορετικών παραμέτρων / βιοδεικτών σε ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα (MM) vs. υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου).....	61
Πίνακας 20. Επίπεδα ανοσοφαινοτυπικών δεικτών (CD200, CD58, CD11a, CD20, CD49d, CD30, CD38, CD138, CD19, CD45, CD56, CD117, CD27, CD57, CD147) και μερικά χαρακτηριστικά που προσδίδουν την σημαντικότητα τους για την παθογένεση του πολλαπλού μυελώματος (MM).....	63
Πίνακας 21. Σύνοψη εργαστηριακών μελετών (εργαστηριακές εξετάσεις, εξετάσεις ούρων, αναρρόφηση μυελού των οστών και βιοψία, ακτινογραφικός έλεγχος και άλλα) για τη διάγνωση του πολλαπλού μυελώματος (MM) (26)	76

Συντομογραφίες

	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
MM	Multiple Myeloma	Πολλαπλό μύελωμα
PCs	Plasma Cells	Πλασματοκύτταρα
MGUS	Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance	Μονοκλωνική γαμμαπάθεια απροσδιόριστης σημασίας
SMM	Smoldering Multiple Myeloma	Πολλαπλό μύελωμα που σιγοκαίει
IGF-1	Insulin-like Growth Factor-1	Αυξητικός παράγοντας ινσουλίνης-1
FISH	Fluorescence In Situ Hybridisation	Υβριδισμός in situ φθορισμός
aCGH	array Comparative Geonome Hybridisation	Συγκριτικός γονιδιωματικός υβριδισμός βάσει συστοιχιών
GEP	Gene Expression Profiling	Προφίλ γονιδιωματικής έκφρασης
SNPs	Single Nucleotide Polymorphisms	Μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί
HLA	Human Leucocyte Antigen	Αντιγόνο ανθρώπινου λευκοκυττάρου
HIV	Human Immunodeficiency Virus	Ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας
EMD	Extramedullary Disease	Εξωμυελική νόσος
PCL	Plasma Cell Leukemia	Πλασματοκυτταρική λευχαιμία
DCs	Dendritic Cells	Δενδριτικά κύτταρα
BMSCs	Bone Marrow Stromal Cells	Στρωματικά κύτταρα μυελού των οστών
ECs	Endothelial Cells	Ενδοθηλιακά κύτταρα
NK	Natural Killers Cells	Κύτταρα φυσικοί φονείς
MDSCs	Myeloid-Derived Suppressor Cells	Μυελοειδή κατασταλτικά κύτταρα
M-CSF	Monocyte / Macrophage Colony Stimulating Factor	Παράγοντας διέγερσης αποικιών μονοκυττάρων / μακροφάγων
RRMM	Relapsed / Refractory Multiple Myeloma	Υποτροπή / ανθεκτικό πολλαπλό μύελωμα
ECM	Extracellular Matrix	Εξωκυττάρια μήτρα

bFGF	basic Fibroblast Growth Factor	Βασικός αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών
MSCs	Mesenchymal Stromal Cells	Μεσεγχυματικά στρωματικά κύτταρα
MRD	Minimal Residual Disease	Ελάχιστη υπολειμματική νόσος
NDMM	Newly Diagnosed Multiple Myeloma	Πρόσφατα διαγνωσμένο πολλαπλό μύελωμα
DKK1	Dickkopf WNT Signaling Pathway Inhibitor 1	Αναστολέας οδού σηματοδότησης WNT-1
S-FLC	Serum-Free Light Chain	Ελεύθερη ελαφριά αλυσίδα ορού
IMWG	International Myeloma Working Group	Διεθνής ομάδα εργασίας για το μύελωμα
DSS	Durie-Salmon Staging System	Σύστημα σταδιοποίησης Durie-Salmon
ISS	International Staging System	Διεθνές σύστημα σταδιοποίησης
RISS	Revised International Staging System	Αναθεωρημένο διεθνές σύστημα σταδιοποίησης
MDE	Myeloma Defined Event	Συμβάν που καθορίζει το μύελωμα
PFS	Progression Free Survival	Επιβίωση χωρίς εξέλιξη
OS	Overall Survival	Συνολική Επιβίωση
ASCT	Autologous Stem Cell Transplantation	Μεταμόσχευση αυτόλογων βλαστοκυττάρων
CT	Computed Tomography	Υπολογιστική τομογραφία
WB-CT	Whole Body-Computed Tomography	Υπολογιστική τομογραφία ολόκληρου του σώματος
MRI	Magnetic Resonance Imaging	Μαγνητική τομογραφία
WB-MRI	Whole Body-Magnetic Resonance Imaging	Μαγνητική τομογραφία ολόκληρου του σώματος
PET	Positron Emission Tomography	Τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων
FDG	Fluorodeoxyglucose	Φθοριοδεοξυγλυκόλη
SPE	Serum Protein Electrophoresis	Ηλεκτροφόρηση πρωτεΐνης ορού
Hb	Hemoglobin	Αιμοσφαιρίνη

β2M	β2-microglobulin	β2-μικροσφαιρίνη
LDH	Lactate Dehydrogenase	Γαλακτική αφυδρογονάση
Scr	Serum Creatinine	Κρεατινίνη ορού
Tregs	T regulatory cells	Ρυθμιστικά Τ κύτταρα
PLS-DA	Partial Least Squares-Discriminant Analysis	Πολυπαραγοντική ανάλυση ελαχίστων τετραγώνων
BMAds	Bone Marrow Adipocytes	Λιποκύτταρα μυελού των οστών
SAT	Subcutaneous Adipose Tissue	Υποδόριος λιπώδης ιστός
ROC	Receiver Operating Characteristic Curve	Χαρακτηριστική καμπύλη λειτουργίας δέκτη
EVs	Extracellular Vesicles	Εξωκυττάρια κυστίδια
CPCs	Clonal Malignant Plasma Cells	Κλωνικά κακοήθη πλασματοκύτταρα
PPCs	Polyclonal Plasma Cells	Πολυκλωνικά πλασματοκύτταρα
CAFs	Cancer Associated Fibroblasts	Ινοβλάστες σχετιζόμενοι με καρκίνο
cMo	Classical Monocytes	Υποομάδες κλασικών μονοκυττάρων
MCF	Multiparameter Flow Cytometry	Πολυπαραμετρική κυτταρομετρία ροής
ct-DNA	circulating tumor-DNA	Κυκλοφορούντα DNA όγκου
CTCs	Circulating Tumor Cells	Κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα
cf-DNA	cell free-DNA	DNA απαλλαγμένο από κύτταρα
NGS	Next Generation Sequencing	Αλληλουχία επόμενης γενιάς
BrdU	Bromodeoxyuridine	Βρωμοδεοξουριδίνη
NTX	N-terminal cross-linking telopeptide of type-I collagen	N-τερματικό τελοπεπτίδιο διασταυρούμενης σύνδεσης κολλαγόνου τύπου-I
CTX	C-terminal cross-linking telopeptide of type-I collagen	C-τερματικό τελοπεπτίδιο διασταυρούμενης σύνδεσης κολλαγόνου τύπου-I
β-CTX	β-isomer of the C-terminal telopeptide of type-I collagen	β-ισομερές του C-τερματικού τελοπεπτιδίου κολλαγόνου τύπου-I

Πρόλογος

Το MM αποτελεί πεδίο έρευνας τα τελευταία χρόνια, με εντυπωσιακά βήματα να έχουν γίνει προς την αποσαφήνιση πτυχών της διάγνωσης του μέσω συγκεκριμένων βιοδεικτών. Αξιόλογη πρόοδος, έχει γίνει εμφανής με νέους βιοδείκτες να έχουν προστεθεί, επιτυγχάνοντας έγκαιρη διάγνωση, πρόγνωση και χειρισμό του MM. Ο ρόλος της έγκαιρης διάγνωσης καθίσταται ολοένα και σημαντικότερος. Στα πλαίσια αυτά, και σε ένα επιστημονικό περιβάλλον που συνεχώς διερευνάται η φύση του MM, η παρούσα διπλωματική εργασία επικεντρώθηκε σε μια εκτενή έρευνα σχετική με τους βιοδείκτες για τη διάγνωση του MM.

Το MM, είναι ένα πλασματοκυτταρικό νεόπλασμα (1–11) που αποτελεί περίπου το 10% των αιματολογικών κακοηθειών (1,6,8,11–13) και σχεδόν το 1% όλων των κακοηθειών (1,6,8,10). Συγκεκριμένα, αποτελεί την δεύτερη σε συχνότητα αιματολογική κακοήθεια (1,2,9,10,14), ύστερα από το λέμφωμα non-Hodgkin (1). Είναι αξιοσημείωτο ότι αυτή η νόσος, επηρεάζει συνήθως ηλικιωμένα άτομα, κυρίως άνω των 65 ετών, με διάμεση ηλικία διάγνωσης ασθενών να είναι μεταξύ 63 και 70 ετών (9,10,13). Παρά την εκτεταμένη έρευνα, η παθογένεια και η αιτιολογία του MM εξακολουθούν να παραμένουν ασαφείς, καθιστώντας το ως μια ανίατη ασθένεια (8,9,14). Το MM σχετίζεται με ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό και συσσώρευση μη φυσιολογικών κλωνικών κακοήθων PCs στο μυελό των οστών (1–4,7–11,13), συγκεκριμένα τερματικών διαφοροποιημένων Β λεμφοκυττάρων (9) και έκκριση μονοκλωνικών πρωτεϊνών (πρωτεΐνες M) (2,6,8–10,13), οι οποίες στη συνέχεια συγκεντρώνονται στον ορό / αίμα ή / και στα ούρα (9,10) που σχετίζεται με δυσλειτουργία οργάνων (10). Τα κακοήθη PCs, εμφανίζονται συνήθως στο μυελό των οστών, αλλά μπορούν να παρατηρηθούν και στο περιφερικό αίμα, καθώς επίσης και σε άλλες εξωμυελικές θέσεις, παρουσία προχωρημένου σταδίου της νόσου (1,9). Το MM οδηγεί σε βλάβη των τελικών οργάνων, μέσω υπερασβεστιαμίας (αύξηση επιπέδων ασβεστίου), νεφρικής ανεπάρκειας, αναιμίας και οστικών βλαβών (χαρακτηριστικά CRAB) (1,5,8–10,13,15). Το ποσοστό εμφάνισης MM, σε συνδυασμό με τους θανάτους που σχετίζονταν με αυτό, ιδιαίτερα τα προηγούμενα χρόνια, επισήμαιναν αύξηση, εξαιτίας της αναποτελεσματικής διάγνωσης σε πρώιμο στάδιο (1).

Πριν από αρκετά χρόνια, η διάγνωση του MM, σηματοδοτούσε την υιοθέτηση συγκεκριμένων καθιερωμένων παραδοσιακών βιοδεικτών, όπως το ποσοστό των PCs

(1,15), την ηλεκτροφόρηση / ανοσοκαθήλωση πρωτεΐνης ορού (1,3,11) και την πρωτεΐνη Bence-Jones των ούρων (1). Στη συνέχεια, οι ασθενείς μπορούσαν να κατηγοριοποιηθούν σε τρία διακριτά στάδια με βάση τα επίπεδα της β2-μικροσφαιρίνης (β2-microglobulin ή β2M) και της λευκωματίνης ορού (1,11). Σπουδαία διαγνωστική αξία βρέθηκε να έχει και το αναθεωρημένο διεθνές σύστημα σταδιοποίησης (Revised International Staging System ή RISS), το οποίο αναπτύχθηκε για το μυέλωμα που ενσωματώνει κυτταρογενετικές / χρωμοσωμικές ανωμαλίες υψηλού κινδύνου, όπως t(11;14), t(4;14), t(6;14), t(14;16), t(14;20), gain(1q), del(1p), del(13q) και del(17p) (1-3,11,15,16). Μερικοί άλλοι καθιερωμένοι βιοδείκτες για το MM αποδείχθηκαν η ελεύθερη ελαφριά αλυσίδα ορού (S-FLC) και μέθοδοι απεικόνισης, όπως το PET-CT, MRI και FDG-PET.

Οι βιοδείκτες επόμενης γενιάς αποδεικνύονται αξιοσημείωτης σπουδαιότητας για την πρώιμη διάγνωση του MM. Τα επίπεδα των μεταβολιτών ασπαρτικού και θρεονίνης σε πλάσμα, μπορούν να θεωρηθούν μεταβολικοί βιοδείκτες για τη διάγνωση και την πρόβλεψη κινδύνου στο MM, αντίστοιχα (4). Τα miRNAs, δρώντας ως ογκογονίδια ή ογκοκατασταλτικά γονίδια, προκαλούν είτε αποικοδόμηση, είτε εμποδίζουν την μετάφραση των mRNAs στόχων, ελέγχοντας έτσι την ανάπτυξη και εξέλιξη του MM, γεγονός που τα καθιστά επίσης σημαντικούς βιοδείκτες (1,3). Ονομαστικά, η τρανσγελίνη, τα λιποκύτταρα του μυελού των οστών, η ραδιοπυκνότητα του υποδόριου λιπώδους ιστού, η πρωτεΐνη Versican, ο ορός hsa_circ_0087776, τα NGAL και IGFBP-7, οι ανοσολογικοί δείκτες, οι ανοσοφαινοτυπικοί δείκτες / επιφανειακά αντιγόνα, τα κυκλοφορούντα πρωτεασώματα, τα εξωκυττάρια κυστίδια, οι υποομάδες των κλασικών μονοκυττάρων, οι αναδιατάξεις του γονιδίου IgH, η υγρή βιοψία / βιοψία αίματος, η τοποθέτηση βρωμοδεοξουριδίνης στην πολυπαραμετρική κυτταρομετρία ροής, η ανοσοπάρεση του ξενιστή στην κατανομή των T, B και NK κυττάρων, διάφοροι βιοδείκτες που σχετίζονται με προχωρημένη οστεολυτική νόσο, το syndecan-1, καθώς και πληθώρα άλλων βιοδεικτών, πρόκειται να αναλυθούν στην παρούσα διπλωματική εργασία με λεπτομέρεια. Αυτή η ανασκόπηση, επομένως, περιγράφει τους αναδυόμενους βιοδείκτες που εμπλέκονται στη διάγνωση του MM.

1. Εισαγωγή

1.1 Γενικά στοιχεία

Το MM, είναι ένα πλασματοκυτταρικό νεόπλασμα (1–11,17–26) που αποτελεί περίπου το 10% των αιματολογικών κακοηθειών (1,6,8,11–13,27) και σχεδόν το 1% όλων των κακοηθειών (1,6,8,10,18,24,27–29). Συγκεκριμένα, αποτελεί την δεύτερη σε συχνότητα αιματολογική κακοήθεια (1,2,9,10,14,17,18,23,25–27), ύστερα από το λέμφωμα non-Hodgkin (1,18,27). Το MM είναι μια ετερογενής νόσος που δεν παρουσιάζει την ίδια βιολογία σε όλους τους ασθενείς, με αποτέλεσμα διαφορετική πρόγνωση, κλινική πορεία και ανταπόκριση σε θεραπευτικές προσεγγίσεις για κάθε άτομο ξεχωριστά (19,27). Παρόλα αυτά η αιτιολογία του MM παραμένει σε μεγάλο βαθμό άγνωστη (29). Οι ερευνητές εργάζονται ακατάπαυστα για να μάθουν περισσότερα για την αιτία του MM, ώστε να μπορέσει να θεραπευτεί. Ένας από τους τρόπους με τους οποίους το κάνουν αυτό, είναι η μελέτη βιοδεικτών, οι οποίοι μπορούν να βοηθήσουν στον εντοπισμό ατόμων που μπορεί να έχουν τη νόσο σε πρώιμο στάδιο. Όσο περισσότερα στοιχεία και πληροφορίες έχουμε για το MM, τόσο πιο εύκολα μπορούμε να το διαγνώσουμε και να το αντιμετωπίσουμε.

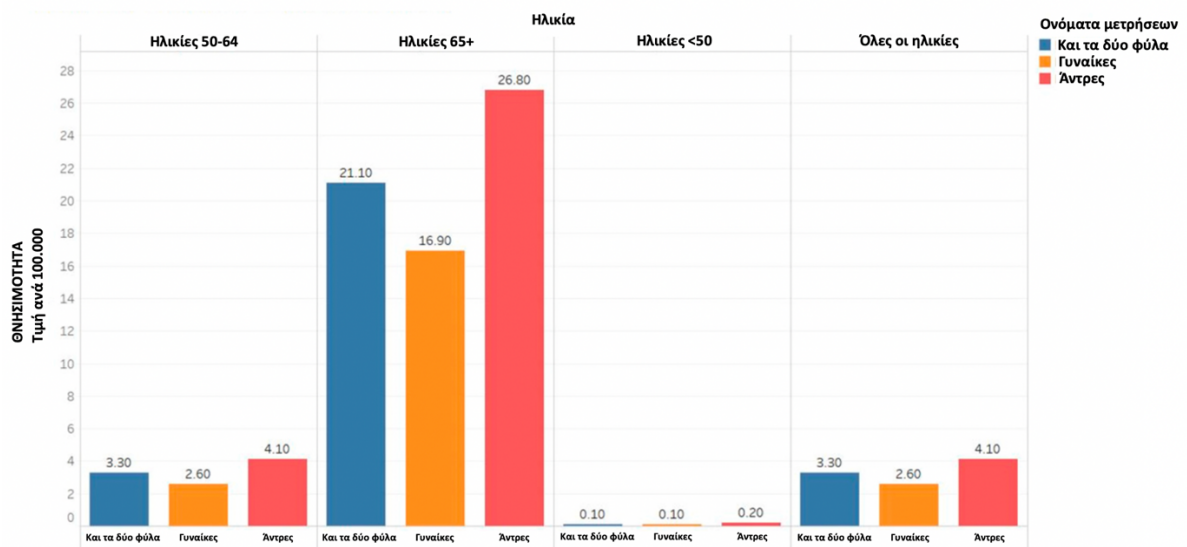
1.2 Συμπτώματα του MM

Σύμφωνα με τα λεγόμενα ατόμων που νόσησαν με MM, χαρακτηριστικά συμπτώματα περιλαμβάνουν πόνο στα οστά (περίπου 58% των ασθενών), αναιμία (39% - 70% των ασθενών), νεφρική ανεπάρκεια (20% των ασθενών), υπερασβεστιαϊμία (10% - 19% των ασθενών), κόπωση (32% των ασθενών), παθολογικά κατάγματα (30% των ασθενών), απώλεια όρεξης - απώλεια βάρους (25% των ασθενών), αδυναμία, εύκολοι μώλωπες, εξασθενημένη αιμοποίηση (εύκολη αιμορραγία), χαμηλό πυρετό, σύγχυση, πονοκεφάλους, νυχτερινές εφιδρώσεις, υποτροπιάζουσες αναπνευστικές και ουροποιητικές λοιμώξεις, παραισθησία στα δάκτυλα των χεριών και των ποδιών και περιφερική νευροπάθεια (21,22,25–27,30,31). Η εμφάνιση των περισσότερων συμπτωμάτων πιθανός να δικαιολογείται από την συσσώρευση των ανοσοσφαιρινών, καθώς και από τις αλληλεπιδράσεις των κυττάρων του μυελού των οστών με ανώμαλα μονοκλωνικά PCs (26).

1.3 Επιδημιολογία του MM

1.3.1 Ηλικία

Το MM είναι μια νεοπλασματική ασθένεια που επηρεάζει κυρίως τους ηλικιωμένους. Οι περισσότεροι άνθρωποι που νοσούν είναι άνω των 65 ετών (περίπου 60% των περιπτώσεων) και είναι σπάνιο σε άτομα κάτω των 50 ετών (λιγότερο από 15%). Εξαιρετικά σπάνια το MM εμφανίζεται σε άτομα κάτω των 30 ετών με ποσοστό συχνότητας 0.02% - 0.3% (18–20,26). Διάμεση ηλικία διάγνωσης είναι τα 63-70 έτη (9,10,13,17–20,22–24,26,27,30) και στις ΗΠΑ τα 69 έτη (βλ. Εικ. 1.3.1.1) (17). Διάμεση ηλικία θανάτου είναι τα 75 έτη (17) με περίπου το 80% να είναι άτομα άνω των 65 ετών (17,18,30). Ενώ για ασθενείς ηλικίας άνω των 65 ετών, το προσδόκιμο επιβίωσης είναι χαμηλότερο, η θεραπεία μεταμόσχευσης αυτόλογων βλαστοκυττάρων (Autologous Stem Cell Transplantation ή ASCT) έχει παρουσιάσει ενθαρρυντικά αποτελέσματα ακόμα και για άτομα άνω των 75 ετών (30). Γενικότερα, το MM είναι μια ασθένεια που αναπτύσσεται σε μια περίοδο πολλών ετών, επομένως η νόσος αυτή συνήθως γίνεται αισθητή μόνο σε ηλικιωμένους εάν δεν υπάρχουν άλλοι παράγοντες κινδύνου ή μεταλλάξεις. Αδιαμφισβήτητα λοιπόν, η πιθανότητα εμφάνισης της νόσου, αυξάνεται ευθέως ανάλογα με την αύξηση της ηλικίας (17,19,20).

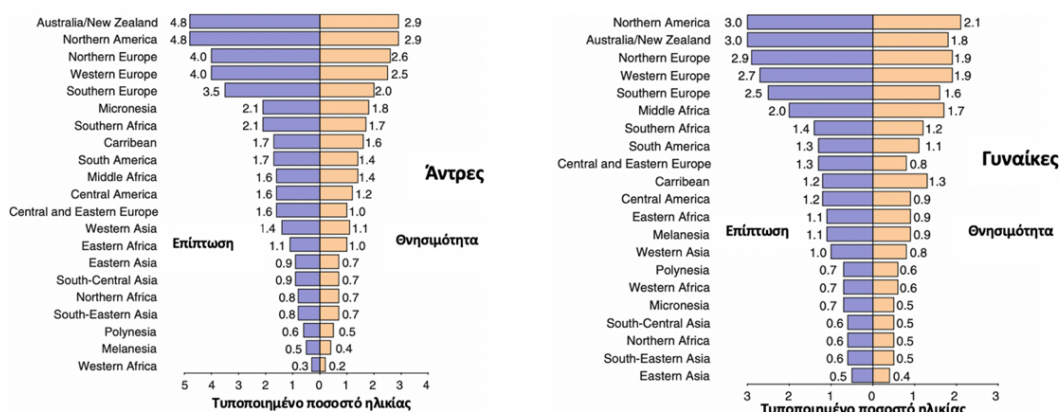


Εικόνα 1.3.1.1 Διάγραμμα ράβδων που παρουσιάζει τα προσαρμοσμένα κατά ηλικία ποσοστά 5ετής θνησιμότητας (για ηλικίες 50-64, 65+, <50 και για όλες τις ηλικίες), για τους άντρες (κόκκινο) και τις γυναίκες (πορτοκαλί), αλλά ταυτόχρονα και για τα δύο φύλα (μπλε) από το 2013-2017 για τις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής. Είναι εμφανές ότι για ηλικίες 65+ τα ποσοστά θνησιμότητας είναι πολύ μεγαλύτερα (17).

1.3.2 Φυλή

Το MM είναι ένας καρκίνος που είναι πιο κοινός μεταξύ ανθρώπων ορισμένων φυλών. Η νόσος αυτή, μπορεί να έχει πολλές διαφορετικές επιπτώσεις και εκβάσεις, ανάλογα με τη φυλή και την καταγωγή ενός ατόμου, αλλά οι λόγοι για τις φυλετικές διαφορές είναι σε μεγάλο βαθμό άγνωστοι (23,30). Γεωγραφικά, μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης MM και θανάτου από MM παρατηρείται στις ανεπτυγμένες, βιομηχανικές, παγκοσμίως κυρίαρχες περιοχές της Αυστραλίας / Νέας Ζηλανδίας, της Βορείου Αμερικής και της Ευρώπης (βλ. Εικ.1.3.2.1) (17,19,25,28). Έτσι, γίνεται εύκολα αντιληπτό ότι τα ποσοστά εμφάνισης MM ποικίλλουν ανάλογα με την εθνική ετερογένεια (17,18,28,30). Υπάρχει περισσότερο από διπλάσια συχνότητα εμφάνισης MM και επιπολασμός στους Αφροαμερικανούς (μαύρους) – που ταιριάζουν κοινωνικοοικονομικά, έχουν παρόμοια ηλικία και ίδιο φύλο, από ότι στους Καυκάσιους (Ευρωπαίους Αμερικάνους) (17–20,22–26,29,30). Επίσης, οι Αφροαμερικάνοι έχουν μικρότερη ηλικία εμφάνισης της νόσου, ενώ διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο θανάτου σε σχέση με τους Καυκάσιους (17,18,23). Στους Αφροαμερικανούς άντρες το ποσοστό εμφάνισης MM είναι 16.5 ανά 100.000 άτομα, ενώ στις Αφροαμερικάνες γυναίκες το ποσοστό είναι 12 ανά 100.000 άτομα. Οι κάτοικοι των νησιών του Ειρηνικού και της Ασίας (17,19,20,23,28), ιδιαίτερα οι Κινέζοι και οι Ιάπωνες (28) έχουν χαμηλότερο κίνδυνο να αναπτύξουν MM (17,19,20,23,28), ακόμη και όταν ζουν σε δυτικές κοινωνίες (20). Για τους άντρες αυτούς, η συχνότητα εμφάνισης είναι 5.0 ανά 100.000 άτομα, ενώ για τις γυναίκες είναι 3.2 ανά 100.000 άτομα (17). Στην Ευρώπη, η ετήσια συχνότητα εμφάνισης MM είναι 6 ανά 100.000 (30).

Αν και οι μηχανισμοί που εξηγούν αυτή την ανισότητα μεταξύ των φυλών δεν είναι ακόμα εντελώς ξεκάθαροι όπως αναφέραμε, εντούτοις υπάρχουν κάποιες παρατηρήσεις που υποστηρίζουν τις υποθέσεις γύρω από αυτές τις διαφορές. Πιθανόν να οφείλεται σε κοινωνικούς και γενετικούς παράγοντες, οι οποίοι θα μελετηθούν αναλυτικότερα σε μεταγενέστερο στάδιο (23,29,30).



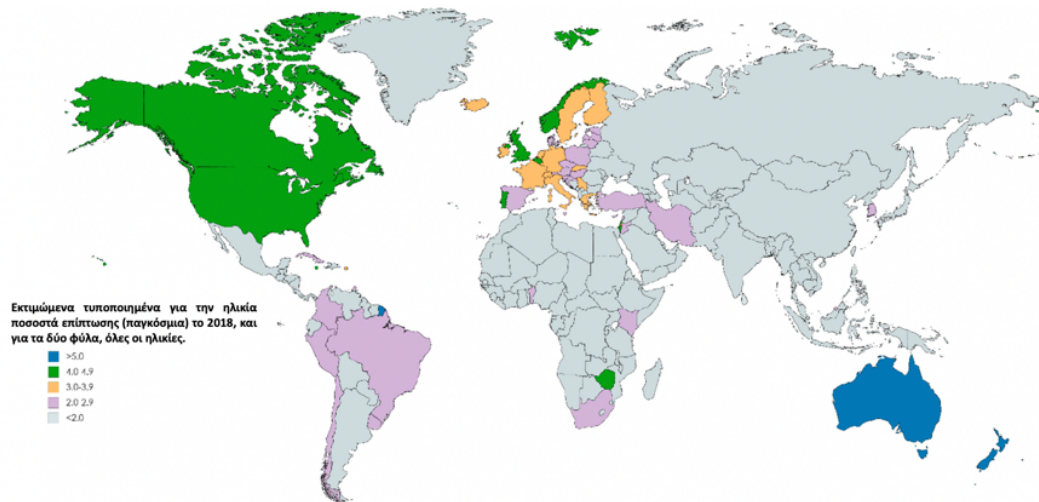
Εικόνα 1.3.2.1 Επίπτωση (μωβ) και θνησιμότητα (πορτοκαλί) για το πολλαπλό μυέλωμα (MM) σε διάφορες χώρες. Στο πάνω μέρος της γραφικής παράστασης παρουσιάζονται οι χώρες με τα μεγαλύτερα ποσοστά, ενώ στο κάτω μέρος οι χώρες με τα μικρότερα ποσοστά. Οι τιμές είναι τυποποιημένες ανάλογα με την ηλικία σύμφωνα με το παγκόσμιο πρότυπο και δίνονται ανά 100.000 (28).

1.3.3 Επίπτωση

Σύμφωνα με τα στατιστικά στοιχεία του παγκόσμιου παρατηρητηρίου GLOBOCAN για τον καρκίνο, υπολογίζεται ότι υπήρχαν 160.000 περιπτώσεις με MM σε όλο τον κόσμο το 2018 (17). Αυτό ισοδυναμεί στο 0.9% όλων των διαγνώσεων καρκίνου (βλ. Εικ. 1.3.3.1) (17,25,30). Περίπου 70.000 ήταν γυναίκες και 90.000 ήταν άντρες. Γεγονός που αντιστοιχεί σε ετήσιο ποσοστό επίπτωσης 1.4 ανά 100.000 στις γυναίκες και 2.1 ανά 100.000 στους άντρες (17,30). Η πιθανότητα να διαγνωστεί κάποιος με MM, από τη γέννηση του μέχρι την μέση ηλικία διάγνωσης, είναι 0.17% στις γυναίκες και 0.24% στους άντρες. Αυτό σημαίνει ότι το MM είναι περίπου 1.5 φορές πιο πιθανό να εμφανιστεί στους άντρες παρά στις γυναίκες (17–19,21–25,30). Μπορεί να υπάρχουν ορισμένοι λόγοι για τους οποίους οι άντρες είναι πιο πιθανό να αναπτύξουν MM παρά οι γυναίκες, χωρίς βέβαια οι λόγοι αυτοί να ισχύουν σε όλες τις περιπτώσεις. Για παράδειγμα, οι άντρες μπορεί να είναι πιο επιρρεπείς σε παράγοντες κινδύνου παρά οι γυναίκες, γεγονός που μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου. Ωστόσο, δεν υπάρχουν αρκετά στοιχεία για να πούμε με βεβαιότητα γιατί συμβαίνει αυτό. Η παγκόσμια επίπτωση του MM έχει αυξηθεί κατά 126% τις τελευταίες δεκαετίες, συγκεκριμένα από το 1990 μέχρι το 2016.

Το 2020, εκτιμήθηκε ότι περίπου 32.000 άνθρωποι θα διαγιγνώσκονται με MM στις ΗΠΑ ετησίως. Αυτό αντιστοιχεί περίπου στο 1.8% όλων των διαγνώσεων καρκίνου (πάνω από το διπλάσιο του παγκόσμιου ποσοστού) (17,19,24–26) και περίπου στο 15% των λεμφοαιματοποιητικών καρκίνων. Ο κίνδυνος εμφάνισης MM καθόλη τη διάρκεια ζωής

στις ΗΠΑ είναι 1 στους 132 (0.76%) (25). Η ετήσια επίπτωση προσαρμοσμένη στην ηλικία στις ΗΠΑ είναι περίπου 4 ανά 100.000, διατηρώντας σταθερά επίπεδα τις τελευταίες δεκαετίες (24). Είναι αξιοσημείωτο, ότι τα ποσοστά επίπτωσης αυξάνονται σταθερά με την ηλικία (17,19).



Εικόνα 1.3.3.1 Χάρτης που παρουσιάζει τα εκτιμώμενα τυποποιημένα για την ηλικία ποσοστά επίπτωσης ανά 100.000 (παγκόσμια) το 2018, σχετικά με το πολλαπλό μύελωμα (MM) και για τα δύο φύλα και για όλες τις ηλικίες. Το μεγαλύτερο ποσοστό επίπτωσης (>5), εμφανίζεται στις περιοχές με μπλε χρώμα, ενώ το μικρότερο ποσοστό επίπτωσης (<2), εμφανίζεται στις περιοχές με γκριζο χρώμα (17).

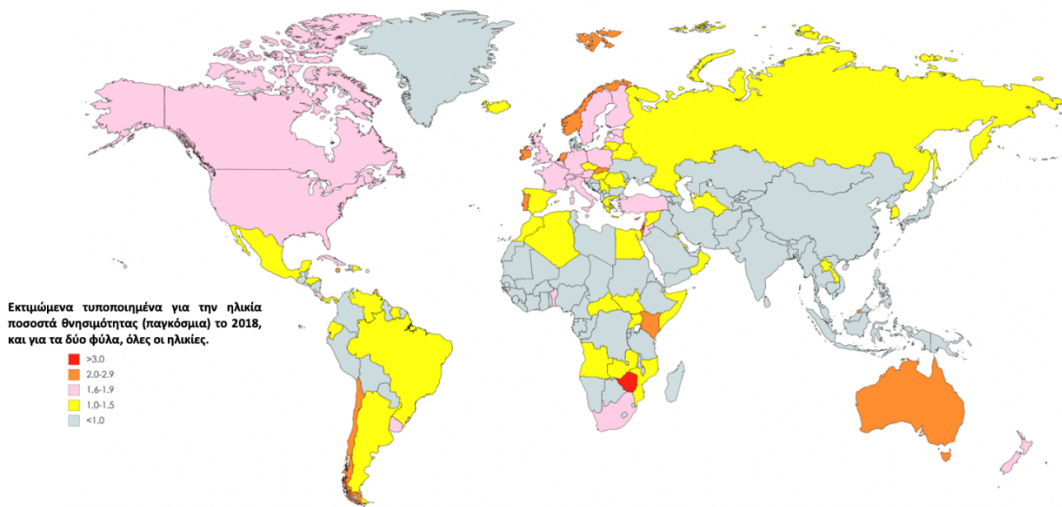
1.3.4 Θνησιμότητα

Η θνησιμότητα παγκόσμια έχει αυξηθεί κατά 94% τις τελευταίες δύο δεκαετίες (17). Το 2018, υπήρξαν παγκόσμια περίπου 106.000 θάνατοι από MM, που αντιστοιχεί στο 1.1% όλων των θανάτων από καρκίνο (βλ. Εικ.1.3.4.1) (17,25). Από αυτούς, 47.000 ήταν γυναίκες και 59.000 ήταν άντρες, που αντιστοιχεί με τυποποιημένη για την ηλικία θνησιμότητα 0.9 ανά 100.000 και 1.3 ανά 100.000, αντίστοιχα. Ο κίνδυνος θανάτου από MM ήταν 0.10% στις γυναίκες και 0.15% στους άντρες. Αυτό υποδηλώνει ότι οι άνθρωποι σε όλο τον κόσμο έχουν παρόμοιες πιθανότητες να επιβιώσουν από MM.

Η θνησιμότητα στις ΗΠΑ έχει μειωθεί κατά 18%, ενώ η 5ετής επιβίωση έχει υπερδιπλασιαστεί τα τελευταία χρόνια, εξαιτίας της εισαγωγής νέων στοχευμένων θεραπειών και τεχνικών μεταμόσχευσης (17). Στις ΗΠΑ αναμένεται να συμβαίνουν περίπου 12.590 θάνατοι ετησίως (5930 γυναίκες και 6660 άντρες) (17,23–26).

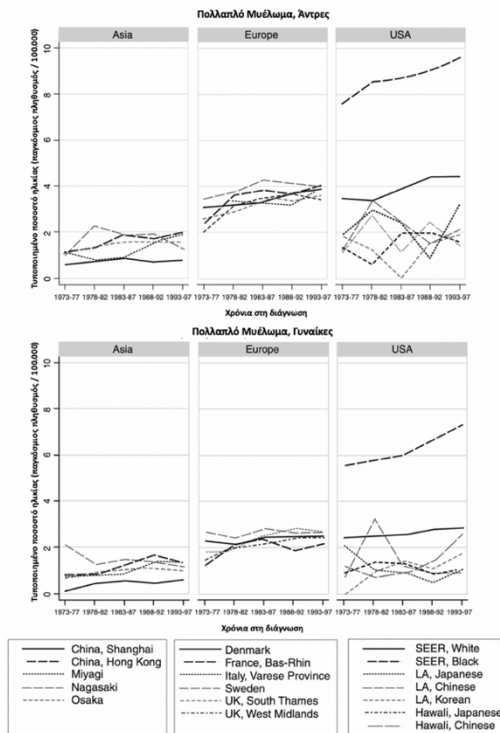
Οι Αφροαμερικάνοι, όπως αναφέρθηκε και πιο πριν, διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο θανάτου σε σχέση με τους Καυκάσιους (17,18). Χαρακτηριστικά αναφέρονται 5.3 ανά 100.000 θάνατοι στις Αφροαμερικάνες γυναίκες και 7.5 ανά 100.000 θάνατοι στους

Αφροαμερικανούς άντρες, σε σύγκριση με 2.4 και 3.9 στους Καυκάσιους, γυναίκες και άντρες, αντίστοιχα (17).



Εικόνα 1.3.4.1 Χάρτης που παρουσιάζει τα εκτιμώμενα τυποποιημένα για την ηλικία ποσοστά θνησιμότητας ανά 100.000 (παγκόσμια) το 2018, σχετικά με το πολλαπλό μυέλωμα (MM) και για τα δύο φύλα και για όλες τις ηλικίες. Το μεγαλύτερο ποσοστό θνησιμότητας (>3), εμφανίζεται μόνο σε μια συγκεκριμένη περιοχή μικρής έκτασης του χάρτη με κόκκινο χρώμα, ενώ το μικρότερο ποσοστό θνησιμότητας (<1), εμφανίζεται στις περιοχές με γκρίζο χρώμα (17).

Η επίπτωση και η θνησιμότητα, είναι σταθερές στις Ασιατικές χώρες και αυξάνονται με αργούς ρυθμούς κατά τη διάρκεια των χρόνων μεταξύ λευκών στις δυτικές χώρες και μαύρων στις ΗΠΑ (βλ. Εικ. 1.3.4.2) (28).



Εικόνα 1.3.4.2. Επίπτωση του πολλαπλού μυελώματος (MM) σε άντρες (πάνω) και γυναίκες (κάτω) σε διάφορα μέρη του κόσμου (Ασία, Ευρώπη και διαφορετικές εθνικότητες εντός των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής). Η επίπτωση είναι σταθερή στις Ασιατικές χώρες, ενώ αυξάνεται με αργούς ρυθμούς στους λευκούς της Ευρώπης και στους μαύρους των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής κατά τη διάρκεια των χρόνων. Οι τιμές παρουσιάζονται με τυποποιημένα ποσοστά ηλικίας (28).

1.4 Παράγοντες κινδύνου

Η αιτιολογία εμφάνισης MM είναι ελάχιστα γνωστή (17,18,28). Αυτό πιθανόν να οφείλεται στο ότι μερικοί παράγοντες κινδύνου, όπως η κατανάλωση καπνού και η διατροφή που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην γενικότερη ανάπτυξη κακοήθων ασθενειών, να μην εμπλέκονται στην ανάπτυξη MM. Σημαντικοί παράγοντες κινδύνου όμως, όπως αναφέρθηκαν ήδη πιο πάνω, αποτελούν η ηλικία (διάμεση ηλικία διάγνωσης 63-70 έτη), η φυλή (οι Αφροαμερικάνοι έχουν υπερδιπλάσια πιθανότητα να νοσήσουν) και το φύλο (περίπου 1.5 φορές πιο πιθανό να εμφανιστεί το MM στους άντρες παρά στις γυναίκες). Ωστόσο, πληθώρα άλλων παραγόντων φαίνεται να επηρεάζουν επίσης την εμφάνιση MM τους οποίους θα παρουσιάσουμε αναλυτικότερα παρακάτω.

1.4.1 Καπνός

Στις πλείστες μελέτες που έγιναν επί του θέματος, δεν παρουσιάστηκαν σημαντικές συσχετίσεις ως προς την αύξηση κινδύνου εμφάνισης MM. Παρόλα αυτά υπάρχουν

ελάχιστες μελέτες που αναφέρουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης MM για τους καπνιστές, καθιστώντας το ζητούμενο αμφιλεγόμενο. Έτσι λοιπόν, αυτή τη στιγμή το κάπνισμα θεωρείται, αν όχι καθόλου, ένας πολύ οριακός παράγοντας κινδύνου για το MM.

1.4.2 Αλκοόλ

Μηδενικό αποτέλεσμα παρουσιάζουν μελέτες σχετικά με την επίδραση του αλκοόλ στην εμφάνιση MM. Αυξημένος κίνδυνος πιθανολογείται να εμφανίζεται μόνο σε συγκεκριμένο συνδυασμό αλκοολούχων ποτών. Έτσι, και η κατανάλωση αλκοόλ δεν συσχετίζεται σημαντικά με την ανάπτυξη MM (28).

1.4.3 Διατροφή

Δεν υπάρχουν πολλά δεδομένα γνωστά για τις συνέπειες της διατροφής στο MM. Παρόλα αυτά, αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι διαφορετικά είδη τροφίμων μπορεί να έχουν διαφορετικές επιπτώσεις στην ανάπτυξη καρκίνου. Όσον αφορά το MM, η κατανάλωση φρούτων, ιδιαίτερα εσπεριδοειδών και λαχανικών σχετίζεται με ελαφρώς μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου (20,28). Κάποιες μελέτες, παρουσίασαν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης MM με την κατανάλωση κρέατος κοτόπουλου, αλλά γενικά η κατανάλωση κρέατος χαρακτηρίζεται από μηδενικό αποτέλεσμα ως προς την συσχέτιση. Για την κατανάλωση ψαριών υπάρχει σύγκρουση μεταξύ των μελετών, καθώς ορισμένες υποστηρίζουν ότι τα ψάρια σχετίζονται με μειωμένο κίνδυνο, ενώ άλλες ότι σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου (28). Οι πλείστες μελέτες όμως, αναφέρουν ότι χαμηλή πρόσληψη ψαριών, ισοδυναμεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης MM (20). Έτσι, η διατροφή δεν εμπλέκεται σημαντικά στην αιτιολογία του MM, αφού τα περισσότερα στοιχεία για αυτήν είναι σε μεγάλο βαθμό ασυνεπή (28).

1.4.4 Παχυσαρκία

Τα παχύσαρκα άτομα, σύμφωνα με επιδημιολογικές μελέτες παρουσιάζουν αυξημένο σχετικό κίνδυνο εμφάνισης MM (20,28). Η παχυσαρκία θεωρείται παράγοντας κινδύνου για την εξέλιξη της μονοκλωνικής γαμμαπάθειας απροσδιόριστης σημασίας (Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance ή MGUS) σε MM (12). Αυτά τα άτομα αποδεικνύεται ότι έχουν υψηλότερα επίπεδα ιντερλευκίνης 6 (IL-6), καθώς και βιοδιαθεσιμότητα του αυξητικού παράγοντα ινσουλίνης-1 (Insulin-like Growth Factor-1 ή

IGF-1) που παρατηρείται να συνδέονται με την εμφάνιση της νόσου. Έτσι, η παχυσαρκία αποτελεί σχετικό παράγοντα κινδύνου, αλλά και παράγοντα επιβίωσης από το MM.

1.4.5 Σωματική δραστηριότητα

Η σωματική άσκηση θεωρείται ότι μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης πολλών καρκινικών παθήσεων, αφού λειτουργεί ως προστατευτικός παράγοντας. Ωστόσο, δεν διενεργήθηκαν εξονυχιστικές έρευνες για την συσχέτιση της με το MM.

1.4.6 Ορμονικοί παράγοντες

Εξαιτίας του ότι οι άντρες είναι περίπου 1.5 φορές πιο πιθανό να εμφανίσουν MM παρά οι γυναίκες, θεωρήθηκε ότι οι ορμονικοί παράγοντες θα έπρεπε να ληφθούν υπόψη ως κίνδυνος εμφάνισης της νόσου. Η ορμονική κατάσταση, πιθανόν να ρυθμίζεται από την παχυσαρκία, καθώς και από τον τρόπο ζωής του κάθε ατόμου.

Αρκετές παράμετροι εξετάστηκαν, όπως η ηλικία των γυναικών κατά την γέννηση του πρώτου τους παιδιού, ο αριθμός των εγκυμοσύνων, η θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης, καθώς και κάποιοι παράμετροι που συνδέονται με την ύπαρξη άλλων λεμφωμάτων. Ωστόσο, καμία από αυτές τις παραμέτρους δεν αποκάλυψε ιδιαίτερες σχέσεις με το MM (28).

1.4.7 Περιβάλλον και επάγγελμα

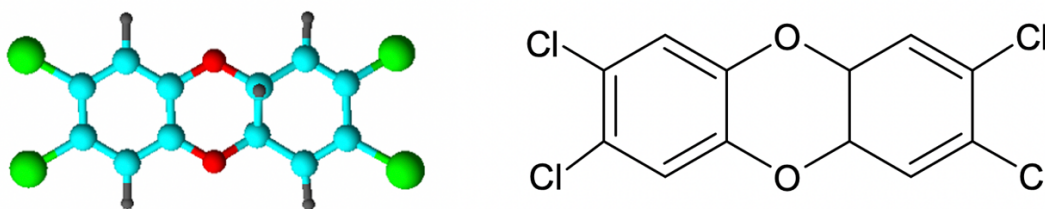
Εκθέσεις σε φυτοφάρμακα (19,20,28–30), οργανικούς διαλύτες (ιδιαίτερα βενζόλιο) (19,20,28), τοξικές χημικές ουσίες (19,20,26,28), προϊόντα κομμωτηρίου όπως βαφές μαλλιών (19,20,28) και καουτσούκ (20), παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης MM. Έκθεση σε πετροχημικά, καυσαέρια ντίζελ και σε διάφορα βιομηχανικά χημικά, παρουσιάζουν μεν κίνδυνο εμφάνισης MM, αλλά σε πιο χαμηλή συχνότητα (29).

Εργαζόμενοι που ασχολούνται με τη γεωργία και έρχονται σε μακροχρόνια επαφή με χημικές ουσίες, αποδείχτηκε ότι έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης MM (19,26,29). Συγκεκριμένα, η αναλογία κινδύνου που συνδέεται με τη γεωργία είναι τριπλάσια ή ακόμα και τετραπλάσια όσον αφορά συγκεκριμένες χημικές ουσίες (19).

Μελέτη που έγινε σε Καναδούς άντρες ανθρακωρύχους έδειξε θετική συσχέτιση της επαγγελματικής έκθεσης σε σκόνη άνθρακα με την εμφάνιση MM με αναλογία πιθανοτήτων 1.6 και διάστημα εμπιστοσύνης 95%. Συγκεκριμένα, επαγγελματική εργασία

για πάνω από 10 χρόνια σε ανθρακωρυχείο αυξάνει σημαντικά τον κίνδυνο εμφάνισης MM. Σημαντικό σημείο όμως που πρέπει να λαμβάνεται υπόψη είναι η φυλή, καθώς οι Αφροαμερικάνοι ανθρακωρύχοι παρουσίαζαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερες πιθανότητες εμφάνισης MM, παρά οι λευκοί (29).

Η έκθεση σε διοξίνη (βλ. Εικ. 1.4.7.1), όπως για παράδειγμα πηγές μολυσμένου νερού με διοξίνες ή κατανάλωση ψαριών μολυσμένων με διοξίνες, αποτελούν επίσης παράγοντα κινδύνου για MM. Χαρακτηριστική περίπτωση αποτελούν ψαράδες που ζουν κοντά στη λίμνη Okeechobee στη Φλόριντα, ψαράδες στη Μαύρη Θάλασσα, Ινδιάνοι της Αλάσκας και άτομα στο Seveso της Ιταλίας. Επίσης, οι Σκανδιναβοί ψαράδες που ζουν στην ανατολική και δυτική ακτή, παρουσιάζουν μεγαλύτερη έκθεση σε τοξικές χημικές ουσίες και διοξίνη, προερχόμενες από τη Βαλτική Θάλασσα, εξαιτίας των τεράστιων ποσοτήτων βιομηχανικών απόβλητων στο νερό.



Εικόνα 1.4.7.1 Χημική δομή της διοξίνης (2,3,7,8-τετραχλωροδιβενζο-p-διοξίνη ή 2,3,7,8-TCDD). (Ο σχεδιασμός των ενώσεων έγινε με το πρόγραμμα ACDLLABS – ChemSketch).

Οι διοξίνες είναι ρακεμικό μείγμα D- και L- ισομερών. Όταν λοιπόν οι διοξίνες ψεκάγονται στο περιβάλλον, και τα δύο ισομερή έχουν αναμφίβολα διαφορετική τοξικότητα στα φυτά και στον άνθρωπο. Έτσι, όταν τα ψεκαζόμενα φυτοφάρμακα μετατρέπονται από το ένα ισομερές στο άλλο από βακτήρια του εδάφους, παρουσιάζονται εμφανής επιπτώσεις (19).

1.4.8 Ιοντίζουσα ακτινοβολία

Η ιοντίζουσα ακτινοβολία αποτελεί παράγοντα κινδύνου για το MM (19,23,26,28,30). Ο κίνδυνος εμφάνισης MM είναι μεγαλύτερος με την αθροιστική έκθεση στην ακτινοβολία. Το MM που προέρχεται από ακτινοβολία μπορεί να εμφανιστεί αρκετά χρόνια μετά την αρχική έκθεση (19).

Αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης MM παρατηρήθηκε στους επιζώντες από την ατομική βόμβα στο Ναγκασάκι και στους εργαζόμενους στον καθαρισμό της τεράστιας καταστροφής του Τσερνομπίλ, περιστατικά που δείχνουν την επίπτωση που έχει η ιοντίζουσα ακτινοβολία στην ανάπτυξη του MM (30).

Ιοντίζουσα ακτινοβολία εμπλέκεται σημαντικά και στην ιατρική μέσω διαγνωστικών ακτινολογικών απεικονίσεων και ακτινοθεραπειών. Παρόλα αυτά, τόσο το ιατρικό προσωπικό, όσο και οι ασθενείς που έρχονται σε επαφή με αυτού του είδους την ακτινοβολία δεν φαίνεται να αντιμετωπίζουν σημαντικό κίνδυνο για εμφάνιση MM, εφόσον τηρούνται όλα τα απαραίτητα μέτρα προστασίας και από τις δύο πλευρές.

Αντίθετα αποτελέσματα φαίνεται να έχει η μακροχρόνια επαγγελματική έκθεση με ιοντίζουσα ακτινοβολία χαμηλού επιπέδου, καθώς υπάρχουν στοιχεία για στατιστικά σημαντικό κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνων και ιδιαίτερα MM (28).

1.4.9 Οικογενειακό ιστορικό και γενετικοί παράγοντες

Οι φυλετικές διαφορές που περιγράφηκαν δεν μπορούν να εξηγηθούν μόνο από παράγοντες όπως η κοινωνική κατάσταση, το εισόδημα και η πρόσβαση στην υγειονομική περίθαλψη. Μερικές από τις διαφορές είναι πιθανό να οφείλονται σε γενετικούς και βιολογικούς παράγοντες (18,21–23,29,30). Διαπιστώθηκε ότι η αναλογία πιθανοτήτων για εμφάνιση MM μεταξύ συγγενών πρώτου βαθμού είναι 1.90 (εύρος τιμών: 1.26 - 2.87, 95%), δηλαδή έχουν σχεδόν διπλάσιο κίνδυνο ανάπτυξης MM (17,22,23,26,30). Αυτό είναι ιδιαίτερα εμφανές στους άντρες και στους Αφροαμερικανούς με αναλογία πιθανοτήτων 4.13 (εύρος τιμών: 2.17 - 7.85, 95%) και 5.52 (εύρος τιμών: 1,87 - 16.27, 95%), αντίστοιχα (17). Αυξημένος κίνδυνος, υπάρχει μόνο για συγγενείς πρώτου βαθμού, καθώς δεν βρέθηκε κάποια συσχέτιση με τους συγγενείς δευτέρου ή τρίτου βαθμού (22,23,28,30). Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι οι συγγενείς πρώτου βαθμού ασθενών με MGUS έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο να αναπτύξουν MGUS, MM (18,20,23), μακροσφαιριναιμία Waldenström και χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία (βλ. Πιν.1) (18,20). Για να γίνει εύκολα κατανοητό πως οι γενετικές και βιολογικές διαφορές επηρεάζουν την πιθανότητα εμφάνισης MM, ερευνητές προσπαθούν μέσω υβριδισμού *in situ* φθορισμού

(Fluorescence In Situ Hybridisation ή FISH¹), συγκριτικού γονιδιωματικού υβριδισμού βάσει συστοιχιών (array Comparative Genome Hybridization ή aCGH²) και προφίλ γονιδιωματικής έκφρασης (Gene Expression Profiling ή GEP³) να συσχετίσουν συγκεκριμένες γονιδιωματικές αλλοιώσεις σε σχέση με τις φυλετικές κλινικές διαφορές (17,18). Κάποιες μελέτες υποστηρίζουν φυλετική ετερογένεια, αφού οι Αφροαμερικάνοι έχουν χαμηλότερο ποσοστό IgM MM ή MGUS. Επίσης μια άλλη μελέτη, εντόπισε αυξημένη πολυκλωνική υπεργάμμα-σφαιριναιμία σε άντρες από τη Γκάνα σε σχέση με λευκούς άντρες που ζούσαν στο ίδιο γεωγραφικό σημείο (23). Εντούτοις, οι μελέτες αυτές δεν κατάφεραν να δικαιολογήσουν τις έντονες διαφορές που παρατηρούνται στον κίνδυνο της ασθένειας όσον αφορά την φυλή και την καταγωγή, λόγω έλλειψης βιβλιογραφίας (17,23).

Πίνακας 1. Πιθανότητα συγγενείς πρώτου βαθμού των ασθενών με μονοκλωνική γαμμαπάθεια απροσδιόριστη σημασίας (MGUS), να αναπτύξουν μονοκλωνική γαμμαπάθεια απροσδιόριστη σημασίας (MGUS), πολλαπλό μύελωμα (MM), μακροσφαιριναιμία Waldenström και χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία. Υπάρχει μεγαλύτερη πιθανότητα οι συγγενείς αυτοί να αναπτύξουν μακροσφαιριναιμία Waldenström (4.0 φορές πιο πιθανόν)

Κίνδυνος να αναπτύξουν	Συχνότητα
MGUS	2.8 φορές πιο πιθανόν
MM	2.9 φορές πιο πιθανόν
Μακροσφαιριναιμία Waldenström	4.0 φορές πιο πιθανόν
Χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία	2.0 φορές πιο πιθανόν

Μεγάλες διαφορές βρέθηκαν να υπάρχουν στο γονιδιωματικό περιβάλλον των όγκων MM, ανάμεσα στους Αφροαμερικανούς και τους Ευρωπαίους. Το γονιδιωματικό περιβάλλον των όγκων MM στους λευκούς έχει περισσότερες γονιδιωματικές μεταλλάξεις και μετατοπίσεις σε ολόκληρο το γονιδίωμα σε σχέση με αυτό των Αφροαμερικανών. Μια χαρακτηριστική μετάλλαξη που παρατηρείται στους λευκούς, είναι η μετάλλαξη TP53. Το γεγονός αυτό καθιστά την περίπτωση εμφάνισης MM στους λευκούς αρκετά πιο περίπλοκη και πιο δύσκολη να εμφανιστεί (23).

¹ Η μέθοδος FISH είναι μια κλασική κυτταρογενετική μοριακή τεχνική για τη διάγνωση γενετικών ανωμαλιών. Εξαιτίας της τόσο απλής διαδικασίας είναι εφικτό να αναγνωρισθεί η ειδική ανωμαλία που προκαλεί τον όγκο (79), να δοθούν πληροφορίες που αφορούν τη δομή, τη μετάλλαξη, καθώς και την πορεία μεμονωμένων χρωμοσωμάτων και ολόκληρων γονιδιωμάτων (80).

² Η μέθοδος aCGH αποτελεί εργαστηριακό έλεγχο πρώτης γραμμής για συγγενείς διαταραχές και αναπτυξιακά προβλήματα. Πραγματοποιείται μικροανάλυση του ανθρώπινου γονιδιώματος για λεπτομερές εξέταση περιοχών DNA, οι οποίες εμφανίζουν διπλασιασμούς ή ελλείψεις. Έχει 100 - 1000 φορές υψηλότερη ανάλυση συγκριτικά με τον κλασικό καρυότυπο (81).

³ Η μέθοδος GEP προσφέρει μια καθολική εικόνα του προτύπου της γονιδιακής έκφρασης. Η μέθοδος αυτή μπορεί να υπολογίσει προγνωστικά και κλινικά σημαντικούς υποτύπους ανάμεσα σε ασθενείς που πιστεύεται ότι έχουν παρόμοιους όγκους σύμφωνα με καθιερωμένα κλινικοπαθολογικά κριτήρια (82).

Είναι πλέον διαδεδομένο στην ευρύτερη κοινωνία, ότι γονιδιωματικοί πολυμορφισμοί μπορούν να επηρεάσουν την γέννηση μιας ασθένειας (20,23). Η κύρια εστία γενετικής διαφοροποίησης στον άνθρωπο είναι οι μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (Single Nucleotide Polymorphisms ή SNPs) (20). Αυτοί οι πολυμορφισμοί θεωρείται ότι είναι υπεύθυνοι για τις ατομικές διαφορές στη γενετική ευαισθησία σε περιπτώσεις που αφορούν ασθένειες όπως το MM. Αρκετά γονίδια διαφορετικών μονοπατιών έχουν συσχετιστεί με τον κίνδυνο ανάπτυξης MM. Χαρακτηριστικά παραδείγματα, αποτελούν πολυμορφισμοί σε γονίδια κυτοκινών, όπως γονίδια που ανήκουν στο μονοπάτι IL-6. Επίσης πολυμορφισμοί σε αυξητικούς παράγοντες και γονίδια κυτταρικής σηματοδότησης παίζουν σημαντικό ρόλο (20). Ο πυρηνικός μεταγραφικός παράγοντας NF-κΒ εμπλέκεται στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την εισβολή, τη μετάσταση και την αγγειογένεση στο MM (32). Δευτερεύοντα αλληλόμορφα γονίδια SNPs, όπως ο μεταγραφικός ενεργοποιητής TRAF3 (rs12147254) και ο αναστολέας IκΒα (rs2233406) που σχετίζονται με το μονοπάτι NF-κΒ, έχουν προστατευτική επίδραση για MM. Πολυμορφισμοί στα γονίδια IGF-1 (rs7965399, rs2195239, rs2373722), IGFBP3 (rs3110697) και IRS1 που εμπλέκονται με τον μεταβολισμό της ινσουλίνης συσχετίστηκαν με αυξημένο και μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης MM. SNPs γονιδίων όπως HGF, CD4, HPSE, CCR7, JAK3, RIPK1 και SERPINE 1 που συνδέονται με την ανοσία σχετίζονται επίσης με MM. Εντυπωσιακό είναι ότι πολυμορφισμοί σε γονίδια επιδιόρθωσης DNA, κυτταρικού κύκλου και απόπτωσης διαδραματίζουν επίσης σημαντικό ρόλο. SNPs γονιδίων XRCC4 (rs963248), XRCC5 (rs1051685), T9I (rs1805388) και LIG4 A3V (rs1805389), συσχετίστηκαν με ευαισθησία για το MM. Συγκεκριμένα, φορείς του αλληλόμορφου XRCC4 (rs963248) G και XRCC5 (rs1051685) G, συνδυάστηκαν με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης MM. Στις γυναίκες, κίνδυνος εμφάνισης MM, σχετίζεται με SNPs στα γονίδια CASP3, CASP9 και BAX. Συσχέτιση παρουσιάζεται και σε πολυμορφισμούς όσον αφορά στον ξενοβιοτικό μεταβολισμό και στα γονίδια μεταφοράς (20). Ο πολυμορφισμός PSMB1 (rs12717) της υπομονάδας πρωτεασώματος β τύπου 1, αποδείχθηκε ότι ασκεί σημαντική επίδραση στην ανταπόκριση στη θεραπεία με βάση τη βορτεζομίμη. Ο πολυμορφισμός PSMB1 P11A, είναι ικανός να εμποδίσει την λειτουργία των πρωτεασωμάτων, με αποτέλεσμα να υπάρχει αντίκτυπο στην πρόγνωση του MM, ειδικά για συγκεκριμένους ασθενείς οι οποίοι έλαβαν θεραπεία με αναστολείς πρωτεασώματος, παρουσιάζοντας επίσης αξιοσημείωτη επίδραση και στην επιβίωση (33).

Πολλά μοναδικά αλληλόμορφα αντιγόνου ανθρώπινου λευκοκυττάρου (Human Leucocyte Antigen ή HLA), εμφανίστηκαν σε έρευνες συσχέτισης ολόκληρου του γονιδιώματος μόνο σε συγκεκριμένους πληθυσμούς. Αυτό οδηγεί σε συσχέτιση με την ευαισθησία στο MM. Για παράδειγμα, σε κάποιες περιπτώσεις λευκοί ασθενείς θετικοί στο MM, παρουσίαζαν αλληλόμορφα HLA. Ωστόσο, δεν συνέβαινε το ίδιο σε άτομα όπως Αφροαμερικανούς, Ασιάτες, Ισπανόφωνους ή Νησιώτες του Ειρηνικού. Η κληρονομικότητα όσον αφορά την ανοσολογική απόκριση αναμφίβολα μπορεί να πολλαπλασιάσει τον κίνδυνο εμφάνισης MM (23).

Η μεθυλίωση του DNA αποτελεί ένα ενδιαφέρον κομμάτι για τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης. Η υπερμεθυλίωση γονιδίων - στόχων που σχετίζονται με την κυτταρική προσκόλληση, την κυτταρική σηματοδότηση και την αντίσταση στη δεξαμεθαζόνη, αφορά το τελευταίο στάδιο της νόσου. Στα πρώιμα στάδια της νόσου παρατηρείται απομεθυλίωση ιστόνης, η οποία αυξάνει την έκφραση πολλών ογκογονιδίων και τη μεταγραφή (27,34).

Είναι σαφές ότι για να κατανοήσουμε καλύτερα την συμβολή της φυλής και της καταγωγής στην εμφάνιση του MM, θα πρέπει να διεξαχθούν περισσότερες έρευνες με μεγαλύτερο αριθμό συμμετεχόντων από διαφορετικές ομάδες πληθυσμών, φυλετικών μειονοτήτων και διαφορετικών ηλικιών, αντιπροσωπεύοντας τον συνολικό πληθυσμό, για την πραγματοποίηση πιο ισχυρών επιδημιολογικών και γονιδιωματικών αναλύσεων που αναμιγνύουν δεδομένα, βιοδείγματα και τεχνογνωσία από την υπολογιστική βιολογία και τη μοριακή βιολογία. Για την αποτελεσματική εξαγωγή σωστών αποτελεσμάτων όμως, θα πρέπει οι συμμετέχοντες να αναφέρουν αληθή στοιχεία για την φυλή, την καταγωγή και την ηλικία τους, ώστε να μην έχουμε ψευδώς θετικά ή αρνητικά αποτελέσματα. Έτσι, τα αποτελέσματα θα μπορούν να χρησιμοποιηθούν κατάλληλα, προς όφελος όλης την κοινωνίας (18,23).

1.4.10 Ιοί

Το MM έχει συνδεθεί με βακτηριακές ή ιογενείς λοιμώξεις, αυτοάνοσα νοσήματα, αλλεργίες, ανοσοποίηση και θεραπείες απευαισθητοποίησης από αλλεργίες (19,20,28,35). Η ανοσολογική απορρύθμιση είναι καίριας σημασίας για λεμφοπολλαπλασιαστικές κακοήθειες όπως το MM (23). Φάρμακα που ρίχνουν το ανοσοποιητικό σύστημα είναι πιθανόν να τριπλασιάσουν τον κίνδυνο εμφάνισης MM

(22), αφού το ανοσοποιητικό μας επηρεάζεται ποιοτικά και ποσοτικά από πολλούς παράγοντες (23).

Πληθώρα ιών ευθύνεται για την αύξηση κινδύνου εμφάνισης MM. Ο ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (Human Immunodeficiency Virus ή HIV) (19,28) και η ηπατίτιδα C (HCV) (19,23,28), θεωρούνται παράγοντες κινδύνου. Συγκεκριμένα, άτομα θετικά στον ιό HIV έχουν 4.5 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν MM κατά τη διάρκεια της ζωής τους. Κάποιοι άλλοι ιοί που συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης MM είναι ο ιός Stealth, ο ιός Epstein-Barr, και ο ιός πιθήκου (SV40) (19).

Αξιοσημείωτη διαφορά που αφορά την κάθαρση του ιού HCV, έχει να κάνει με την φυλή μεταξύ Αφρικανών και Ευρωπαίων ως προς την απόκριση στη θεραπεία. Κακή κάθαρση του HCV και κακή απόκριση στη θεραπεία, παρατηρείται με μια παραλλαγή, που παράγει την ιντερφερόνη λάμδα 4 (IFNL4). Η θετική παραλλαγή όμως INFNL4, εμφανίζεται με μικρότερη συχνότητα στους Αφρικανούς. Έτσι λοιπόν, ένας λόγος που θα μπορούσε να εξηγήσει την διαφορετική κάθαρση και την κακή απόκριση στη θεραπεία του HCV ως προς την φυλή και την κληρονομικότητα είναι ότι οι Αφρικανοί είναι πιο πιθανόν να παρουσιάζουν μειωμένα επίπεδα της θετικής παραλλαγής INFNL4 και αυξημένα επίπεδα της IFNL4.

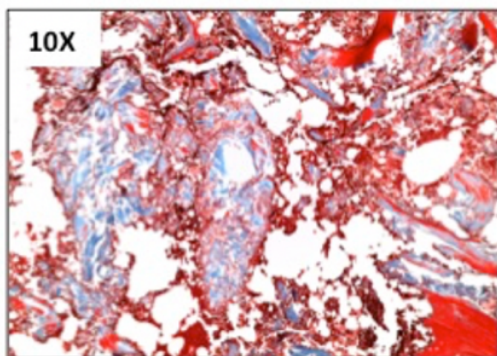
Μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι παραλλαγές ορισμένων γονιδίων που σχετίζονται με το ανοσοποιητικό, εκφράζονται περισσότερο σε Αφροαμερικανούς ασθενείς σε σχέση με τους λευκούς ασθενείς, δημιουργώντας έτσι ευκολότερα προδιάθεση για αιματολογικές ασθένειες. Επίσης, έδειξε ότι η συχνότητα της αλληλικής διακύμανσης μεταξύ των διαφόρων ενδογενών ρετροϊών ήταν αυξημένη στους αφρικανικούς πληθυσμούς σε σύγκριση με τους πληθυσμούς της Ευρώπης και της Ασίας. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι οι Αφροαμερικάνοι έχουν κληρονομήσει περισσότερους ενδογενείς ρετροϊούς από τους Ευρωπαίους (23).

1.5 Παθοφυσιολογία του MM

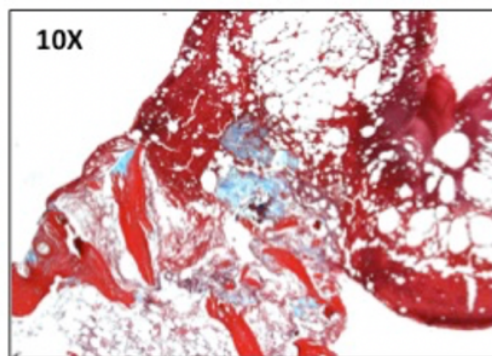
Το MM είναι μια ανίατη κακοήθεια πλασματοκυτταρικών δυσκρασιών (17,18,20–23,25–27,30,36). Τα PCs, είναι ώριμα Β-κύτταρα, προερχόμενα από τη μεταβλαστική λεμφοειδική σειρά (17,18,29,30), με βασική τους λειτουργία την υπερέκκριση αντισωμάτων (μονοκλωνικών ανοσοσφαιρινών – πρωτεΐνες M – ελαφριάς και βαριάς αλυσίδας) στο μυελό των οστών (17,18,20,21,23,25,26), αναγκαία διαδικασία για την

διατήρηση της χυμικής ανοσίας. Τα PCs στο MM υφίστανται νεοπλασματικό μονοκλωνικό πολλαπλασιασμό (17,25,29), με φυσικό επακόλουθο την παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων (κυρίως IgG, μερικές φορές IgM και IgA, ενώ πολύ σπάνια IgD) (17) και βλάβη τελικών οργάνων (17,18). Η ανεξέλεγκτη ανάπτυξη και συσσώρευση των κυττάρων MM είναι πιθανόν να οδηγήσει σε βλάβη του μυελού των οστών (17,27,36), με αποτέλεσμα να προκύψουν εύθραυστα οστά – σκελετική καταστροφή, νεφρική αναιμία, κυτταροπενία (17,27), συμπτώματα εξασθενημένης αιμοποίησης, λοιμώξεις, εξωμυελική νόσος (Extramedullary Disease ή EMD) (27) και καταστολή της φυσιολογικής παραγωγής ανοσοσφαιρίνης (20,37). Διάφορες απεικονιστικές μέθοδοι, μπορούν να δώσουν σημαντικές πληροφορίες για επιτυχή διάγνωση του MM (βλ. Εικ. 1.5.1) (38). Αναμφίβολα λοιπόν, το MM συνδέεται με σημαντική νοσηρότητα (18).

A. Υγιές ανθρώπινο μυελός των οστών



B. Ανθρώπινο μυελός των οστών στο MM



Εικόνα 1.5.1 Απεικόνιση **A.** Υγιούς ανθρώπινου μυελού των οστών μετά από μεγέθυνση 10x (αριστερά), **B.** Ανθρώπινου μυελού των οστών στο πολλαπλό μύελωμα (MM) μετά από μεγέθυνση 10x (δεξιά). Άτυπα πλασματοκύτταρα (PCs) παρουσιάζονται με μεγαλύτερο μέγεθος και αριθμό (εικόνα στα δεξιά) σε σύγκριση με τα φυσιολογικά (εικόνα στα αριστερά) (38).

1.5.1 Προκακοήθη στάδια του MM

Τα χαρακτηριστικά βλάβης των τελικών οργάνων ονομάζονται «CRAB» και περιλαμβάνουν υπερασβεστιαϊμία, νεφρική ανεπάρκεια, αναιμία και οστικές βλάβες (βλ. Πιν. 2). Οι πλασματοκυτταρικές δυσκρασίες, αποτελούνται από ένα εύρος ασθενειών και μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ανάλογα με την παρουσία αυτών των χαρακτηριστικών και των επιπέδων των μονοκλωνικών αντισωμάτων (17,18,39). Οι δυσκρασίες αυτές μπορούν να προκαλέσουν προκακοήθη πολλαπλασιασμό PCs και κακοήθη ασθένειες όπως MM και πλασματοκυτταρική λευχαιμία (Plasma Cell Leukemia ή PCL) (18). Προκακοήθη στάδια του MM, θεωρούνται το πολλαπλό μύελωμα που σιγοκαίει (Smoldering Multiple Myeloma ή

SMM) και το MGUS με ετήσιο κίνδυνο εξέλιξης σε MM 10% και 1%, αντίστοιχα (βλ. Πιν.3) (17–21,23,24,26,36). Και τα δύο στάδια αποκλίνουν από το MM, εξαιτίας του ότι δεν φαίνεται να προκαλούν βλάβες τελικών οργάνων (21,40).

Πίνακας 2. Ονομαστική αναφορά των τεσσάρων χαρακτηριστικών CRAB

Βλάβη τελικού οργάνου με 1 (ή παραπάνω)		
C	Hypercalcemia	Υπερασβεστιαμία
R	Renal failure	Νεφρική ανεπάρκεια
A	Anemia	Αναιμία
B	Bone Lesions	Οστικές βλάβες

Πίνακας 3. Χαρακτηριστικά πολλαπλού μυελώματος που σιγοκαίει (SMM), μονοκλωνικής γαμμαπάθειας απροσδιόριστης σημασίας (MGUS) και ετήσιος κίνδυνος εξέλιξης τους σε πολλαπλό μυέλωμα (MM)

Κατάταξη	Χαρακτηριστικά	Κίνδυνος εξέλιξης σε MM (ετησίως)
SMM	<ul style="list-style-type: none"> • $\geq 10\%$ μονοκλωνικά PCs στο μυελό των οστών • Υψηλά επίπεδα αντισωμάτων (πρωτεΐνη M) ≥ 3 g/dL • Χωρίς χαρακτηριστικά CRAB 	10%
MGUS	<ul style="list-style-type: none"> • $< 10\%$ μονοκλωνικά PCs στο μυελό των οστών • Πρωτεΐνη M (IgG ή IgA ή IgM) < 3 g/dL • Χωρίς χαρακτηριστικά CRAB 	1%

1.5.1.1 MGUS

Έχει αποδειχθεί ότι το MM σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις αρχίζει με MGUS, που θεωρείται μία από τις πιο κοινές ασυμπτωματικές προ-κακοήθειες (βλ. Εικ. 1.5.1.2.1) (18–20,23,24,26,27,30,36). Ο τρόπος που μετασχηματίζονται τα φυσιολογικά PCs και καταλήγουν σε MGUS δεν είναι ακόμα εντελώς ξεκάθαρος, αλλά υπάρχει μια συγκεκριμένη ανωμαλία που είναι χαρακτηριστική στα πολύ αρχικά στάδια της νόσου MM. Αυτή η ανωμαλία είναι η απορρύθμιση της οικογένειας των πρωτεϊνών της κυκλίνης D (κυκλίνες D1, D2 και D3), που μπορεί να εμφανίζεται λόγω ενισχύσεων ειδικών γονιδίων κυκλίνης D, λόγω μετατοπίσεων του CCND1 (κυκλίνη 1) και CCND3 (κυκλίνη 3) με το γονίδιο IgH και λόγω τρισωμιών (26,34). Η MGUS δεν παρουσιάζει ενδείξεις MM ή κάποιας λεμφοπολλαπλασιαστικής κακοήθειας (23,30). Βέβαια, ο ορισμός της MGUS έχει εξελιχθεί από το 1978 όταν αρχικά περιγράφηκε. Επί του παρόντος, διακρίνεται σε τρεις κλινικούς υπότυπους (βλ. Πιν.4). Ο κάθε υπότυπος έχει διαφορετικά ενδιάμεσα στάδια και πορεία

της ασθένειας. Στο non-IgM MGUS, το πιο προχωρημένο προ-κακοήθη στάδιο είναι το SMM. Το IgM MGUS, έχει να κάνει κυρίως με τη μακροσφαιριναιμία Waldenström, ενώ η MGUS ελαφριάς αλυσίδας σχετίζεται με την προ-κακοήθη πρόδρομο της ελαφριάς αλυσίδας MM (23,26). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι, αν και ο κίνδυνος εξέλιξης όλων των μορφών της MGUS σε MM είναι 1% ετησίως, οι πλείστες περιπτώσεις MGUS δεν καταλήγουν σε MM, αλλά εξελίσσονται σε πρωτοπαθή αμυλοείδωση AL, μακροσφαιριναιμία Waldenström και λεμφοπολλαπλασιαστικές διαταραχές (18,19,23). Η μακροσφαιριναιμία Waldenström είναι ένας αρκετά περιορισμένος πολλαπλασιασμός λεμφοειδών κυττάρων⁴ που χαρακτηρίζεται από υψηλά μονοκλωνικά επίπεδα IgM. Εξαιτίας της σπανιότητας της, δεν παρουσιάζει αυξημένο κίνδυνο για MM (17,23). Άτομα άνω των 50 ετών παρουσιάζουν περίπου 3% συχνότητα εμφάνισης MGUS (20,24,26,36), ενώ άνω των 70 ετών περίπου 5% (20,36). Περίπου το 17% - 20% των ασθενών με MGUS εμφανίζουν MM μετά από > 25 χρόνια παρακολούθησης (20), ενώ περίπου το 50% των διαγνωσθέντων με MGUS είχαν την πάθηση πάνω από 10 χρόνια πριν την κλινική διάγνωση (24), αφού μπορεί να διαγνωστεί τυχαία μετά από μια απλή ανάλυση για αυξημένα επίπεδα πρωτεΐνης ορού (26,41).

Πίνακας 4. Ονομαστική κατηγοριοποίηση των τριών κλινικών υπότυπων της μονοκλωνικής γαμμαπάθειας απροσδιόριστης σημασίας (MGUS)

Κλινικοί υπότυποι MGUS
1. Non-IgM MGUS (IgG ή IgA)
2. IgM MGUS
3. MGUS ελαφριάς αλυσίδας

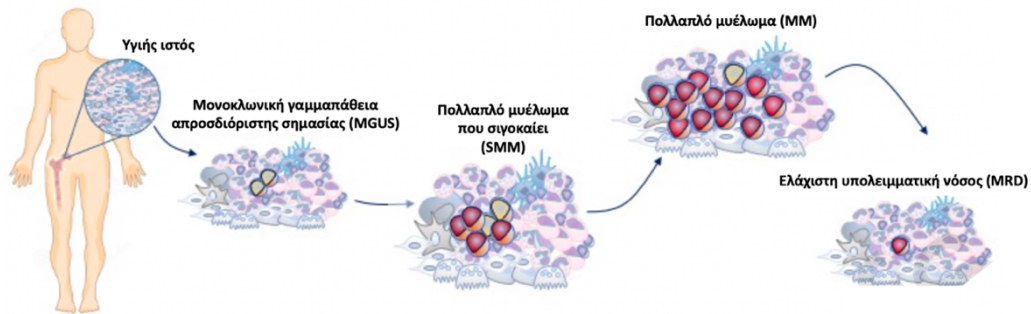
1.5.1.2 SMM

Σε μερικούς ασθενείς βέβαια μπορεί να εμφανιστεί ένα ενδιάμεσο ασυμπτωματικό στάδιο, το SMM. Το SMM είναι πιο προχωρημένο προκακοήθη στάδιο σε σχέση με το MGUS (βλ. Εικ. 1.5.1.2.1) (20,24,26) και εμφανίστηκε πρώτη φορά το 1980, λόγω του ότι έξι ασθενείς που ανταποκρίνονταν σε όλα τα εργαστηριακά ευρήματα για MM, δεν παρουσίασαν βλάβη τελικών οργάνων. Όπως και στο MGUS, δεν καταλήγουν όλες οι

⁴ Λέμφωμα Β-κυττάρων σε αντίθεση με δυσκρασία PCs.

περιπτώσεις SMM σε MM, αν και όλες οι περιπτώσεις MM προέρχονται από SMM (18). Έχει παρατηρηθεί ότι ασθενείς με SMM έχουν διάμεσο χρόνο εξέλιξης 4.8 έτη (20).

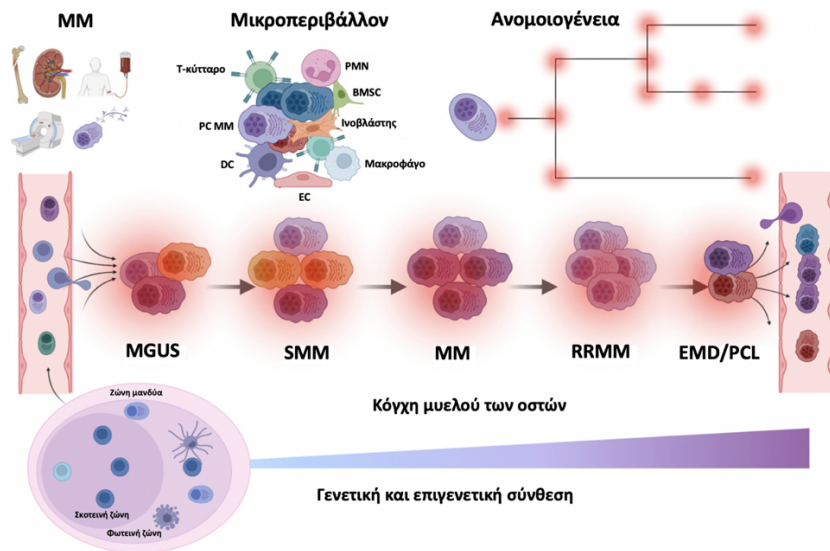
Τόσο το MGUS, όσο και το SMM, εμφανίζονται ολόένα και σε νεότερα άτομα (καθώς δεν αφορούν αποκλειστικά και μόνο τους ηλικιωμένους), χωρίς την εμφάνιση ενεργού μυελώματος για αρκετά χρόνια (19).



Εικόνα 1.5.1.2.1 Πορεία εμφάνισης πολλαπλού μυελώματος (MM). Ένας υγιής ιστός μπορεί αρχικά να εμφανίσει μονοκλωνική γαμμαπάθεια απροσδιόριστης σημασίας (MGUS), η οποία με τη σειρά της μπορεί να εξελιχτεί σε πολλαπλό μύελωμα που σιγοκαίει (SMM) και τελικά να καταλήξει σε πολλαπλό μύελωμα (MM), το οποίο μπορεί στη συνέχεια να χαρακτηριστεί ως ελάχιστη υπολειμματική νόσος (MRD). Κάθε στάδιο της νόσου εμφανίζει μοναδικά χαρακτηριστικά (30).

1.5.1.3 EMD

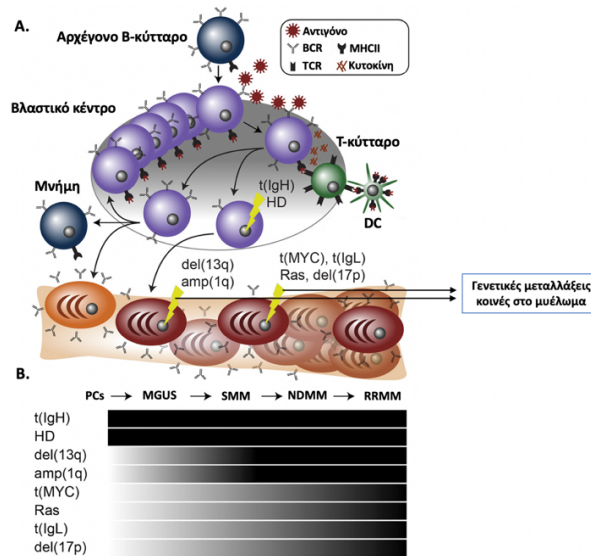
Συχνό φαινόμενο που παρατηρείται σε περιπτώσεις υποτροπής σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε μια ή δύο μεταμοσχεύσεις, αποτελεί η EMD και η PCL (19,34,42,43). Η EMD είναι μια σπάνια κατάσταση που μπορεί να εμφανιστεί κατά τη στιγμή της αρχικής διάγνωσης ή αργότερα κατά την πορεία της νόσου με ποσοστά συχνότητας 1% - 2% και 8%, αντίστοιχα (24). Σημαντικό παράγοντα συνιστά η ύπαρξη μη φυσιολογικού μικροπεριβάλλοντος στον μυελό των οστών, αλλά και στις εξωμυελικές θέσεις (βλ. Εικ. 1.5.1.3.1) (19).



Εικόνα 1.5.1.3.1 Μονοπάτι του κακοήθους πλασματοκυττάρου (PC) στην θέση επιβίωσής του. Ανάπτυξη και εξέλιξη της πορείας της νόσου του πολλαπλού μυελώματος (MM). Πάνω αριστερά: παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά CRAB (υπερασβεστιαμία, νεφρική ανεπάρκεια, αναιμία και οστικές βλάβες) - πρόσθετα διαγνωστικά κριτήρια SLiM (βλ. Πιν. 15). Πάνω κέντρο: παρουσιάζεται η διείδυση του ανοσοποιητικού μικροπεριβάλλοντος. Πάνω δεξιά: παρουσιάζεται σχήμα πολλαπλών διαφοροποιήσεων οικοδόμησης ετερογενούς γονιδιωματικής αρχιτεκτονικής, ως αποτέλεσμα ανομοιογένειας. Κάτω αριστερά: παρουσιάζεται το βλαστικό κέντρο με B-κύτταρα, πλασματοκύτταρα (PCs) και δενδριτικά κύτταρα (Dendritic Cells ή DCs). PMN: κοκκιοκύτταρα ουδετερόφιλων ή neutrophil granulocytes, BMSC: στρωματικά κύτταρα μυελού των οστών ή bone marrow stromal cell, EC: ενδοθηλιακά κύτταρα ή endothelial cell, RRMM: υποτροπή/ανθεκτικό MM ή relapsed / refractory MM (42).

1.5.2 Προέλευση του κακοήθους PC

Τα παθολογικά PCs έχουν μεγάλη διάρκεια ζωής και αφού πραγματοποιηθούν οι διαδικασίες ωρίμανσης των αρχέγονων B-κυττάρων, τότε εκτίθενται σε αντιγόνα. Η φυσιολογική πορεία ωρίμανσης των B-κυττάρων, περιέχει αναδιάταξη των γονιδίων Ig και σωματική μετάλλαξη της μεταβλητής (V) περιοχής. Με αυτό τον τρόπο τα φυσιολογικά πρόδρομα B-κύτταρα μετατρέπονται σε ώριμα PCs. Τα κακοήθη κύτταρα που είναι PCs παρουσιάζονται μετά το βλαστικό κέντρο και έχουν υποβληθεί σε αλλαγή τάξης, ανασυνδυασμό γονιδίου ανοσοσφαιρίνης και σωματική υπερμετάλλαξη. Τα κακοήθη κύτταρα πολλαπλασιάζονται με αργό ρυθμό (βλ. Εικ. 1.5.2.1). Ο δείκτης επισήμανσης των PCs ανιχνεύει < 1% των καρκινικών κυττάρων, τα οποία συνθέτουν ενεργά DNA μέχρι τα τελευταία στάδια της νόσου (27,44).



Εικόνα 1.5.2.1 Διαφοροποίηση πλασματοκυττάρων (PCs) και μυελογένεση. **A.** Σχηματική διαφοροποίηση αρχέγονων Β-κυττάρων, ανάπτυξη πλασματοκυττάρων (PCs) και μυελογένεση. **B.** Διάγραμμα σταδίων του πολλαπλού μυελώματος (MM) που εξελίσσεται από φυσιολογικά πλασματοκύτταρα (PCs) σε μονοκλωνική γαμμαπάθεια απροσδιόριστης σημασίας (MGUS), πολλαπλό μυέλωμα που σιγοκαίει (SMM), πρόσφατα διαγνωσμένο πολλαπλό μυέλωμα (Newly Diagnosed Multiple Myeloma ή NDMM) και υποτροπή / ανθεκτικό πολλαπλό μυέλωμα (RRMM). Τέλος, αναφέρονται οι κοινές μεταλλάξεις στο πολλαπλό μυέλωμα (MM) και τα στάδια στα οποία εμφανίζονται (44).

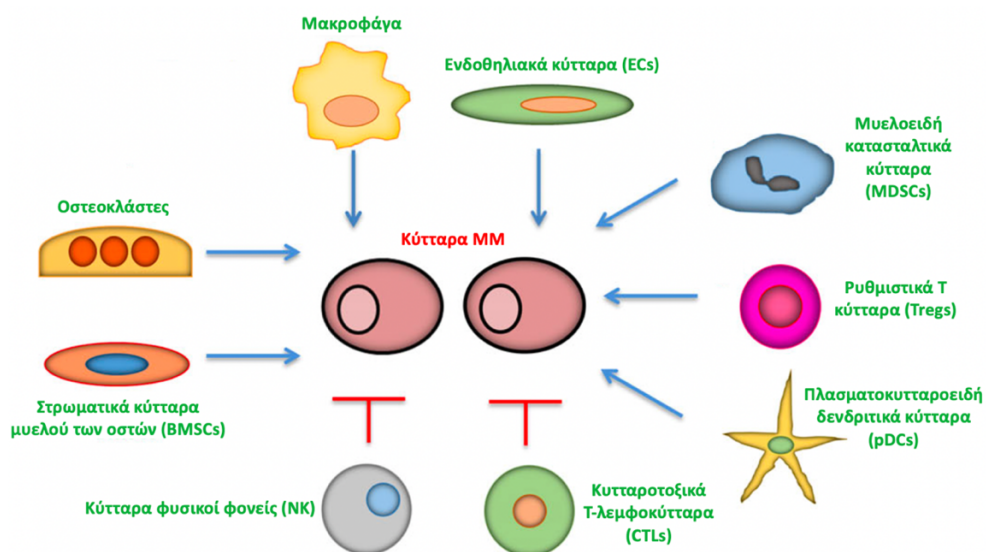
1.5.3 Μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών

Το μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών απαρτίζεται από ένα κυτταρικό διαμέρισμα, το οποίο διαιρείται στους αιμοποιητικούς και μη αιμοποιητικούς τύπους κυττάρων (βλ. Πιν.5 και Εικ. 1.5.3.1) και από ένα μη κυτταρικό διαμέρισμα (βλ. Πιν. 5). Κάθε διαμέρισμα έχει διαφορετικές επιδράσεις στην πορεία των κυττάρων του MM. Μερικά από αυτά τα διαμερίσματα μπορεί επίσης να συνεργάζονται ώστε να βοηθήσουν στην ανάπτυξη των κυττάρων του MM (26,36).

Πίνακας 5. Κατηγοριοποίηση μικροπεριβάλλοντος μυελού των οστών. Το μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών αποτελείται από ένα κυτταρικό διαμέρισμα, το οποίο διαιρείται περεταίρω στους αιμοποιητικούς και μη αιμοποιητικούς τύπους κυττάρων, καθώς επίσης και από ένα μη κυτταρικό διαμέρισμα, το οποίο απαρτίζεται από την εξωκυττάρια μήτρα (extracellular matrix ή ECM), το υγρό περιβάλλον και την συγκέντρωση οξυγόνου

Μικροπεριβάλλον μυελού των οστών	
A. Κυτταρικό διαμέρισμα	B. Μη κυτταρικό διαμέρισμα
1. Αιμοποιητικοί τύποι κυττάρων	1. ECM
<ul style="list-style-type: none"> i. μυελοειδή κατασταλτικά κύτταρα (MDSCs) <ul style="list-style-type: none"> a. μακροφάγα b. κοκκιοκύτταρα c. DCs <ul style="list-style-type: none"> • μυελοειδή DCs (mDCs) • πλασματοκυτταροειδή DCs (pDCs) 	<ul style="list-style-type: none"> 2. Υγρό περιβάλλον <ul style="list-style-type: none"> i. κυτοκίνες ii. αυξητικοί παράγοντες iii. χημειοκίνες

ii. T-λεμφοκύτταρα a. CD4+ T-λεμφοκύτταρα (Tregs)	3. Συγκέντρωση οξυγόνου
iii. B-λεμφοκύτταρα	
iv. κύτταρα φυσικοί φονείς (Natural Killers ή NK)	
v. οστεοκλάστες	
2. Μη αιμοποιητικοί τύποι κυττάρων	
i. BMSCs	
ii. ινοβλάστες	
iii. οστεοβλάστες	
iv. ECs	
v. αιμοφόρα αγγεία	
vi. λιποκύτταρα	



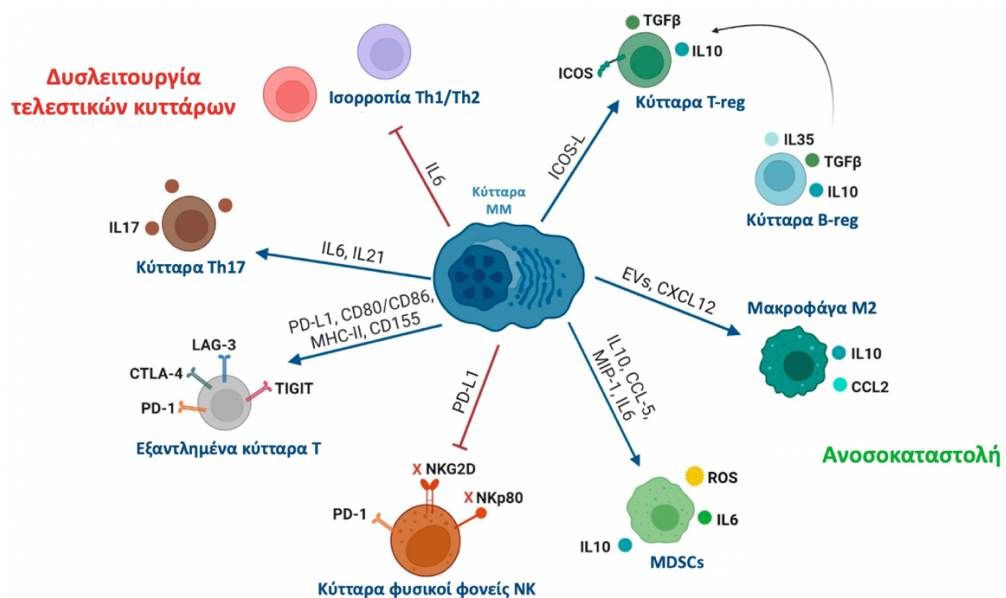
Εικόνα 1.5.3.1 Κυτταρικό διαμέρισμα του μικροπεριβάλλοντος του μυελού των οστών στο πολλαπλό μύελωμα (MM). Παρουσιάζονται μερικοί αιμοποιητικοί τύποι κυττάρων (μακροφάγα, οστεοκλάστες, κύτταρα φυσικοί φονείς (NK), κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα (CTLs), πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα (pDCs), ρυθμιστικά T κύτταρα (Tregs), μυελοειδή κατασταλτικά κύτταρα (MDSCs)) και μη αιμοποιητικοί τύποι κυττάρων (στρωματικά κύτταρα μυελού των οστών (BMSCs), ενδοθηλιακά κύτταρα (ECs)) του κυτταρικού διαμερίσματος (36).

Η εμφάνιση MM είναι μια πολύπλοκη διαδικασία πολλών σταδίων. Απαραίτητες για την επιβίωση των κακοήθων κυττάρων MM είναι οι αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στο μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών και στα κύτταρα MM, οι οποίες ασκούν εμφανής επίδραση στον αριθμό και την λειτουργία των φυσιολογικών BMSCs, αλλά και των κακοήθων κυττάρων (27).

Οι αλληλεπιδράσεις των κυττάρων MM με το μικροπεριβάλλον μπορούν να οδηγήσουν σε λήθαργο των καρκινικών κυττάρων. Αυτό πιθανόν να έχει σαν αποτέλεσμα ένας αριθμός κυττάρων MM να εμφανίσει ανθεκτικότητα στα φάρμακα, με επακόλουθο

την μετατροπή τους σε πολλαπλασιαζόμενα καρκινικά κύτταρα (30,36). Τα κύτταρα MM περνούν από ένα αναστρέψιμο στάδιο (τον λήθαργο) που «ενεργοποιείται» όταν τα κύτταρα MM εμπλακούν με κύτταρα που καλύπτουν οστεοβλάστες ή οστά και «απενεργοποιείται» από την οστεοκλαστική οστική απορρόφηση. Αυτό σημαίνει ότι εάν υπάρχει περισσότερη απορρόφηση των οστεοκλαστικών οστών, θα καταλήξει σε πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων και σε αύξηση της νόσου που προκαλείται από το μυέλωμα (30).

Υπάρχουν πολλές κατηγορίες κυττάρων που αλληλεπιδρούν με εκκρινόμενα μόρια προερχόμενα από διαφορετικούς κυτταρικούς πληθυσμούς (π.χ. από κύτταρα MM), καθώς και εμπλεκόμενοι υποδοχείς που επηρεάζουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων MM (βλ. Εικ. 1.5.3.2).

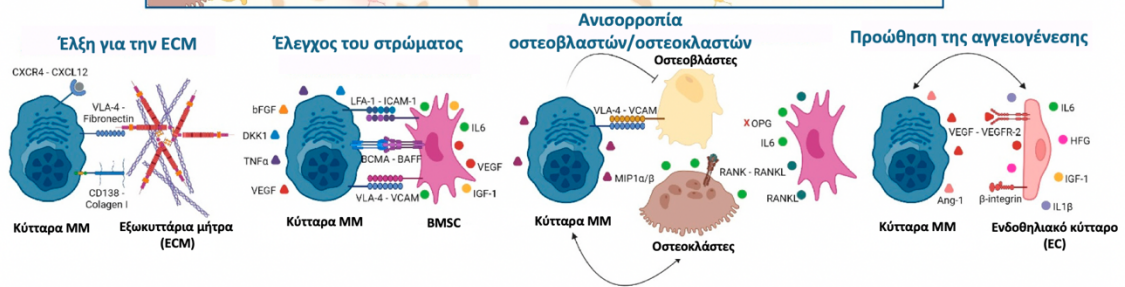
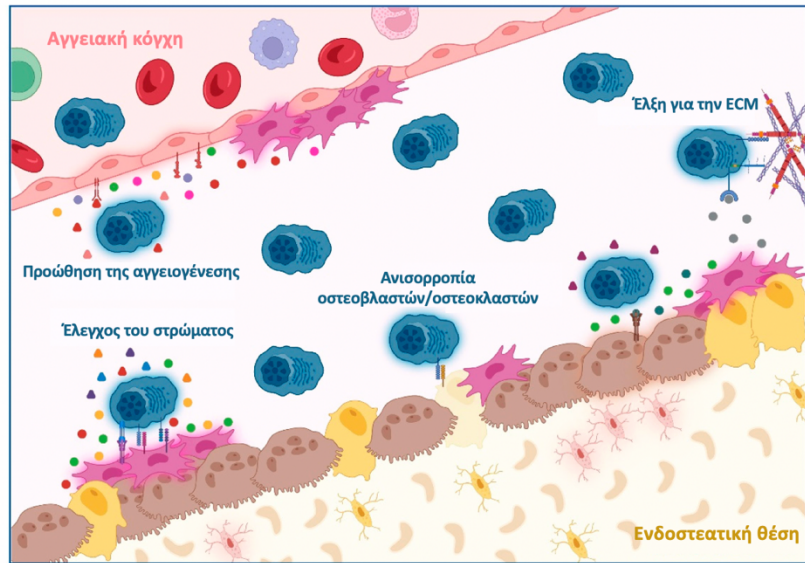


Εικόνα 1.5.3.2 Η έκκριση μορίων από τα κύτταρα πολλαπλού μυελώματος (MM), μπορεί να επηρεάσει τη δραστηριότητα άλλων κυττάρων, με επακόλουθο να επηρεαστεί η ικανότητα του ανοσοποιητικού συστήματος να καταπολεμά τις λοιμώξεις (45).

Η ECM προκαλεί έλξη κυττάρων MM στο μυελό των οστών. Επίσης, κύτταρα MM και μεσεγχυματικά BMSCs αλληλεπιδρούν μεταξύ τους, καθιστώντας το στρώμα ευνοϊκό περιβάλλον για τα κύτταρα MM. Τα κύτταρα MM και τα BMSCs προκαλούν ανισορροπία μεταξύ αποικοδόμησης οστεοκλαστών και σχηματισμού οστεοβλαστών. Τέλος, τα ECs ευνοούν την αγγειογένεση στο μυελό των οστών, ώστε να ενισχύσουν την EMD (βλ. Εικ. 1.5.3.3).

Αναλυτικότερα, όταν τα καρκινικά κύτταρα μεταφέρονται στον μυελό των οστών, πραγματοποιείται προσκόλληση στα ECs μυελού των οστών και διαενδοθηλιακή μετανάστευση (27,36). Η προσκόλληση μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω του IGF-1 και του στρωματικού παράγοντα 1 (SDF-1), που παράγονται από τα BMSCs και τα ECs. Η παραγωγή κυτοκινών (IL-6, IL-1β, IL-11), αυξητικού παράγοντα μετασχηματισμού-β (TGF-β), παραγόντων νέκρωσης (TNFs) και ενεργοποιητή υποδοχέα του συνδέτη NF-κβ (RANKL) από BMSC, πραγματοποιείται με την προσκόλληση των κακοήθων κυττάρων σε BMSCs μέσω αλληλεπίδρασης αγγειακών κυττάρων (VCAM-1) (26,27,31,36). Όταν ενεργοποιείται ο μεταγραφικός παράγοντας NF-κβ, τότε εκκρίνεται η IL-6 από τα BMSCs και ακολουθεί πολλαπλασιασμός των κακοήθων κυττάρων, μετατρέποντας το περιβάλλον μυελού των οστών κατάλληλο για την εμφάνιση MM. Με αυτό τον τρόπο τα κακοήθη κύτταρα προφυλάσσονται από την απόπτωση. Η σημασία της ενεργοποίησης του NF-κβ είναι πολύ σημαντική, αφού έχει αρμοδιότητες για την έκκριση άλλων αυξητικών παραγόντων και μορίων προσκόλλησης, όπως για παράδειγμα του VCAM-1, του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) και της E-σελεκτίνης (27,36). Επίσης, τα BMSCs απελευθερώνουν εξωσώματα, τα οποία περιέχουν στο εσωτερικό τους διάφορες πληροφορίες όπως λιπίδια, πρωτεΐνες, και microRNAs (miRNAs). Τα κύτταρα MM μπορούν στη συνέχεια να απορροφήσουν τα εξωσώματα και τότε τα miRNAs είναι ικανά μέσω διαφόρων μηχανισμών να πυροδοτήσουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων MM (26).

Σημαντικό παράγοντα για την πορεία της νόσου αποτελεί η αγγειογένεση, η οποία εμφανίζεται αυξημένη στο MM. Η αγγειογένεση επάγεται από τον βασικό αυξητικό παράγοντα ινοβλαστών (basic Fibroblast Growth Factor ή bFGF) (27,36). Τα κακοήθη κύτταρα εκκρίνουν τον VEGF, ο οποίος αλληλεπιδρά με τους υποδοχείς των ECs, οχυρώνοντας τη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό τους (26,36). Αυτό γίνεται εξαιτίας της IL-6 που εκκρίνουν τα ECs, η οποία με τη σειρά της προκαλεί πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων και τελικά ταυτόχρονο πολλαπλασιασμό των κυττάρων MM και των ECs (26). Στο MM, παρατηρείται επίσης αναστολή της δράσης των T-λεμφοκυττάρων. Πολλά προ-αγγειογονικά μόρια εκφράζονται από τα BMSCs ασθενών που νοσούν από MM, όπως αγγειοποιητίνη 1(Ang-1), TGF-β, αυξητικός παράγοντας που προέρχεται από αιμοπετάλια (PDGF), HGF και IL-1 (36).



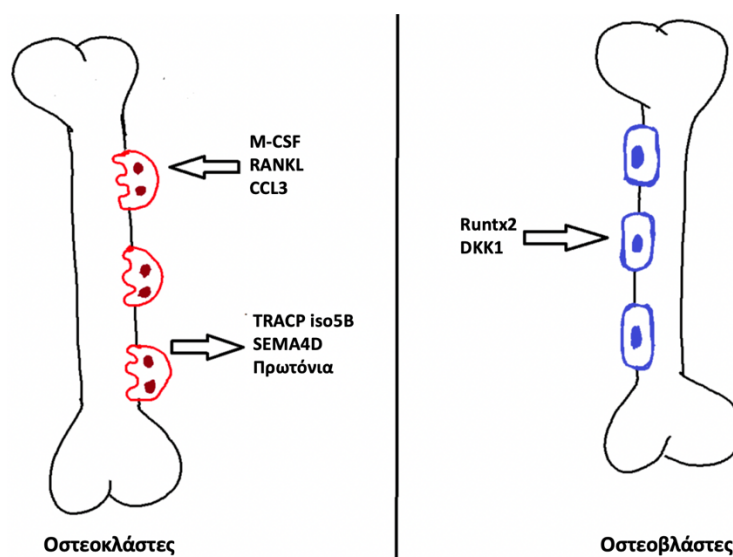
Εικόνα 1.5.3.3 Αλληλεπιδράσεις και συνέπειες αλληλεπιδράσεων (έλεγχος για την εξωκυττάρια μήτρα (ECM), έλεγχος του στρώματος, ανισορροπία οστεοβλαστών / οστεοκλαστών, προώθηση αγγειογένεσης) ανάμεσα σε μη αιματολογικά κύτταρα και κύτταρα πολλαπλού μυελώματος (MM) στον μυελό των οστών (45).

1.5.4 Οστική νόσος

Η φυσιολογική αναδόμηση των οστών πραγματοποιείται στην επιφάνεια του οστού. Οι οστεοκλάστες είναι πολυπύρρηνα κύτταρα που προκύπτουν από την κυτταρική σειρά μονοκυττάρων - μακροφάγων (25) και θεωρούνται οι κύριοι μεσολαβητές της οστικής απορρόφησης (26). Το RANKL είναι ένας διαμεμβρανικός υποδοχέας σηματοδότησης που κατατάσσεται στην οικογένεια του TNF (36) και είναι υπεύθυνο για την διαφοροποίηση και ενεργοποίηση σε ώριμους οστεοκλάστες, καθώς διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αυξημένη οστεοκλαστογένεση (17,25,36). Επίσης, ο παράγοντας διέγερσης αποικιών μονοκυττάρων / μακροφάγων (Monocyte / Macrophage Colony Stimulating Factor ή M-CSF), είναι υπεύθυνος για την πρόκληση οστεοκλαστογένεσης (17,25,26,46). Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την αλλοίωση του οστού μέσω λυτικών βλαβών, οι οποίες προκαλούν πόνο, προβλήματα κινητικότητας, κατάγματα και ασβεστίωση (17,18). Καθώς αναπτύσσονται οι οστεοκλάστες, δημιουργείται όξινη φωσφατάση ανθεκτική σε τρυγικό άλας (Tartrate-Resistant Acid Phosphatase 5b ή TRACP iso5B). Στη συνέχεια, πραγματοποιείται έκκριση

πρωτονίων, μειώνοντας το pH, με αποτέλεσμα την απασβεστοποίηση της μήτρας οστών. Τέλος, ρόλος της σηματοδότησης 4D (SEMA4D) είναι η αναστολή της οστεοβλαστικής διαφοροποίησης.

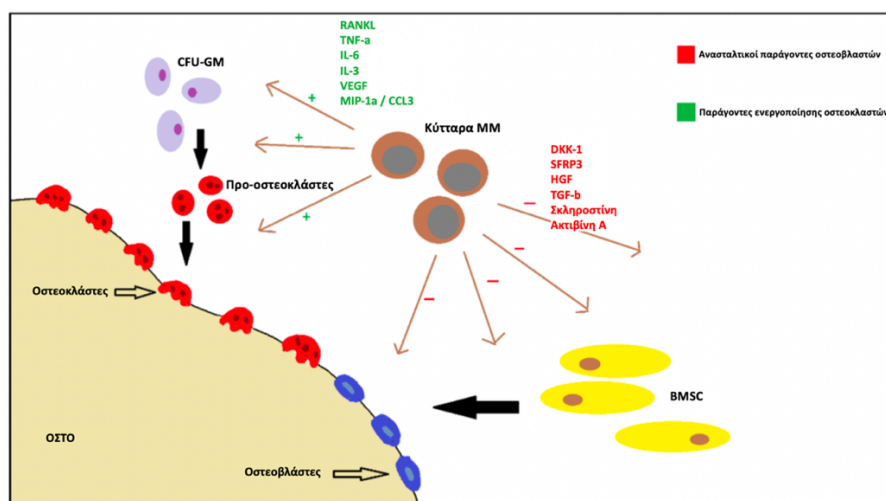
Οι οστεοβλάστες προκύπτουν από μεσεγχυματικά στρωματικά κύτταρα (Mesenchymal Stromal Cells ή MSCs) και σκοπός τους είναι η δημιουργία καινούργιου οστού, ύστερα από την οστική απορρόφηση προερχόμενη από τους οστεοκλάστες (25,26). Αυτό πραγματοποιείται μέσω του μεταγραφικού παράγοντα 2 που σχετίζεται με το Runt (Runt-Related Transcription Factor 2 ή Runtx2), ο οποίος διαφοροποιεί τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα σε οστεοβλάστες (25). Το Dickkopf 1 (Dickkopf WNT Signaling Pathway Inhibitor 1 ή DKK1) είναι ένας εκκρινόμενος παράγοντας, ο οποίος αναστέλλει την οδό Wnt, η οποία με τη σειρά της αυξάνει την β-κατενίνη και τελικά σχηματίζεται το οστό (βλ. Εικ. 1.5.4.1) (25,36,47). Το DKK1 είναι υπεύθυνο για την καταστολή της δράσης των οστεοβλαστών στο MM, ενώ αυξημένα επίπεδα του στο μυελό των οστών, αλλά και στο περιφερικό αίμα σχετίστηκαν με την ύπαρξη εστιακών οστικών βλαβών (36,47,48).



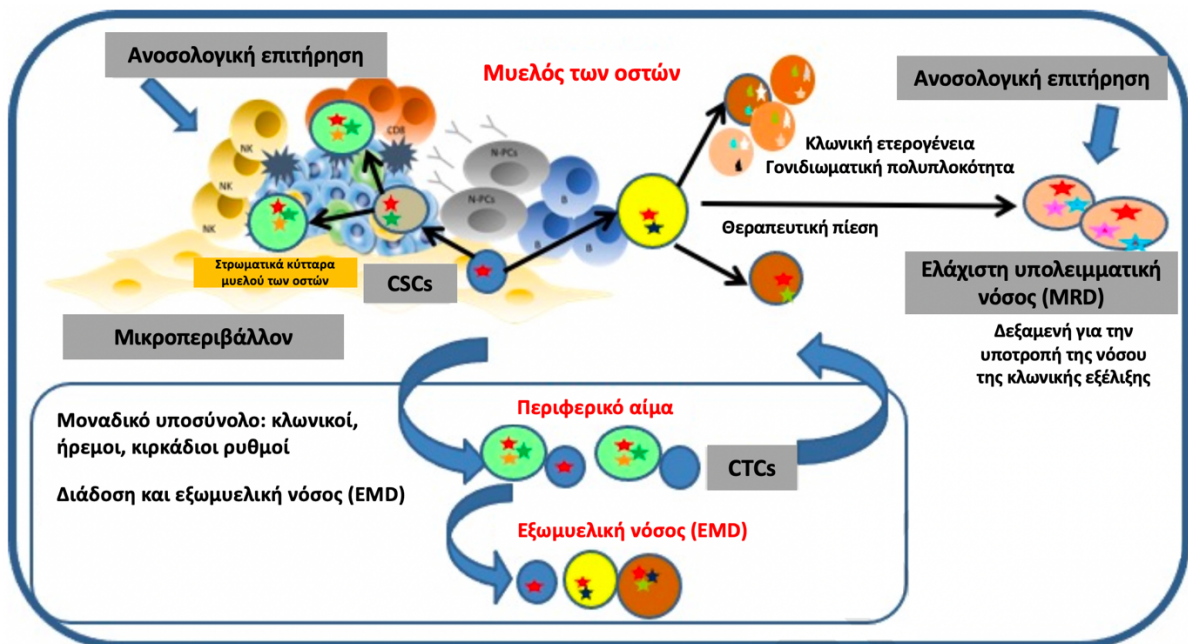
Εικόνα 1.5.4.1 Σχηματική αναπαράσταση φυσιολογικής αναδιαμόρφωσης οστού, με βάση τους οστεοκλάστες και τους οστεοβλάστες (25).

Σημείο κατατεθέν, αποτελεί το γεγονός ότι το MM, μπορεί να προκαλέσει οστική νόσο, η οποία είναι μία από τις σημαντικότερες επιπλοκές του MM (25,30). Η οστική νόσος χαρακτηρίζεται με αυξημένη οστεοκλαστική δραστηριότητα (27,31), χωρίς όμως να σημαίνει ταυτόχρονη αύξηση των οστεοβλαστών (27). Πιο αναλυτικά, το MM το οποίο

χαρακτηρίζεται από οστική νόσο, αντιπροσωπεύει αυξημένη δραστηριότητα οστεοκλαστών και μειωμένη λειτουργία οστεοβλαστών (49). Η ισορροπία ανάμεσα στον σχηματισμό οστού και οστικής απορρόφησης διαταράσσεται (26,36,48), με αποτέλεσμα να αναπτύσσονται οστεολυτικές βλάβες και οστικές απώλειες (25,26,30,36) που μπορεί να οδηγήσουν σε σκελετικά συμβάντα όπως κατάγματα (25,30), πόνος στα οστά, υπερασβεστιαϊμία, συμπίεση του νωτιαίου μυελού και σπονδυλική κατάρρευση (25). Το MM μπορεί να προκαλέσει οστική νόσο, δηλαδή απώλεια οστικής μάζας με πολλούς διαφορετικούς τρόπους, καθώς θεωρείται πολυπαραγοντική ως προς την αιτιολογία της, οδηγώντας σε ανισορροπία στη φυσιολογική διαδικασία αναδιαμόρφωσης των οστών περίπου στο 80% των ασθενών με MM (25,30). Οι πλείστοι ασθενείς με MM εμφανίζουν ανώμαλη δομή των οστών στη φάση της διάγνωσης (25). Υπεύθυνες για αυτή την αναδιαμόρφωση των οστών όπως ήδη αναφέρθηκε και πιο πριν, είναι οι αλληλεπιδράσεις των κυττάρων MM με το μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών, με αποτέλεσμα την απελευθέρωση διαφόρων παραγόντων, οι οποίοι ρυθμίζουν τους οστεοκλάστες και τους οστεοβλάστες. Μπορούν επίσης να διεγείρουν κάποια κύτταρα στο μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών, με αποτέλεσμα να εκκρίνονται παράγοντες διαμόρφωσης οστών (βλ. Εικ. 1.5.4.2 και Εικ. 1.5.4.3). Τα κύτταρα MM ή και τα BMSCs εκκρίνουν αμέτρητους βιοχημικούς δείκτες, όπως παράγοντες ενεργοποίησης οστεοκλαστών (βλ. Πιν. 6) και παράγοντες αναστολής οστεοβλαστών (βλ. Πιν.7) (25,27,30). Το ίδιο γίνεται και από τη μήτρα των οστών, όπου απελευθερώνονται οι παράγοντες μετά την απορρόφηση (30).



Εικόνα 1.5.4.2 Μηχανισμοί της οστικής νόσου που σχετίζονται με το πολλαπλό μυέλωμα (MM). Με πράσινο χρώμα παρουσιάζονται οι παράγοντες ενεργοποίησης οστεοκλαστών, ενώ με κόκκινο χρώμα παρουσιάζονται μερικοί ανασταλτικοί παράγοντες οστεοβλαστών (25).



Εικόνα 1.5.4.3 Παθοφυσιολογία οστικής νόσου που προκαλείται από το πολλαπλό μυέλωμα (MM) (30).

Πίνακας 6. Ονομαστική αναφορά κλασικών και πιο πρόσφατων παραγόντων ενεργοποίησης οστεοκλαστών

	Αναφορές
1. ενεργοποιητής υποδοχέα του συνδέτη πυρηνικού παράγοντα κ-B (RANKL)	(25,27,30,36,46)
2. συνδέτες χημεικίνης (μοτίβο C-C) (CCL3, CCL4 και CCL20)	(9,25,30)
3. ιντερλευκίνες (IL-1β, IL-3, IL-6, IL-11 και IL-17)	(25–27,30,36,46)
4. μετασχηματιστικός αυξητικός παράγοντας-b (TGFb)	(25,26,30)
5. παράγοντας νέκρωσης όγκου-α (TNFα)	(25,27,30)
6. φλεγμονώδης πρωτεΐνη μακροφάγων-1a (MIP-1a)	(9,25,27,36,46)
7. TNF-b	(27)
8. bFGF	(27,46)
9. IGF	(27,46)
10. VEGF	(25)
Πρόσφατα συμπεριλήφθηκαν και οι παρακάτω παράγοντες	(30)
1. microRNA-21 (miR-21)	(30)
2. X-box-binding πρωτεΐνη 1 (XBP1)	(30)
3. παράγοντας ενεργοποίησης κυττάρων B (BAFF)	(25,30)
4. syndecan-1	(30,50)
5. μεσολαβητές σηματοδότησης εγκοπής	(30)
6. οστεοποντίνη (OPN)	(30)
7. sequestrome 1 (p62)	(30)
8. C-X-X μοτίβο chemokine 12 (CXCL12)	(30,46,51)

Η οστική απορρόφηση που συμβαίνει ως αποτέλεσμα του MM προάγει την απελευθέρωση του TGFb από τη μήτρα των οστών. Αυτό στη συνέχεια, προωθεί την οστεοκλαστογένεση, με συνέπεια να μην καθίσταται εφικτή η διαφοροποίηση των προγονικών οστεοβλαστών σε ώριμους οστεοβλάστες, ενθαρρύνοντας την ανάπτυξη περισσότερων όγκων MM. Επίσης, ο TGFb είναι ικανός να διεγείρει την απελευθέρωση προ-ογκογόνων παραγόντων (π.χ. IL-6), δρώντας σε στρωματικά κύτταρα και οστεοβλάστες. Αυτός ο «φαύλος κύκλος» προκαλεί την καταστροφή των οστών και την αύξηση της ανάπτυξης όγκου MM (30).

Υψηλά επίπεδα παραγόντων ενεργοποίησης οστεοκλαστών, αυξάνουν την οστική απορρόφηση μέσω 3 μονοπατιών: α) διέγερσης, β) διαφοροποίησης και γ) ωρίμανσης οστεοκλαστών.

Από την άλλη, οι ανασταλτικοί παράγοντες οστεοβλαστών, συμβάλλουν στην αναστολή της διαφοροποίησης και της δημιουργίας οστεοβλαστών, με συνέπεια τις οστεολυτικές βλάβες κατά τον σχηματισμό οστού (25). Το φορτίο του όγκου σχετίζεται άμεσα με τη σοβαρότητα της οστικής νόσου, καθώς όσο λιγότερες οστεολυτικές βλάβες των οστών έχει ένας ασθενής, τόσο καλύτερη είναι η πρόγνωσή του (25,36,39).

Η οστική νόσος προερχόμενη από MM χειροτερεύει περισσότερο με ταυτόχρονη απελευθέρωση παραγόντων αναστολής των οστεοβλαστών από το μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών και από τα κύτταρα MM (βλ. Πιν.7). Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα, να εμποδίζεται η διαφοροποίηση των οστεοβλαστών, δηλαδή να υπάρχει αυξημένη οστεολυτική δραστηριότητα και να μην καθίσταται δυνατός ο σχηματισμός και η επιδιόρθωση των οστών (25,26).

Πίνακας 7. Ονομαστική αναφορά ανασταλτικών παραγόντων οστεοβλαστών

	Αναφορές
1. Dickoff 1 (DKK1)	(25,30,36)
2. ακτιβίνη A	(25,30)
3. σκληροσίνη	(25,30)
4. πρωτεΐνη SFRP-2	(25,30)
5. IL-3	(25,30)
6. IL-7	(30)
7. αυξητικός παράγοντας ηπατοκυττάρων (HGF)	(25,27,30,36)
8. SFRP-3	(25)
9. TGF-b	(25)

2. Βιοδείκτες για τη διάγνωση του MM

2.1 Σύστημα σταδιοποίησης Durie-Salmon (Durie-Salmon Staging System ή DSS)

Από το 1975, χρησιμοποιείται το DSS και εξακολουθεί να χρησιμοποιείται σε περιπτώσεις διάγνωσης του MM, για αξιολόγηση του φορτίου του όγκου. Το DSS, χωρίζει το MM σε τρία διακριτά στάδια και προγνωστικές ομάδες, βάση ορισμένων κλινικών παραμέτρων που φαίνονται στον Πίνακα 8. Ωστόσο, το DSS, έχει περιορισμούς, ιδιαίτερα στην κατηγοριοποίηση των οστικών βλαβών και γι' αυτό έχει αντικατασταθεί από το σύστημα που αναφέρεται στο υποκεφάλαιο 2.2, αφού έχουν ενσωματωθεί νέα κριτήρια. Ανάλογα με το φορτίο του όγκου (στάδιο), την ανταπόκριση στη θεραπεία, τους παράγοντες ξενιστή και τη βιολογία (κυτταρογενετικές ανωμαλίες), παρουσιάζεται σημαντική διακύμανση στην επιβίωση (1,11,15,41,52,53).

Πίνακας 8. Χαρακτηριστικά κριτήρια κατηγοριοποίησης σταδίων (I, II, III) με βάση το σύστημα σταδιοποίησης Durie-Salmon (DSS) στο πολλαπλό μυέλωμα (MM)

Στάδιο	Επίπεδα συστατικών στον ορό
I	<ul style="list-style-type: none">Αιμοσφαιρίνη (Hemoglobin ή Hb) > 10 g/dLΦυσιολογικό ασβέστιοΣκελετική έρευνα: φυσιολογικό ή μεμονωμένο πλασματοκύττωμα ή οστεοπόρωσηΠρωτεΐνη M ορού < 5 g/dL εάν IgG, < 3 g/dL εάν IgAΑπέκκριση ελαφριάς αλυσίδας στα ούρα < 4 g/24h
II	<ul style="list-style-type: none">Ούτε στάδιο I, ούτε στάδιο III
III	<ul style="list-style-type: none">Hb < 8.5 g/dLΥψηλό ασβέστιο > 12 mg/dLΣκελετική έρευνα: τρεις ή περισσότερες λυτικές βλάβες των οστώνΠρωτεΐνη M ορού > 7 g/dL εάν IgG, > 5 g/dL εάν IgAΑπέκκριση ελαφριάς αλυσίδας στα ούρα > 12 g/24h
Τα στάδια I, II και III του DSS μπορούν να διαιρεθούν περισσότερο σε A ή B, ανάλογα με τη νεφρική λειτουργία, η οποία αξιολογείται από την κρεατινίνη ορού (Serum Creatinine ή Scr)	
A	<ul style="list-style-type: none">Scr < 2 mg/dL
B	<ul style="list-style-type: none">Scr > 2 mg/dL

2.2 Διεθνές σύστημα σταδιοποίησης (International Staging System ή ISS)

Το ISS προτιμάται σε σχέση με το DSS καθώς έχει αρκετά καλύτερη προγνωστική δυνατότητα. Το ISS παρουσιάζει προγνωστική αξία για όλα τα είδη θεραπειών και διαφυλάττει την συνολική προγνωστική αξία επιβίωσης κατά την υποτροπή (26). Το ISS,

ξεπερνά τους περιορισμούς που έχει το DSS και χωρίζει τους ασθενείς σε τρία διακριτά στάδια και προγνωστικές ομάδες, με βάση τα επίπεδα της λευκωματίνης ορού και της $\beta 2M$ (9,11,15,17,26,52–54), οι οποίοι είναι υποκατάστατοι δείκτες του φορτίου του όγκου (26) για τη διάγνωση και την πρόγνωση του MM (11,15,17,26,54). Κακή πρόγνωση, παρουσιάζεται όταν εμφανίζονται αυξημένα επίπεδα $\beta 2M$ (21,55). Αυτό το σύστημα χρησιμοποιήθηκε επίσης για την αναγνώριση των σταδίων του MM (βλ. Πιν.9).

Παρόλα αυτά, τα αποτελέσματα που χρησιμοποιεί το ISS, μπορεί να επηρεαστούν από συντελεστές άσχετους με τη νόσο (1,11,15,53). Για παράδειγμα, μπορεί να παρουσιάζονται ψευδώς θετικά αποτελέσματα, τα οποία θα κατηγοριοποιούν τους ασθενείς με MM. Το ISS εφαρμόστηκε κυρίως σαν προγνωστικός δείκτης αντί για ένα σύστημα σταδιοποίησης (1). Κανένα από τα πιο πάνω συστήματα (DSS και ISS) δεν συνυπολογίζει τη βιολογία της νόσου, η οποία αποτελεί βασικό παράγοντα της συνολικής επιβίωσης (15,56). Αυτοί οι περιορισμοί έχουν ξεπεραστεί με την αναθεώρηση του συστήματος ISS όπως φαίνεται στον Πίνακα 9. Το αναθεωρημένο διεθνές σύστημα σταδιοποίησης (Revised International Staging System ή RISS) αναπτύχθηκε για το MM που ενσωματώνει κυτταρογενετικές ανωμαλίες υψηλού κινδύνου. Λαμβάνει επίσης υπόψη τη γαλακτική αφυδρογονάση (Lactate Dehydrogenase ή LDH) και τις χρωμοσωμικές ανωμαλίες μαζί με τα επίπεδα $\beta 2M$ και λευκωματίνης για αποτελεσματικότερη αξιολόγηση της νόσου (1,11,15–17,26). Το RISS, παντρεύει στοιχεία του ISS και της βιολογίας ασθενειών και θεωρείται καθοριστικό στην κλινική για ζητήματα σχετικά με την πρόγνωση, την σύγκριση αποτελεσμάτων σε κλινικές δοκιμές και την καλύτερη πρόβλεψη του αποτελέσματος, ώστε να μπορέσουμε να προσαρμόσουμε ανάλογα τη θεραπεία (15). Το ISS και το RISS, θεωρούνται τα “χρυσά πρότυπα” σταδιοποίησης (16).

Πίνακας 9. Χαρακτηριστικά κριτήρια κατηγοριοποίησης σταδίων (I, II, III) με βάση το διεθνές σύστημα σταδιοποίησης (ISS) και το αναθεωρημένο διεθνές σύστημα σταδιοποίησης (RISS) στο πολλαπλό μύελωμα (MM)

Στάδιο	Επίπεδα συστατικών στον ορό
ISS	
I	• $\beta 2M < 3.5 \text{ mg/L}$, λευκωματίνη $\geq 3.5 \text{ g/dL}$
II	• $\beta 2M < 3.5 \text{ mg/L}$, λευκωματίνη $< 3.5 \text{ mg/L}$ ή • $\beta 2M 3.5 - 5.5 \text{ mg/L}$, ανεξάρτητα από την αλβουμίνη ορού (λευκωματίνη)
III	• $\beta 2M \geq 5.5 \text{ mg/L}$
RISS	
I	• ISS στάδιο I ($\beta 2M < 3.5 \text{ mg/L}$, λευκωματίνη $\geq 3.5 \text{ g/dL}$)

	<ul style="list-style-type: none"> • Φυσιολογικά επίπεδα LDH • Τυπικοί κυτταρογενετικοί δείκτες κινδύνου, που ανιχνεύονται με χρήση FISH
II	<ul style="list-style-type: none"> • Ούτε στάδιο I, ούτε στάδιο III
III	<ul style="list-style-type: none"> • ISS στάδιο III ($\beta 2M \geq 5.5$ mg/L) • Είτε υψηλότερα από τα κανονικά επίπεδα LDH, είτε κυτταρογενετικοί δείκτες υψηλού κινδύνου, που ανιχνεύονται με χρήση FISH (όπως η παρουσία των del(17p) ή t(4;14) ή t(14;16))

2.3 Χρωμοσωμικές / κυτταρογενετικές ανωμαλίες

Το RISS αναπτύχθηκε για το MM που ενσωματώνει κυτταρογενετικές ανωμαλίες υψηλού κινδύνου (15). Οι γονιδιωματικές βλάβες βρέθηκαν να έχουν σπουδαία προγνωστική αξία (16). Σημαντικές ανωμαλίες που φέρουν επιπτώσεις στην πορεία της νόσου, στην πρόγνωση του MM και στην ανταπόκριση στη θεραπεία, αποτελούν ανωμαλίες όπως t(11;14), t(4;14), t(6;14), t(14;16), t(14;20), gain(1q), del(1p), del(13q) και del(17p) (βλ. Πιν.10) (24,26,27,43,56,57). Μελέτες λοιπόν, αλληλουχίας ολόκληρων εξωμάτων, παρέχουν πληροφορίες για τον χαρακτηρισμό γονιδιωματικών αλλαγών που οδηγούν στην παθολόγηση του MM (1,2,4,15,16,27).

Πίνακας 10. Κυτταρογενετικές ανωμαλίες, όπως τρισωμίες, t(11;14), t(6;14), t(4;14), t(14;16), t(14;20), gain(1q21), del(17p) και σημαντικά στοιχεία για αυτές τις ανωμαλίες στο πολλαπλό μυέλωμα (MM)

Κυτταρογενετική ανωμαλία	Κλινική ρύθμιση στην οποία ανιχνεύεται ανωμαλία
Τρισωμίες	Καλή πρόγνωση, MM τυπικού κινδύνου, διάμεσο OS 7-10 έτη
	Οι περισσότεροι έχουν μυελωματώδη οστική νόσο κατά τη διάγνωση
	Εξαιρετική ανταπόκριση στη θεραπεία με βάση τη λεναλιδομίδη
t(11;14) (q13;q32)	Καλή πρόγνωση, MM τυπικού κινδύνου, διάμεσο OS 7-10 έτη
t(6;14) (p21;q32)	Καλή πρόγνωση, MM τυπικού κινδύνου, διάμεσο OS 7-10 έτη
t(4;14) (p16;q32)	MM υψηλού κινδύνου
	Χρειάζεται αρχική θεραπεία με βάση τη βορτεζομίμη, πρώιμη ASCT (εάν είναι κατάλληλη – παρατείνει την επιβίωση), ακολουθούμενη από ενοποίηση / συντήρηση με βάση τη βορτεζομίμη
t(14;16) (q32;q23)	MM υψηλού κινδύνου, διάμεσο λειτουργικό σύστημα 3 έτη
	Συνδέεται με υψηλά επίπεδα FLC και το 25% παρουσιάζει οξεία νεφρική ανεπάρκεια ως αρχικό MDE
t(14;20) (q32;q11)	MM υψηλού κινδύνου, διάμεσο λειτουργικό σύστημα 3 έτη
gain(1q21)	MM υψηλού κινδύνου, διάμεσο OS 5 έτη

del(17p)	MM υψηλού κινδύνου, διάμεσο λειτουργικό σύστημα 3 έτη
Τρισωμίες συν οποιαδήποτε από τις μεταθέσεις IgH	Μπορεί να βελτιώσει την δυσμενή πρόγνωση που παρέχεται από μετατοπίσεις IgH υψηλού κινδύνου και del(17p)
Απομονωμένη μονοσωμία 13, ή απομονωμένη μονοσωμία 14	Η επίδραση στην πρόγνωση δεν είναι σαφής
Κανονικό	Καλή πρόγνωση, πιθανώς αντανακλά χαμηλό φορτίο όγκου, διάμεσο OS > 7-10 έτη

Συντομογραφίες. OS: overall survival, MDE: myeloma-defining event, FLC: free light chain.

Σε αυτό το σημείο, αξίζει να αναφερθεί ότι τα κύτταρα MM με μετατοπίσεις των χρωμοσωμάτων 11 και 14 [t(11;14)], εμφανίζουν μοναδικά χαρακτηριστική βιολογία, με χαμηλότερη έκφραση του MCL1 (σε αντίθεση με τα κύτταρα MM που δεν παρουσιάζουν αυτή την μετατόπιση) και ψηλότερη έκφραση της αντιαποπτωτικής πρωτεΐνης BCL2. Έτσι, η μετατόπιση t(11;14) στο MM, υποδηλώνει ευαισθησία στην αναστολή του BCL2 (2,58). Η μετατόπιση t(11;14), μπορεί όχι μόνο να παρέχει λιγότερο ευνοϊκή πρόγνωση, αλλά μπορεί επίσης να προσφέρει μια ευκαιρία για στοχευμένη θεραπεία με αναστολείς BCL2 (π.χ. venetoclax).

Το MM, όπως ήδη αναφέρθηκε, αντιπροσωπεύει μια γενετικά και κλινικά ετερογενή νόσο (2). Ο πολλαπλασιασμός των κλωνικών PCs, πιθανόν να οφείλεται σε πρωτογενείς μετατοπίσεις (βλ. Πιν.11) που περιλαμβάνουν τη θέση της βαριάς αλυσίδας της ανοσοσφαιρίνης (IgH) στο χρωμόσωμα 14q32, τον υποδοχέα αυξητικού παράγοντα ινοβλαστών 3 (FGFR3) και την κυκλίνη D1 (CCND1). Οι πρωτογενείς κυτταρογενετικές αλλαγές, μπορούν να διαιρεθούν σε υπερδιπλοειδία, δηλαδή παρουσία ενός επιπλέον αντιγράφου (τρισωμίες) ενός ή περισσοτέρων από τα περιττά αριθμημένα χρωμοσώματα 3,5,7,9,11,15,19,21 και μετατοπίσεις που αφορούν το χρωμόσωμα 14 (2,4,11,16,26,27,34,43,47,54). Αυτά τα συμβάντα αλληλοαποκλείονται (6). Η υπερδιπλοειδία χαρακτηρίζεται ως η πιο συχνή μορφή ανευπλοειδίας (δηλ. παρουσίας μη φυσιολογικού αριθμού χρωμοσωμάτων στο γονιδίωμα) σχετιζόμενη με το MM (1,6,11). Η μετατόπιση t(11;14), έχει ως αποτέλεσμα την υπερέκφραση του ογκογονιδίου CCND1 (ένα σημαντικό μόριο στην λειτουργία του κυτταρικού κύκλου) (34). Η μετατόπιση του t(4;14) είναι υπεύθυνη για την υπερέκφραση του FGFR-3 (στο 80% των όγκων) / MMSET (στο 100% των όγκων) / TACC3 / CCND2, ενώ οι μετατοπίσεις t(6;14), t(14;16) και t(14;20), οδηγούν στην υπερέκφραση των ογκογονιδίων CCND3, C-MAF και MAF-B, αντίστοιχα (βλ.

Πιν.11) (1,2,11,16,26,27,34,43,54). Οι μετατοπίσεις t(4;14), t(14;16), t(14;20), del(17p) και gain(1q) παρέχουν δυσμενή πρόγνωση (1,24,26,27,34,43), περιλαμβάνονται στο RISS και παρουσιάζουν μεγαλύτερο κίνδυνο εξέλιξης σε MM, όταν είναι παρόντα τα προκακοήθη στάδια MGUS και SMM (24). Ασθενείς με μετατόπιση t(6;14) και υπερδιπλοειδία παρουσιάζουν μεγαλύτερο OS και ταξινομούνται ως τυπικού κινδύνου ασθενείς (24,26). Σε περίπτωση όμως, που συνυπάρχουν δύο παράγοντες υψηλού κινδύνου, τότε υπάρχει μύελωμα διπλού χτυπήματος, ενώ όταν συνυπάρχουν τρεις ή περισσότεροι παράγοντες υψηλού κινδύνου, τότε υπάρχει μύελωμα τριπλού χτυπήματος (24). Η μετατόπιση t(11;14), μέχρι πρόσφατα (πριν από τη χρήση νέων παραγόντων) είχε θεωρηθεί ότι προδίδει τυπικό κίνδυνο (βλ. Πιν.10 και Πιν.11). Στην εποχή όμως των νέων παραγόντων, αυτή η ταξινόμηση αμφισβητήθηκε, δεδομένου ότι ασθενείς με t(11;14) έχουν επιβίωση χωρίς εξέλιξη (Progression Free Survival ή PFS) και ενδιάμεσο OS με τυπική και υψηλού κινδύνου κυτταρογενετική (1). Τέλος, οι ασθενείς που δεν παρουσιάζουν κυτταρογενετικές ανωμαλίες κατανέμονται ως χαμηλού κινδύνου (26).

Οι δευτερογενείς γενετικές ανωμαλίες, επιδρούν δυσμενώς στην πρόγνωση και υποδεικνύουν χρωμοσωμικά κέρδη ή απώλειες, όπως del(17p), del(1p32), del(1p12) και amp(1q) (2,59). Δευτερογενείς γενετικές ανωμαλίες (π.χ. δευτερογενείς μετατοπίσεις, μεταλλάξεις ras/p53), παραλλαγές αριθμού αντιγράφων, παραλλαγές ενός νουκλεοτιδίου, καθώς και παραλλαγές στο μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών, όπως για παράδειγμα οι αλλαγές σε κάποιες κυτοκίνες, η καταστολή της κυτταρικής ανοσίας και η αγγειογένεση, θεωρείται ότι είναι σημαντικές (βλ. Πιν.12) (2,11,16,34,47,53,59). Η διαγραφή των del(17p), del(1p32) και del(1p12) οδηγεί στην απώλεια των γονιδίων TP53, CDKN2C και FAM46C, αντίστοιχα (2,11,16,34). Το amp(1q) που συχνά συμπίπτει με το del(1p32), προκαλεί ενεργοποίηση του CKS1B (2,11,16). Μειωμένα επίπεδα οστεοπρωτεγερίνης (υποδοχέας RANKL) και αυξημένη ενεργοποίηση των οστεοκλαστών, μεσολαβούμενη από αυξημένα επίπεδα φλεγμονώδους πρωτεΐνης μακροφάγου 1α (MIP-1α), οδηγούν σε λυτικές βλάβες των οστών και οστεοπόρωση (11,47).

Πίνακας 11. Πρωτογενείς μετατοπίσεις σε πολλαπλό μυέλωμα (MM). Αναφορά χρωμοσωμικής μετατόπισης, γενετικής θέσης, κατηγορίας κινδύνου, γονιδίου που υπερεκφράζεται από την μετατόπιση και επιρροή συγκεκριμένων λειτουργιών εξαιτίας των χρωμοσωμικών μετατοπίσεων

Χρωμοσωμική μετατόπιση	Γενετική θέση	Κατηγορία κινδύνου	Γονίδιο που υπερεκφράζεται	Επηρεάζεται η λειτουργία
t(11;14)	14q32	Τυπικού	CCND1	Κυκλίνης D1 (ρυθμιστής κυτταρικού κύκλου)
t(4;14)	4p16.3 14q32	Υψηλού	FGFR-3	Απόπτωσης
			MMSET	Μεθυλίωσης DNA (ρυθμιστής μεταγραφής)
			TACC3	Άγνωστο
			CCND2	Κυκλίνης D2 (ρυθμιστής κυτταρικού κύκλου)
t(6;14) (p21;q32)	6p21 14q32	Τυπικού	CCND3	Κυκλίνης D3 (ρυθμιστής κυτταρικού κύκλου)
t(14;16)	14q32 16q32	Υψηλού	C-MAF	Παράγοντα μεταγραφής: πρωτο-ογκογονίδιο
t(14;20)	14q32 20q12	Υψηλού	MAF-B	Παράγοντα μεταγραφής: πρωτο-ογκογονίδιο

Πίνακας 12. Δευτερογενείς μετατοπίσεις σε πολλαπλό μυέλωμα (MM). Χαρακτηριστικές δευτερογενείς μετατοπίσεις αποτελούν μερικά κέρδη ή απώλειες χρωμοσωμάτων, ορισμένες μετακινήσεις, καθώς και σωματικές μεταλλάξεις (διάφορα μονοπάτια).

Γονιδιωματικό γεγονός	(Δυνητικά) εμπλεκόμενα γονίδια
Κέρδη χρωμοσωμάτων: γονίδια πιθανών οδηγών	1q: MCL1, CKS1B, ANP32E ή BCL9
	8q: MYC
	11q: CCND1
Απώλειες χρωμοσωμάτων: πιθανά ογκοκατασταλτικά γονίδια	1p: CDKN2C, FAM46C, FAF1, EVI5, RPL5, CDC14A
	12p: CD27
	14q: TRAF3
	16q: CYLD ή WWOX
	17q: TP53
Μετακινήσεις	Επηρεάζοντας το MYC
Σωματικές μεταλλάξεις	Μονοπάτι MAPK: (40% των περιπτώσεων) KRAS(23%), NRAS(20%) ή BRAF(8%)
	Μονοπάτι NF-κB: (20% των περιπτώσεων) CYLD(2%), TRAF3(3%), LBT ή NIK (3%)
	Μεταβολισμός RNA: (15% των περιπτώσεων) DIS3(7%) ή FAM46C(9%)
	Μονοπάτι επιδιόρθωσης DNA: (10% των περιπτώσεων) TP53(9%), ATM(3%) ή ATR(1%)
	Διαφοροποίηση PCs: (10% των περιπτώσεων) IRF4(3%) ή PRDM1(5%)

Η απώλεια 12p, είναι ικανή να εμφανιστεί είτε κατά τη διάγνωση, είτε κατά την υποτροπή / εξέλιξη της νόσου. Επίσης, έχει σημαντική συσχέτιση με δείκτες υψηλού

κινδύνου, όπως για παράδειγμα t(4;14), απώλειες 1p και 17p, υποτροπιάζουσες ανωμαλίες (απώλεια 8p, 13/13q) και άλλους σύνθετους μοριακούς καρύοτυπους. Τέλος, η απώλεια 12p μπορεί να θεωρηθεί σαν ένας ανεξάρτητος δείκτης αστάθειας του χρωμοσώματος που συσχετίζεται με αντίσταση στη θεραπεία (59).

Η εξαφάνιση της δραστικότητας του ογκοκατασταλτικού γονιδίου TP53 θεωρείται εξαιρετικά κακός προγνωστικός παράγοντας και συμβαίνει από την εμφάνιση αδρανοποιητικών μεταλλάξεων και από την διαγραφή του βραχέος βραχίονα του χρωμοσώματος 17 (26,34). Πολλές οδοί σηματοδότησης, όπως μονοπάτια MYC, NF-κB και MAPK, η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου ή η αποκατάσταση της βλάβης του DNA και η διαφοροποίηση των PCs, επηρεάζονται από γονιδιωματικά γεγονότα και μπορούν να υποκρύψουν το MM (16,34).

Σε αυτό το σημείο, αξίζει να αναφερθεί ότι το πρότυπο των χρωμοσωμικών ανωμαλιών στην Ινδία ποικίλει ανάλογα με τα παγκόσμια αποτελέσματα. Η μετατόπιση IgH t(11;14), εμφανίστηκε σε πιο χαμηλή συχνότητα σε Ινδούς και παρατηρήθηκε μετατόπιση t(14q32), η οποία σχετίζεται με το γονίδιο IgH. Κάποιες άλλες μετατοπίσεις που παρουσιάζονται σε μεγάλο βαθμό στον Ινδικό πληθυσμό είναι οι μετατοπίσεις t(1;16)(q21;q22) και t(8;11)(q24;q13). Τέλος, μερικές ανωμαλίες που εντοπίστηκαν σε ασθενείς με ινδικό MM ήταν del(1p), del(4p), del(6q), del(11q), del(17p), gain(1q), μονοσωμία των 2,6,9,10,13,14,20,21,22 και τρισωμία των 1,3,7,8,9,11,15,18,19,20,21 (1).

2.4 Ποσοστό PCs

Το MM, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, θεωρείται κακοήθεια των PCs που πολλαπλασιάζονται ανεξέλεγκτα, όπου και συσσωρεύονται τα τελικώς διαφοροποιημένα PCs στον μυελό των οστών. Σημαντικό κομμάτι στο MM, αποτελεί ο προσδιορισμός του ποσοστού αυτών των PCs στον μυελό των οστών (18,54). Σε υγιή άτομα, το ποσοστό των PCs είναι < 3%, ενώ το ποσοστό αυξάνεται από 10% έως 100% σε ασθενείς με MM ανάλογα με την κατάσταση της νόσου. Ο καθορισμός αυτού του ποσοστού είναι από τις συνηθισμένες δοκιμές που γίνονται στους ασθενείς, όπου πραγματοποιείται χρώση των κυττάρων του μυελού των οστών, ακολουθούμενη από ανάλυση με βάση την κυτταρική μορφολογία και μέτρηση για προσδιορισμό του ποσοστού των PCs. Αυτή η δοκιμή θεωρείται ευρέως αναγνωρισμένη ως η επιβεβαιωτική μέθοδος για το MM (1). Έτσι, σημαντικό βιοδείκτη για τη διάγνωση MM σε ασθενείς που δεν παρουσιάζουν

χαρακτηριστικά CRAB (βλ. Πιν. 2) (17,18,21) και σχετίζονται με περίπου 80% κίνδυνο εξέλιξης σε συμπτωματική βλάβη τελικών οργάνων, αποτελούν τα κλωνικά PCs μυελού των οστών με ποσοστό $\geq 10\%$ (βλ. Πιν.14) (15).

2.5 Ελεύθερη ελαφριά αλυσίδα ορού (Serum-Free Light Chain ή S-FLC)

Τα φυσιολογικά PCs παράγουν ελαφριές και βαριές αλυσίδες. Η ποσότητα όμως των ελαφριών αλυσίδων που παράγονται κανονικά εμφανίζεται μεγαλύτερη σε σχέση με τις βαριές αλυσίδες. Έτσι, οι υπολειπόμενες ελαφριές αλυσίδες που δεν ενσωματώθηκαν στις ανοσοσφαιρίνες, παραμένουν στην κυκλοφορία ως ελεύθερες ελαφριές αλυσίδες (1). Η δοκιμασία της S-FLC παίζει σημαντικό ρόλο στη διάγνωση αλλά και στον τρόπο αντιμετώπισης των δυσκρασιών των PCs, ειδικά των μονοκλωνικών ασθενειών της ελαφριάς αλυσίδας (60), υπολογίζοντας τις κ (εύρος αναφοράς: 0.33 – 1.94 mg/dL) και λ (εύρος αναφοράς: 0.57 – 2.63 mg/dL) αλυσίδες ανοσοσφαιρίνης ελαφριάς αλυσίδας, οι οποίες κινούνται αδέσμευτες στον ορό (11,40). Αυξημένες ποσότητες ελεύθερων ελαφριών αλυσίδων (είτε κ, είτε λ), παράγονται στους ασθενείς με MM και μπορούν να μετρηθούν στο αίμα (1,11,53). Η μέτρηση της S-FLC σε συνδυασμό με άλλες ηλεκτροφορητικές τεχνικές είναι ικανές να διαγνώσουν το MM. Συγκεκριμένα, ρόλος της ανάλυσης S-FLC είναι η εκτίμηση του κινδύνου εξέλιξης των προκακοήθων σταδίων (MGUS και SMM) σε ευδιάκριτες δυσκρασίες των PCs (60). Στο SMM, μη φυσιολογική αναλογία FLC συνεπάγεται με μεγαλύτερο κίνδυνο εξέλιξης σε MM (11,53). Όσο αυξάνεται η αναλογία, αυξάνεται και ο κίνδυνος εξέλιξης (1,11). Μη φυσιολογική αναλογία του λόγου S-FLC κ/λ ελαφριών αλυσίδων (εύρος αναφοράς: 0.26 – 1.65) αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα στο 35% των ασθενών με MGUS και σε τουλάχιστον 90% των ασθενών με MM (1,11,53,56). Η ανάλυση S-FLC μπορεί να θεωρηθεί ένας δείκτης για την επιτήρηση των μεταβολών στην κλωνική υποδομή (60), αλλά επίσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για την παρακολούθηση της εξέλιξης και της θεραπείας (1,11,53). Η ανάλυση S-FLC είναι πρωταρχικής σημασίας για την αξιολόγηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία σε μονοκλωνικές ασθένειες ελαφριάς αλυσίδας (60), καθώς επίσης έχει αποδειχθεί ότι αυξημένες τιμές S-FLC σχετίζονται και με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης νεφρικής βλάβης (40).

Έτσι, σημαντικό ευαίσθητο βιοδείκτη για τη διάγνωση MM σε ασθενείς που δεν παρουσιάζουν χαρακτηριστικά CRAB (βλ. Πιν. 2) και σχετίζονται με περίπου 80% κίνδυνο

εξέλιξης σε συμπτωματική βλάβη τελικών οργάνων, αποτελεί η αναλογία ελεύθερης ελαφριάς αλυσίδας ορού FLC ≥ 100 , δεδομένου ότι το εμπλεκόμενο επίπεδο FLC είναι ≥ 100 mg/L (για μείωση πιθανότητας σφάλματος) (βλ. Πιν.14) (15).

2.6 Μέθοδοι απεικόνισης

Οι σκελετικές βλάβες θεωρούνται εξαιρετικά σημαντικές για την παθογένεση του MM και μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε τέσσερις τύπους κατά την απεικόνιση (βλ. Πιν.13) (26). Τα οστά του κρανίου είναι πιθανόν να φανερώσουν διατρητικές βλάβες, ενώ τα μακριά και τα αξονικά οστά είναι πιθανόν να παρουσιάσουν λυτικές αλλοιώσεις (21,26). Διευκρινίζεται επίσης, ότι η εμφάνιση οστεοπόρωσης, σπονδυλικών συμπιεστικών καταγμάτων ή οστικών πυκνομετρικών αλλαγών, απουσία λυτικών αλλοιώσεων δεν είναι επαρκής στοιχείο οστικής νόσου του MM (54). Η διάγνωση του MM βασιζόμενη στα παλιά κριτήρια IMWG (International Myeloma Working Group), στηριζόταν κυρίως σε συμβατικές ακτινογραφίες για ανίχνευση της νόσου του MM των οστών, όπως για παράδειγμα μεταστατική σκελετική έρευνα που ήταν το κλασικό μέσο ανίχνευσης (11,26). Επειδή όμως είχε χαμηλή ευαισθησία, κρίθηκε αναγκαία η ανάπτυξη πιο νέων μεθόδων (1,40,46).

Πίνακας 13. Κατηγοριοποίηση τεσσάρων τύπων σκελετικών βλαβών, οι οποίες μπορούν να βοηθήσουν σημαντικά στην έγκαιρη διάγνωση του πολλαπλού μυελώματος (MM)

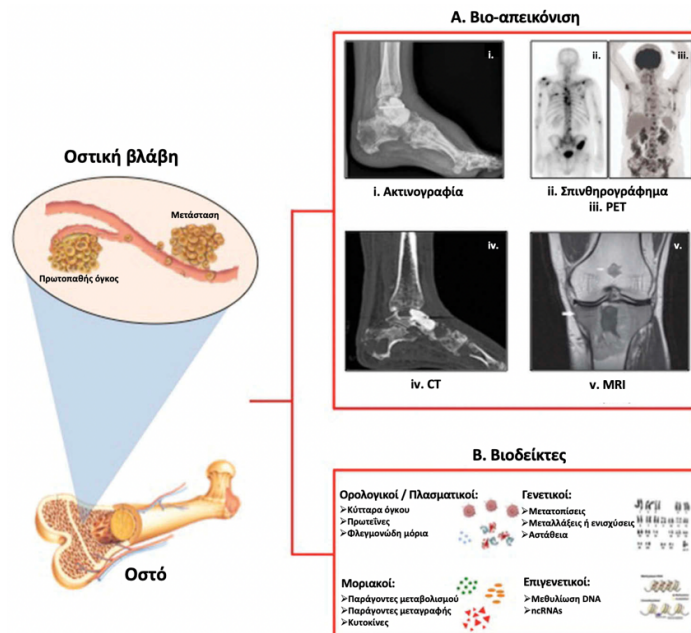
Σκελετικές βλάβες
1. Μονήρης βλάβη (πλασματοκύττωμα)
2. Διάχυτη σκελετική προσβολή (μυελωματώδης)
3. Διάχυτη σκελετική οστεοπενία
4. Σκληρυντικό μύελωμα

Μετά από πολλές μελέτες και αφού τα κριτήρια IMWG αναθεωρήθηκαν, συνιστάται η χρήση υπολογιστικής τομογραφίας (Computed Tomography ή CT), μαγνητικής τομογραφίας (Magnetic Resonance Imaging ή MRI), τομογραφίας εκπομπής ποζιτρονίων με φθοριοδεοξυγλυκόλη (Positron Emission Tomography-Fluorodeoxyglucose ή FDG-PET), PET-CT και CT ολόκληρου σώματος (Whole Body-CT ή WB-CT) για τη διάγνωση της νόσου των λυτικών οστών στο MM, με αποτέλεσμα να είναι εφικτή η έγκαιρη διάγνωση και η έναρξη της καταλληλότερης θεραπείας για την πρόληψη της ανάπτυξης

βλαβών στα τελικά όργανα, ιδιαίτερα σε ασθενείς που διατρέχουν τον υψηλότερο κίνδυνο (βλ. Εικ. 2.6.1) (11,15,21,24,40,46,54). Επίσης, το σπινθηρογράφημα είναι ικανό να εκτιμά τις περιοχές του σώματος που εμφανίζεται αυξημένος ρυθμός αναδιαμόρφωσης οστών. Χαρακτηρίζεται από μεγαλύτερη ευαισθησία σε σχέση με τις κλασικές ακτινογραφικές εξετάσεις, αν και παρουσιάζει σχετικά χαμηλή ειδικότητα (62-89% και ψευδώς θετικά ποσοστά μέχρι και 40%). Αυτό γίνεται με τη βοήθεια του ιχνηθέτη ^{99m}Tc (μετασταθερό τεχνητό), ο οποίος εκπέμπει ιονίζουσα ακτινοβολία (46). Η PET είναι υπεύθυνη για τον καθορισμό της έκτασης της νόσου (21,26), ενώ συγκεκριμένα η FDG-PET προσφέρει λειτουργικές, ποσοτικές και ποιοτικές πληροφορίες για τα παθολογικά κύτταρα, τα οποία οφείλονται κυρίως στον αυξημένο ρυθμό μεταβολισμού της γλυκόζης (46).

Οι χαμηλές δόσεις WB-CT, MRI, FDG-PET και FDG-PET με PET-CT είναι πιο ευαίσθητες στη διερεύνηση του MM και οφείλουν να λαμβάνονται υπόψη στη διάγνωση και στην παρακολούθηση (1,11,15,40,46). Συγκεκριμένα, οι μέθοδοι MRI και PET-CT, κατάφεραν να ανιχνεύσουν το MM στα αρχικά του στάδια, με αποτέλεσμα να είναι χρήσιμες για την έναρξη της θεραπείας σε πρώιμο στάδιο (1). Οι αξονικές τομογραφίες CT έχουν μεγαλύτερη ευαισθησία παρά οι ακτίνες X και είναι ικανές να ανιχνεύσουν βλάβες με < 5% καταστροφή δοκιδωτών οστών. Εξαιτίας του ότι οι MRI ολόκληρου του σώματος (Whole Body-MRI ή WB-MRI) είναι πιο δύσκολο να εφαρμοστούν, οι PET-CT χρησιμοποιούνται ευρέως αφού έχουν την ικανότητα να ανιχνεύουν την EMD, η οποία δεν καθίσταται εφικτή να ανιχνευθεί με άλλες τεχνικές απεικόνισης (26,53,56). Η μεταβολική δραστηριότητα των εστιακών αλλοιώσεων που καθορίζεται από το PET-CT, καθώς και ο αριθμός των εστιακών αλλοιώσεων που εντοπίζονται με MRI, σχετίζονται με νόσο υψηλού κινδύνου (26). Εξαιτίας του ότι η ακριβής διάγνωση του MM είναι καίριας σημασίας, προτείνεται τουλάχιστον μία προηγμένη απεικονιστική εξέταση (PET-CT, χαμηλή δόση WB-CT, WB-MRI ή MRI της σπονδυλικής στήλης) πριν το συμπέρασμα ότι ένας ασθενής έχει SMM ή MM (15). Εστιακές ή διάχυτες αλλαγές στο SMM μπορούν να γίνουν αντιληπτές με MRI της σπονδυλικής στήλης / λεκάνης ολόκληρου του σώματος. Περισσότερες από μία (>1) εστιακές αλλοιώσεις στην MRI, αποτελούν βιοδείκτη για τη διάγνωση MM (βλ. Πιν.14) (15,54). Η MRI έχει μεγάλη ευαισθησία και θεωρείται ειδική τεχνική απεικόνισης τόσο για την ανίχνευση της νόσου, όσο και για τη συμμετοχή των μαλακών ιστών (26,40). Το IMWG πρόσθεσε μια προϋπόθεση, ότι οι εστιακές βλάβες πρέπει να είναι μεγέθους τουλάχιστον 5 mm (\geq), με σκοπό να αυξηθεί ή προγνωστική αξία

και πρότεινε εξετάσεις παρακολούθησης σε ασθενείς που είχαν μονήρη εστιακή βλάβη, διαφορούμενα ευρήματα ή διάχυτη διήθηση σε 3 έως 6 μήνες (11,15,40). Η επιλογή ανάμεσα στις διάφορες απεικονιστικές μεθόδους διαφέρει ανάλογα με τη διαθεσιμότητα και την κλινική κατάσταση του κάθε ασθενή (11,15).



Εικόνα 2.6.1 Η εικόνα παρουσιάζει τους τρόπους βιο-απεικόνισης της οστικής βλάβης, η οποία προέρχεται είτε από πρωτοπαθή, είτε από μεταστατικό όγκο. Παρουσιάζονται επίσης και μερικοί βιοδείκτες οστικής εναλλαγής που έχουν να κάνουν με την πρόβλεψη, διάγνωση και εκτίμηση κινδύνου σε άτομα με οστικές βλάβες. **A.** Μεθοδολογίες βιο-απεικόνισης για τη διάγνωση οστικής βλάβης, **i.** ακτινογραφία ακτίνων Χ, η οποία δείχνει πολλαπλή οστεολυτική μετάσταση στα οστά, **ii.** σπινθηρογράφημα οστών, το οποίο δείχνει πολλαπλές μεταστατικές βλάβες, **iii.** τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET), που δείχνει οστεολυτικές βλάβες στον σκληροκοιδήδες σκελετό, **iv.** υπολογιστική τομογραφία (CT), που δείχνει πολλαπλή οστική μετάσταση, **v.** στεφανιαία μαγνητική τομογραφία (MRI), που δείχνει εστιακή οστική βλάβη στη μηριαία μετάφυση. **B.** Βιοδείκτες που μπορούν να επεξεργαστούν στο αίμα, δείχνοντας τις βλάβες του οστικού ιστού (46).

2.7 Αναθεωρημένα κριτήρια IMWG για τη διάγνωση του MM

Η πρόοδος στη διάγνωση και τη θεραπεία του MM είναι αξιοσημείωτη τα τελευταία χρόνια. Αρχικά, η διάγνωση του MM καθοριζόταν από τα χαρακτηριστικά CRAB (βλ. Πιν.2). Ο συγκεκριμένος ορισμός όμως ήταν ελλιπείς, γι' αυτό κατέστη αναγκαίο να αναθεωρηθεί ο ορισμός της νόσου MM με την ανακάλυψη βιοδεικτών που μπορούν να ξεχωρίσουν το MM από τις προκακοήθεις φάσεις MGUS και SMM. Το IMWG, ενσωμάτωσε επιπλέον τρεις βιοδείκτες (βλ. Πιν.14) (4,11,15,20,21,24,30,40) και αναθεώρησε τα διαγνωστικά κριτήρια για το MM (βλ. Πιν.15) (4,11,15,17,18,20,21,24,26,30,40).

Πίνακας 14. Βιοδείκτες για τη διάγνωση του πολλαπλού μυελώματος (MM) σε ασθενείς που δεν παρουσιάζουν χαρακτηριστικά CRAB και σχετίζονται με περίπου 80% κίνδυνο εξέλιξης σε συμπτωματική βλάβη τελικών οργάνων

1. Ποσοστό κλωνικών PCs μυελού των οστών $\geq 10\%$ ή αποδεδειγμένο με βιοψία οστικό ή εξωμυελικό πλασματοκύττωμα
2. Αναλογία ελεύθερης ελαφριάς αλυσίδας ορού FLC ≥ 100 , δεδομένου ότι το εμπλεκόμενο επίπεδο FLC είναι ≥ 100 mg/L (για μείωση πιθανότητας σφάλματος)
3. Περισσότερες από μία (>1) εστιακές αλλοιώσεις στην MRI

Πίνακας 15. Αναθεωρημένα κριτήρια IMWG για τη διάγνωση του πολλαπλού μυελώματος (MM)

MM	Πρέπει να πληρούνται και τα δύο κριτήρια
	1. Ποσοστό κλωνικών PCs μυελού των οστών $\geq 10\%$ ή αποδεδειγμένο με βιοψία οστικό ή εξωμυελικό πλασματοκύττωμα
	2. Ένα ή περισσότερα από τα ακόλουθα συμβάντα:
	a. Στοιχεία βλάβης των τελικών οργάνων (χαρακτηριστικά CRAB) που μπορεί να αποδοθούν στην υποκείμενη διαταραχή πολλαπλασιασμού των PCs, συγκεκριμένα:
	i. Υπερασβεστιαϊμία: ασβέστιο ορού > 0.25 mmol/L (> 11 mg/dL) υψηλότερο από το ανώτατο όριο του φυσιολογικού ή > 2.75 mmol/L (> 11 mg/dL)
	ii. Νεφρική ανεπάρκεια: κάθαρση κρεατινίνης (creatinine clearance ή Ccr) < 40 mL/min ή Scr > 177 mmol/L (> 2 mg/dL)
	iii. Αναιμία: τιμή Hb > 2 g/dL κάτω από το κατώτερο φυσιολογικό όριο ή τιμή Hb < 10 g/dL
	iv. Οστικές βλάβες: μία ή περισσότερες οστεολυτικές βλάβες σε σκελετική ακτινογραφία, CT ή PET-CT
	Κριτήρια SLiM
	b. Ποσοστό κλωνικών PCs μυελού των οστών $\geq 60\%$ (Sixty percent)
c. Συμμετέχουν: μη εμπλεκόμενος λόγος FLC (free Light chain ratio) ορού ≥ 100 (υπό την προϋπόθεση ότι το επίπεδο του εμπλεκόμενου FLC είναι ≥ 100 mg/L)	
d. > 1 εστιακή βλάβη σε μελέτες MRI (μεγέθους τουλάχιστον 5 mm)	

2.8 Πρωτεΐνη ορού (Serum Protein Electrophoresis ή SPE)

Το MM είναι μια μονοκλωνική γαμμαπάθεια που περιλαμβάνει τον πολλαπλασιασμό ενός μόνο κλώνου PCs και παράγει έναν μόνο τύπο είτε ανέπαφων ανοσοσφαιρινών, βαριών αλυσίδων, ελαφριών αλυσίδων ή και τα δύο (2,11,15,25). Αυτά τα αντισώματα – πρωτεΐνες, αναφέρονται ως μονοκλωνικές πρωτεΐνες (M) ή παραπρωτεΐνες (2,11,15, 20,21,24,25). Χαρακτηριστικό του MM είναι η υπερπαραγωγή αυτών των πρωτεϊνών M ελαφριάς και βαριάς αλυσίδας (25,26,53). Διαγνωστικό κριτήριο για το MM, αποτελούν τα επίπεδα πρωτεΐνης M > 3 g/dL (21,26). Ασθενείς με συγκέντρωση πρωτεΐνης M ≥ 15 g/dL, έχουν 23 φορές περισσότερες πιθανότητες να εμφανίσουν MM (41). Η πρωτεΐνη M,

είναι ικανή να ανιχνευθεί με ανοσοκαθήλωση και με ηλεκτροφόρηση πρωτεΐνης ορού σε ασθενείς με MM. Μέχρι και στο 20% των ασθενών με MM, απουσιάζει η εμφάνιση βαριάς αλυσίδας στην πρωτεΐνη M και κατατάσσονται σε ασθενείς με MM ελαφριάς αλυσίδας. Σε αυτούς τους ασθενείς η ανίχνευση της πρωτεΐνης M γίνεται συνήθως από τα ούρα, αλλά υπάρχει πιθανότητα να μην υπάρχει πάντα σε αυτά, ακόμα και με ανοσοκαθήλωση, γεγονός που επιβάλλει την εκτέλεση ηλεκτροφόρησης και ανοσοκαθήλωσης πρωτεϊνών τόσο στον ορό, όσο και στα ούρα σε όλους τους ασθενείς που ενδέχεται να έχουν MM (2,11,15,20,21,25,30). Η ηλεκτροφόρηση ανοσοκαθήλωσης πραγματοποιείται για να αποδείξει ότι η πρωτεΐνη M είναι μονοκλωνική καθώς και για την ενίσχυση των ζωνών πρωτεΐνης (21). Η πρωτεΐνη M ανιχνεύεται ως ακίδα και περιέχει α, β ή γ σφαιρίνες κατά την ηλεκτροφόρηση του δείγματος ορού. Η εμφάνιση ακίδας M στο SPE, αποτελεί σημαντικό βιοδείκτη για το MM και εφαρμόζεται για την παρακολούθηση της εξέλιξης της νόσου και της υποτροπής (1,4,11).

Η πρωτεΐνη M απαρτίζεται από συγκεκριμένη αλληλουχία αμινοξέων, άρα και από συγκεκριμένη μάζα, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως υποκατάστατος δείκτης για την ύπαρξη κλωνικών PCs. Η ανίχνευση αυτής της μάζας πραγματοποιείται με φασματομετρία μάζας, η οποία μπορεί να προσδιορίσει την ελάχιστη υπολειμματική νόσο (Minimal Residual Disease ή MRD), τον κατάλληλο χρονισμό για εξετάσεις με βάση τον μυελό των οστών καθώς επίσης είναι ικανή να ανιχνεύσει την πιθανότητα πρώιμης υποτροπής της νόσου. Οι πλείστες μέθοδοι φασματομετρίας μάζας θεωρούνται περίπου 100 φορές πιο ευαίσθητες σε σχέση με την ανοσοκαθήλωση, με όριο ανίχνευσης 0.05 g/dL – 0.00001 g/dL (61).

2.9 Πρωτεΐνη Bence-Jones στα ούρα

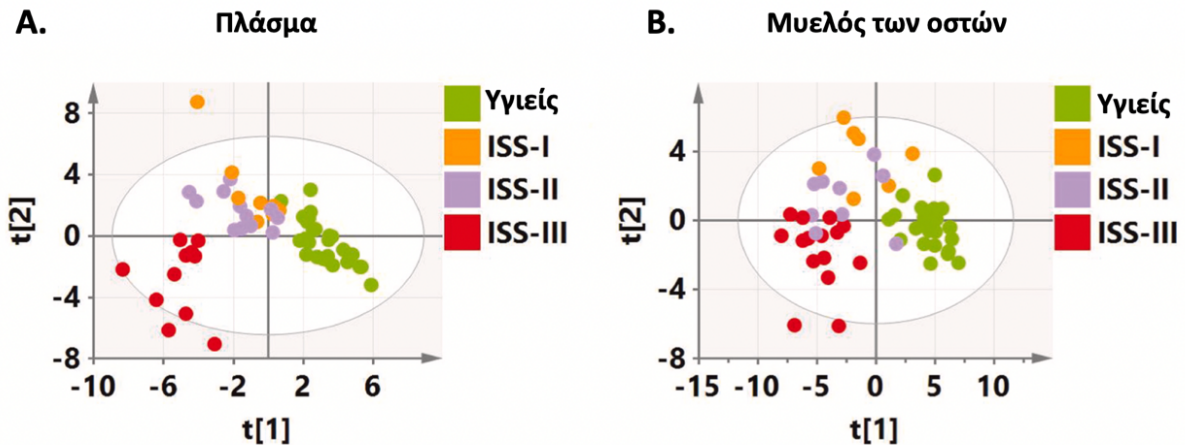
Περίπου το 70% των ασθενών με MM (21) που υποβλήθηκαν σε εξέταση ούρων, εμφάνισαν συγκεκριμένες πρωτεΐνες που ονομάζονται Bence-Jones (11,17,21,26), με αποτέλεσμα να οδηγούνται σε νεφρική ανεπάρκεια, καθώς και νεφρική βλάβη (κυρίως νεφρική σωληναριακή οξέωση τύπου 2) τα δύο τρίτα των περιστατικών MM (17). Αυτές οι δύο κατηγορίες πρωτεϊνών, αναγνωρίστηκαν επίσης ως κ και λ. Οι ιδιότητες θερμότητας, καθώς και η σύνθεση αμινοξέων της πρωτεΐνης Bence-Jones από τα ούρα, ήταν ακριβώς τα ίδια με αυτά των ελαφριών αλυσίδων από μια μονοκλωνική πρωτεΐνη IgG στον ορό του ίδιου ασθενούς, που πρότεινε την προέλευση της πρωτεΐνης Bence-Jones από την

πρωτεΐνη του κυκλοφορικού (1). Η εμπειριστατωμένη εξέταση της πρωτεΐνης Bence-Jones των ούρων, σηματοδοτεί μια ακόμα παράμετρο για τη διάγνωση και την πρόγνωση του MM (1,56).

2.10 Μεταβολικοί βιοδείκτες ασπαρτικού και θρεονίνης για διάγνωση και πρόβλεψη κινδύνου στο MM

Η μεταβολομική, η οποία εστιάζει σε ενδογενείς μεταβολίτες, χρησιμοποιείται ευρέως για την ανακάλυψη και τον προσδιορισμό πιθανών μεταβολικών βιοδεικτών για τη διάγνωση και την πρόγνωση του MM. Αποτελέσματα μεταβολομικής ανάλυσης, βασισμένης σε αέρια χρωματογραφία φασματοσκοπίας μάζας εντός των υπερκείμενων υγρών του μυελού των οστών και του περιφερικού πλάσματος, έδειξαν ότι τα επίπεδα του ασπαρτικού και της θρεονίνης, μπορούν να γίνουν μεταβολικοί βιοδείκτες για τη διάγνωση και τη πρόβλεψη κινδύνου στο MM, αντίστοιχα.

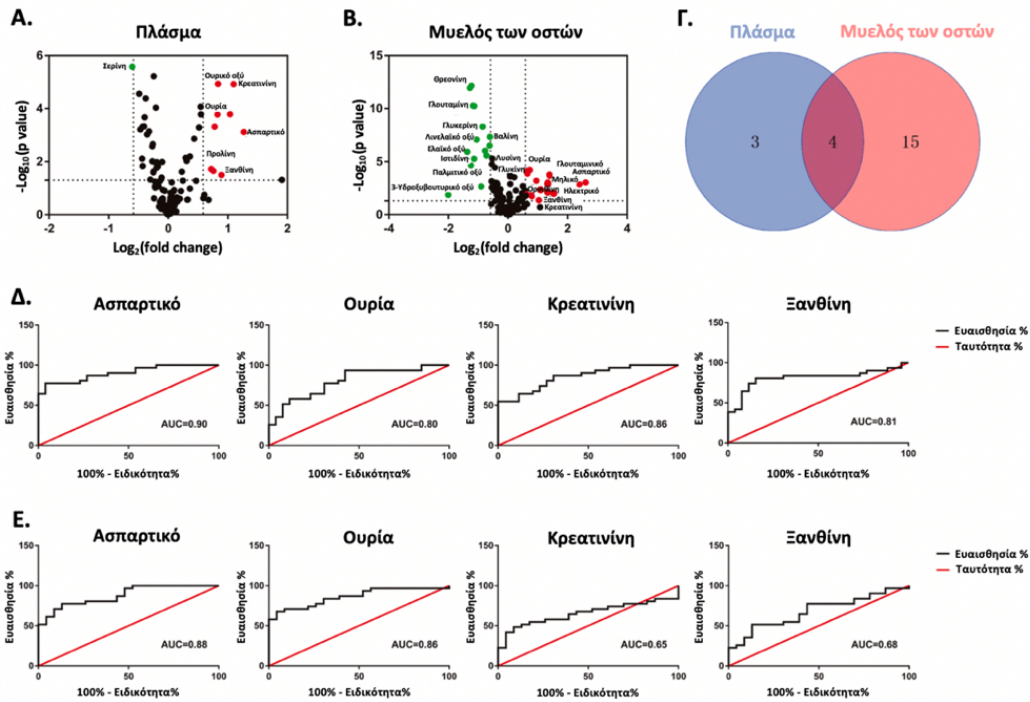
Ασθενείς με MM και υγιείς άτομα μπορούν να διαχωριστούν μέσα από μια πολυπαραγοντική ανάλυση ελαχίστων τετραγώνων (Partial Least Squares-Discriminant Analysis ή PLS-DA) τόσο από τα δείγματα πλάσματος, όσο και από τα δείγματα υπερκείμενου μυελού των οστών, αφού τα μεταβολικά χαρακτηριστικά τους είναι διαφορετικά. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την παρουσία διαφορετικών μεταβολικών προφίλ ανάμεσα στους ασθενείς με MM και στα υγιή άτομα. Η PLS-DA εμφανίζει μεταβολικές μετατοπίσεις ανάλογα με το στάδιο νόσου του MM σύμφωνα με το ISS (στάδιο I: χαμηλού κινδύνου, στάδιο II: ενδιάμεσου κινδύνου και στάδιο III: υψηλού κινδύνου) που εξαρτώνται από τον κίνδυνο τόσο στο πλάσμα, όσο και στο μυελό των οστών (βλ. Εικ. 2.10.1).



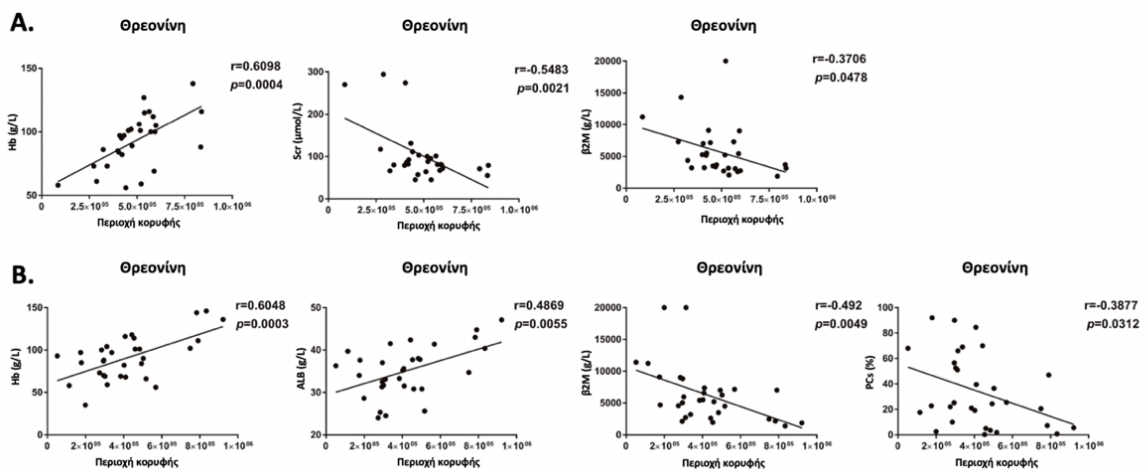
Εικόνα 2.10.1 Μεταβολικές μετατοπίσεις των τριών σταδίων του πολλαπλού μυελώματος (MM) σύμφωνα με το διεθνές σύστημα σταδιοποίησης (ISS). **A.** Πολυπαραγοντική ανάλυση ελαχίστων τετραγώνων (PLS-DA) δειγμάτων πλάσματος και **B.** Πολυπαραγοντική ανάλυση ελαχίστων τετραγώνων (PLS-DA) δειγμάτων υπερκείμενου μυελού των οστών. Με πράσινο χρώμα παρουσιάζονται υγιές δείγματα μεταβολιτών, με πορτοκαλί χρώμα μεταβολίτες ISS-I, με μωβ χρώμα μεταβολίτες ISS-II και με κόκκινο χρώμα μεταβολίτες ISS-III. Κάθε σημείο χαρακτηρίζει το προφίλ ενός μεταβολίτη σε ένα βιολογικό αντίγραφο (3).

Το ασπαρτικό αποτελεί υποψήφιο βιοδείκτη πλάσματος για τη διάγνωση του MM, παρουσιάζοντας την μεγαλύτερη ευαισθησία (0.90) και ειδικότητα (0.88) τόσο στο μυελό των οστών όσο και στο πλάσμα, σε σχέση με άλλους μεταβολίτες (π.χ. ξανθίνη, κρεατινίνη, ουρία) (βλ. Εικ. 2.10.2). Το ασπαρτικό υπερεκφράζεται και στο μυελό των οστών και στο πλάσμα των ασθενών με MM, σε σχέση με τα υγιή άτομα. Υψηλότερα επίπεδα ασπαρτικού, οδηγούν σε υψηλότερα ποσοστά σύνθεσης DNA σε MM.

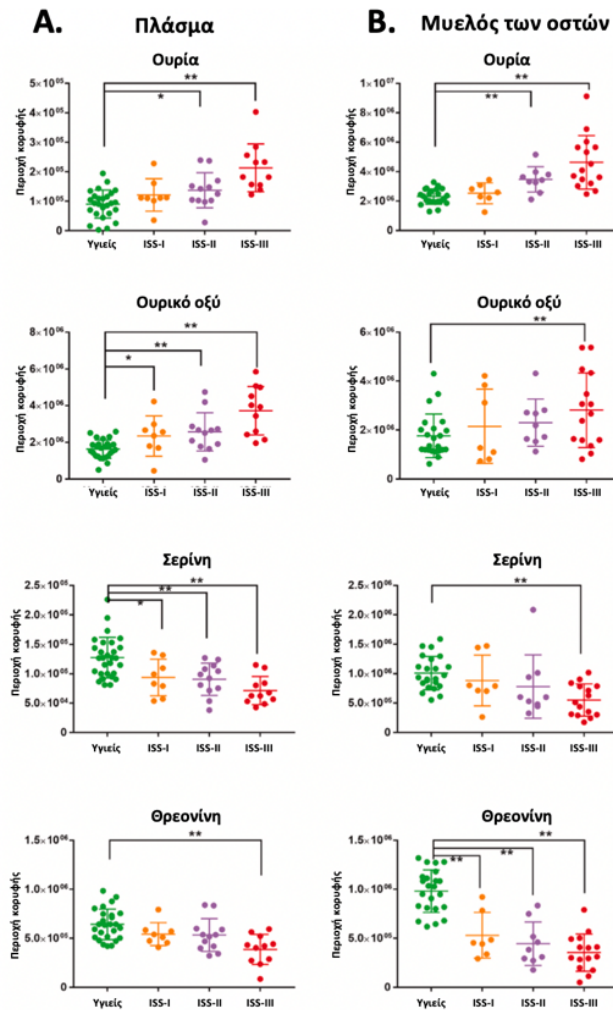
Η θρεονίνη αποτελεί έναν προτεινόμενο μεταβολικό βιοδείκτη για την πρόβλεψη κινδύνου στο MM, εξαιτίας της σημαντικής συσχέτισης με διάφορους δείκτες κινδύνου τόσο στο μυελό των οστών (π.χ. Hb, λευκωματίνη, β2M και PCs) όσο και στο πλάσμα (π.χ. Hb, Scr και β2M) (βλ. Εικ. 2.10.3). Όσο χαμηλότερη αφθονία θρεονίνης υπάρχει, τόσο μεγαλύτερος είναι ο κίνδυνος ασθένειας. Έτσι, η θρεονίνη συσχετίστηκε αρνητικά με τη διαστρωμάτωση κινδύνου με βάση το ISS (βλ. Εικ. 2.10.4). Το μειωμένο ποσοστό θρεονίνης μπορεί να μεταβληθεί σε γλυκίνη, που πιθανός να σχετίζεται με την ανάπτυξη MM (3).



Εικόνα 2.10.2 Μεταβολίτες και βιοδείκτες διάγνωσης που βρέθηκαν σε ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα (MM). Παρουσιάζονται χάρτες ηφαιστειών που αφορούν μεταβολίτες που βρέθηκαν στα υπερκείμενα του πλάσματος (A.) και του μυελού των οστών (B.) από ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα (MM) και υγιείς άτομα. Τα πράσινα σημεία συμβολίζουν μεταβολίτες με χαμηλότερη αφθονία, ενώ τα κόκκινα σημεία συμβολίζουν μεταβολίτες με υψηλότερη αφθονία σε άτομα με πολλαπλό μυέλωμα (MM). Γ. Κατά την σύγκριση των δειγμάτων του μυελού των οστών και του πλάσματος, το διάγραμμα Venn παρουσίασε την επικάλυψη τεσσάρων μεταβολιτών (ασπαρτικού, ουρίας, κρεατινίνης και ξανθίνης). Δ. Χαρακτηριστικές καμπύλες λειτουργίας δέκτη (Receiver Operating Characteristic Curve ή ROC) των τεσσάρων μεταβολιτών (ασπαρτικό, ουρία, κρεατινίνη, ξανθίνη) στο πλάσμα. Ε. Χαρακτηριστικές καμπύλες λειτουργίας δέκτη (ROC) των τεσσάρων μεταβολιτών (ασπαρτικό, ουρία, κρεατινίνη, ξανθίνη) στο μυελό των οστών (3).



Εικόνα 2.10.3 A. Παρουσιάζονται οι συντελεστές συσχέτισης στο πλάσμα μεταξύ θρεονίνης και αιμοσφαιρίνης (Hb), κρεατινίνης ορού (Scr) και β2-μικροσφαιρίνης (β2M). **B.** Παρουσιάζονται οι συντελεστές συσχέτισης στο μυελό των οστών μεταξύ θρεονίνης και αιμοσφαιρίνης (Hb), λευκωματίνης (albumin ή ALB), β2-μικροσφαιρίνης (β2M) και πλασμακυττάρων (PCr). Η θρεονίνη έχει σημαντική συσχέτιση με διάφορους δείκτες κινδύνου, τόσο στο πλάσμα, όσο και στο μυελό των οστών (3).



Εικόνα 2.10.4 Υποψήφιοι μεταβολικοί βιοδείκτες που αφορούν τον κίνδυνο νόσου σε ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα (MM). **A.** Παρουσιάζεται η αφθονία των υποψήφιων μεταβολιτών (ουρία, ουρικό οξύ, σερίνη και θρεονίνη) στο πλάσμα σε υγιείς άτομα και σε ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα (MM), σταδίων του διεθνούς συστήματος σταδιοποίησης (ISS). **B.** Παρουσιάζεται η αφθονία υποψήφιων μεταβολιτών (ουρία, ουρικό οξύ, σερίνη και θρεονίνη) στο μυελό των οστών σε υγιείς άτομα και σε ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα (MM), σταδίων του διεθνούς συστήματος σταδιοποίησης (ISS) (*: $p < 0.005$, **: $p < 0.01$) (3).

2.11 microRNAs

Τα microRNAs (miRNAs) είναι μη κωδικοποιητικά μόρια RNA (1,4,62), μήκους 18-25 νουκλεοτιδίων, εκφράζονται ενδογενώς σε όλους τους τύπους κυττάρων (1,4,63), κυρίως στο περιφερικό αίμα (63) και αντιστοιχούν περίπου στο 1% του ανθρώπινου γονιδιώματος (4). Μπορούν να ανιχνευθούν σε κακοήθεις PCs και στον ορό (52), αποδεικνύοντας με αυτό τον τρόπο ότι εμπλέκονται άμεσα στην παθογένεση του MM (62). Μια από τις υπευθυνότητες τους είναι η ρύθμιση της πρωτεϊνικής σύνθεσης μέσω του ελέγχου της μεταγραφής και της μετάφρασης του αγγελιοφόρου (m)RNA, επιδρώντας με αυτό τον τρόπο σε διάφορες βιολογικές διεργασίες όπως ο μεταβολισμός, ο πολλαπλασιασμός των

κυττάρων και η απόπτωση. Έτσι, προκαλούν είτε αποικοδόμηση, είτε εμποδίζουν τη μετάφραση των mRNAs στόχων (1,4). Τα miRNAs εκφράζονται με έναν ειδικό τρόπο για συγκεκριμένους ιστούς (4). Σημαντική ιδιότητα των miRNAs είναι ότι ρυθμίζουν την έκφραση γονιδίων (π.χ. ογκογονιδίων και ογκοκατασταλτικών γονιδίων) που ελέγχουν την εξέλιξη και ανάπτυξη του καρκίνου. Τα miRNAs δρουν σαν oncomiRs αν στοχεύουν ογκοκατασταλτικά γονίδια και σαν ογκοκατασταλτικά miRNAs αν στοχεύουν ογκογονίδια. Τα oncomiRs υπερεκφράζονται (↑) στα καρκινικά κύτταρα, ενώ τα ογκοκατασταλτικά miRNAs ρυθμίζονται προς τα κάτω (↓). Με αυτό τον τρόπο τα miRNAs είτε ως προαγωγείς, είτε ως καταστολείς, απελευθερώνονται στην κυκλοφορία του αίματος, αποσκοπώντας την μη επεμβατική ανίχνευση καρκίνων (1,4).

Παραδείγματα αποτελούν τα miR-720, miR-1246, τα οποία αποτελούν προγνωστικούς παράγοντες για την πορεία ασθενών με MM. Τα κυκλοφορικά εξωσωματικά microRNAs (let-7b και miR-18a) έχουν επίσης σημαντική προγνωστική αξία. Μειωμένη κυκλοφοριακή έκφραση, παρατηρείται σε miR-203 και miR-30d στη διάγνωση και την πρόγνωση του MM (4). Αυξημένη έκφραση του miR-25, συνδέεται με πιο καλό PFS. Τα miR-16 και miR-25 εμφανίζονται ενθυλακωμένα σε εξωκυττάρια κυστίδια (Extracellular Vesicles ή EVs), αλλά δεν είναι ικανά να ρυθμίσουν τα γονίδια-στόχους μετά το στάδιο της μεταγραφής. Επίσης, όσον αφορά το OS, τα κυκλοφορούντα miR-16 και miR-25 θεωρούνται ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες σε NDMM, περισσότερο από το PFS (62). Το miR-30d, αποδείχθηκε ότι εμφανίζει αντικαρκινικό ρόλο μέσω αναστολής της οδού PI3K/Akt, γεγονός που δείχνει ότι τα miRNAs μπορούν να χρησιμοποιηθούν και σαν θεραπευτικοί στόχοι για το MM (4). Εξαιτίας των πολυάριθμων μελετών που πραγματοποιήθηκαν για τα microRNAs στο MM, αυτά συνοψίζονται αναλυτικότερα στον Πίνακα 16 και Πίνακα 17, ανάλογα με την έκφραση τους ως ογκογονίδια ή ογκοκατασταλτικά γονίδια στο MM (1).

2.11.1 OncomiRs

Αρκετά miRNAs ρυθμίζονται προς τα πάνω - υπερεκφράζονται (↑) στο MM, ενισχύοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και ενδυναμώνοντας την ανάπτυξη όγκου, διεγείροντας την αγγειογένεση μέσω διαφόρων μηχανισμών. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την προώθηση της κυτταρικής μετανάστευσης και μετάστασης, την ενίσχυση της κυτταρικής

βιωσιμότητας, την αναστολή της απόπτωσης, καθώς και την ενίσχυση της ανθεκτικότητας στα φάρμακα (βλ. Πίν.16).

Πίνακας 16. Τα miRNAs που δρουν ως oncomiRs στο πολλαπλό μύελωμα (MM), οι μηχανισμοί δράσης τους και οι πιθανοί τους στόχοι. Τα oncomiRs, σκοπό έχουν την διευκόλυνση ανάπτυξης του όγκου, στοχεύοντας διάφορα ογκοκατασταλτικά γονίδια

miRNA	Μηχανισμοί δράσης	Στόχοι
miR-10a	↑ κυτταρικού πολλαπλασιασμού ↓ απόπτωσης	-
miR-19b	↑ κυτταρικού πολλαπλασιασμού και μετανάστευσης ↓ απόπτωσης	πρωτεΐνη PTEN
miR-20a	↑ κυτταρικού πολλαπλασιασμού και μετανάστευσης ↓ απόπτωσης	πρωτεΐνη PTEN
miR-21	↓ διαφοροποίησης CD4+ T κυττάρων (Th17) ↑ σηματοδότησης υπέρ της επιβίωσης	STAT-1/-5a-5b και STAT3 Rho-B και PTEN
miR-25	↑ κυτταρικής βιωσιμότητας ↓ απόπτωσης	p38/MAPK
miR-27	↑ κυτταρικού πολλαπλασιασμού, μετανάστευσης και εισβολής	SPRY2
miR-27b-3p	↑ κυτταρικού πολλαπλασιασμού και αντοχής στην απόπτωση	FBXW7 και PTEN/AKT/GSK3
miR-93	↑ κυτταρικής βιωσιμότητας ↓ απόπτωσης	p38/MAPK
miR-106b	↑ κυτταρικής βιωσιμότητας ↓ απόπτωσης	p38/MAPK
miR-181a	↓ απόπτωσης	NOVA1
miR-125a-5p	↑ κυτταρικού πολλαπλασιασμού και μετανάστευσης ↓ απόπτωσης	-
miR-214-3p	↑ κυτταρικού πολλαπλασιασμού και αντοχής στην απόπτωση	FBXW7 και PTEN/AKT/GSK3
miR-221	↓ αυτοφαγίας ↑ αντίστασης στη δεξαμεθαζόνη ↑ ανάπτυξης όγκου	ATG12 και p27/mTOR p27/Kip1, p57Kip2, PTEN και PUMA
miR-22	↓ αυτοφαγίας ↑ αντίστασης στη δεξαμεθαζόνη ↑ ανάπτυξης όγκου	ATG12 και p27/mTOR p27/Kip1, p57Kip2, PTEN και PUMA

Συντομογραφίες. ↑ αύξηση, ↓ μείωση

2.11.2 Ογκοκατασταλτικά miRNAs

Αρκετά miRNAs ρυθμίζονται προς τα κάτω (↓) στα PCs του MM. Σκοπός αυτών των miRNAs είναι η καταστολή της ανάπτυξης όγκου μέσω διαφόρων οδών, είτε αναστέλλοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τον κυτταρικό κύκλο και την ανάπτυξη όγκου, είτε ενισχύοντας την απόπτωση και μειώνοντας την κυτταρική βιωσιμότητα, είτε αυξάνοντας την ευαισθησία στα φάρμακα, είτε παρεμποδίζοντας την επιβίωση και την γονιδιωματική αστάθεια, είτε αναστέλλοντας την αγγειογένεση. Τα ογκοκατασταλτικά miRNAs,

λειτουργούν αναστέλλοντας βασικά ογκογονίδια, με σκοπό τη μείωση της ανάπτυξης όγκου (βλ. Πιν.17) (4).

Πίνακας 17. Τα miRNAs που δρουν ως ογκοκατασταλτικά γονίδια στο πολλαπλό μυέλωμα (MM), οι μηχανισμοί δράσης τους και οι πιθανοί τους στόχοι. Τα ογκοκατασταλτικά γονίδια miRNAs, σκοπό έχουν την παρεμπόδιση ανάπτυξης του όγκου, στοχεύοντας διάφορα ογκογονίδια

miRNA	Μηχανισμοί δράσης	Στόχοι
miR-15a, miR-16	↓ σχηματισμού τριχοειδών, ανάπτυξης όγκου	VEGF
	↑ απόπτωσης	AKT σερίνη/θρεονίνη-πρωτεΐνη-κινάση, ενεργοποιητής NF-κB MAP3KIP3 και ριβοσωμική πρωτεΐνη-S6
miR-22-3p	↓ επιβίωσης, γονιδιωματικής αστάθειας	DNA λιγάση III
miR-26a	↓ κυτταρικού πολλαπλασιασμού, μετανάστευσης	CD38
	↑ απόπτωσης	
miR-29b	↑ απόπτωσης	MCL-1, CDK6 και SP1
	↓ κυτταρικού πολλαπλασιασμού	DNMT3A/B και HDAC4
	↑ ευαισθησίας στη βορτεζομίμη	MCL-1, CDK6 και SP1
	↓ κυτταρικού πολλαπλασιασμού	FOXP1
	↑ διακοπής του κυτταρικού κύκλου	
miR-30-5p	↓ κυτταρικού πολλαπλασιασμού, μετανάστευσης	BCL9
miR-33b	↓ σύνδεσης μεταξύ Bad και Bcl2/l-xl	PIM-1
	↑ απόπτωσης	
miR-34a	↓ ανάπτυξης όγκου	υποδοχέας IL-6/ STAT3 CDK6, BCL2 και NOTCH1
	↑ απόπτωσης	
	↓ σηματοδότησης υπέρ της επιβίωσης	
miR-34a-5p	↓ κυτταρικού πολλαπλασιασμού	RMRP
	↑ απόπτωσης	
miR-101-3p	↓ βιωσιμότητας κυττάρων	survivin (BIRC5)
miR-125a	↓ βιωσιμότητας κυττάρων, δραστηριότητας σχηματισμού αποικιών	USP5
miR-125b	↓ ανάπτυξης όγκου	IRF4
miR-155	↑ προ-αποπτωτικών, αντι-πολλαπλασιαστικών επιδράσεων	γονίδιο υπομονάδας πρωτεασώματος, PSMβ5
	↑ θεραπευτικής ευαισθησίας στη βορτεζομίμη	
	↑ φαγοκυττάρωσης κυττάρων MM από μακροφάγα	CD47
	↑ ευαισθησίας των ανθεκτικών στο φάρμακο κυττάρων MM στο Bortezomib	TNFAIP8
miR-192	↓ κυτταρικού πολλαπλασιασμού	TGIF2
miR-192, miR-194, miR-215	↑ θεραπευτικής αποτελεσματικότητας των αναστολέων MDM2	p53 και MDM2
miR-199a- 5p	↓ σχηματισμού τριχοειδών, ανάπτυξης όγκου	VEGF-A, HIF-1α, IL-8 και FGFb
	↓ χημειοταξίας των PCs	MMP2, VCAM-1, DDR1 και ICAM-1
miR-214	↓ ανάπτυξης όγκου	p53 και p28/γκανκυρίνη
miR-489	↓ κυτταρικού πολλαπλασιασμού, βιωσιμότητας	LDHA

	↓ πρόσληψης γλυκόζης, παραγωγής ATP	
miR-520g,h	↓ βιωσιμότητας των κυττάρων	Rad51 και APE1

Συντομογραφίες. ↑ αύξηση, ↓ μείωση

2.12 Τρανσγελίνη

Η τρανσγελίνη είναι μία πρωτεΐνη 22kDa που υπάρχει στον ιστό του λείου μυός και συμμετέχει στην ταξινόμηση του κυτταροσκελετού. Μετά από μελέτες σε ζώα, αποτελεί έναν πιθανό μεσολαβητή νεφρικής ίνωσης και βλάβης, καθώς επίσης ο ρόλος της στην εμφάνιση όγκων παρουσιάζεται σε πληθώρα καρκίνων. Ύστερα από μελέτες, αποδείχθηκε ότι αυξημένα επίπεδα τρανσγελίνης ορού, συσχετίστηκαν αρνητικά με τη σπειραματική διήθηση στο MM στον άνθρωπο και προβλέπουν μειωμένη νεφρική λειτουργία ύστερα από πολυετή παρακολούθηση (64).

2.13 Λιποκύτταρα του μυελού των οστών (Bone Marrow Adipocytes ή BMAds)

Η παχυσαρκία και η γήρανση είναι δύο παράγοντες κινδύνου, όσον αφορά τον επιπολασμό του MM, οι οποίοι ευθύνονται για την εξάπλωση του λιπώδη ιστού του μυελού των οστών. Τα BMAds και τα κύτταρα MM στον μυελό των οστών μπορεί να επηρεαστούν μεταξύ τους. Έτσι, οι αμφίδρομες αλληλεπιδράσεις και η διασταυρούμενη ρύθμιση μεταξύ αυτών των κυττάρων, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο τόσο στην παθογένεση του MM, όσο και στην ανταπόκριση στη θεραπεία. Μετά από μελέτες, αποδείχθηκε ότι τα BMAds, έδειχναν αντίσταση στην απόπτωση και στον τερματισμό του κυτταρικού κύκλου (που διεγείρεται από τη δεξαμεθαζόνη), αναδεικνύοντας έναν καινούριο πιθανό οδηγό εξέλιξης των κυττάρων MM σε έναν κλώνο ανθεκτικό στα φάρμακα. Συμπερασματικά, τα καρκινικά κύτταρα οδηγούν σε μεταβολικές αλλαγές και γήρανση τα BMAds ή άλλα κύτταρα του μυελού των οστών, αντιπροσωπεύοντας νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις για το MM (65).

2.14 Ραδιοπυκνότητα υποδόριου λιπώδους ιστού (Subcutaneous Adipose Tissue ή SAT)

Οι λιπώδεις ιστοί, αλλά και η ποιότητα των μυών είναι προγνωστικοί παράγοντες. Η είσοδος λίπους εντός των μυϊκών ινών και η κακή μυϊκή λειτουργία, σχετίζονται με χαμηλή

ραδιοπυκνότητα των σκελετικών μυών. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα, τακτική φλεγμονή και δυσμενή πρόγνωση σε περιπτώσεις ατόμων με καρκίνο.

Πρόσφατα αποδείχθηκε ότι η ραδιοπυκνότητα SAT μπορεί να θεωρηθεί βιοδείκτης εξαιτίας της προγνωστικής της αξίας, για την εκτίμηση του προφλεγμονώδους περιβάλλοντος και του μεταβολισμού που συνδέεται με τον ξενιστή καθώς και με την πρόγνωση του MM. Η απόδειξη αυτή προήλθε από την σχέση που προέκυψε ανάμεσα στην υψηλή ραδιοπυκνότητα SAT, τα υψηλά επίπεδα προφλεγμονωδών κυτοκινών και το μειωμένο λιπώδη ιστό.

Η ραδιοπυκνότητα SAT διαμορφώνεται ανάλογα με την θερμοκρασία, τη ροή του αίματος, τη περιεκτικότητα σε νερό, την αναλογία υγρού προς τριακυκλογλυκερόλη των λιποκυττάρων και την έκταση της πληγείσας περιοχής.

Τη στιγμή της διάγνωσης, υψηλή ραδιοπυκνότητα SAT με ταυτόχρονα χαμηλά επίπεδα λεπτίνης ατόμων με NDMM, συσχετίστηκε με μικρότερο OS. Επίσης, η παρουσία χαμηλής ραδιοπυκνότητας SAT, αποδίδεται στα μεγαλύτερα λιποκύτταρα. Πρόσφατη μελέτη αναφέρει ότι η συνάθροιση λιπιδίων, κυρίως λόγω φλεγμονής και αντίστασης στην ινσουλίνη, συνδέεται με χαμηλή μυϊκή ραδιοπυκνότητα σε περιπτώσεις ασθενών με καρκίνο. Η φλεγμονή και η αντίσταση στην ινσουλίνη αποτελούν βασικά χαρακτηριστικά της μυοστεάτωσης, η οποία χαρακτηρίζει άτομα που νοσούν με MM. Φυσικό επακόλουθο της μυοστεάτωσης αποτελεί η σπλαχνική παχυσαρκία.

Η ραδιοπυκνότητα SAT μπορεί να υπολογιστεί από διαγνωστικές εικόνες CT, αλλά χρίζει περισσότερων μελετών, με σκοπό την πρόβλεψη κακής πρόγνωσης για διαστρωμάτωση κινδύνου σε MM, αλλά και σε άλλους τύπους καρκίνων (12).

2.15 Πρωτεΐνη Versican ή VCAN

Η πρωτεΐνη VCAN είναι μια πρωτεΐνη ECM. Συγκεκριμένα, είναι μια μεγάλη πρωτεογλυκάνη θειικής χονδροϊτίνης ECM, η οποία έχει ενυδατωμένη και χαλαρή μήτρα κατά την ασθένεια και έχει ενεργό ρόλο στον πολλαπλασιασμό, την κυτταρική προσκόλληση, τη μετανάστευση, την αγγειογένεση και τη συντήρηση ιστών. Μετά από πολλές μελέτες βρέθηκε ότι αποτελεί σημαντικό κομμάτι τόσο στον κακοήθη μετασχηματισμό, όσο και στην εξέλιξη του όγκου (1,6).

Η πρωτεΐνη VCAN, αλλά και τα σχετικά της μόρια (β-κατενίνη, β1 ιντεγκρίνη και FAK) στις περιπτώσεις ασθενών με MM, παρουσιάζουν σημαντική αύξηση των επιπέδων

τους. Η επεξεργασία της καμπύλης ROC της πρωτεΐνης VCAN στον ορό αίματος δείχνει θετική συσχέτιση με τη β2Μ και τη ζώνη Μ, υποδηλώνοντας έτσι μέσω της εξαιρετικής ευαισθησίας και ειδικότητας της, αλλά και μέσω των σχετικών της μορίων (β-κατενίνη, β1 ιντεγκρίνη και FAK), ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ένας νέος εύλογος διαγνωστικός βιοδείκτης για ενεργό νόσο MM (6).

2.16 Ορός hsa_circ_0087776

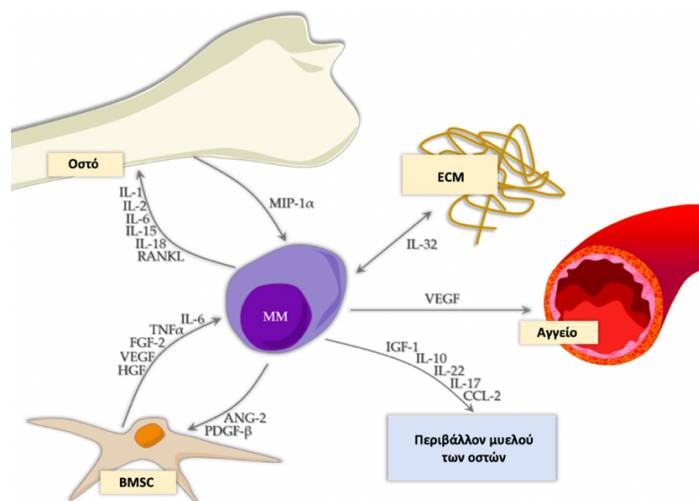
Τα επίπεδα του hsa_circ_0087776 μετά από πρόσφατη μελέτη, παρουσιάστηκαν σημαντικά χαμηλότερα στον ορό ασθενών με MM ($p < 0.0001$), καθιστώντας τον ως ένα νέο ογκολογικό δείκτη για τη συνδυασμένη διάγνωση του MM. Ο εντοπισμός καινούργιων δεικτών όγκου αποτελεί εντυπωσιακό γεγονός στην εξέλιξη του ιατρικού ιστορικού (7).

2.17 NGAL και IGFBP-7

Υψηλά επίπεδα NGAL ούρων και μονομερούς IGFBP-7, είναι ικανά να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες σωληναριακής νεφρικής βλάβης σε ασθενείς με MM, αφού συσχετίστηκαν με ασθένεια υψηλού κινδύνου και χαμηλό OS. Αυτοί οι δύο δείκτες αποτελούν βασικό πυλώνα για την μελλοντική χρόνια ανάπτυξη των νεφρών (13).

2.18 Ανοσολογικοί δείκτες

Τα επιμέρους συστατικά του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως τα κύτταρα που βρίσκονται στο μικροπεριβάλλον του όγκου, αλλά και οι απελευθερωμένες κυτοκίνες είναι καθοριστικής σημασίας για την εξέλιξη και την παθογένεση του MM. Καθίστανται λοιπόν αποτελεσματικά για την ανάπτυξη διαγνωστικών κατευθύνσεων, δεδομένου ότι έχουν σημαντική προγνωστική αξία (βλ. Εικ. 2.18.1). Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα κύτταρα Tregs (T regulatory cells ή Tregs), ενώ περισσότερα παραδείγματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 18 (9). Άξιων αναφοράς, αποτελεί το γεγονός ότι ασθενείς με MM, εξαιτίας του ότι έχουν ασθενέστερο ανοσοποιητικό σύστημα, χαρακτηρίζονται με αυξημένες πιθανότητες προσβολής και ευαισθησίας από τον ιό SARS-CoV-2, COVID-19 (35).



Εικόνα 2.18.1 Ο ρόλος και ο αντίκτυπος των επιλεγμένων χημειοκινών και κυτοκινών στην πορεία του πολλαπλού μυελώματος (MM), μεταξύ των κυττάρων πολλαπλού μυελώματος (MM) και οστών, εξωκυττάριας μήτρας (ECM), διαφόρων αγγείων, περιβάλλοντος του μυελού των οστών, στρωματικών κυττάρων μυελού των οστών (BMSCs) (9).

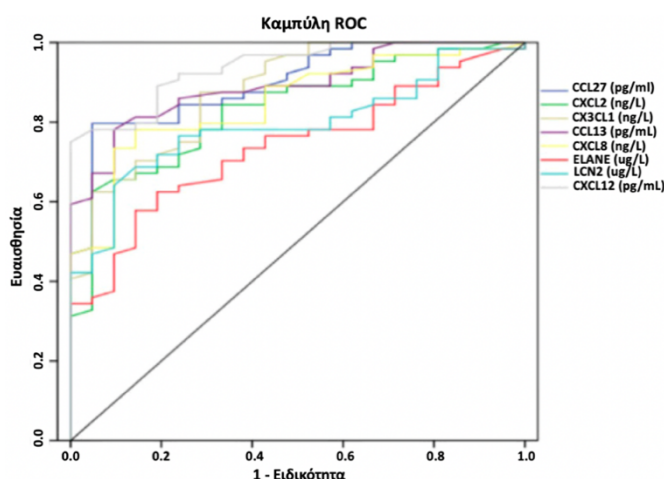
2.18.1 Ρυθμιστικά κύτταρα Tregs

Τα κύτταρα Tregs έχουν ανοσοκατασταλτικές λειτουργίες. Εξαιτίας της έκκρισης των κυτοκινών / χημειοκινών από το μικροπεριβάλλον, πραγματοποιείται διήθηση των T-κυττάρων μέσα στο μικροπεριβάλλον του όγκου (36). Τα κύτταρα Tregs είναι μια υποκατηγορία CD4⁺ T λεμφοκυττάρων και ρόλος τους είναι η αναστολή των εφαρμογών των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων και των τελεστικών T κυττάρων (π.χ. κυτταροτοξικών T κυττάρων CD8⁺ και κυττάρων NK), είτε με απελευθέρωση αντιφλεγμονωδών κυτοκινών (π.χ. IL-6, IL-10 και TGF-β) στο μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών, είτε με άμεσο τρόπο (26,36). Καταστέλλουν δηλαδή την ανοσολογική επιτήρηση του καρκίνου (26).

Χαρακτηριστικό αυτών των κυττάρων είναι το γεγονός ότι συγκεντρώνονται σε μεγάλες ποσότητες στο περιφερικό αίμα και στο μικροπεριβάλλον του όγκου σε ασθενείς με καρκίνο. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα, η υψηλή συχνότητα των Tregs να θεωρείται δείκτης κακής πρόγνωσης. Αρκετές έρευνες έχουν δείξει αυξημένα επίπεδα Tregs στο περιφερικό αίμα ατόμων με MM (1,26,36). Σημειώθηκε επίσης, θετική συσχέτιση της συχνότητας κυττάρων Tregs με το επίπεδο πρωτεΐνης M και με το ISS. Οι περιπτώσεις ασθενών με MM που εμφανίζουν υψηλότερα επίπεδα Tregs στο περιφερικό αίμα, παρουσιάζουν γρήγορη εξέλιξη της νόσου και μικρότερο OS. Αξιοσημείωτο, είναι ότι τα κύτταρα όγκου στο MM θα μπορούσαν να στοχευθούν παράλληλα με τα κύτταρα Tregs, αφού τα κύτταρα Tregs δημιουργούν ένα ευνοϊκό περιβάλλον για τα κύτταρα MM (26,36).

2.18.2 Κυτοκίνες

Υστερα από μελέτες βρέθηκε ότι 8 γονίδια (CCL27, CX3CL1, CXCL2, CXCL8, CXCL12, CCL13, LCN2, ELANE), εμφανίζονται σε χαμηλότερα επίπεδα στα PCs CD138+. Ενώ παράλληλα, τα ίδια γονίδια, παρουσιάζονται σε αυξημένα επίπεδα στο πλάσμα αίματος και στο μυελό των οστών ατόμων με MM, σε σύγκριση με το υγιές περιφερικό αίμα. Αυτά τα στοιχεία, δείχνουν ότι στο MM, η έκκριση κυτοκινών είναι αυξημένη. Η συχνότητα παρουσίας MM, συσχετίστηκε με την έκφραση των γονιδίων CCL27, CXCL2 και β2M. Τα επίπεδα των CXCL8, CXCL12, CX3CL1 και CCL13, συσχετίστηκαν θετικά με τα επίπεδα της β2M και της Hb. Τα επίπεδα των CCL27 και CXCL2, συσχετίστηκαν μόνο με τα επίπεδα της β2M, ενώ τα επίπεδα του CCL13, συσχετίστηκαν με τον αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων. Σύμφωνα με μελέτες, τα καλύτερα διαγνωστικά όρια για CCL27, CX3CL1, CXCL2, CXCL8, CXCL12, CCL13, LCN2, ELANE ήταν 189 ng/mL, 132 ng/L, 313 ng/L, 884 ng/L, 2525 pg/mL, 235 pg/mL, 8 μg/L και 50 μg/L, αντίστοιχα (βλ. Εικ. 2.18.2.1) (51).



Εικόνα 2.18.2.1 Χαρακτηριστικές καμπύλες λειτουργίας δέκτη (ROC) για τις 8 κυτοκίνες (CCL27, CXCL2, CX3CL1, CCL13, CXCL8, ELANE, LCN2 και CXCL12) (51).

Πίνακας 18. Προγνωστική αξία των επιμέρους συστατικών του ανοσοποιητικού συστήματος σε ασθενείς που νοσούν με πολλαπλό μυέλωμα (MM). Αναφέρονται παραδείγματα προφλεγμονωδών ιντερλευκινών, αντιφλεγμονωδών ιντερλευκινών, παραγόντων νέκρωσης όγκου, αυξητικών παραγόντων, ιντερφερόνης και χημειοκινών. Παρουσιάζεται η λειτουργία τους στο πολλαπλό μυέλωμα (MM), αλλά και η προγνωστική τους αξία (9,31,46,51,66,67)

	Παράγοντας	Λειτουργία σε MM	Προγνωστική αξία
Προφλεγμονώδεις ιντερλευκίνες	IL-1	Προαγωγή της διεισδυτικότητας και της εξέλιξης του όγκου. Διέγερση της παραγωγής IL-6. Η IL-1 παίζει ρόλο στη μετατροπή του λανθάνοντος MM σε ενεργό MM και παρατηρείται σε καταστάσεις χρόνιας φλεγμονής και στρες.	Τα υψηλά επίπεδα IL-1 συσχετίζονται με κακή πρόγνωση.
	IL-2	Το σύστημα IL-2-IL-2R παίζει βασικό ρόλο στη διατήρηση της σωστής λειτουργίας των T-κυττάρων.	Η διαταραχή του συστήματος IL-2-IL-2R μπορεί να είναι ένας προγνωστικός δείκτης στη διάγνωση του MM σε σύγκριση με το MGUS. Δείκτης κακοήθειας. Υψηλά επίπεδα sIL-2R στα ούρα και στον ορό συσχετίζονται με φτωχό PFS.
	IL-6	Πρωώθηση της ανάπτυξης όγκου και αναστολή της απόπτωσης κυττάρων MM από τις οδούς JAK/STAT και RAS/MAPKs.	Τα υψηλά επίπεδα sIL-6R σχετίζονται με μικρότερο OS. Τα αυξημένα επίπεδα IL-6 και sIL-6R αντικατοπτρίζουν το επίπεδο δραστηριότητας της νόσου και υποδηλώνουν κακή πρόγνωση. Η υψηλή κυτταρική έκφραση του IL-6 mRNA σε ασθενείς με MGUS μπορεί να προβλέψει την ανάπτυξη MM.
	IL-15	Η παραγωγή της IL-15 στο στρώμα επηρεάζει την ανάπτυξη των κυττάρων MM ανεξάρτητα από την IL-6. Η υπερέκφραση της IL-15 σε PCs MM, τα προστατεύει από την απόπτωση.	Τα επίπεδα της IL-15 σε ασθενείς με MM σταδίου III είναι αυξημένα, σε σύγκριση με ασθενείς σταδίου I και II.

	IL-17	Η IL-17α προάγει την ανάπτυξη των κυττάρων MM και αναστέλλει τις ανοσολογικές λειτουργίες στο περιβάλλον του όγκου.	Τα υψηλά επίπεδα IL-17 υποδηλώνουν κακή πρόγνωση, αρνητική ανταπόκριση στη θεραπεία και συσχετίζονται με τη σοβαρότητα της νόσου. Η αναλογία IL-27 : IL-17 σε NDMM συσχετίζεται με την εξέλιξη της νόσου.
	IL-18	Η IL-18 επηρεάζει τον σχηματισμό των κυττάρων MDSC και τα αυξημένα επίπεδα αγγειογενετικών κυτοκινών.	Τα υψηλά επίπεδα IL-18 συσχετίζονται με φτωχότερο OS ασθενών και με τη σοβαρότητα της νόσου.
	IL-32	Η IL-32α επάγει την παραγωγή της IL-6 στα BMSCs και δημιουργεί έναν βρόχο ανάδρασης που προάγει την ανάπτυξη των κυττάρων MM. Η IL-32 προάγει την ανοσοκαταστολή των μακροφάγων.	Η υψηλή έκφραση του γονιδίου IL-32 στα PCs συσχετίζεται με χαμηλότερο OS και πιο προχωρημένο κλινικό στάδιο του MM. Τα χαμηλότερα επίπεδα IL-32 έχουν ως αποτέλεσμα πιο θετικά PFS και OS. Τα υψηλά επίπεδα IL-32 τόσο στο μυελό των οστών, όσο και στο περιφερικό αίμα πιθανότατα επιτρέπουν την έγκαιρη αναγνώριση ανθεκτικών κυττάρων MM σε ασθενείς με πλήρη ύφεση της νόσου.
Αντιφλεγμονώδεις ιντερλευκίνες	IL-1Ra	Ρύθμιση της δραστηριότητας της IL-1.	Τα επίπεδα της IL-1Ra στον ορό ήταν υψηλότερα σε ασθενείς σταδίου III παρά σε ασθενείς σταδίου I/II μετά τη θεραπεία με βορτεζομίμη. Τα υψηλά επίπεδα IL-1Ra σχετίζονται με την εμπλοκή των οστών στο MM.
	IL-10	Μη φυσιολογικά επίπεδα IL-10 που απελευθερώνονται από CD8+ T-κύτταρα και κύτταρα MM μπορεί να υποστηρίξουν το ανοσοκατασταλτικό περιβάλλον MM, καταργώντας τη λειτουργία DCs.	Τα αυξημένα επίπεδα IL-10 ορού σε ασθενείς με MM επηρεάζουν αρνητικά το PFS και το OS, την ανταπόκριση στη θεραπεία και την πρόγνωση, αλλά σχετίζονται επίσης με τη σοβαρότητα της νόσου.

		Η IL-10 δρα ως πολλαπλασιαστικός παράγοντας για τα PCs, αλλά επίσης προάγει την αγγειογένεση στο MM.	
	IL-22	Η IL-22 μπορεί να διεγείρει την ανάπτυξη του MM και να επηρεάσει την ανάπτυξη ανοσοκαταστολής στο περιβάλλον του όγκου.	Τα υψηλά επίπεδα IL-22 συσχετίζονται με τη σοβαρότητα της νόσου. Με την αύξηση των επιπέδων της IL-22, σημειώθηκε επίσης αύξηση των επιπέδων IL-1β.
Οικογένεια παραγόντων νέκρωσης όγκου	TNF-α	Ο TNF-α διεγείρει την παραγωγή IL-6.	Τα υψηλά επίπεδα TNF-α σε ασθενείς με MM συσχετίζονται με τη σοβαρότητα της νόσου και δείχνουν την εμφάνιση σοβαρών συμπτωμάτων κατά τη διάρκεια της θεραπείας συντήρησης.
	BAFF	Το BAFF προάγει την ανάπτυξη του όγκου MM μέσω ενός αυτοκρινούς βρόχου.	Τα αυξημένα επίπεδα BAFF σε ασθενείς με MM συσχετίζονται με μειωμένο OS.
	RANK	Η σηματοδότηση RANK και ο συνδέτης της RANKL εμπλέκονται στο σχηματισμό και στην ανάπτυξη όγκου.	Τα επίπεδα RANK αντικατοπτρίζουν τη σοβαρότητα της νόσου, τη βλάβη των λυτικών οστών και την κακή πρόγνωση για ασθενείς με MM. Η υψηλή αναλογία RANKL : OPG χαρακτηρίζει τους ασθενείς με MM με μικρότερο OS και υψηλά επίπεδα διαλυτού RANKL που συσχετίζονται με τον βαθμό οστικής βλάβης.
Αυξητικοί παράγοντες	FGF-2	Το FGF-2 προάγει την εξέλιξη του καρκίνου και το αγγειογενετικό δυναμικό. Ο FGF-2, μαζί με την IL-6, μπορούν να αυξήσουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων MM.	Τα χαμηλά επίπεδα FGF-2 σχετίζονται με μικρότερο χρόνο εξέλιξης MM. Το αλληλόμορφο G bFGF σχετίζεται με χειρότερη ανταπόκριση στη θεραπεία.
	VEGF	Ο VEGF προάγει την εξέλιξη του καρκίνου και το αγγειογενετικό δυναμικό.	Ο VEGF συσχετίζεται θετικά με τα επίπεδα της IL-20 και η σύνδεση μεταξύ αυτών των δύο παραμέτρων μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης

			της εξέλιξης της νόσου και της διαδικασίας αγγειογένεσης.
	HGF	Ο HGF εμπλέκεται στη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και του OS, αλλά έχει επίσης αντι-αποπτωτική δράση στα κύτταρα MM.	Το υψηλό επίπεδο HGF σχετίζεται με δυσμενή πρόγνωση.
	PDGF-β	Ο PDGF-β προάγει το αγγειογενετικό δυναμικό του καρκίνου.	Ο PDGF-β μπορεί να είναι ένας σημαντικός δείκτης της ανοσολογικής κατάστασης ενός προχωρημένου σταδίου ασθενούς με MM.
	Ang-2	Το Ang-2 προάγει το αγγειογενετικό δυναμικό του καρκίνου.	Το Ang-2 είναι ένας βιοδείκτης αγγειογένεσης. Η αναλογία Ang-1 : Ang-2 μπορεί να είναι χρήσιμη στο MM.
Ιντερφερόνη	IFN- γ	Η IFN-γ αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό.	Η IFN-γ έχει θετική επίδραση στη θεραπεία με rituxima.
Χημειοκίνες	CCL2 και CCL3	Το CCL2 και το CCL3 επηρεάζουν τη διήθηση των μακροφάγων στον μυελό των οστών. Το CCL3 επηρεάζει την ανάπτυξη οστικής νόσου σε MM.	Το CCL2 και το CCL3 εμπλέκονται στην ανάπτυξη χημειοαντίστασης. Τα επίπεδα CCL3 συσχετίζονται με τη δραστηριότητα και το στάδιο της νόσου. Υψηλά επίπεδα CCL3 συνδέονται με δυσμενή διάγνωση.

Πίνακας 19. Συσχέτιση διαφορετικών παραμέτρων / βιοδεικτών σε ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα (MM) vs. υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου)

Παράμετρος	Επίπεδο	Αναφορά
Αναλογία ουδετερόφιλων προς λεμφοκύτταρα (Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio ή NLR)	MM > ομάδα ελέγχου	(9)
Αναλογία μονοκυττάρων προς λεμφοκύτταρα (Monocyte-to-Lymphocyte Ratio ή MLR)	MM > ομάδα ελέγχου	(9)
Αναλογία αιμοπεταλίων προς λεμφοκύτταρα (Platelets-to-Lymphocyte Ratio ή PLR)	MM < ομάδα ελέγχου	(9,55,68)
Κύτταρα Tregs	MM > ομάδα ελέγχου	(9)
Κυκλοφορούντα PCs	MM > ομάδα ελέγχου	(9)
Μόριο σύνδεσης προσκόλλησης-A (Junctional Adhesion Molecule-A ή JAM-A)	MM > ομάδα ελέγχου	(9,69)
Αυτοφαγικοί δείκτες – Beclin-1, LC3	MM > ομάδα ελέγχου	(9)
Προγραμματισμένος συνδέτης θανάτου-1 (Programmed Death-Ligand 1 ή PD-L1)	MM > ομάδα ελέγχου	(1,9,46,53)

2.19 Ανοσοφαινοτυπικοί δείκτες / επιφανειακά αντιγόνα

Στο MM, είναι δυνατή η ανοσοφαινοτυπική διάκριση μέσω πολυπαραμετρικής κυτταρομετρίας ροής (Multiparameter Flow Cytometry ή MCF) των κλωνικών κακοήθων PCs (Clonal Malignant Plasma Cells ή CPCs) από τα πολυκλωνικά PCs (Polyclonal Plasma Cells ή PPCs), με τη βοήθεια συγκεκριμένων επιφανειακών δεικτών, με σκοπό τη διάγνωση του MM (βλ. Πιν.20) (8,53,70,71). Τα ανοσοφαινοτυπικά χαρακτηριστικά των PCs διαφέρουν ανάλογα με το στάδιο της νόσου, τη διάγνωση, καθώς και το είδος των θεραπειών που πιθανώς να χρησιμοποιήθηκαν (56). Η MCF χαρακτηρίζεται από μεγάλη ειδικότητα και ευαισθησία (71), ενώ στηρίζεται σε δείγματα μυελού των οστών (53).

Τα αντιγόνα CD150, CD86 και CD200, εξαιτίας της περίεργης έκφρασης τους είναι ικανά να εντοπίσουν κακοήγη PCs. Εκτός από αυτά τα αντιγόνα, τα CD48, CD229, CD272 και CD319 αποδείχθηκε μετά από μελέτες ότι θα μπορούσαν να εισαχθούν για επιβεβαίωση διάγνωσης, καθώς και παρακολούθηση της νόσου με MCF. Αρκετά αντιγόνα θα μπορούσαν να γίνονται σε ένα πάνελ ρουτίνας για ταυτοποίηση των PCs, αλλά και για εκτίμηση της MRD. Υπό κανονικές συνθήκες τα PCs εκφράζουν τα CD38, CD138, CD19 και CD45, ενώ τις πλείστες φορές σε συνθήκες κακοήθειας εξαφανίζονται τα CD45, CD19 και εμφανίζονται τα CD56, CD117 και CD20. Βέβαια, απαιτείται ακόμα μεγάλος αριθμός μελετών για να αποδειχθεί η συμμετοχή αυτών των αντιγόνων στην παθογένεση του MM, αλλά και ο ρόλος τους στην αξιολόγηση της MRD (8). Επίσης, τα επίπεδα του CD46 εμφανίζονται αυξημένα στα κύτταρα MM, σε σχέση με άλλους υποπληθυσμούς και είναι ικανό να χρησιμοποιηθεί ως στόχος στην ανοσοθεραπεία και στην ιοθεραπεία με τη χρήση αντισωμάτων (72). Αρκετές μελέτες απέδειξαν ότι η αρνητικότητα της MRD σε ασθενείς με NDMM συσχετίστηκε με μεγαλύτερο PFS, OS και απέδειξαν επίσης ότι μπορεί να αποτελέσει ρυθμιστικό υποκατάστατο τελικό σημείο για έγκριση φαρμάκων (56,61,73). Στο μέλλον, η MRD μπορεί σαφώς να χρησιμοποιηθεί στην κλινική πράξη, ώστε να μπορούν πιο εύκολα να παρθούν αποφάσεις που αφορούν τη θεραπεία. Επί του παρόντος όμως, η εκτίμηση της MRD διαδραματίζει απλά προγνωστικό ρόλο (74).

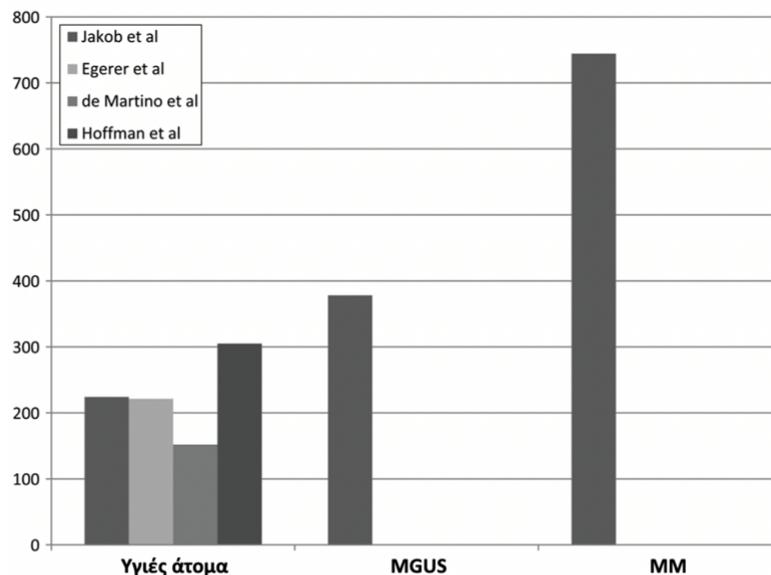
Πίνακας 20. Επίπεδα ανοσοφαινοτυπικών δεικτών (CD200, CD58, CD11a, CD20, CD49d, CD30, CD38, CD138, CD19, CD45, CD56, CD117, CD27, CD57, CD147) και μερικά χαρακτηριστικά που προσδίδουν την σημαντικότητα τους για την παθογένεση του πολλαπλού μυελώματος (MM)

Δείκτες	Επίπεδο	Αναφορά
CD200	Αυξημένο κλάσμα στα PPCs σε MGUS και MM (δεν έχει βρεθεί σαφές εύρος έκφρασης). Η έκφραση του CD200 παρουσιάζεται θετική έως 78% σε PCs MM.	(8,70,75)
CD58	Αυξημένα επίπεδα στα PPCs σε υποτροπιάζουσες ομάδες (ανάγκη περισσότερων μελετών για την ικανότητα του να προβλέπει την εξέλιξη της νόσου και την ανταπόκριση στη θεραπεία).	(70)
CD11a	Αυξημένα επίπεδα και στα CPCs (0-100% σε NDMM και 0-80% σε ασθενείς που υποτροπίασαν) και στα PPCs έναντι των PCs ελέγχου. Αξιολόγηση εξέλιξης της νόσου και ανταπόκριση στη θεραπεία.	(70)
CD20	Ανοδικά επίπεδα έκφρασης και στα CPCs (σχετίζεται με t(11;14)) και στα PPCs σε MGUS (θετικό σε συγκεκριμένες περιπτώσεις). Η έκφραση του CD20 παρουσιάζεται με ποσοστό 2-90% σε κύτταρα MM. Αξιολόγηση εξέλιξης της νόσου και ανταπόκριση στη θεραπεία.	(8,70,71)
CD49d	Διάκριση CPCs από PPCs (έντονη έκφραση σε PCs MM με μέσο ποσοστό θετικών φυσιολογικών PCs ~75%).	(70)
CD30	Ελκυστικός στόχος για θεραπευτική παρέμβαση.	(70)
CD38	Φωτεινό θετικό (πιο σκοτεινό από τα κανονικά PCs).	(70,76)
CD138	Θετικό	(8,59,69,70,76)
CD19	Αρνητικό. Προγνωστική αξία.	(8,52,70,76)
CD45	Αμυδρό προς αρνητικό (απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση).	(8,52,70,71,76)
CD56	Θετικό (η έκφραση του σε PPCs πρέπει να διερευνηθεί περαιτέρω).	(8,52,70,75,76)
CD117	Θετικό σε συγκεκριμένες περιπτώσεις (διάκριση CPCs από PPCs – όταν υπάρχει σε CPCs). Προγνωστική αξία.	(8,70,75,76)
CD27	Εκφράζεται έντονα στα PPCs, αλλά στα CPCs εμφανίζεται ως ασθενή ή αρνητικό. Αξιολόγηση εξέλιξης της νόσου και ανταπόκριση στη θεραπεία. Προγνωστική αξία. Σημαντικός είναι ο ρόλος του στη σηματοδότηση του NF-κΒ, στην απόπτωση και στη διαφοροποίηση των B κυττάρων.	(59,70,71,76)
CD57	Πιθανώς να σχετίζεται με το αυξανόμενο στάδιο MM. Τα υποσύνολα CD57 χρησιμοποιούνται ως δείκτες μετασχηματισμού του SMM σε MM. Σε μερικές περιπτώσεις ασθενών με SMM που επρόκειτο να εξελιχθούν σε MM, παρατηρείται μείωση σε μερικές υποομάδες CD57-λεμφοκυττάρων. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης του ανοσοποιητικού.	(37)
CD147	Αυξημένα επίπεδα στα κύτταρα MM. Είναι απαραίτητος βιοδείκτης για την προώθηση καρκινικών κυττάρων.	(77)

2.20 Κυκλοφορούντα πρωτεασώματα

Με τη χρήση ενζυμικών συνδεδεμένων ανοσοπροσροφητικών (ELISA), καθίσταται δυνατή η ποσοτικοποίηση των πρωτεασωμάτων 20S (κυκλοφορούντων πρωτεασωμάτων) στον ορό ή στο πλάσμα. Τα κυκλοφορούντα πρωτεασώματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως

δείκτες σήψης, φλεγμονής, καρκίνου και αιματολογικών κακοηθειών όπως του MGUS και του MM (32). Τα επίπεδα των κυκλοφορούντων πρωτεασωμάτων παρουσιάζονται αυξημένα στο αίμα ασθενών με MM σε σύγκριση με ασθενείς με MGUS, SMM και υγιών ατόμων (βλ.Εικ.2.20.1) (32,33,48). Ασθενείς οι οποίοι παρουσιάζουν μερική ή πλήρη απόκριση σε θεραπεία, εμφανίζουν χαμηλότερα επίπεδα κυκλοφορούντων πρωτεασωμάτων σε σχέση με τα επίπεδα πριν από την θεραπεία. Μετά από μελέτες αποδείχθηκε ότι ασθενείς με επίπεδα κυκλοφορούντων πρωτεασωμάτων πάνω από 380 ng/mL είχαν μικρότερο OS. Συνεπώς, χαμηλότερα επίπεδα κυκλοφορούντων πρωτεασωμάτων ισοδυναμούν με μεγαλύτερο OS και απόκριση στη χημειοθεραπεία (32).



Εικόνα 2.20.1 Επίπεδα πρωτεασώματος υγιών ατόμων (με βάση 4 διαφορετικές μελέτες) σε σύγκριση με ασθενείς που νοσούν με μονοκλωνική γαμμαπάθεια απροσδιόριστη σημασίας (MGUS) και πολλαπλό μυέλωμα (MM). Τα επίπεδα πρωτεασώματος στους ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα (MM) είναι σαφώς υψηλότερα σε σχέση με τα άτομα με μονοκλωνική γαμμαπάθεια απροσδιόριστη σημασίας (MGUS) και τα υγιές άτομα (32).

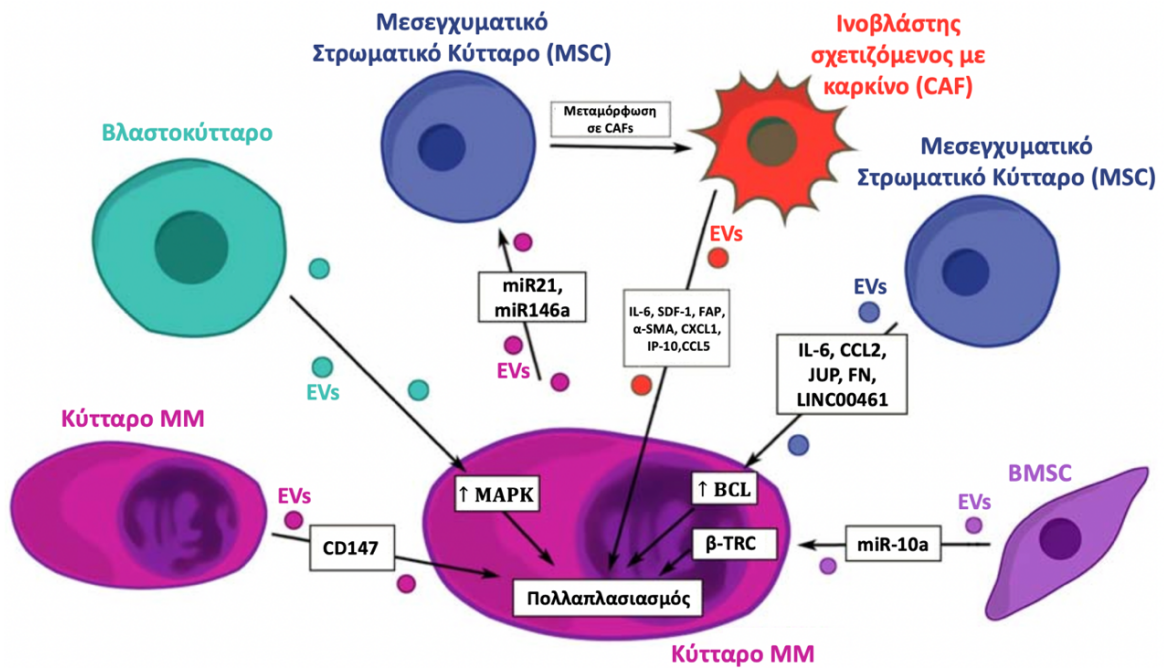
2.21 EVs

Τα EVs αποτελούνται από λιπίδια διπλής στοιβάδας (77) και είναι ικανά να χρησιμοποιηθούν ως νέοι διαγνωστικοί δείκτες, αλλά και ως δείκτες για την παρακολούθηση και εξέλιξη του MM. Πλεονέκτημα αποτελεί το γεγονός ότι μπορούν να ανιχνευθούν με ελάχιστα επεμβατικές διαδικασίες (48). Με την μέθοδο της υγρής βιοψίας (βλ. υποκεφάλαιο 2.24), δηλαδή την συσσώρευση βιολογικών υγρών, όπως σάλιο, αίμα, ούρα και εγκεφαλονωτιαίο υγρό, τα EVs μπορούν να ανιχνευθούν μέσα από αυτά τα ανθρώπινα βιορυστά, καθιστώντας τα σημαντικούς βιοδείκτες. Τα EVs μπορούν να

μεταφέρουν διάφορες ουσίες, όπως πρωτεΐνες, νουκλεϊκά οξέα, λιπίδια, μεταβολίτες κ.λ.π σε διάφορα κοντινά, αλλά και απομακρυσμένα σημεία (77). Επίσης, τα EVs πιθανώς να ευθύνονται και για τα αυξημένα επίπεδα των εξωκυτταρικών κυκλοφορούντων πρωτεασωμάτων 20S. Η θέση των EVs παίζει σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία του MM. Ρόλος τους είναι η διακυτταρική επικοινωνία τόσο ανάμεσα στα υγιή κύτταρα, όσο και στα παθολογικά. Τα επιφανειακά μόρια των EVs, το φορτίο τους, ο αριθμός, αλλά και ο φαινότυπος είναι καθοριστικής σημασίας για τους ασθενείς με MM, αφού τόσο η ποσότητα όσο και το μοριακό περιεχόμενο των EVs εμφανίζονται διαφορετικά στις περιπτώσεις MGUS, SMM, MM και υγιών ατόμων (48).

Τα EVs μπορούν να χρησιμοποιηθούν είτε σαν διαγνωστικοί, είτε σαν προγνωστικοί βιοδείκτες, γεγονός που δείχνει την σημαντικότητά τους στην μελέτη του MM. Ως διαγνωστικοί βιοδείκτες, μπορούν να παρέχουν πληροφορίες για τις περιπτώσεις πρώιμης υποτροπής με παρακολούθηση MRD, αλλά και εξέλιξης των σταδίων MGUS και SMM σε συμπτωματικό MM. Ως προγνωστικοί βιοδείκτες, μπορούν να παρακολουθούν το στάδιο του όγκου, την συνολική κλινική πορεία των ασθενών, την πιθανότητα υποτροπής και την αντίσταση στα φάρμακα (77).

Η δημιουργία όγκου προκαλείται από αλληλεπιδράσεις πολλών στρωματικών κυττάρων. Τα MSCs, επάγουν την βιωσιμότητα και την επιβίωση του MM, μέσω των προ-πολλαπλασιαστικών κυτοκινών, οι οποίες αυξάνουν τις συγκεντρώσεις της BCL-2. Επίσης, όταν τα EVs που περιέχουν miR21 και miR146a, διεγείρονται από κύτταρα MM, τότε τροποποιούνται σε ινοβλάστες σχετιζόμενους με τον καρκίνο (Cancer Associated Fibroblasts ή CAFs). Οι CAFs προωθούν τον πολλαπλασιασμό των κακοήθων κυττάρων με την βοήθεια των κυτοκινών (48). Τα EVs προερχόμενα από βλαστοκύτταρα επάγουν τη MAPK, της οποίας ρόλος είναι η ρύθμιση πολλών οδών που διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό (48,77). Τα EVs των BMSCs έχουν μέσα τους miR-10a, επάγοντας με αυτό τον τρόπο το β-TRC μέσα στα κύτταρα MM, το οποίο είναι υπεύθυνο για την ενεργοποίηση πρωτεϊνών απαραίτητων για την ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, με αποτέλεσμα την επαγωγή του πολλαπλασιασμού. Παραδείγματα αυτών των πρωτεϊνών αποτελούν οι κυκλίνες και οι ρυθμιστές μεταγραφής. Τα κύτταρα MM όταν απελευθερώνουν EVs θετικά για CD147, μπορούν να ευνοήσουν την ανάπτυξη του εαυτού τους (βλ. Εικ. 2.21.1) (48).



Εικόνα 2.21.1 Η ανάμειξη των εξωκυττάρων κυστιδίων (EVs) στην επαγωγή του πολλαπλασιασμού των κυττάρων πολλαπλού μυελώματος (MM). α-SMA: α-ακτίνη λείων μυών, FAP: ενεργοποιημένη από ινοβλάστες πρωτεΐνη, IP-10: Επαγόμενη από ιντερφερόνη γ πρωτεΐνη 10, JUP: πλακοσφαιρίνη διασταύρωσης, β-TRC: β – τρανσοδικίνη πρωτεΐνη λιγάση ουβικιτίνης E3, LINC00461: μακρό διαγονιδιακό μη πρωτεϊνικό κωδικοποιητικό RNA 461, SDF-1: παράγοντας 1 που προέρχεται από το στρώμα (48).

Ακόμα, η κατανόηση και η χρησιμότητα των EVs δεν έχει ξεκαθαριστεί εντελώς. Παρόλα αυτά είναι πολλά υποσχόμενα αφού είναι ικανά να διακρίνουν το MM από άλλου είδους καταστάσεις, καθώς και να αναγνωρίσουν το στάδιο της νόσου. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν κυκλοφορούντα EVs με miRNA (miR-18a και πρόδρομος microRNA Let-70), τα οποία αποδείχθηκε ότι μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως προγνωστικοί δείκτες στο MM (48). Επίσης, miRNA-155 προερχόμενα από EVs έχουν σημαντική διαγνωστική ικανότητα, αφού οι συγκεντρώσεις του παρουσιάζονται μειωμένες στο περιφερικό αίμα ατόμων με MM. Τα επίπεδα των miRNA-20-a-5p, miRNA-103a-3p, miRNA-185-5p, miRNA-425-5p, let-7c-5p και let-7d-5p, προερχόμενα από περιφερικό αίμα είναι μειωμένα στα EVs, ενώ τα επίπεδα των miRNA-4505 και miRNA-4741 είναι αυξημένα (63).

Συνοπτικά, τα EVs είναι σε θέση να προωθούν τον πολλαπλασιασμό, να προκαλούν ανθεκτικότητα στα φάρμακα, να επάγουν την οστεοκλαστική δραστηριότητα, να προκαλούν ανοσοκατασταλτικές συνέπειες και να ενεργοποιούν την αγγειογένεση (77). Έτσι, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο ως διαγνωστικοί και προγνωστικοί βιοδείκτες, αλλά και ως νέοι θεραπευτικοί στόχοι στο MM, είτε εξαλείφοντας τα κυκλοφορούντα EV που

ευνοούν την ανάπτυξη του MM, είτε μπλοκάροντας την πρόσληψη και την απελευθέρωση τους (77).

2.22 Υποομάδες κλασικών μονοκυττάρων (Classical Monocytes ή cMo)

Τόσο στο SMM, όσο και στο MM παρουσιάζεται μειωμένη παραγωγή μονοκυτταρικών πρόδρομων ουσιών κάτι που δεν συμβαίνει στο MGUS. Έτσι, μετά από μελέτες αποδείχθηκε ότι εμφανίζονται μειωμένοι αριθμοί όλων των υποομάδων cMo (CD62L+ στο αίμα ατόμων με SMM, CD62L- στο αίμα και στο μυελό των οστών ατόμων με MM και FcεRI+ στο αίμα ατόμων με MM), σε αντίθεση με περιπτώσεις ασθενών με MGUS όπου τα επίπεδα παραγωγής cMo ήταν φυσιολογικά (ή ακόμα και μερικώς αυξημένα) (66).

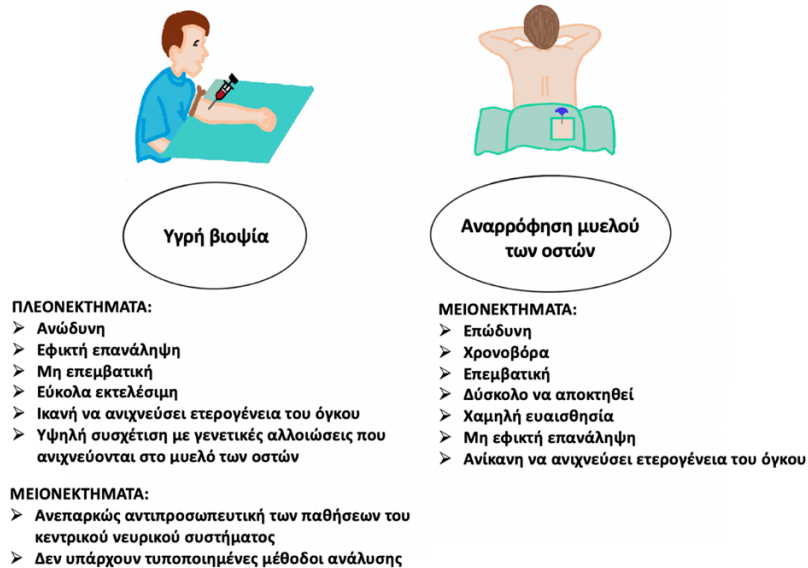
2.23 Αναδιατάξεις του γονιδίου IgH

Η εισαγωγή του γονιδίου IGHD2/IGHD3, καθώς και τα υψηλά ποσοστά σωματικής υπερμετάλλαξης, θεωρούνται βασικά χαρακτηριστικά της αναδιάταξης του γονιδίου IgH. Αυτά τα στοιχεία θα μπορούσαν κάλλιστα να επιδράσουν θετικά στην κατάληξη των ασθενών. Στο παρόν στάδιο, πρέπει να επικυρωθούν μέσα από διάφορες μελέτες τα δεδομένα αυτά, ώστε να μπορέσουν τελικά να θεωρηθούν ως καινούριοι μοριακοί δείκτες για OS και PFS στο MM (57).

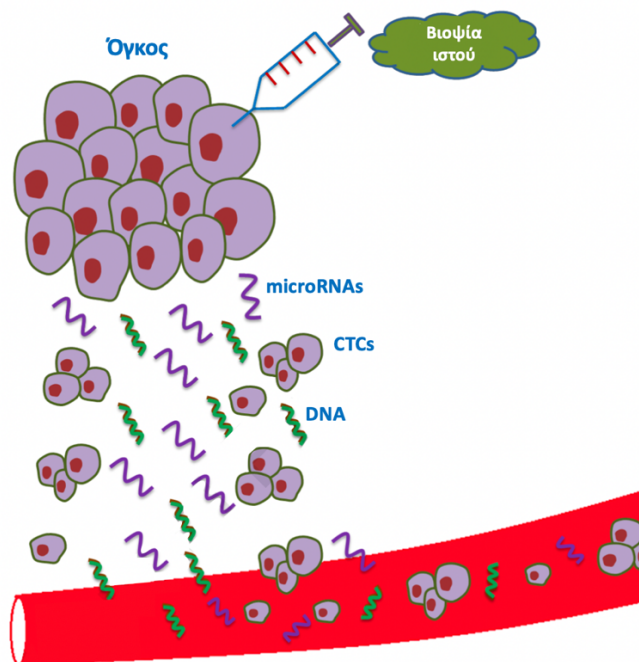
2.24 Υγρή βιοψία (βιοψία αίματος)

Με την υγρή βιοψία είναι δυνατόν να ανιχνευθούν κυκλοφορούντα DNA όγκου (circulating tumor-DNA ή ct-DNA) ή κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα (Circulating Tumor Cells ή CTCs) στο περιφερικό αίμα. Αν και η βιοψία μυελού των οστών θεωρείται καθοριστικής σημασίας για τη διάγνωση του MM, παρόλο που αποδείχθηκε ανίκανη να εκφράσει την πολύπλοκη ετερογένεια του MM, σημαντικό ρόλο φαίνεται να διαδραματίζει και η υγρή βιοψία, καθώς είναι μια μη επεμβατική εναλλακτική διαδικασία σε αντίθεση με την βιοψία μυελού των οστών, η οποία μπορεί να προσδιορίσει το φορτίο του όγκου (53,63). Αποδείχθηκε ότι η υγρή βιοψία (από περιφερικό αίμα ή κάποιο άλλο οργανικό υλικό), είναι ικανή να χρησιμοποιηθεί για τη διάγνωση και την παρακολούθηση του MM, παρέχοντας τη δυνατότητα και για εξατομικευμένες θεραπείες, καθώς βοηθά επίσης και στην εκτίμηση της MRD. Έτσι, πολλοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι η υγρή

βιοψία μπορεί σε μεγάλο βαθμό να αντικαταστήσει την αναρρόφηση μυελού των οστών (βλ. Εικ. 2.24.1 και Εικ. 2.24.2) (1,63). Μετά από αρκετές μελέτες αποδείχθηκε επίσης ότι το ct-DNA και τα CTCs είναι ικανά να ανιχνεύσουν το περιβάλλον μετάλλαξης, με αποτέλεσμα να θεωρούνται προγνωστικοί βιοδείκτες για την υποτροπή της νόσου, αλλά και για την ανταπόκριση στη θεραπεία (53,63).



Εικόνα 2.24.1 Σύγκριση χαρακτηριστικών υγρής βιοψίας και αναρρόφησης μυελού των οστών. Η ευκολία και η χρησιμότητα της απλής αιμοληψίας σε σχέση με την αναρρόφηση μυελού των οστών θεωρείται ένα τεράστιο πλεονέκτημα για τα άτομα που νοσούν με πολλαπλό μυέλωμα (MM) και είναι απαραίτητη η περαιτέρω διερεύνηση του θέματος (1,63).



Εικόνα 2.24.2 Σχηματικό διάγραμμα που απεικονίζει την διαφορά της τυπικής βιοψίας (αναρρόφηση μυελού των οστών) σε σχέση με την υγρή βιοψία, με σκοπό τον προσδιορισμό του πολλαπλού μυελώματος (MM). Αποδεικνύεται ότι η υγρή βιοψία είναι πλεονεκτική και πιο βολική (1).

2.24.1 CTCs

Τα CTCs βρίσκονται στην κυκλοφορία του αίματος μετά από απελευθέρωση τους είτε από μεταστατικά σημεία, είτε από τον πρωτοπαθή όγκο. Θεωρούνται πρώιμο συμβάν στην ογκογένεση και μπορούν να ανιχνευθούν με κυτταρομετρία ροής καθώς και με MCF (1,53,63), με βάση την έκφραση αντιγόνου, το μέγεθος τους και την ύπαρξη συγκεκριμένων μορίων (63). Ο αριθμός των CTCs είναι δείκτης επιβίωσης (1,53,63), αλλά και πρόβλεψης της κατάστασης ασθενών με NDMM και υποτροπιαζουσών περιπτώσεων (1). Η εμφάνιση περισσότερων από 400 CTCs σε ασθενείς με NDMM, συνεπάγεται με επιβλαβής κυτταρογενετική, υψηλότερο πολλαπλασιασμό, επιθετική εξέλιξη της νόσου, πιο χαμηλό OS, καθώς και μεγαλύτερες πιθανότητες υποτροπής της νόσου (1,53). Η εμφάνιση περισσότερων από 100 CTCs σε περιπτώσεις υποτροπιαζόντων ασθενών, αντιστοιχεί σε χαμηλότερο OS (1). Σημαντικό είναι το γεγονός ότι υψηλές συγκεντρώσεις CTCs σε ασθενείς με SMM, αντιστοιχούν σε μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης MM τα πρώτα 2 - 3 χρόνια μετά τη διάγνωση (53,63). Οι ασθενείς με ανιχνεύσιμα CTCs και με αρνητικότητα MRD, εμφανίζουν αύξηση στο PFS (63). Τα CTCs αποτελούν την βάση για μεταγενέστερες εμπειριστατωμένες μελέτες και θεωρούνται πολλά υποσχόμενα, καθώς είναι ελάχιστα παρεμβατικοί δείκτες (1,53,63).

2.24.2 ct-DNA

Το ct-DNA υπάρχει είτε σε μορφή κυττάρων όγκου, είτε ως DNA απαλλαγμένο από κύτταρα (cell free-DNA ή cf-DNA) (1,53). Το ct-DNA αποτελείται από τις μεταλλάξεις του αρχικού όγκου, αφού απελευθερώνεται από τα κύτταρα του όγκου στο αίμα. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης εξαιτίας της ικανότητας του να ανιχνεύει τον όγκο σε αρχικά στάδια και να παρακολουθεί την εξέλιξη της νόσου (53). Σχετικά πρόσφατα, ανακαλύφθηκε ότι η αλληλουχία επόμενης γενιάς (Next Generation Sequencing ή NGS) των αναδιατάξεων του γονιδίου κλωνικής ανοσοσφαιρίνης VDJ, για εντοπισμό MRD μπορούσε να λάβει χώρα σε cf-DNA (53,73). Τα πλείστα cf-DNA στο περιφερικό αίμα προέρχονται από αιμοποιητικά κύτταρα και το μέγεθος τους είναι από 50 έως 1000 ζεύγη βάσεων. Τα περισσότερα όμως, κυμαίνονται από 50 έως 200 ζεύγη βάσεων. Σημαντικός είναι ο χρόνος ημιζωής του cf-DNA, ο οποίος είναι αρκετά μικρός, συνήθως 4-30 λεπτά, αφού εξαφανίζεται άμεσα από το νεφρικό και το ηπατικό σύστημα (63). Στα υγιές άτομα οι συγκεντρώσεις του cf-DNA είναι μειωμένες, ενώ σε παρουσία όγκου, οι συγκεντρώσεις αυξάνονται σημαντικά, με αποτέλεσμα χαμηλότερο OS (1,63). Άξιων αναφοράς είναι το

γεγονός ότι το cf-DNA εμφανίζεται 20 φορές περισσότερο στον ορό, παρά στο πλάσμα. Το cf-DNA είναι καθοριστικής σημασίας για τον προσδιορισμό του φορτίου του όγκου και για την πρόβλεψη της υποτροπής σε άτομα με MM, ενώ το μέγεθος των θραυσμάτων cf-DNA δίνει πληροφορίες για την ανταπόκριση στη θεραπεία (63). Επίσης, ο χρόνος ημιζωής του ct-DNA, είναι μικρότερος από 2 ώρες. Αδιαμφισβήτητο είναι το γεγονός ότι το ct-DNA είναι πιο ειδικό και πιο ευαίσθητο από τα CTCs (53). Μια ενδιαφέρουσα πτυχή στην υγρή βιοψία για επίτευξη μεγαλύτερης ευαισθησίας και ειδικότητας, θα μπορούσε να είναι η ταυτόχρονη διερεύνηση των CTCs και cf-DNA. Βέβαια, υπάρχουν ακόμα αρκετά κενά που θα πρέπει να αναλυθούν, όπως για παράδειγμα ο καθορισμός της ιδανικής τεχνικής (π.χ. NGS) και ο προσδιορισμός της κατάλληλης ποσότητας cf-DNA (63).

2.25 Τοποθέτηση βρωμοδεοξουριδίνης (bromodeoxyuridine ή BrdU) στην MCF

Ο πολλαπλασιασμός των κακοήθων PCs (κυττάρων MM) θα μπορούσε να υπολογιστεί με συνδυασμό της κυτταρομετρίας ροής νεοσυντιθέμενου DNA με χρώση BrdU/DAPI ή ki67/DAPI, καθιστώντας την διαδικασία αυτή ως το χρυσό πρότυπο. Αυτός ο συνδυασμός μπορεί επίσης να προβλέψει το PFS σε ασθενείς με NDMM. Η MCF χαρακτηρίζεται με υψηλή ευαισθησία και ικανότητα ανίχνευσης κακοήθων PCs.

Παρατηρήθηκε επίσης, ότι οι ασθενείς με ποσοστό μεγαλύτερο του 1.42% και 1.1% πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων MM που ταυτοποιήθηκαν με BrdU/DAPI και ki67/DAPI αντίστοιχα, συσχετίστηκαν με πιο γρήγορη υποτροπή, σε συνθήκες μεταμόσχευσης (75).

2.26 Ανοσοπάρηση του ξενιστή στην κατανομή των T, B και NK κυττάρων

Το φαινόμενο της καταστολής των μη εμπλεκόμενων ανοσοσφαιρινών αναφέρεται ως ανοσοπάρηση και θεωρείται δυσμενής δείκτης για την εξέλιξη των προκακοήθων σταδίων MGUS και SMM σε MM. Μετά από πολλές έρευνες αποδείχθηκε ότι η ανοσοπάρηση είναι πιο ευρέως διαδεδομένη στο SMM, παρά στο MGUS. Παρατηρείται δηλαδή διαδοχική εξάντληση των B-λεμφοκυττάρων ξεκινώντας από το MGUS προς το SMM και τέλος στο MM. Αυξημένη ανοσοπάρηση του ξενιστή ισοδυναμεί με μειωμένα επίπεδα B-λεμφοκυττάρων και αυξημένα επίπεδα T-λεμφοκυττάρων. Έτσι, οι ασθενείς με MM χαρακτηρίζονται από εξάντληση των κυκλοφορούντων B κυττάρων, εξαιτίας της

ανοσοπάρεσης. Αυτή η εξάντληση θεωρήθηκε ότι είναι ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας στο MM (37).

2.27 Βιοδείκτες που σχετίζονται με προχωρημένη οστεολυτική νόσο

Οι βιοδείκτες αυτοί είναι μη επεμβατικοί και σκοπό έχουν την ανίχνευση της πρώιμης εμπλοκής των οστών, αλλά και την εκτίμηση του κινδύνου σκελετικής νοσηρότητας. Μερικοί από αυτούς τους βιοδείκτες είναι το N-τερματικό τελοπεπτίδιο διασταυρούμενης σύνδεσης κολλαγόνου τύπου-I (N-terminal cross-linking telopeptide of type-I collagen ή NTX) (56), το C-τερματικό τελοπεπτίδιο διασταυρούμενης σύνδεσης κολλαγόνου τύπου-I (C-terminal cross-linking telopeptide of type-I collagen ή CTX) (56,78) και η μεταλλοπρωτεΐνωση ICTP. Οι συγκεντρώσεις των NTX ούρων, CTX ορού και ICTP ορού στις περιπτώσεις ασθενών MM, εμφανίζονται αυξημένες και υποδηλώνουν προχωρημένη οστεολυτική νόσο (56). Επίσης, τα επίπεδα του δείκτη οστικής απορρόφησης β-ισομερούς του C-τερματικού τελοπεπτιδίου κολλαγόνου τύπου-I (β-isomer of the C-terminal telopeptide of type-I collagen ή β-CTX) εμφανίζονται αυξημένα στις περιπτώσεις ασθενών με MM ($p < 0.001$) και οστικές βλάβες. Ο βαθμός οστικών αλλοιώσεων συσχετίζεται άμεσα με τον δείκτη οστικής απορρόφησης. Επίσης, ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι οι μεταβολές στα επίπεδα β-CTX είναι ικανές να παρακολουθούν την απόκριση και την αποτελεσματικότητα στη θεραπεία του MM (46,49).

Το YKL-40 είναι μια γλυκοπρωτεΐνη, η οποία εκκρίνεται με σκοπό την αναδιαμόρφωση της ECM, τη φλεγμονώδη απόκριση, την επαγωγή της διαφοροποίησης, τον πολλαπλασιασμό, την επιβίωση, αλλά και την είσοδο καρκινικών κυττάρων σε απομακρυσμένα σημεία. Η έκφραση του YKL-40 παρουσιάζεται σε διάφορα κύτταρα όπως για παράδειγμα σε οστεοβλάστες και οστεοκλάστες, χωρίς να υπάρχει διάκριση ανάμεσα σε αυτά τα δύο είδη κυττάρων. Η τιμή του ορού YKL-40 έχει να κάνει με την ακτινογραφική εξέλιξη της βλάβης των οστών και προσφέρει προγνωστικές πληροφορίες αναφορικά με το χρόνο που απαιτείται μέχρι την εμφάνιση της πρώτης σκελετικής επιπλοκής. Αυτές οι τιμές μπορούν να υπολογιστούν πολύ εύκολα μέσω περιφερικού αίματος με διαδικασία ELISA, χωρίς να χρειάζεται οποιουδήποτε είδους νηστεία. Αυξημένες τιμές εμφανίζονται περίπου στο 47% ασθενών με MM και αντιπροσωπεύουν νόσο υψηλού κινδύνου (ISS σταδίου III με χαμηλό OS) και αυξημένη οστική απορρόφηση, μετά από αξιολόγηση με ακτινογραφία. Συμπερασματικά, το YKL-40 αποτελεί ένα σημαντικό προγνωστικό δείκτη

για την κλινική πορεία της οστικής νόσου σε ασθενείς με MM. Επίσης, μετά από μελέτες, αποδείχθηκε ότι η τιμή του ΥΚL-40 αυξάνεται εκθετικά ανάλογα με την ηλικία, χωρίς να παρουσιάζονται διαφορές ανάμεσα στα δύο φύλα. Επίσης, στις περιπτώσεις που παρατηρήθηκαν αυξημένες τιμές ΥΚL-40 ορού, αυτές συσχετίστηκαν με μειωμένες τιμές Hb και αυξημένες τιμές LDH και Scr. Περίπου στο 54% των περιπτώσεων ασθενών με MM, οι οποίοι παρουσίαζαν αυξημένες τιμές ΥΚL-40, διαπιστώθηκε νεφρική δυσλειτουργία. Έτσι, η συγκέντρωση του ΥΚL-40 ορού, αποδείχθηκε ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης για την πρόωγη ανάπτυξη οστικών δυσλειτουργιών σε NDMM, οι οποίοι λαμβάνουν ενδοφλέβια θεραπεία με διφωσφονικά με παμιδρονάτη. Αυτοί οι βιοδείκτες, αντικατοπτρίζουν με λίγα λόγια το μέγεθος της οστικής καταστροφής (78).

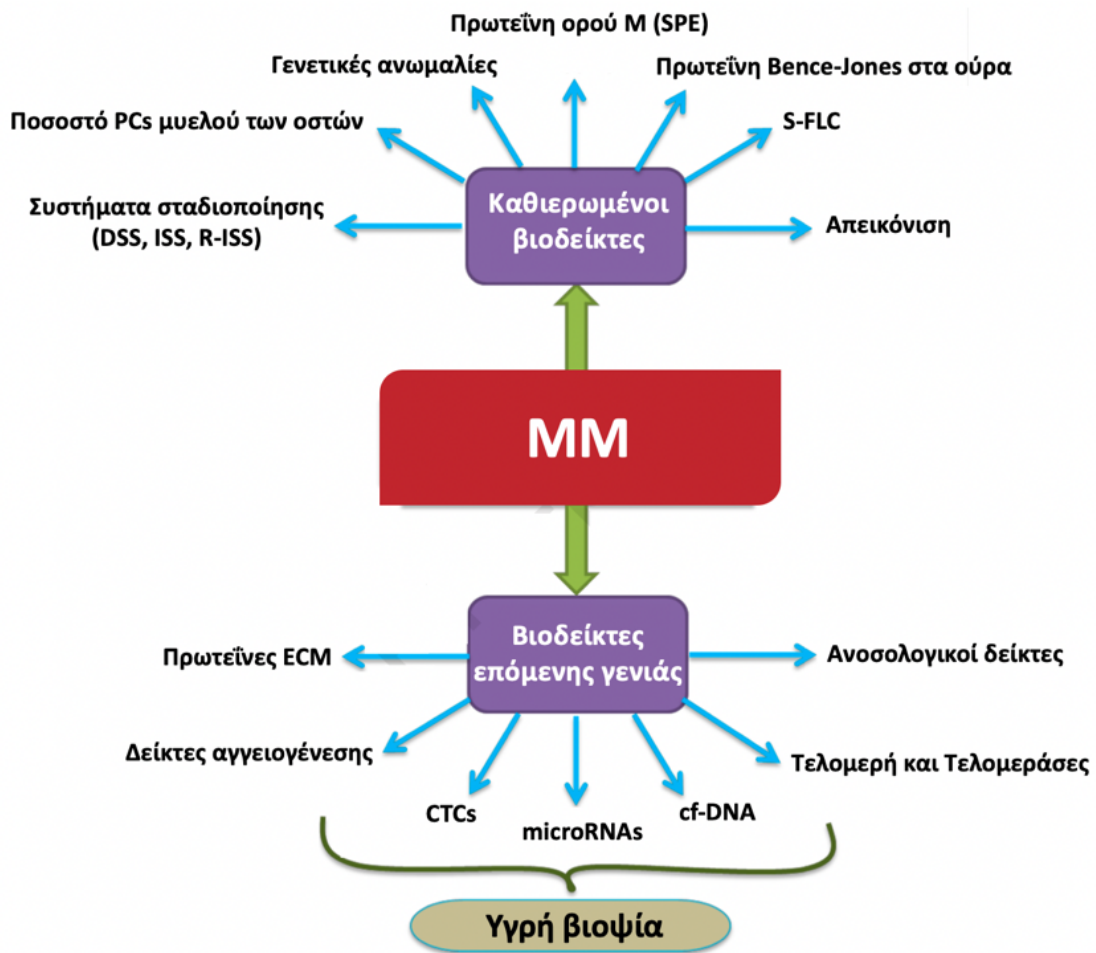
2.28 Syndecan-1

Ως syndecan-1, ονομάζεται η πρωτεογλυκάνη θειικής ηπαρίνης, της οποίας η έκφραση μεταβάλλεται σε καθορισμένα στάδια διαφοροποίησης. Τα επίπεδα του syndecan-1 παρουσιάζονται αυξημένα στον μυελό των οστών περίπου στο 80% των ασθενών με MM, αλλά εμφανίζονται επίσης αυξημένα παρουσία κακοήθων PCs στο περιφερικό αίμα. Φυσιολογικές τιμές του syndecan-1 θεωρούνται περίπου 128 μονάδες/mL. Μετά από πολλές μελέτες, το syndecan-1 συσχετίστηκε με αρκετά στοιχεία που έχουν να κάνουν με το MM, όπως για παράδειγμα την Scr, την IL-6, την β2M, το CTX, το ποσοστό των PCs στο μυελό των οστών, την συγκέντρωση της πρωτεΐνης M στον ορό καθώς και το στάδιο της νόσου. Οι πιο καλοί προγνωστικοί παράγοντες του syndecan-1 βρέθηκε ότι είναι η Scr και το ποσοστό των PCs. Το syndecan-1, μπορεί να αντανακλά την μάζα του όγκου, την νεφρική ανεπάρκεια, αλλά και άλλες πτυχές της νόσου. Έτσι, καθορίστηκε ως μια αυτόνομη προγνωστική παράμετρος στο MM (50).

3. Συζήτηση

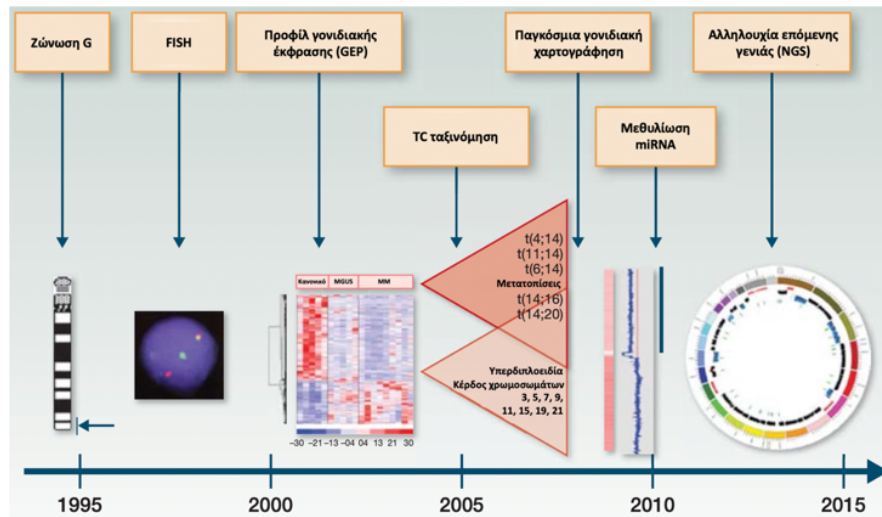
Αρχικά, η διάγνωση του MM πραγματοποιούνταν με την χρήση ορισμένων καθιερωμένων βιοδεικτών, όπως για παράδειγμα β2M, αλβουμίνη, LDH (DSS, ISS, R-ISS), ποσοστό των PCs μυελού των οστών, γενετικές ανωμαλίες, πρωτεΐνες ορού με ηλεκτροφόρηση, πρωτεΐνη Bence-Jones στα ούρα, S-FLC και μέσω απεικονιστικών μεθόδων (βλ. Πιν. 21) (1,26,53). Παρόλο που οι προαναφερθέντες βιοδείκτες αποτελούν σημαντικό κομμάτι για τη

διάγνωση του MM, εντούτοις παρουσίαζαν αρκετές ελλείψεις, με αποτέλεσμα την ανάγκη για ανακάλυψη ακόμα πιο νέων βιοδεικτών για ακριβέστερη ταξινόμηση των ασθενών (1,53). Μερικοί βιοδείκτες που αποτελούν τον πυλώνα των βιοδεικτών επόμενης γενιάς είναι οι πρωτεΐνες ECM, οι δείκτες αγγειογένεσης, τα τελομερή και τελομεράσες. Επίσης, οι ανοσολογικοί δείκτες στις μέρες μας χρησιμοποιούνται αρκετά, τόσο για τη διάγνωση του MM, όσο και για τη θεραπεία του. Την εμφάνιση τους έκαναν και γονιδιωματικές και πρωτεομικές έρευνες, με σκοπό την ανακάλυψη βιοδεικτών, οι οποίοι κρίνονται κατάλληλοι μετά από πολλά στάδια για τη χρήση τους στην κλινική πράξη (1). Επιπλέον, καθοριστικής σημασίας είναι η χρήση των CTCs, microRNAs και cf-DNA, αφού δίνουν την ικανότητα μη επεμβατικής εξέτασης μυελού των οστών, καθιστώντας την διαδικασία ανώδυνη και πανεύκολη. Η υγρή βιοψία (βιοψία αίματος) είναι ικανή να ανιχνεύει σε πρώιμα στάδια το MM και να παρακολουθεί την ανταπόκριση στη θεραπεία, καθιστώντας την ως ένα εντυπωσιακό εργαλείο για την περαιτέρω μελέτη του MM (βλ. Εικ. 3.1) (1,53).

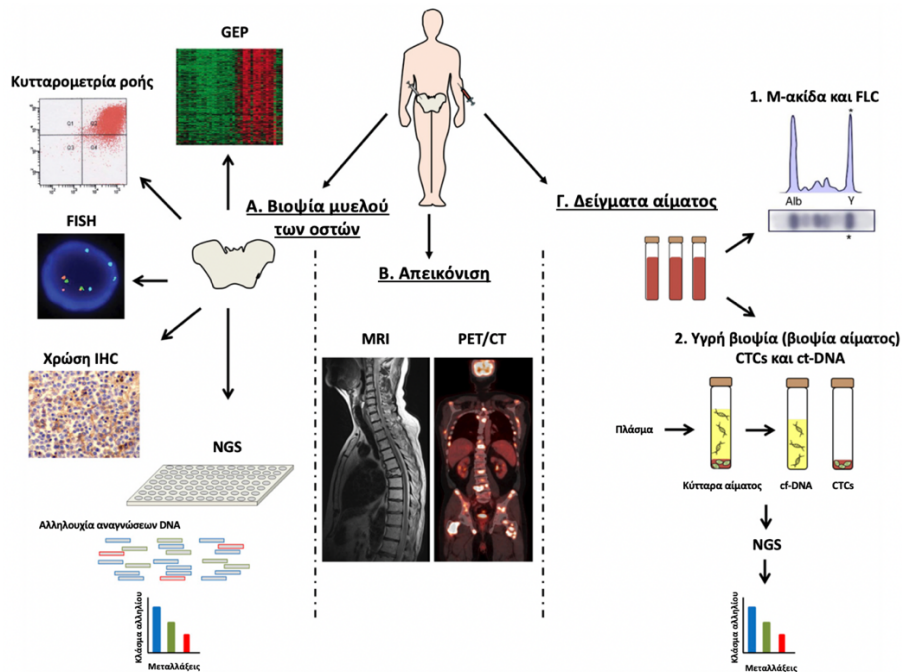


Εικόνα 3.1 Σύνοψη των πολυάριθμων καθιερωμένων βιοδεικτών, καθώς και των βιοδεικτών επόμενης γενιάς που διαδραματίζουν καταλυτικό ρόλο στη διάγνωση και πρόγνωση του πολλαπλού μυελώματος (MM) (1).

Αυτή η νέα γενιά βιοδεικτών παρουσιάζεται χρονικά πιο κάτω και στηρίζεται σε ζώνωση G, FISH, GEP, TC ταξινόμηση, παγκόσμια γονιδιακή χαρτογράφηση, μεθυλίωση miRNA, επιγενετική, εστιακές αλλοιώσεις, κυτταρομετρία ροής και NGS (βλ Εικ. 3.2 και Εικ.3.3). Με την πάροδο του χρόνου προσφέρονται όλο και περισσότερες πληροφορίες αναφορικά με την νόσο, ώστε η αξιοπιστία των βιοδεικτών να μπορεί να βελτιώνεται συνεχώς. Ασταμάτητες έρευνες πρέπει να συνεχίσουν να πραγματοποιούνται, ώστε να γίνεται σωστή αξιολόγηση των αναδυόμενων βιοδεικτών ως προς τη διαγνωστική και την προγνωστική τους ικανότητα (52,53,56).



Εικόνα 3.2 Χρονική ταξινόμηση μεθόδων για ανίχνευση του πολλαπλού μυελώματος (MM). Αρχικά έκανε την εμφάνιση της η ζώνωση G, στη συνέχεια η μέθοδος υβριδισμού in situ φθορισμού (FISH), μετά το προφίλ γονιδιακής έκφρασης (GEP), ύστερα η TC ταξινόμηση, η παγκόσμια γονιδιακή χαρτογράφηση, η μεθυλίωση miRNA και τέλος η αλληλουχία επόμενης γενιάς (NGS), η οποία θεωρείται το μέλλον της ιατρικής επιστήμης (52).



Εικόνα 3.3 Παρουσίαση καθιερωμένων, αλλά και επόμενης γενιάς βιοδεικτών στο πολλαπλό μυέλωμα (MM). **A.** Μέθοδοι διάγνωσης πολλαπλού μυελώματος (MM) βασισμένες στη βιοψία μυελού των οστών, όπως το προφίλ γονιδιακής έκφρασης (GEP), κυτταρομετρία ροής, η μέθοδος υβριδισμού in situ φθορισμού (FISH), χρώση IHC και η αλληλουχία επόμενης γενιάς (NGS). **B.** Μέθοδοι απεικόνισης, όπως μαγνητική τομογραφία (MRI), υπολογιστική τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET/CT) και πολυπαραμετρική κυτταρομετρία ροής (MCF). Αυτές οι μέθοδοι έχουν καθοριστικό ρόλο και για την ανίχνευση της ελάχιστης υπολειμματικής νόσου (MRD) μετά τη θεραπεία. **Γ1.** Κλασικοί βιοδείκτες ορού, όπως πρωτεΐνη M και αναλογία ελεύθερης ελαφριάς αλυσίδας (FLC). **Γ2.** Αναδυόμενοι βιοδείκτες, όπως η υγρή βιοψία (βιοψία αίματος) που ανιχνεύει κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα (CTCs) και κυκλοφορούντα DNA όγκου (ct-DNA) σε δείγματα αίματος. Πραγματοποιείται συλλογή δειγμάτων αίματος και τότε το DNA απαλλαγμένο από κύτταρα (cf-DNA) εξάγεται από το πλάσμα, ενώ τα κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα (CTCs) ταξινομούνται με πολυπαραμετρική κυτταρομετρία ροής (MCF). Μετά, τα απομονωμένα κυκλοφορούντα DNA όγκου (ct-DNAs) ή κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα (CTCs) συμμετέχουν στη δημιουργία βιβλιοθήκης με σκοπό τον υπολογισμό της αλληλουχίας για την κλίση μετάλλαξης και τον προσδιορισμό του κλάσματος αλληλίου. Το κλάσμα αλληλίου είναι ο αριθμός των αναγνώσεων μεταλλαγμένων επί των ολικών αναγνώσεων για ένα συγκεκριμένο γονιδιωματικό τόπο. Σημαντικές πληροφορίες για την ανταπόκριση στη θεραπεία, θα μπορούσε να παρέχει η σύγκριση του κλάσματος αλληλίου διαφορετικών δειγμάτων (53).

Πίνακας 21. Σύνοψη εργαστηριακών μελετών (εργαστηριακές εξετάσεις, εξετάσεις ούρων, αναρρόφηση μυελού των οστών και βιοψία, ακτινογραφικός έλεγχος και άλλα) για τη διάγνωση του πολλαπλού μυελώματος (MM) (26)

Διαγνωστικός εργαστηριακός έλεγχος για MM	
A. Εργαστηριακές εξετάσεις	
1.	Πλήρης αριθμός αιμοσφαιρίων με διαφορικό και αιμοπετάλια
2.	Ηλεκτρολύτες
3.	Scr
4.	LDH
5.	C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CrP)
6.	β2M
7.	Ολική πρωτεΐνη
8.	Λευκωματίνη
9.	Ηλεκτροφόρηση ορού με ακίδα M/πρωτεΐνη (SPEP)
10.	Ποσοτικές ανοσοσφαιρίνες (IgG, IgA, IgM, IgD)
11.	Ελαφριές αλυσίδες χωρίς ορό (περιλαμβάνεται η αναλογία FLC)
12.	Ηλεκτροφόρηση ανοσοπροσαρμογής (IFE)
B. Εξετάσεις ούρων	
1.	24ωρη συλλογή ούρων για ολική πρωτεΐνη, ηλεκτροφόρηση πρωτεϊνών ούρων και ηλεκτροφόρηση ανοσοκαθήλωσης ούρων
Γ. Αναρρόφηση μυελού των οστών και βιοψία	
1.	Ανοσοϊστοχημεία +/- κυτταρομετρία ροής
2.	Κυτταρογενετική μεταφάσης
3.	FISH PCs (del(13q), del(17p), t(4;14), t(11;14), t(14;16), gain(1q))
Δ. Ακτινογραφικός έλεγχος	
1.	Σκελετική έρευνα
2.	WB-CT (χαμηλή δόση) σε ορισμένες περιπτώσεις
3.	WB-MRI με σκιαγραφικό εάν η σκελετική έρευνα είναι αρνητική
4.	PET/WB-CT εάν η σκελετική εξέταση είναι αρνητική
5.	Οστική πυκνότητα - εάν άλλες ακτινολογικές μελέτες είναι αρνητικές
Ε. Άλλα (σε ορισμένες περιπτώσεις)	
1.	Βιοψία ιστού για τη διάγνωση ενός μεμονωμένου οστικού ή εξωοστικού πλασματοκυττώματος
2.	Πολλαπλασιασμός των PCs
3.	Χρώση λίπους και μυελού για αμυλοειδές
4.	Ιξώδες ορού
5.	Δακτυλογράφηση HLA

Αναφορές

1. Gupta N, Sharma A, Sharma A. Emerging biomarkers in Multiple Myeloma: A review. *Clinica Chimica Acta*. 2020 Apr;503:45–53.
2. Paner A, Patel P, Dhakal B. The evolving role of translocation t(11;14) in the biology, prognosis, and management of multiple myeloma. *Blood Rev*. 2020 May;41:100643.
3. Fei F, Ma T, Zhou X, Zheng M, Cao B, Li J. Metabolic markers for diagnosis and risk-prediction of multiple myeloma. *Life Sci*. 2021 Jan;265:118852.
4. Soliman AM, Lin TS, Mahakkanukrauh P, Das S. Role of microRNAs in Diagnosis, Prognosis and Management of Multiple Myeloma. *Int J Mol Sci*. 2020 Oct 13;21(20):7539.
5. D'Agostino M, Bertamini L, Oliva S, Boccadoro M, Gay F. Pursuing a Curative Approach in Multiple Myeloma: A Review of New Therapeutic Strategies. *Cancers (Basel)*. 2019 Dec 13;11(12):2015.
6. Gupta N, Khan R, Kumar R, Kumar L, Sharma A. Versican and its associated molecules: potential diagnostic markers for multiple myeloma. *Clin Chim Acta*. 2015 Mar 10;442:119–24.
7. Gong X, Lu X, Cao J, Liu H, Chen H, Bao F, et al. Serum hsa_circ_0087776 as a new oncologic marker for the joint diagnosis of multiple myeloma. *Bioengineered*. 2021 Dec;12(2):12447–59.
8. Muccio VE, Saraci E, Gilestro M, Gattei V, Zucchetto A, Astolfi M, et al. Multiple myeloma: New surface antigens for the characterization of plasma cells in the era of novel agents. *Cytometry B Clin Cytom*. 2016 Jan;90(1):81–90.
9. Bębnowska D, Hryniewicz R, Grywalska E, Pasiarski M, Sosnowska-Pasiarska B, Smarz-Widelska I, et al. Immunological Prognostic Factors in Multiple Myeloma. *Int J Mol Sci*. 2021 Mar 30;22(7):3587.
10. Pojero F, Casuccio A, Parrino MF, Cardinale G, Colonna Romano G, Caruso C, et al. Old and new immunophenotypic markers in multiple myeloma for discrimination of responding and relapsing patients: The importance of “normal” residual plasma cell analysis. *Cytometry B Clin Cytom*. 2015 May;88(3):165–82.
11. Rajkumar SV, Kumar S. Multiple Myeloma: Diagnosis and Treatment. *Mayo Clin Proc*. 2016 Jan;91(1):101–19.
12. da Cunha AD, Silveira MN, Takahashi MES, de Souza EM, Mosci C, Ramos CD, et al. Adipose tissue radiodensity: A new prognostic biomarker in people with multiple myeloma. *Nutrition*. 2021 Jun;86:111141.

13. Woziwodzka K, Małyszko J, Koc-Żórawska E, Żórawski M, Dumnicka P, Jurczyszyn A, et al. Renal Impairment Detectors: IGFBP-7 and NGAL as Tubular Injury Markers in Multiple Myeloma Patients. *Medicina (B Aires)*. 2021 Dec 10;57(12):1348.
14. Settino M, Cannataro M. Using MMRFBiolinks R-Package for Discovering Prognostic Markers in Multiple Myeloma. In 2022. p. 289–314.
15. Rajkumar SV. Updated Diagnostic Criteria and Staging System for Multiple Myeloma. *American Society of Clinical Oncology Educational Book*. 2016 May;(36):e418–23.
16. Manier S, Salem KZ, Park J, Landau DA, Getz G, Ghobrial IM. Genomic complexity of multiple myeloma and its clinical implications. *Nat Rev Clin Oncol*. 2017 Feb 17;14(2):100–13.
17. Padala SA, Barsouk A, Barsouk A, Rawla P, Vakiti A, Kolhe R, et al. Epidemiology, Staging, and Management of Multiple Myeloma. *Medical Sciences*. 2021 Jan 20;9(1):3.
18. Kazandjian D. Multiple myeloma epidemiology and survival: A unique malignancy. *Semin Oncol*. 2016 Dec;43(6):676–81.
19. Durie BGM. The epidemiology of multiple myeloma. *Semin Hematol*. 2001 Apr;38:1–5.
20. Martino A. Genetics and molecular epidemiology of multiple myeloma: The rationale for the IMMEnSE consortium (Review). *Int J Oncol*. 2011 Dec 6;
21. Persaud H. Multiple myeloma. *J Am Acad Physician Assist*. 2015 Jul;28(7):47–8.
22. Multiple myeloma. *Nursing Standard*. 2014 May 28;28(39):18–18.
23. Smith CJ, Ambs S, Landgren O. Biological determinants of health disparities in multiple myeloma. *Blood Cancer J*. 2018 Aug 28;8(9):85.
24. Rajkumar SV. Multiple myeloma: 2020 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol*. 2020 May 13;95(5):548–67.
25. Mukkamalla SKR, Malipeddi D. Myeloma Bone Disease: A Comprehensive Review. *Int J Mol Sci*. 2021 Jun 8;22(12):6208.
26. Brigle K, Rogers B. Pathobiology and Diagnosis of Multiple Myeloma. *Semin Oncol Nurs*. 2017 Aug;33(3):225–36.
27. Dimopoulos MA, Terpos E. Multiple myeloma. *Annals of Oncology*. 2010 Oct;21:vii143–50.
28. Becker N. Epidemiology of Multiple Myeloma. In 2011. p. 25–35.
29. Graber JM, Stayner LT, Attfield MD. Multiple Myeloma. *J Occup Environ Med*. 2012 Oct;54(10):1183–4.

30. Diaz-delCastillo M, Chantry AD, Lawson MA, Heegaard AM. Multiple myeloma—A painful disease of the bone marrow. *Semin Cell Dev Biol.* 2021 Apr;112:49–58.
31. Joshua D. Bone disease in multiple myeloma: new markers, new treatments. *Intern Med J.* 2001 Jul 19;31(5):261–3.
32. Manasanch EE, Korde N, Zingone A, Tajeja N, Fernandez de Larrea C, Bhutani M, et al. The proteasome: mechanisms of biology and markers of activity and response to treatment in multiple myeloma. *Leuk Lymphoma.* 2014 Aug 24;55(8):1707–14.
33. Varga G, Mikala G, Kiss KP, Kosóczyki É, Szabó E, Meggyesi N, et al. Proteasome Subunit Beta Type 1 P11A Polymorphism Is a New Prognostic Marker in Multiple Myeloma. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2017 Nov;17(11):734–42.
34. Lionetti M, Neri A. Utilizing next-generation sequencing in the management of multiple myeloma. *Expert Rev Mol Diagn.* 2017 Jul 3;17(7):653–63.
35. Hultcrantz M, Richter J, Rosenbaum CA, Patel D, Smith EL, Korde N, et al. COVID-19 Infections and Clinical Outcomes in Patients with Multiple Myeloma in New York City: A Cohort Study from Five Academic Centers. *Blood Cancer Discov.* 2020 Nov 1;1(3):234–43.
36. Kawano Y, Moschetta M, Manier S, Glavey S, Görgün GT, Roccaro AM, et al. Targeting the bone marrow microenvironment in multiple myeloma. *Immunol Rev.* 2015 Jan;263(1):160–72.
37. Dosani T, Mailankody S, Korde N, Manasanch E, Bhutani M, Tajeja N, et al. Host-related immunodeficiency in the development of multiple myeloma. *Leuk Lymphoma.* 2018 May 4;59(5):1127–32.
38. Glavey S V, Naba A, Manier S, Clauser K, Tahri S, Park J, et al. Proteomic characterization of human multiple myeloma bone marrow extracellular matrix. *Leukemia.* 2017 Nov 27;31(11):2426–34.
39. Iriuchishima H, Saitoh T, Handa H, Isoda A, Matsumoto M, Sawamura M, et al. A new staging system to predict prognosis of patients with multiple myeloma in an era of novel therapeutic agents. *Eur J Haematol.* 2015 Feb;94(2):145–51.
40. Pratt G, Bowcock S, Chantry A, Cook G, Jackson G, Lai M, et al. Time to redefine Myeloma. *Br J Haematol.* 2015 Oct;171(1):1–10.
41. Landgren O, Hofmann JN, McShane CM, Santo L, Hultcrantz M, Korde N, et al. Association of Immune Marker Changes With Progression of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance to Multiple Myeloma. *JAMA Oncol.* 2019 Sep 1;5(9):1293.
42. Solimando AG, Da Vià MC, Bolli N, Steinbrunn T. The Route of the Malignant Plasma Cell in Its Survival Niche: Exploring “Multiple Myelomas.” *Cancers (Basel).* 2022 Jul 4;14(13):3271.

43. Smith D, Yong K. Advances in understanding prognosis in myeloma. *Br J Haematol*. 2016 Nov;175(3):367–80.
44. Barwick BG, Gupta VA, Vertino PM, Boise LH. Cell of Origin and Genetic Alterations in the Pathogenesis of Multiple Myeloma. *Front Immunol*. 2019 May 21;10.
45. Hervás-Salcedo R, Martín-Antonio B. A Journey through the Inter-Cellular Interactions in the Bone Marrow in Multiple Myeloma: Implications for the Next Generation of Treatments. *Cancers (Basel)*. 2022 Aug 4;14(15):3796.
46. Schiano C, Soricelli A, De Nigris F, Napoli C. New challenges in integrated diagnosis by imaging and osteo-immunology in bone lesions. *Expert Rev Clin Immunol*. 2019 Mar 4;15(3):289–301.
47. Claudio JO, Stewart AK. Advances in Myeloma Genetics and Prospects for Pharmacogenomic Testing in Multiple Myeloma. *American Journal of Pharmacogenomics*. 2005;5(1):35–43.
48. Iskrzak J, Zygmunciak P, Misiewicz-Krzemińska I, Puła B. Extracellular Vesicles in Multiple Myeloma—Cracking the Code to a Better Understanding of the Disease. *Cancers (Basel)*. 2022 Nov 14;14(22):5575.
49. Auzina D, Erts R, Lejniece S. Prognostic value of the bone turnover markers in multiple myeloma. *Exp Oncol*. 2017 Mar;39(1):53–6.
50. Seidel C, Sundan A, Hjorth M, Turesson I, Dahl IM, Abildgaard N, et al. Serum syndecan-1: a new independent prognostic marker in multiple myeloma. *Blood*. 2000 Jan 15;95(2):388–92.
51. Huang Y, Huang J, Zhang P, Luo J, Cheng P, Miao L, et al. Integrated analysis of hub gene expression in multiple myeloma. *J BUON*. 2021;26(5):2040–52.
52. Landgren O, Morgan GJ. Biologic Frontiers in Multiple Myeloma: From Biomarker Identification to Clinical Practice. *Clinical Cancer Research*. 2014 Feb 15;20(4):804–13.
53. Bustoros M, Mouhieddine TH, Detappe A, Ghobrial IM. Established and Novel Prognostic Biomarkers in Multiple Myeloma. *American Society of Clinical Oncology Educational Book*. 2017 May;(37):548–60.
54. Morgan GJ, Kaiser MF. How to use new biology to guide therapy in multiple myeloma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2012;2012:342–9.
55. Child JA, Russell N, Sonneveld P, Schey S. Future Directions in Multiple Myeloma Treatment. *Acta Haematol*. 2005;114(Suppl. 1):8–13.
56. Bhutani M, Landgren O, Usmani SZ. Multiple Myeloma: Is It Time for Biomarker-Driven Therapy? *American Society of Clinical Oncology Educational Book*. 2015 May;(35):e493–503.

57. Medina A, Jiménez C, Sarasquete ME, González M, Chillón MC, Balanzategui A, et al. Molecular profiling of immunoglobulin heavy-chain gene rearrangements unveils new potential prognostic markers for multiple myeloma patients. *Blood Cancer J.* 2020 Feb 6;10(2):14.
58. Rao PH, Cigudosa JC, Ning Y, Calasanz MJ, Iida S, Tagawa S, et al. Multicolor spectral karyotyping identifies new recurring breakpoints and translocations in multiple myeloma. *Blood.* 1998 Sep 1;92(5):1743–8.
59. Hung D, Lenton D, Eslick R, Blennerhassett R, Joshi M, McCaughan G, et al. Chromosome microarray characterisation of chromosome arm 12p loss associated with complex molecular karyotype and recurrent adverse cytogenetic markers in multiple myeloma. *Genes Chromosomes Cancer.* 2021 Oct 7;60(10):668–77.
60. Milani P, Palladini G, Merlini G. Serum-free light-chain analysis in diagnosis and management of multiple myeloma and related conditions. *Scand J Clin Lab Invest.* 2016 Jul 13;76(sup245):S113–8.
61. Chapman JR, Thoren KL. Tracking of low disease burden in multiple myeloma: Using mass spectrometry assays in peripheral blood. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2020 Mar;33(1):101142.
62. Rocci A, Hofmeister CC, Geyer S, Stiff A, Gambella M, Cascione L, et al. Circulating miRNA markers show promise as new prognosticators for multiple myeloma. *Leukemia.* 2014 Sep 12;28(9):1922–6.
63. Allegra A, Cancemi G, Mirabile G, Tonacci A, Musolino C, Gangemi S. Circulating Tumour Cells, Cell Free DNA and Tumour-Educated Platelets as Reliable Prognostic and Management Biomarkers for the Liquid Biopsy in Multiple Myeloma. *Cancers (Basel).* 2022 Aug 26;14(17):4136.
64. Woziwodzka K, Małyszko J, Koc-Żórawska E, Żórawski M, Dumnicka P, Jurczyszyn A, et al. Transgelin-2 in Multiple Myeloma: A New Marker of Renal Impairment? *Molecules.* 2021 Dec 23;27(1):79.
65. Fairfield H, Dudakovic A, Khatib CM, Farrell M, Costa S, Falank C, et al. Myeloma-Modified Adipocytes Exhibit Metabolic Dysfunction and a Senescence-Associated Secretory Phenotype. *Cancer Res.* 2021 Feb 1;81(3):634–47.
66. Damasceno D, Almeida J, Teodosio C, Sanoja-Flores L, Mayado A, Pérez-Pons A, et al. Monocyte Subsets and Serum Inflammatory and Bone-Associated Markers in Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance and Multiple Myeloma. *Cancers (Basel).* 2021 Mar 22;13(6):1454.
67. Abramson HN. B-Cell Maturation Antigen (BCMA) as a Target for New Drug Development in Relapsed and/or Refractory Multiple Myeloma. *Int J Mol Sci.* 2020 Jul 22;21(15):5192.

68. Solmaz S, Uzun O, Acar C, Sevindik OG, Piskin O, Ozsan HG, et al. Is the platelet-to-lymphocyte ratio a new prognostic marker in multiple myeloma? *J Lab Physicians*. 2018 Oct 20;10(04):363–9.
69. Solimando AG, Brandl A, Mattenheimer K, Graf C, Ritz M, Ruckdeschel A, et al. JAM-A as a prognostic factor and new therapeutic target in multiple myeloma. *Leukemia*. 2018 Mar 28;32(3):736–43.
70. Pojero F, Casuccio A, Parrino MF, Cardinale G, Colonna Romano G, Caruso C, et al. Old and new immunophenotypic markers in multiple myeloma for discrimination of responding and relapsing patients: The importance of “normal” residual plasma cell analysis. *Cytometry B Clin Cytom*. 2015 May;88(3):165–82.
71. Tarín F, López-Castaño F, García-Hernández C, Beneit P, Sarmiento H, Manresa P, et al. Multiparameter Flow Cytometry Identification of Neoplastic Subclones: A New Biomarker in Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance and Multiple Myeloma. *Acta Haematol*. 2019;141(1):1–6.
72. Marchica V, Franceschi V, Vescovini R, Storti P, Vicario E, Toscani D, et al. Bovine pestivirus is a new alternative virus for multiple myeloma oncolytic virotherapy. *J Hematol Oncol*. 2020 Dec 11;13(1):89.
73. Landgren O. MRD Testing in Multiple Myeloma: From a Surrogate Marker of Clinical Outcomes to an Every-Day Clinical Tool. *Semin Hematol*. 2018 Jan;55(1):1–3.
74. Bonello F, Cani L, D’Agostino M. Risk Stratification Before and During Treatment in Newly Diagnosed Multiple Myeloma: From Clinical Trials to the Real-World Setting. *Front Oncol*. 2022 Mar 9;12.
75. Requirand G, Robert N, Boireau S, Vincent L, Seckinger A, Bouhya S, et al. BrdU incorporation in multiparameter flow cytometry: A new cell cycle assessment approach in multiple myeloma. *Cytometry B Clin Cytom*. 2019 May 12;96(3):209–14.
76. Iwaki K, Fujiwara T, Ito T, Suzuki C, Sasaki K, Ono K, et al. Flow Cytometry-Based Photodynamic Diagnosis with 5-Aminolevulinic Acid for the Detection of Minimal Residual Disease in Multiple Myeloma. *Tohoku J Exp Med*. 2019;249(1):19–28.
77. De Luca L, Laurenzana I, Trino S, Lamorte D, Caivano A, Musto P. An update on extracellular vesicles in multiple myeloma: a focus on their role in cell-to-cell cross-talk and as potential liquid biopsy biomarkers. *Expert Rev Mol Diagn*. 2019 Mar 4;19(3):249–58.
78. Mylin AK, Abildgaard N, Johansen JS, Heickendorff L, Kreiner S, Waage A, et al. Serum YKL-40: a new independent prognostic marker for skeletal complications in patients with multiple myeloma. *Leuk Lymphoma*. 2015 Sep 2;56(9):2650–9.
79. Chrzanowska NM, Kowalewski J, Lewandowska MA. Use of Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) in Diagnosis and Tailored Therapies in Solid Tumors. *Molecules*. 2020 Apr 17;25(8):1864.

80. Jiang J. Fluorescence in situ hybridization in plants: recent developments and future applications. *Chromosome Research*. 2019 Sep 9;27(3):153–65.
81. Miller A, Chen J, Takasuka TE, Jacobi JL, Kaufman PD, Irudayaraj JMK, et al. Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) Is Required for Cell Cycle-regulated Silent Chromatin on Replicated and Nonreplicated Genes. *Journal of Biological Chemistry*. 2010 Nov;285(45):35142–54.
82. BUCCA G. Gene Expression Profiling of Human Cancers. *Ann N Y Acad Sci*. 2004 Dec 1;1028(1):28–37.