

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ

**ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ
ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΤΙΚΟΥ ΜΟΡΙΟΥ ΤΩΝ ΝΕΥΡΙΚΩΝ
ΚΥΤΤΑΡΩΝ (NCAM, CD56) ΣΤΙΣ ΠΟΛΥΚΛΩΝΙΚΕΣ
ΚΑΙ ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΕΣ ΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΩΣΕΙΣ:
ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗΣ ΤΗΣ ΣΗΜΑΣΙΑΣ
ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΜΕ ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΣΤΟ ΠΟΛΛΑΠΛΟ ΜΥΕΛΩΜΑ**

ΕΥΣΤΑΘΙΟΣ Ν. ΣΤΑΘΑΚΗΣ

ΙΑΤΡΟΣ
ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΛΑΡΙΣΑ 2011

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Ιατρικό τμήμα του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα (Νόμος 5343, άρθρο 202, παράγραφος 2)

Τριμελής Συμβουλευτική επιτροπή

Κουκούλης Γεώργιος, Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Ιωάννου Μαρία, Επίκουρος Καθηγήτρια Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Κυριάκου Δέσποινα, Αναπλ. Καθηγήτρια Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

Κουκούλης Γεώργιος, Καθηγητής

Φεζουλίδης Ιωάννης, Καθηγητής

Μελέκος Μιχαήλ, Καθηγητής

Στεφανίδης Ιωάννης, Αναπλ. Καθηγητής

Κυριάκου Δέσποινα, Αναπλ. Καθηγήτρια

Ιωάννου Μαρία, Επίκουρος Καθηγήτρια

Κωστοπούλου Εύα, Επίκουρος Καθηγήτρια

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	7
---------------	---

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	11
--------------------------	-----------

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Α΄

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ ΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΑ (ΠΚ) ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΩΣΕΙΣ

1. ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ ΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΑ.....	12
1.1 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ.....	12
1.2 ΔΟΜΗ ΤΩΝ ΑΝΟΣΟΣΦΑΙΡΙΝΩΝ.....	13
1.3 ΟΝΤΟΓΟΝΙΑ ΤΩΝ ΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΩΝ	18
1.4 ΑΝΟΣΟΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ ΤΩΝ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΚ.....	23
2. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΩΣΕΙΣ.....	25

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Β΄

ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΕΣ ΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ

1.1 ΓΕΝΙΚΑ.....	27
1.2 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΝΕΟΠΛΑΣΙΩΝ.....	29
1.3 ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΗ ΓΑΜΜΟΠΑΘΕΙΑ ΑΔΙΕΥΚΡΙΝΙΣΤΗΣ ΣΗΜΑΣΙΑΣ.....	34
1.4 ΠΟΛΛΑΠΛΟ ΜΥΕΛΩΜΑ.....	37
1.4.1 ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΟ ΠΟΛΛΑΠΛΟ ΜΥΕΛΩΜΑ.....	39
1.4.2 ΑΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΟ ΜΥΕΛΩΜΑ.....	46

1.4.3 ΜΗ ΕΚΚΡΙΤΙΚΟ ΜΥΕΛΩΜΑ.....	48
1.4.4 ΔΙΚΛΩΝΙΚΟ ΠΟΛΛΑΠΛΟ ΜΥΕΛΩΜΑ.....	48
1.4.5 ΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ.....	48
1.5 ΜΟΝΗΡΕΣ ΠΛΑΣΜΟΚΥΤΤΩΜΑ.....	49
1.6 ΟΣΤΕΟΣΚΛΗΡΥΝΤΙΚΟ ΜΥΕΛΩΜΑ ΚΑΙ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΡΟΕΜΣ.....	50
1.7 AL ΑΜΥΛΟΕΙΔΩΣΗ.....	53
1.8 ΝΟΣΟΙ ΕΞ ΕΝΑΠΟΘΕΣΕΩΣ ΕΛΑΦΡΩΝ ΚΑΙ ΒΑΡΕΙΩΝ ΑΛΥΣΙΔΩΝ.....	55

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Γ΄

ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΩΝ ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΩΝ ΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΔΙΑΤΑΡΑΧΩΝ

1.1 ΧΡΩΜΑΤΟΣΩΜΙΚΕΣ ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ.....	57
1.2 ΟΝΤΟΓΕΝΕΣΗ ΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΩΝ.....	62
1.3 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΜΥΕΛΙΚΟΥ ΜΙΚΡΟΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ ΣΤΙΣ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΕΣ ΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ.....	66
1.3.1 ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΣΗ, ΚΥΤΤΟΚΙΝΕΣ ΚΑΙ ΧΗΜΕΙΟΚΙΝΕΣ.....	66
1.3.2 ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΟΙ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΟΙ ΚΑΤΑΡΡΑΚΤΕΣ.....	70
1.3.3 ΝΕΟΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗ.....	72
1.3.4 ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΟΣΤΕΟΛΥΣΕΩΝ ΣΤΟ ΠΜ.....	73

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Δ΄

ΑΝΟΣΟΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ ΚΑΙ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ CD56 ΣΤΙΣ ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΕΣ ΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ

1.1 ΑΝΟΣΟΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΑ ΓΝΩΡΙΣΜΑΤΑ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΩΝ ΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΩΝ.....	78
1.2 ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΤΙΚΟ ΜΟΡΙΟ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ (CD56)...	81

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	88
2. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	89
2.1 ΑΣΘΕΝΕΙΣ.....	89
2.2 ΟΣΤΕΟΜΥΕΛΙΚΕΣ ΒΙΟΨΙΕΣ.....	91
2.3 ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΧΡΩΣΕΙΣ.....	91
2.4 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	94
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	94
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	101
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	107
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	122
SUMMARY	

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η αξιολόγηση του μυελού των οστών είναι απαραίτητη στη διάγνωση των πλασματοκυτταρικών διαταραχών. Αντιδραστική αύξηση του αριθμού των πλασματοκυττάρων στον μυελό των οστών παρατηρείται σε μια ποικιλία καταστάσεων και ιδίως σε χρόνιες λοιμώξεις, αυτοάνοσα νοσήματα, αιματολογικά νοσήματα και άλλα. Νεοπλασματική αύξηση του αριθμού των πλασματοκυττάρων του μυελού των οστών χαρακτηρίζει κατεξοχήν το πολλαπλό μύελωμα. Το πολλαπλό μύελωμα είναι κακοήθης πλασματοκυτταρική νεοπλασία που χαρακτηρίζεται από συσσώρευση κλωνικών πλασματοκυττάρων εντός του μυελού των οστών, παρουσία μονοκλωνικής ανοσοσφαιρίνης στον ορό ή/και στα ούρα και μια ή περισσότερες κλινικοεργαστηριακές εκδηλώσεις οφειλόμενες σε συγκεκριμένες (“σχετιζόμενες με το μύελωμα”) διαταραχές οργάνων ή ιστών. Το πολλαπλό μύελωμα είναι η δεύτερη σε συχνότητα αιματολογική κακοήθεια αποτελώντας το 10% των αιματολογικών κακοήθων νεοπλασιών. Πολύ συχνότερη (3% σε άτομα ηλικίας άνω των 50 ετών) είναι η μονοκλωνική γαμμοπάθεια απροσδιόριστης σημασίας, που αποτελεί μια δυνητικά κακοήθη πλασματοκυτταρική διαταραχή. Χαρακτηρίζεται από χαμηλή συγκέντρωση (<3g/dl) μονοκλωνικής ανοσοσφαιρίνης στον ορό ή στα ούρα, περιορισμένη (<10%) διήθηση του μυελού των οστών με κλωνικά πλασματοκύτταρα και απουσία κλινικοεργαστηριακών εκδηλώσεων από τα όργανα ή ιστούς που συνοδεύουν το πολλαπλό μύελωμα. Πρόκειται δηλαδή για περιορισμένη και ελεγχόμενη κλωνική πλασματοκυτταρική διαταραχή.

Η διαφορική διάγνωση των ως άνω πλασματοκυτταρικών διαταραχών απαιτεί σχολαστική αρίθμηση των πλασματοκυττάρων του μυελού των οστών, μελέτη της μορφολογίας τους και μελέτη του ιστολογικού προτύπου της διήθησης. Σε αρκετές όμως περιπτώσεις με περιορισμένη διήθηση λόγω της εστιακής αναπτύξεως της πλασματοκυτταρώσεως ή λόγω ανεπαρκούς δείγματος η διαφορική διάγνωση παρουσιάζει δυσκολίες. Η ανοσοϊστοχημεία στις περιπτώσεις αυτές είναι πολύτιμη. Η χρώση του αντιγόνου CD138 διευκολύνει την ακριβή ταυτοποίηση και αρίθμηση των πλασματοκυττάρων. Η ανοσοϊστοχημική χρώση των ελαφρών αλυσίδων των ανοσοσφαιρινών συνιστά ουσιαστική προσέγγιση διακρίνοντας τα αντιδραστικά (πολυκλωνικά) πλασματοκύτταρα από τα νεοπλασματικά (μονοκλωνικά). Για τις περιπτώσεις που η ως άνω προσέγγιση δεν είναι αποτελεσματική έχουν αναζητηθεί υποκατάστατα αντιγόνα που να χαρακτηρίζουν τα παθολογικά πλασματοκύτταρα και μπορούν να βοηθήσουν στη διάγνωση. Ένα τέτοιο αντιγόνο είναι το συγκολλητικό μόριο των νευρικών κυττάρων (Neural Cell Adhesion Molecule, NCAM) ή CD56, μια μεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη, που ανήκει στην υπεροικογένεια των ανοσοσφαιρινών. Από το 1990 ήδη αποκαλύφθηκε με ανοσοϊστοχημική τεχνική ότι τα μυελωματικά κύτταρα εκφράζουν το CD56 σε σημαντική αναλογία περιπτώσεων. Έκτοτε βρέθηκε ότι με την εφαρμογή της πολυκαναλικής κυτταρομετρίας ροής το CD56 χαρακτηρίζει τα παθολογικά (νεοπλασματικά) πλασματοκύτταρα, με συνέπεια η ταυτοποίηση του αντιγόνου να έχει ενσωματωθεί, μαζί με άλλα αντιγόνα, στα κριτήρια διαγνώσεως των νεοπλασματικών πλασματοκυτταρικών διαταραχών του μυελού των οστών. Η χρησιμότητα όμως της ανοσοϊστοχημικής χρώσεως του CD56 στη μελέτη των βιοψιών του μυελού των οστών δεν έχει πλήρως διαλευκανθεί. Οι μελέτες για την

ανοσοϊστοχημική ανίχνευση του αντιγόνου στις αντιδραστικές πλασματοκυτταρώσεις είναι περιορισμένες, η συχνότητα της εκφράσεώς του στο πολλαπλό μυέλωμα εμφανίζει ευρεία διακύμανση μεταξύ των εργασιών που έχουν δημοσιευθεί και τα αποτελέσματα στις περιπτώσεις MGUS είναι αντιφατικά. Επιπλέον προσπάθειες συσχέτισης της εκφράσεως του CD56 με κλινικοεργαστηριακές παραμέτρους και την πρόγνωση του πολλαπλού μυελώματος έδωσε αντικρουόμενα αποτελέσματα.

Στην παρούσα διατριβή μελετήθηκε η ανοσοϊστοχημική έκφραση του CD56 σε μεγάλο αριθμό αντιδραστικής πλασματοκυτταρώσεως και ικανό αριθμό περιπτώσεων πολλαπλού μυελώματος και μονοκλωνικής γαμμοπάθειας αδιευκρίνιστης σημασίας. Επιπλέον έγινε συσχέτιση της εκφράσεως ή μη του CD56 με κλινικοεργαστηριακές παραμέτρους στις περιπτώσεις πολλαπλού μυελώματος. Πιο αναλυτικά στο γενικό μέρος αναλύονται: (1) Η μορφολογία των φυσιολογικών πλασματοκυττάρων, η δομή των ανοσοσφαιρινών, η οντογένεση και ο ανοσοφαινότυπος των φυσιολογικών πλασματοκυττάρων και στοιχεία για τις αντιδραστικές πλασματοκυτταρώσεις· (2) Η ταξινόμηση και τα διαγνωστικά κριτήρια των μονοκλωνικών πλασματοκυτταρικών διαταραχών καθώς και συνοπτική παρουσίαση των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών τους· (3) Η παθογένεια των μονοκλωνικών πλασματοκυτταρικών διαταραχών· (4) τα ανοσοφαινοτυπικά γνωρίσματα των μονοκλωνικών πλασματοκυττάρων και η σημασία του προσκολλητικού μορίου των νευρικών κυττάρων (CD56) στη μελέτη των πλασματοκυτταρικών διαταραχών. Στο ειδικό μέρος περιγράφονται και συζητούνται τα αποτελέσματα της ανοσοϊστοχημικής χρώσεως του CD56 στις αντιδραστικές πλασματοκυτταρώσεις, τις μονοκλωνικές γαμμοπάθειες αδιευκρίνιστης σημασίας και στο πολλαπλό μυέλωμα.

Για την εκπόνηση της διατριβής και την ολοκλήρωσή της υπήρξε πολύτιμη βοήθεια από πολλούς στους οποίους εκφράζω την βαθιά μου ευγνωμοσύνη. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω το δάσκαλό μου καθηγητή κ. Κουκούλη Γεώργιο για τις πολύτιμες παρατηρήσεις του από τον σχεδιασμό μέχρι την ολοκλήρωση της διατριβής. Επίσης ιδιαίτερα ευχαριστώ την επίκουρο καθηγήτρια κ. Ιωάννου Μαρία για την αμέριστη συμπαράστασή της, τόσο στο θεωρητικό όσο και στο εργαστηριακό επίπεδο. Ιδιαίτερα την ευχαριστώ για τις οξυδερκείς παρατηρήσεις της στις τεχνικές της ανοσοϊστοχημείας και της ερμηνείας τους. Επίσης ευχαριστώ και το άλλο μέλος της τριμελούς επιτροπής αναπληρώτρια καθηγήτρια κ. Κυριάκου Δέσποινα για τη βοήθειά της στην αξιολόγηση των κλινικών παραμέτρων των ασθενών. Θέλω επίσης να ευχαριστήσω τα μέλη της επταμελούς επιτροπής. Είμαι επίσης ευγνώμον στην υπεύθυνη παρασκευάστρια του ανοσοϊστοχημικού εργαστηρίου κ. Γαλάνη Σούλα, για τη συμπαράστασή της κατά την εκτέλεση των ανοσοϊστοχημικών τεχνικών.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Α΄

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ ΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΑ (ΠΚ) ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΩΣΕΙΣ

1. ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ ΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΑ

1.1. Μορφολογία

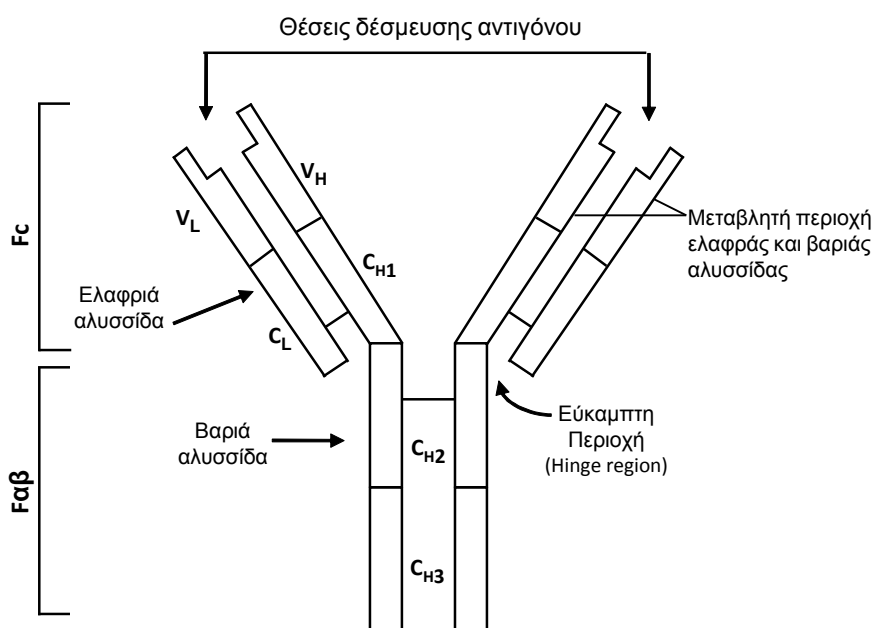
Τα φυσιολογικά πλασματοκύτταρα (ΠΚ)^{1,2} έχουν στρογγυλό ή ωοειδές σχήμα και ποικίλουν ελαφρά ως προς το μέγεθος, αν και συνήθως η διάμετρός του κυμαίνεται μεταξύ 12 και 16μm. Ο πυρήνας των ΠΚ είναι μικρός, πυκνοχρωματικός και τοποθετημένος έκκεντρα στο κυτταρόπλασμα. Η ετεροχρωματίνη είναι αδρή και κατά τόπους συμπυκνωμένη (clumped) ενώ δεν υπάρχουν ορατά πυρήνια. Το κυτταρόπλασμα έχει βαθύ κυανό χρώμα με μία μεγάλη παραπυρηνική ωχρή περιοχή που αντιστοιχεί στην συσκευή του Golgi. Τα ΠΚ μπορεί να περιέχουν αζουρόφιλα κοκκία και ενίοτε ραβδοειδείς κρυσταλλικές εναποθέσεις. Διπύρηνες μορφές στον ΜΟ δεν είναι σπάνιες.

Σε τομές παραφίνης βιοψίας ΜΟ² η αναλογία των ΠΚ δεν υπερβαίνει το 1% των εμπύρηνων κυττάρων και οπωσδήποτε το 5%. Τα ΠΚ βρίσκονται διάσπαρτα σε διάμεση (interstitial) κατανομή αλλά μπορεί να συνοδεύουν μακροφάγα και εντοπίζονται κατά προτίμηση γύρω από τριχοειδή. Η χρωματίνη του πυρήνα είναι συμπυκνωμένη κατά τόπους και συχνά έχει εμφάνιση τύπου ακτινωτού τροχού. Εκτός του ΜΟ ΠΚ βρίσκονται στους λεμφαδένες, τον εντερικό βλεννογόνο και άλλα δευτερογενή λεμφικά όργανα.

Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο² τα ΠΚ έχουν εκτεταμένο ενδοπλασματικό δίκτυο στο οποίο είναι προσκολλημένα πολυάριθμα ριβοσώματα ενώ μεταξύ των λωρίδων του ενδοπλασματικού δικτύου

υπάρχουν μιτοχόνδρια. Η συσκευή του Golgi είναι μεγάλη, περιγραμμένη και αντιστοιχεί στην παραπυρηνική άλω που παρατηρείται στο κοινό μικροσκόπιο. Ο πυρήνας χαρακτηρίζεται από πυκνές περιοχές ετεροχρωματίνης.

1.2. Δομή των ανοσοσφαιρινών



Σχήμα 1. Οι ανοσοσφαιρίνες αποτελούνται από 2 όμοιες βαρείες αλυσίδες και 2 όμοιες ελαφρές αλυσίδες. Κάθε μία από τις αλυσίδες αυτές περιέχουν μεταβλητές (V) και σταθερές περιοχές (C). Οι σταθερές περιοχές των βαρειών αλυσίδων αποτελούνται από επιμέρους αλληλουχίες (C1-C4 ή C5) ενώ οι ελαφρές αλυσίδες περιέχουν μία μόνο αντίστοιχη αλληλουχία. Οι μεταβλητές περιοχές μιας βαρειάς και μιας ελαφράς αλυσίδας σχηματίζουν μια θέση δέσμευσης αντιγόνου (δύο κάθε ανοσοσφαιρίνη). Με το ένζυμο παπαΐνη κάθε ανοσοσφαιρινικό μόριο διασπάται σε δύο όμοια μεταξύ τους κλάσματα (Fab) που περιλαμβάνουν την ελαφρά και δύο αλληλουχίες της βαρειάς αλυσίδας (C1 και C2) και ένα τρίτο (Fc) περιέχει τις υπόλοιπες σταθερές περιοχές και των δύο βαρειών αλυσίδων.

Τα Β-λεμφοκύτταρα χαρακτηρίζονται από την ικανότητά τους να παράγουν ανοσοσφαιρίνες (immunoglobulins, Ig), οι οποίες είτε

αποτελούν μέρος του υποδοχέα των Β-λεμφοκυττάρων είτε εκκρίνονται. Τα ΠΚ είναι τα κατεξοχήν ανοσοεκκριτικά κύτταρα δηλ. τα κύτταρα που συνθέτουν και εκκρίνουν τις ανοσοσφαιρίνες.

Η βασική δομική μονάδα των ανοσοσφαιρινών (επιφάνειας ή διαλυτών) είναι πρωτεϊνικό μόριο αποτελούμενο από δύο βαριές (Heavy, H) και δύο ελαφρές (Light, L) αλυσίδες, που σχηματίζουν αμφίπλευρα συμμετρική, σχήματος Y, δομή. (Σχήμα 1)^{3,4,5}. Οι αλυσίδες συγκρατούνται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς και μη-ομοιοπολικούς δεσμούς. Υπάρχουν πέντε είδη βαριών αλυσίδων, οι γ, α, μ, δ και ε και δύο είδη ελαφρών, οι κ και λ. Κάθε μόριο ανοσοσφαιρίνης περιέχει δύο όμοιες βαριές και δύο όμοιες ελαφρές κ ή λ. Κάθε βαριά αλυσίδα συνίσταται από επιμέρους αλληλουχίες 110 περίπου αμινοξέων. Στο NH₂-τελικό άκρο υπάρχει η μεταβλητή περιοχή (V_H) που ακολουθείται από τις σταθερές που είναι τρεις (C_{H1}, C_{H2}, C_{H3}) για τις γ, α και δ και μία επιπλέον (C_{H4}) για τις μ και ε αλυσίδες. Αντίστοιχα οι ελαφρές αλυσίδες έχουν μια μεταβλητή (V_L) και μία σταθερή (C_L) περιοχή. Κάθε μία από τις επιμέρους αυτές περιοχές έχει διαμόρφωση ενός τύπου γνωστού ως β-πτυχωτή διαμόρφωση (β-pleated sheet) το οποίο σταθεροποιείται με εξαιρετικά συντηρημένο δισουλφιδικό δεσμό. Η πρωτοταγής δομή των μεταβλητών περιοχών παρουσιάζει μεγάλες διαφορές μεταξύ των διαφορετικών ανοσοσφαιρικών μορίων. Σε κάθε μόριο ανοσοσφαιρίνης οι μεταβλητές περιοχές μίας βαρείας και μίας ελαφριάς αλυσίδας αλληλεπιδρούν και σχηματίζουν τη θέση δέσμευσης του αντιγόνου. Κατά συνέπεια κάθε μόριο ανοσοσφαιρίνης έχει δύο όμοιες θέσεις δεσμεύσεως του αντιγόνου. Αντίθετα με την τεράστια ποικιλία των μεταβλητών περιοχών, οι σταθερές είναι όμοιες στις ανοσοσφαιρίνες της ίδιας τάξεως ή υποτάξεως. Οι σταθερές περιοχές περιέχουν αλληλουχίες που αλληλεπιδρούν δεσμευόμενες σε

κυτταρικούς υποδοχείς ή μόρια του ανοσιακού συστήματος όπως είναι το συμπλήρωμα.

Στην διασταύρωση των δύο σκελών του σχήματος Y των ανοσφαιρινών οι δύο βαρείες αλυσίδες σχηματίζουν μια εύκαμπτη (“hinge”) περιοχή, η οποία εκτίθεται μεταξύ των αναδιπλωμένων, σφαιρικών περιοχών C_{H1} και C_{H2} , και είναι ευπρόσβλητη σε πρωτεολιτικά ένζυμα. Το ένζυμο παπαΐνη διασπά το ανοσοσφαιρικό μόριο σε τρία κλάσματα. Τα δύο εξ αυτών είναι όμοια μεταξύ τους, ονομάζονται κλάσματα Fab και περιλαμβάνουν ολόκληρη την ελαφρά αλυσίδα και τις περιοχές C_{H1} και C_{H2} της βαριάς δηλ. περιέχουν τις θέσεις συνδέσεως του αντιγόνου της ανοσοσφαιρίνης. Το τρίτο κλάσμα ονομάζεται Fc και περιέχει τις υπόλοιπες σταθερές περιοχές και των δύο βαριών αλυσίδων. Το Fc τμήμα των ανοσοσφαιρινών δεσμεύει διαλυτά μόρια του ανοσιακού συστήματος όπως το συμπλήρωμα με συνέπεια την ενεργοποίησή τους. Επίσης δεσμεύεται σε κυτταρικούς υποδοχείς όπως των φαγοκυττάρων (IgG) ενεργοποιώντας τις κυτταροτοξικές τους ιδιότητες ή την μαστοκυττάρων και βασεοφίλων επιτυγχάνοντας την αποκοκκίωσή τους (IgE). Τέλος συμπλέγματα ανοσοσφαιρινών (αντισωμάτων), και στοιχείων του συμπληρώματος προάγουν την φαγοκυττάρωση (IgG, IgM).

Οι ελαφρές αλυσίδες, κ ή λ, έχουν μοριακό βάρος 23KD περίπου, η δε αναλογία κ προς λ στο πλάσμα είναι περίπου 2:1. Υπάρχει ένας μόνο τύπος κ αλυσίδας αλλά οι λ αλυσίδες απαντούν σε 4 υποτύπους. Η σταθερή περιοχή των ελαφρών αλυσίδων δεν έχει γνωστή λειτουργία. Πιθανώς είναι σημαντική στην συναρμολόγηση και απελευθέρωση των συγκροτημένων ανοσοσφαιρινικών μορίων. Οι βαρείες αλυσίδες έχουν μοριακό βάρος 50-70KD ανάλογα με τον αριθμό και το μήκος των σταθερών περιοχών (C_H) που περιέχουν.

Οι ανοσοσφαιρίνες ανάλογα με τον τύπο της βαρείας αλυσίδας που περιέχουν, γ, α, μ, δ, ε, διακρίνονται σε πέντε τάξεις ή ισότυπους: IgG, IgA, IgM, IgD και IgE αντίστοιχα. Μερικά από τα χαρακτηριστικά των ανοσοσφαιρινών αυτών δίδονται στον πίνακα 1.

Πίνακας 1. Βασικά στοιχεία των τάξεων των ανοσοσφαιρινών

	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Βαρεία αλυσίδα	γ	α	μ	δ	ε
Υπότυποι	4 (γ1,γ2,γ3,γ4)	2 (α1,α2)	-	-	-
Αριθμός περιοχών βαρείας αλυσίδας	4	4	5	4	5
Μοριακό βάρος βασικής μονάδος	150	160	180	184	188
Υδατάνθρακες (%)	3	8	12	13	12
Συγκέντρωση στον ορό (mg/ml)	8-16	1,4-4	0.5-2	0-0.4	17-450μg/ml
Αναλογία (%) των συνολικών ανοσοσφαιρινών	80	13	6	1	0,002
Ημιπερίοδος ζωής (ημέρες)	21	6	5	3	2,5

Η IgG είναι η κυρίως παραγόμενη ανοσοσφαιρίνη κατά την δευτερογενή ανοσιακή απόκριση και συνιστά την πλειονότητα των αντισωμάτων στα οποία βασίζεται η χημική ανοσία έναντι των παθογόνων μικροοργανισμών. Υπάρχουν 4 υποτάξεις IgG ανοσοσφαιρίνης, κάθε μια από τις οποίες έχει διαφορετικές σταθερές περιοχές και επιτελούν

διαφορετικές λειτουργίες. Η ημιπερίοδος ζωής των IgG ανοσοσφαιρινών είναι κατά μέσον όρο 21 ημέρες αλλά υπάρχει διακύμανση μεταξύ των 4 υποτύπων. Οι IgG ανοσοσφαιρίνες διαπερνούν εύκολα στον εξωαγγειακό χώρο και μέσω του πλακούντα στο έμβρυο. Η IgA ανοσοσφαιρίνη διακρίνεται σε δύο υποτάξεις (IgA₁ και IgA₂), συντίθεται στην δευτερογενή ανοσολογική απόκριση και έχει ημιπερίοδο ζωής 6 ημέρες. Διαδραματίζει βασικό ρόλο στην ανοσία των βλεννογόνων (εντέρου, αναπνευστικής οδού, ουρογεννητικά όργανα) όπου εμποδίζει την αποίκιση με παθογόνα. Εκκρίνεται επίσης στο σίελο και τα δάκρυα. Η IgM ανοσοσφαιρίνη συντίθεται στην πρωτογενή ανοσιακή απόκριση και έχει ημιπερίοδο ζωής 6 περίπου ημέρες. Ενεργοποιεί έντονα το συμπλήρωμα και δεν διεισδύει στον πλακούντα λόγω του υψηλού μοριακού της βάρους (κυκλοφορεί ως πενταμερές). Η IgM ανοσοσφαιρίνη εκφράζεται στα περισσότερα B-λεμφοκύτταρα ως ανοσοσφαιρίνη επιφάνειας. Η IgD ανοσοσφαιρίνη κυκλοφορεί ως διαλυτή μορφή σε ελάχιστη ποσότητα, εκφράζεται όμως από την πλειονότητα των B-λεμφοκυττάρων ως ανοσοσφαιρίνη επιφάνειας, ενεργοποιεί τα βασεόφιλα και τα μαστοκύτταρα ώστε να παράγουν αντιμικροβιακά μόρια. Η IgE αποτελεί ελάχιστο μέρος των ανοσοσφαιρινών (0,001%) έχει ημιπερίοδο 2 ημέρες και δεσμεύεται με αλλεργιογόνα και πυροδοτεί την απελευθέρωση σειράς δραστικών μορίων από τα βασεόφιλα και τα μαστοκύτταρα που διαδραματίζουν πρωταρχικό ρόλο στις αλλεργικές αντιδράσεις.

Όπως αναφέρθηκε οι ανοσοσφαιρίνες εκτός από διαλυτά μόρια μπορεί να εδράζονται στην επιφάνεια των B-λεμφοκυττάρων (surface Ig, Sig), όπου αποτελούν μέρος του υποδοχέα τους. Η κάθε ανοσοσφαιρίνη μπορεί να λειτουργήσει ως υποδοχέας αλλά οι IgM και IgD είναι οι κατεξοχήν ανοσοσφαιρίνες της επιφάνειας των B-λεμφοκυττάρων. Οι

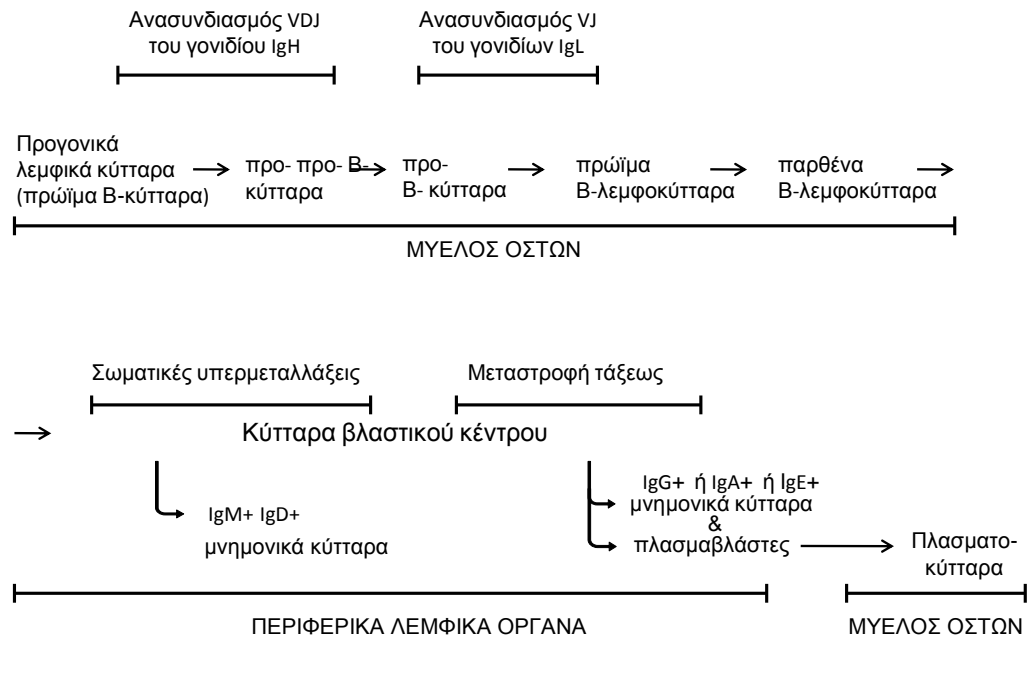
ανοσοσφαιρίνες επιφάνειας εκφράζονται ως μονομερή και δεν διαφέρουν από τις διαλυτές παρά μόνο κατά το ότι διαθέτουν ενδομεμβρανική μοίρα. Στην επιφάνεια των λεμφοκυττάρων οι ανοσοσφαιρίνες συμπλέκονται, με μη-ομοιοπολικούς δεσμούς, με ετεροδιμερές αποτελούμενο από δύο γλυκοπρωτεΐνες, την Ig-α (CD79α) και Ig-β (CD79b) που συνδέονται με δισουφλιδικό δεσμό. Το ετεροδιμερές αποτελεί το σηματογωγό μόριο που μεταβιβάζει το σήμα στον ενδοκυτταρικό χώρο.

Οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες των ανοσοσφαιρινών κωδικοποιούνται σε τρία ασύνδετα μεταξύ τους γονιδιακά συμπλέγματα, ένα για τις βαρειές και δύο για τις ελαφρές αλυσίδες⁶. Το σύμπλεγμα των βαρειών αλυσίδων εδράζεται στην ζώνη q32 του χρωμοσώματος 14. Το σύμπλεγμα αυτό αποτελείται από 65 μικρογονίδια V, καθένα από τα οποία κωδικοποιεί ένα ξεχωριστό μεταβλητό τμήμα της βαρειάς αλυσίδας, 25 μικρογονίδια D που κωδικοποιούν ένα μικρό πεπτίδιο (το ποικίλο τμήμα) που συμπληρώνει το μεταβλητό τμήμα, 6 μικρογονίδια J που κωδικοποιούν τα συζευκτικά τμήματα και μια ομάδα μικρογονιδίων το κάθε ένα από τα οποία κωδικοποιεί ένα από τα σταθερά τμήματα της βαρειάς αλυσίδας. Τα συμπλέγματα των γονιδίων της κ και λ αλυσίδας βρίσκονται στα χρωμοσώματα 2p12 και 22q11.12 αντίστοιχα, έχουν ανάλογη οργάνωση με το σύμπλεγμα της βαρειάς αλυσίδας, δεν διαθέτουν όμως τα μικρογονίδια D.

1.3 Οντογονία των ΠΚ

Τα ΠΚ αποτελούν την τελική και πλέον διαφοροποιημένη μορφή των κυττάρων της Β-λεμφοκυτταρικής σειράς που παράγουν

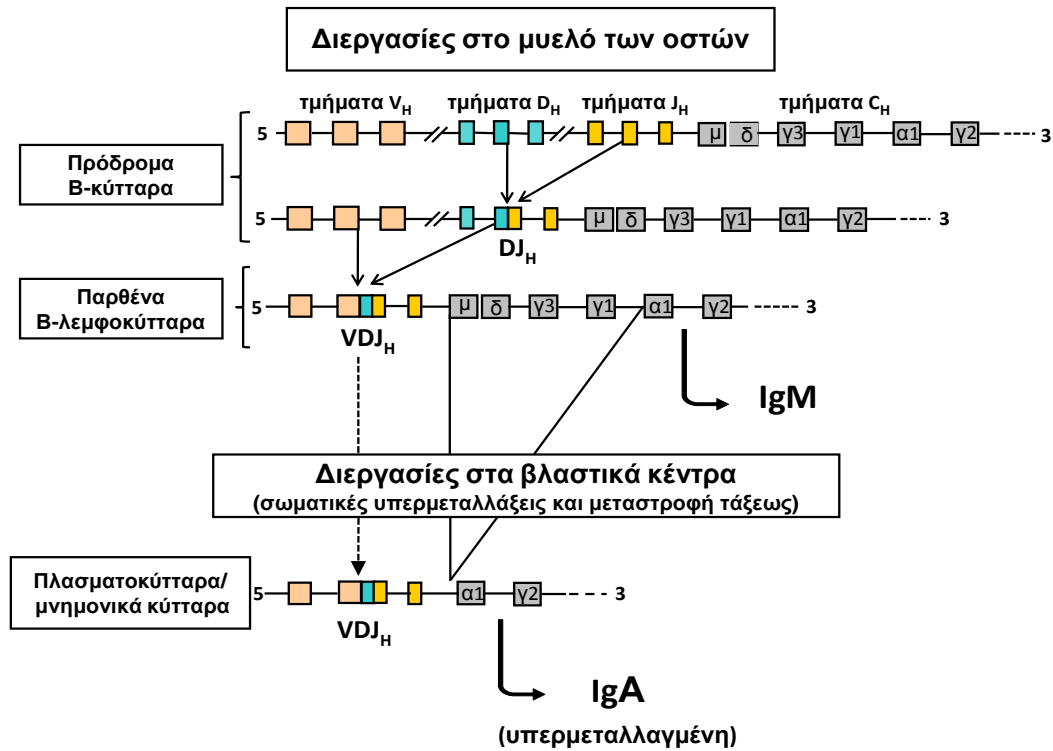
ανοσοσφαιρίνες. Σε μια πρώτη φάση τα προγονικά λεμφικά κύτταρα του ΜΟ των ενηλίκων εξελίσσονται σε Β-λεμφοκύτταρα που εκφράζουν



Σχήμα 2. Στο ΜΟ η εξέλιξη των προγονικών λεμφικών κυττάρων χαρακτηρίζεται από τον ανασυνδυασμό των γονιδίων της βαρείας και στη συνέχεια μιας εκ των δύο ελαφρών αλυσίδων με αποτέλεσμα τη σύνθεση IgM ανοσοσφαιρίνης που λειτουργεί ως υποδοχέας των λεμφοκυττάρων. Τα παραγόμενα παρθένα λεμφοκύτταρα μεταναστεύουν στα περιφερικά λεμφικά όργανα όπου υπό την επίδραση αντιγόνου υφίστανται υπερμεταλλάξεις και μεταστροφή τάξεως παράγοντας μνημονικά κύτταρα και κύτταρα που μεταναστεύουν στο μυελό των οστών όπου εξελίσσονται σε πλασματοκύτταρα.

επιφανειακές IgM και IgD ανοσοσφαιρίνες με μηχανισμούς που δεν απαιτούν την παρουσία ξένων αντιγόνων⁷. Τα με τον τρόπο αυτό παραγόμενα παρθένα Β-λεμφοκύτταρα μεταναστεύουν μέσω της κυκλοφορίας στα περιφερικά λεμφικά όργανα όπου υπό την επίδραση αντιγόνων και κατάλληλων συν-σηματοδοτήσεων ωριμάζουν περαιτέρω σε κύτταρα που εκφράζουν άλλες τάξεις ανοσοσφαιρινών. Τα κύτταρα

αυτά μεταναστεύουν στο ΜΟ όπου ωριμάζουν σε ώριμα ανοσοεκκριτικά κύτταρα (ΠΚ) που εκκρίνουν ανοσοσφαιρίνες. Κεντρική σημασία στην



Σχήμα 3. Σχηματική παράσταση του ανασυνδυασμού της βαρείας αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών των υπερμεταλλάξεων και της μεταστροφής τάξεως. Η διαδικασία αρχίζει με ανασυνδυασμό του D_H και J_H γονιδίων. Ακολουθεί ανασυνδυασμός του V_H μικρογονιδίου με το γονίδιο $DHJH$ και σχηματίζεται ένας πλήρης $VDJH$ ανασυνδυασμός. Ακολουθεί ανασυνδυασμός μιας των ελαφρών αλυσίδων με τελικό αποτέλεσμα την παραγωγή ενός πλήρους μορίου ανοσοσφαιρίνης IgM που λειτουργεί ως επιφανειακός υποδοχέας. Τα ούτως παραγόμενα λεμφοκύτταρα στα περιφερικά λεμφικά όργανα υφίστανται υπερμεταλλάξεις και μεταστροφή τάξεως εξελισσόμενα σε μνημονικά κύτταρα ή πλασματοκύτταρα.

διαφοροποίηση των Β-λεμφοκυττάρων αποτελούν οι μεταβολές των γονιδίων των ανοσοσφαιρινών που συμβαίνουν σε δύο φάσεις (σχήμα 2 και 3)⁸. Κατά την πρώιμη ανάπτυξη των προδρόμων Β-κυττάρων στον ΜΟ (στο στάδιο των πρώιμων προ-προ-Β και προ-Β-κυττάρων) τα μεταβλητά (variable, V), τα ποικίλα (diversity, D) και τα συζευκτικά

τμήματα (joining, J) του γονιδίου της βαρείας αλυσίδας (IgH) των ανοσοσφαιρινών υφίστανται ανασυνδυασμό με συντεταγμένο τρόπο (αρχικά του D_H με το J_H και ακολούθως το V_H με το DJ_H) με συνέπεια την παραγωγή του πρωτογενούς ανοσοσφαιρικού ρεπερτορίου^{9,10,11}. Λειτουργεί αλληλικός αποκλεισμός δηλ. μόλις ένας ανασυνδιασμός VDJ_H επιτευχθεί στο ένα αλλήλιο του κυττάρου, το άλλο αλλήλιο του τόπου IgH αποκλείεται από την περαιτέρω διαδικασία ανασυνδυασμού. Αποτέλεσμα των διεργασιών αυτών είναι η σύνθεση της βαρείας αλυσίδας μ, η οποία ανιχνεύεται στο πρωτόπλασμα των προ-B-κυττάρων. Ακολουθεί ανασυνδυασμός των γονιδίων των ελαφρών αλυσίδων, αρχικά του τόπου της αλυσού κ και αν τούτο δεν οδηγήσει σε λειτουργικό αποτέλεσμα ακολουθεί ανασυνδυασμός του γονιδίου της αλυσίδας λ¹³. Όπως ήδη τονίσθηκε κάθε B-κύτταρο εκφράζει την βαρεία αλυσίδα ενός μόνο χρωμοσώματος (αλληλικός αποκλεισμός) και μόνον μια τάξη ελαφρών αλυσίδων (κ ή λ). Κατά συνέπεια κάθε B-κύτταρο παράγει μία συγκεκριμένη ανοσοσφαιρίνη με μία μόνο αντιγονική ειδικότητα. Με την ολοκλήρωση και της διαδικασίας αυτής παράγεται IgM ανοσοσφαιρίνη που διεισδύει στην επιφάνεια των πρώιμων κυττάρων και λειτουργεί ως υποδοχέας της. Εάν τα καταυτόν τον τρόπο παραγόμενα λεμφοκύτταρα εκφράζουν αυτοαντιδρώντες υποδοχείς είτε αποπίπτουν¹⁴ είτε υφίστανται αναδιαμόρφωση των υποδοχέων τους με δευτερογενή ανασυνδυασμό του γονιδίου V(D)J¹⁵. Ο υποδοχέας είναι απαραίτητος για την επιβίωσή του λεμφοκυττάρου και την περαιτέρω διαφοροποίησή του¹⁶. Τα κύτταρα αυτά ωριμάζουν περαιτέρω, αποκτώντας και υποδοχείς IgD, σε παρθένα B-λεμφοκύτταρα και μεταναστεύουν από τον ΜΟ στα δευτερογενή λεμφικά όργανα όπου διαφοροποιούνται σε βραχύβια ΠΚ που παραμένουν τοπικά, παράγουν IgM ανοσοσφαιρίνη και αποπίπτουν εντός 3 ημερών. Εναλλακτικά εισέρχονται μέσω της ζώνης το μανδύα στα

βλαστικά κέντρα. Εκεί υπό την επίδραση του αντιγόνου υποβάλλονται στην διαδικασία ωρίμανσης της συγγένειας^{8,17}. Η διαδικασία αυτή είναι αποτέλεσμα αλληλεπιδράσεων των Β-λεμφοκυττάρων με αντιγονο-παραουσιαστικά δενδριτικά κύτταρα και Τ-λεμφοκύτταρα. Στην φάση αυτή συμβαίνουν διαδοχικά δύο μείζονα μοριακά γεγονότα, οι σωματικές υπερμεταλλάξεις και αντιστροφή τάξεως (switch) των ανοσοσφαιρινών. Οι σωματικές υπερμεταλλάξεις^{18,19,20,21,22} συνίστανται σε σημειακές μεταλλάξεις (κυρίως ανταλλαγές ενός νουκλεοτιδίου αλλά και απαλειφές και διπλασιασμούς) των ανασυνδυασμένων γονιδίων της βαρείας και ελαφράς αλυσίδας της ανασυνδυασμένης ανοσοσφαιρίνης στην περιοχή που δεσμεύει το αντιγόνο, και έχουν στόχο την ενίσχυση της ειδικότητας και δεσμευτικής ικανότητας της ανοσοσφαιρίνης. Πράγματι επιλέγονται τελικά τα λεμφοκύτταρα που παράγουν ανοσοσφαιρίνη με υψηλή συγγένεια προς το αντιγόνο που τους έχουν παρουσιάσει τα θηλακικά δενδριτικά κύτταρα. Η επιτυχής διαδικασία των υπερμεταλλάξεων έχει ως συνέπεια την αποφυγή της απόπτωσης και τελικά την διαφοροποίηση των κυττάρων σε μνημονικά κύτταρα ή πλασματοκύτταρα²³. Η μεταστροφή τάξεως οδηγεί σε αλλαγή της σταθερής περιοχής της ανοσοσφαιρίνης από IgM σε IgG ή IgA ή IgE με συνέπεια την παραγωγή ενός από τους ισότυπους αυτούς με τα αντίστοιχα λειτουργικά χαρακτηριστικά²⁴ (Σχήμα 2 και 3). Από τα μετακεντροβλαστικά (post germinal center) αυτά Β- κύτταρα που προκύπτουν ύστερα από αυτές τις διεργασίες (δηλαδή που έχουν ολοκληρώσει επιτυχώς τις σωματικές υπερμεταλλάξεις και τη μεταστροφή τάξεως) δημιουργούνται οι πλασμαβλάστες οι οποίες μεταναστεύουν και προσκολλώνται στο ΜΟ όπου διαφοροποιούνται σε ώριμα, μακρόβια ΠΚ.

1.4 Ανοσοφαινότυπος των φυσιολογικών ΠΚ.

Πολύ νωρίς διαπιστώθηκε και έγινε ευρέως αποδεκτό ότι τα ΠΚ δεν εκφράζουν τα αντιγόνα διαφοροποιήσεως που χαρακτηρίζουν την Β-λεμφοκυτταρική σειρά. Τούτο εν μέρει μόνον ανταποκρίνεται στην πραγματικότητα. Πράγματι τα ΠΚ δεν εκφράζουν επιφανειακές ανοσοσφαιρίνες, τα αντιγόνα HLA τάξεως II, το CD20 και άλλα αντιγόνα της Β-λεμφοκυτταρικής σειράς, εξακολουθούν όμως να εκφράζουν, ως επί το πλείστον, το αντιγόνο CD19.

Πολύ σημαντική από πρακτικής σκοπιάς είναι η έκφραση από τα ΠΚ των αντιγόνων CD138 και CD38. Το CD138 είναι η συνδεκάνη-1 (syndecan-1) η οποία ανήκει στην οικογένεια πρωτεογλυκανών θειικής ηπαράνης²⁵. Η οικογένεια περιλαμβάνει δύο ομάδες, τις συνδεκάνες 1 και 3 και τις συνδεκάνες 2 και 4, που όλες προήλθαν από διπλασιασμό ενός αρχικού γονιδίου. Πρόκειται για διαμεμβρανικές πρωτεΐνες, με βραχύ COOH- τελικό ενδοκυτταροπλασματικό άκρο, που φέρουν 3-5 αλυσίδες θετικής ηπαράνης και θειικής χονδροϊτίνης και δρουν ως συνυποδοχείς ειδικά για υποδοχείς συζευγμένους με G- πρωτεΐνες. Η διαμεμβρανική και ενδοκυτταροπλασματική μοίρα τους είναι άκρως συντηρημένες (60-70%). Οι συνδεκάνες αλληλεπιδρούν μέσω της αλυσίδας θειικής ηπαράνης με διαλυτούς συζεύκτες όπως τον FGF, VEGF και TGF-β καθώς και με μόρια της θεμελίου ουσίας όπως η ινωδονεκτίνη. Οι συνδεκάνες συμμετέχουν σε διακυτταρικές προσκολλήσεις μέσω μορίων που δεσμεύουν ηπαρίνη και εκφράζονται σε γειτονικά κύτταρα, αλλά εμπλέκονται και στην κυτταρική σηματοδότηση και την οργάνωση του κυτταροσκελετού. Πιθανώς η κύρια λειτουργία των συνδεκανών συνίσταται στη ρύθμιση της εξαρτημένης από συζευκτές ενεργοποίησης των κύριων σηματοδοτικών υποδοχέων της κυτταρικής επιφάνειας. Η έκφραση της συνδεκάνης-1 (CD138) περιορίζεται, μεταξύ των κυττάρων

του λεμφικού ιστού, στα ΠΚ μολονότι εκφράζεται και σε ποικιλία άλλων κυττάρων, επιθηλιακών, μεσεγχυματικών καθώς και σε κακοήθη νεοπλάσματα.

Το CD38 είναι πολυλειτουργική διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη με δράση εκτοενζύμου αλλά και κυτταρικού υποδοχέα²⁶. Η εξωκυττάρια μοίρα της πρωτεΐνης έχει ενζυμική δράση. Καταλύει την σύνθεση της κυκλικής ADP- ριβόζης (cADP-R) από το νικοτιναμίδο- αδενίνο-δινουκλεοτίδιο (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD) δηλαδή έχει δράση ADP- ριβοζυλοκυκλάσης) αλλά και την υδρόλυση της cADP-R, δηλαδή έχει και δράση υδροξυλάσης της cADP-R. Τα προϊόντα των αντιδράσεων αυτών συμμετέχουν στη ρύθμιση των ιόντων ασβεστίου. Το CD38 δρα και ως προσκολλητικό μόριο, αλληλεπιδρώντας με ίδια μόρια γειτονικών κυττάρων ή άλλους συζεύκτες. Τέλος συμμετέχει στην κυτταρική σηματοδότηση συνδεδεμένο με τον υποδοχέα των Β-λεμφοκυττάρων. Η ενζυμική δραστηριότητα του μορίου δεν συνδέεται με τις σηματογωγικές του ιδιότητες.

Το CD38 εκφράζεται ευρύτατα στα κύτταρα του λεμφικού ιστού. Ανευρίσκεται στα πρόδρομα κύτταρα της λεμφικής σειράς, υποχωρεί με την ωρίμανσή τους και επανεμφανίζεται στα κύτταρα του βλαστικού κέντρου. Εκφράζεται επίσης στα CD4+, στα CD8+ λεμφοκύτταρα και στα κύτταρα NK. Δεν υπάρχει στα μνημονικά Β-λεμφοκύτταρα αλλά εκφράζεται στα διαφοροποιημένα (μετά το στάδιο της πλασμαβλάστης) ΠΚ και μάλιστα πολύ εντονότερα σε σύγκριση με τα υπόλοιπα κύτταρα του ΜΟ.

Το CD138 χρησιμοποιείται στο εργαστήριο για την ανοσοϊστοχημική ταυτοποίηση των ΠΚ, ενώ η ταυτοποίησή τους με τη

μεθοδολογία της κυτταρομετρίας ροής απαιτεί συνδιασμένη χρώση των CD138 και CD38.

2. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΩΣΕΙΣ

Αύξηση των πλασματοκυττάρων στο ΜΟ ως συνέπεια ποικίλων συστηματικών νόσων δεν είναι σπάνιο εύρημα^{27,28}. Οι κυριότερες υποκείμενες αιτίες αντιδραστικών πλασματοκυτταρώσεων αναγράφονται στον πίνακα 2.

Πίνακας 2. Αιτίες αντιδραστικής πλασματοκυτταρώσεως

1. Χρόνιες λοιμώξεις (Λεϊσμανίαση, φυματίωση, βρουκελλώσεις, τοξοπλάσμωση, χρόνιες ηπατίτιδες Β και C, λοίμωξη HIV κτλ)
2. Αυτοάνοσα νοσήματα (ρευματοειδής αρθρίτιδα, συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, αγγειίτιδες κτλ)
3. Κοκκιωματώδεις νόσοι (σαρκοείδωση)
4. Ηπατικά νοσήματα (κίρρωση ήπατος)
5. Καταστάσεις υπερευαισθησίας
6. Σακχαρώδης διαβήτης
7. Κακοήθη νεοπλασμάτα • αιματολογικά (v. Hodgkin, ορισμένα λεμφώματα, μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα)
• μη αιματολογικά
8. Αιματολογικά νοσήματα (σιδηροπενική αναιμία, μεγαλοβλαστικές αναιμίες, φαρμακευτική ακοκκιοκυτταραιμία, επίκτητη αυτοάνοση αιμόλυση κτλ)
9. Διάφορα (αγγειοανοσοβλαστική λεμφαδενοπάθεια, πολυεστιακή νόσος Castleman)

Στις αντιδραστικές πλασματοκυτταρώσεις η αναλογία των ΠΚ μεταξύ των εμπύρηνων κυττάρων του ΜΟ κυμαίνεται συνήθως από 5% έως 20%, σε σπάνιες όμως περιπτώσεις η αναλογία μπορεί να υπερβεί και το 50%. Τα ΠΚ έχουν ως επί το πλείστον τη μορφολογία των ώριμων

φυσιολογικών μορφών αν και μερικά μπορεί να εμφανίζουν ορατό πυρήνιο και διάχυτη χρωματίνη ή οριακού βαθμού κυτταροπλασματικά κενοτόπια ή έγκλειστα, καθώς και ενδοπυρηνικά έγκλειστα¹. Τα σωμάτια Russel συνιστούν μεγάλα ομοιογενή έγκλειστα υαλίνης, είναι συχνά μονήρη μεγέθους 2-3μm. Στην χρώση MGG διαλύονται αφήνοντας ένα μεγάλο κενοτόπιο. Τα κύτταρα Mott χαρακτηρίζονται από την παρουσία πολλαπλών κενοτοπίων ή εγκλείστων που δίδουν στα ΠΚ βοτρυοειδή εμφάνιση. Τα θησαυροκύτταρα έχουν μικρό πυκνοτικό πυρήνα και ογκώδες ωχρο κύτταρόπλασμα που είναι συνέπεια διατεταμένου ενδοπλασματικού δικτύου. Τα φλογώδη κύτταρα έχουν ροδόχρουν κύτταρόπλασμα που αποδίδεται στη σύνθεση υδρογονανθράκων. Τέλος ενίοτε ανευρίσκονται ΠΚ που περιέχουν κυτταροπλασματικούς κρυστάλλους. Όλες οι ως άνω αλλοιώσεις είναι συνέπειες αυξημένης σύνθεσης ανοσοσφαιρινών στο αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο, αποτελώντας χαρακτηριστικά ανοσολογικής διεγέρσεως.

Σε ιστολογικές τομές η κατανομή των ΠΚ είναι ενδιάμεση ιδιαίτερα πέριξ τριχοειδών και μακροφάγων. Μπορεί να σχηματίζουν μικρούς σωρούς αλλά ποτέ μεγάλους ομοιογενείς σχηματισμούς. Συχνά οι αντιδραστικές πλασματοκυτταρώσεις συνδυάζονται με άλλες αντιδραστικές αλλοιώσεις όπως κοκκιοκυτταρική υπερπλασία, συσσωρεύσεις λεμφοκυττάρων, λιπιδικά κοκκιώματα και αύξηση μακροφάγων, μαστοκυττάρων, ηωσινοφίλων και μεγακαρυοκυττάρων.

Στις αντιδραστικές πλασματοκυτταρώσεις τα ΠΚ είναι πάντοτε πολυκλωνικά και η σχέση κ προς λ αλυσίδων πάντοτε εντός φυσιολογικών ορίων (περίπου 2:1). Τα ανοσοφαινοτυπικά χαρακτηριστικά επίσης δε διαφέρουν από αυτά των φυσιολογικών ΠΚ.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Β΄

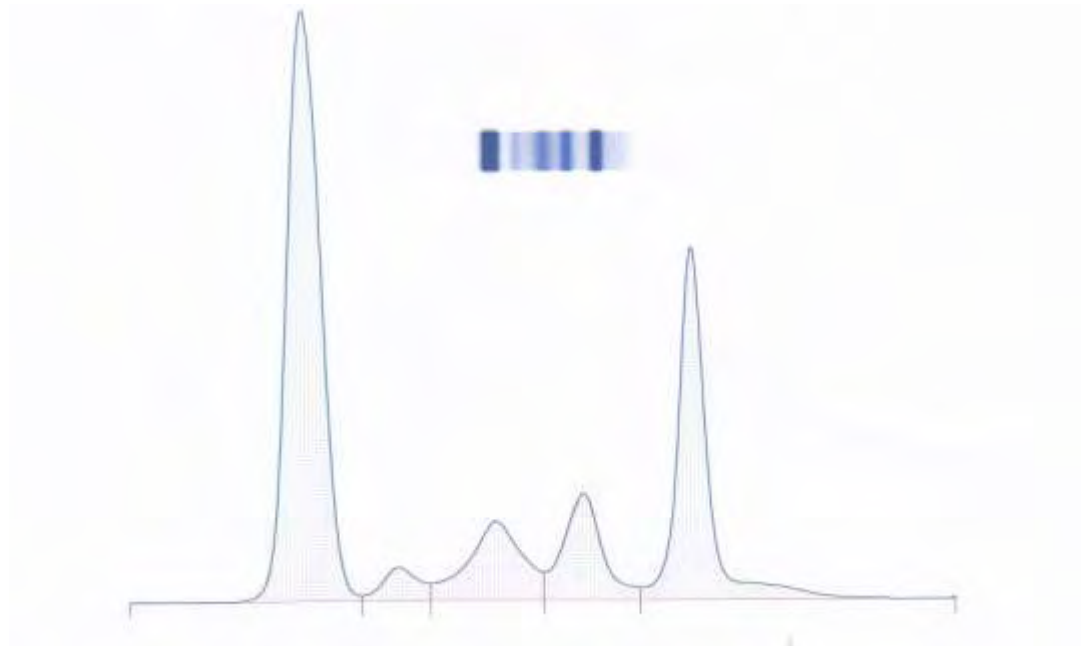
1. ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΕΣ ΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ

1.1 Γενικά

Τα πλασματοκυτταρικά νεοπλάσματα συνιστούν ομάδα κακοήθων νόσων που προκύπτουν από την ανάπτυξη ενός κλώνου ΠΚ²⁹. Τα πλασματοκυτταρικά νεοπλάσματα χαρακτηρίζονται στην πλειονότητα των περιπτώσεων από την παραγωγή και έκκριση μιας ηλεκτροφορητικά και ανοσοϊστοχημικά ομοιογενούς (μονοκλωνικής) ανοσοσφαιρίνης ή τμήματος ανοσοσφαιρίνης στον ορό ή και στα ούρα που είναι γνωστή ως Μ- πρωτεΐνη ή παραπρωτεΐνη. Στη βιβλιογραφία τα νοσήματα και οι καταστάσεις στις οποίες ανευρίσκεται παραπρωτεΐνη ονομάζονται παραπρωτεϊναιμικές ή μονοκλωνικές γαμμοπάθειες. Τα πλασματοκυτταρικά νεοπλάσματα εντάσσονται στην ομάδα των παραπρωτεϊναιμιών αλλά οι όροι δεν είναι ταυτόσημοι. Παρουσία παραπρωτεΐνης έχει περιγραφεί σε αξιόλογη αναλογία πασχόντων από νεοπλασίες του λεμφικού ιστού όπως στην χρόνια λεμφογενή λευχαιμία, και λεμφώματα της Β- και Τ- κυτταρικής σειράς. Επίσης σποραδικά ανιχνεύεται σε μια ποικιλία άλλων νόσων όπως σε συμπαγείς όγκους, αυτοάνοσα νοσήματα, νόσο του Gaucher κα.

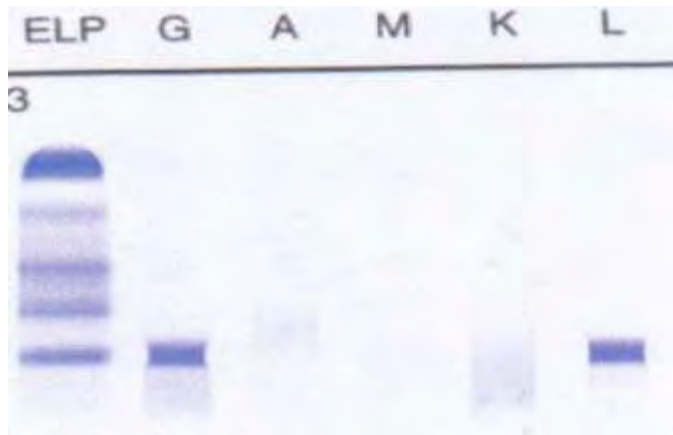
Η ανεύρεση της παραπρωτεΐνης γίνεται συνήθως με ηλεκτροφόρηση ορού ή συμπυκνωμένων ούρων σε πηκτή αγαρόζης ή ταινίες οξεικής κυτταρίνης^{29,30}. Στην ηλεκτροφόρηση ορού οι ανοσοσφαιρίνες κινούνται κατά ετερογενή τρόπο και καταλαμβάνουν μια ευρεία περιοχή που αντιστοιχεί στην περιοχή των γ-σφαιρινών. Αντίθετα η παραπρωτεΐνη φαίνεται ως πυκνή, ξεχωριστή ζώνη ενώ στο πυκνομετρικό διάγραμμα ως οξύαιμο κλάσμα (Σχήμα 4). Οι

παραπρωτεΐνες κινούνται συνήθως στην περιοχή των γ -σφαιρινών αλλά λιγότερο συχνά



Σχήμα 4. Ηλεκτροφόρηση πρωτεϊνών ορού με οξύαιχμη ταινία (παραπρωτεΐνη) στη περιοχή των γ σφαιρινών.

μπορεί να κινηθούν στις περιοχές των β - ακόμη και των α_2 - σφαιρινών. Μια παραπρωτεΐνη για να είναι ανιχνεύσιμη στην ηλεκτροφόρηση ορού πρέπει η συγκέντρωσή της να υπερβαίνει το 0,5g/dL. Η ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών του ορού επιτρέπει τον προσδιορισμό της σχετικής ποσότητας των παραπρωτεϊνών. Σε κάθε ιδιαίτερο ασθενή η συγκέντρωση της παραπρωτεΐνης αντανακλά το φορτίο των κυττάρων που την παράγουν και επομένως ο προσδιορισμός της είναι χρήσιμος στην παρακολούθηση των ασθενών. Εφόσον στην ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών ανιχνευθεί παραπρωτεΐνη απαιτείται επιβεβαίωση της μονοκλωνικότητάς της με ανοσοηλεκτροφόρηση ή ανοσοκαθήλωση. Η μεθοδολογία αυτή διακρίνει την τάξη ανοσοσφαιρινών στην οποία ανήκει η παραπρωτεΐνη και τον τύπο (κ ή λ) των ελαφρών της αλυσίδων (Σχήμα 5).



Σχήμα 5. Ανοσοκαθίλωση πρωτεϊνών ορού ασθενούς με IgGλ παραπρωτεΐνη.

1.2 Ταξινόμηση και διαγνωστικά κριτήρια πλασματοκυτταρικών νεοπλασμάτων.

Τα κατεξοχήν πλασματοκυτταρικά νεοπλάσματα, κακοήθη ή δυνητικά κακοήθη, γνωστά και ως πλασματοκυτταρικές δυσκρασίες, αναγράφονται στον πίνακα 3²⁹.

Πίνακας 3. Πλασματοκυτταρικά νεοπλάσματα

<ol style="list-style-type: none"> 1. Μονοκλωνική γαμμοπάθεια αδιευκρίνιστης σημασίας 2. Πολλαπλό μύελωμα <ul style="list-style-type: none"> • Ασυμπτωματικό μύελωμα • Συμπτωματικό μύελωμα • Μη εκκριτικό μύελωμα • Πλασματοκυτταρική λευχαιμία 3. Μονήρες πλασμοκύττωμα <ul style="list-style-type: none"> • Ενδομυελικό • Εξωμυελικό 4. Οστεοσκληρυντικό μύελωμα ή σύνδρομο POEMS 5. Πρωτοπαθής συστηματική αμυλοείδωση

Η διεθνής ομάδα μυελώματος καθόρισε πρόσφατα τα διαγνωστικά κριτήρια των κλινικοεργαστηριακών αυτών οντοτήτων (πίνακας 4)^{29,31}.

Πίνακας 4. Διαγνωστικά κριτήρια πλασματοκυτταρικών νεοπλασμάτων

Μονοκλωνική γαμμοπάθεια αδιευκρίνιστης σημασίας	<ul style="list-style-type: none"> • Πρωτεΐνη Μ στον ορό <3g/dL • Αναλογία πλασματοκυττάρων στον ΜΟ<10% • Απουσία ενδείξεων λεμφοϋπερπλαστικής διαταραχής της Β- κυτταρικής σειράς • Απουσία βλαβών στα όργανα-στόχους ή ιστούς
Ασυμπτωματικό μύελωμα	<ul style="list-style-type: none"> • Πρωτεΐνη Μ στον ορό $\geq 3\text{g/dL}$ και/ή αναλογία πλασματοκυττάρων στο ΜΟ $\geq 10\%$ • Απουσία βλαβών στα όργανα-στόχους ή ιστούς
Συμπτωματικό μύελωμα	<ul style="list-style-type: none"> • Πρωτεΐνη Μ στον ορό ή στα ούρα • Μονοκλωνικά πλασματοκύτταρα στο ΜΟ • Παρουσία μιας ή περισσότερων βλαβών στα όργανα στόχους ή ιστούς
Μονήρες ενδομυελικό πλασμοκύτταμα	<ul style="list-style-type: none"> • Μια μονήρης περιοχή οστικής καταστροφής, οφειλόμενης σε διήθηση με κλωνικά πλασματοκύτταρα • Απουσία πρωτεΐνης Μ (ή ανίχνευση μικρής ποσότητας) στον ορό ή στα ούρα • Απουσία διηθήσεως ΜΟ με πλασματοκύτταρα • Απουσία βλαβών στα όργανα-στόχους, περιλαμβανομένης και απουσίας άλλων οστικών βλαβών (με ακτινολογικό έλεγχο και MRI σπονδυλικής στήλης και πυέλου)
Μονήρες πλασμοκύττωμα	<ul style="list-style-type: none"> • Μονήρης βλάβη οστού ή μαλακών μορίων οφειλόμενη σε διήθηση με κλωνικά πλασματοκύτταρα • Φυσιολογικός ΜΟ χωρίς ενδείξεις κλωνικής πλασματοκυτταρικής παρουσίας • Απουσία Μ πρωτεΐνης (ή ανίχνευση μικρού κλάσματος) στον ορό ή στα ούρα • Απουσία προσβολής οργάνων-στόχων ή ιστών

Πίνακας 4 (συνέχεια)

<p>Συστηματική πρωτοπαθής (AL) αμυλοείδωση</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Παρουσία συστηματικού συνδρόμου σχετιζόμενου με εναπόθεση αμυλοειδούς • Θετική χρώση ερυθρού του Κονγκό σε οποιοδήποτε ιστό (επιχρίσματα λίπους, μυελός των οστών, βιοψίας οργάνου) • Ενδείξεις μονοκλωνικής αναπτύξεως πλασματοκυττάρων (M- πρωτεΐνη στον ορό ή τα ούρα, παθολογική σχέση ελεύθερων ελαφρών αλυσίδων στον ορό, ή κλωνικών πλασματοκυττάρων στο ΜΟ) • Ενδείξεις ότι το αμυλοειδές συνδέεται με ελαφρές αλυσίδες με άμεση εξέταση του αμυλοειδούς (χρώση ανοσοϋπεροξειδάσης, άμεση αλληλούχιση)
<p>Σύνδρομο POEMS</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Παρουσία μονοκλωνικής πλασματοκυτταρικής διαταραχής, περιφερικής νευροπάθειας και ενός από τα ακόλουθα: οστεοσκληρυντικό μύελωμα, νόσος Castleman, οργανομεγαλία, ενδοκρινοπάθεια, οίδημα, δερματικές αλλοιώσεις και οίδημα θηλής

Στην κατηγορία αυτή των νοσημάτων περιλαμβάνονται επίσης η μακροσφαιριναιμία του Waldstrom που ταξινομείται στην ταξινόμηση του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας ως λεμφοπλασματοκυτταρικό λέμφωμα και οι νόσοι βαρειών αλυσίδων που συνιστούν εξαιρετικά ετερογενής ιστοπαθολογικά ομάδα. Οι δύο αυτές οντότητες δε θα αναλυθούν στην παρούσα ανασκόπηση.

Ευρήματα προσβολής οργάνων ή ιστών (βλάβη οργάνων-στόχων ή ιστών)²⁹ που οφείλεται στη νεοπλασματική ανάπτυξη των ΠΚ είναι κριτικής σημασίας στη διαφορική διάγνωση των πλασματοκυτταρικών νεοπλασιών, δεδομένου ότι χαρακτηρίζει και είναι προϋπόθεση στη διάγνωση του συμπτωματικού ΠΜ. (Πίνακας 5):

Πίνακας 5. Βλάβη οργάνων (οργάνων-στόχων) ή ιστού οφειλόμενη σε πλασματοκυτταρική μονοκλωνική εξεργασία

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none">• Αναιμία: αιμοσφαιρίνη <11g/dL ή 2g/dL κάτω του φυσιολογικού• Υπερασβετταϊμία: Ca⁺⁺ ορού >11mg/dL ή 1mg πάνω από το ανώτερο φυσιολογικό• Νεφρική ανεπάρκεια: κρεατινίνη >2mg/dL• Οστικές βλάβες: οστεολύσεις ή οστεοπόρωση με συμπιεστικά κατάγματα |
|---|

- Αναιμία (Hb<11g/dL) βρίσκεται στο 60-70% των ασθενών κατά τη διάγνωση του ΠΜ και τελικά εμφανίζεται σε όλους τους ασθενείς. Στο 20% περίπου η αναιμία είναι σοβαρού βαθμού. Η αναιμία είναι ορθόχρωμη-ορθοκυτταρική ή ελαφρά μακροκυτταρική και έχει πολυπαραγοντική αιτιολογία. Τα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης δε συσχετίζονται με το βαθμό διήθησης του ΜΟ και έχει χαρακτηριστικά αναιμίας χρονίων διαταραχών. Υπάρχει μειωμένη παραγωγή ερυθροποιητίνης αλλά και ανταπόκρισης των προδρομικών ερυθροποιητικών κυττάρων στην ερυθροποιητίνη.
- Υπερασβετταϊμία ανευρίσκεται στο 15% των περιπτώσεων ΠΜ κατά τη διάγνωση.
- Η νεφρική ανεπάρκεια είναι χαρακτηριστικό γνώρισμα του ΠΜ και συναντάται στο 20% τουλάχιστον των ασθενών κατά τη διάγνωση. Η αιτιολογία της είναι πολυπαραγοντική. Η απέκκριση ελαφρών αλυσίδων μπορεί να οδηγήσει σε συσσώρευσή της στα ουροφόρα σωληνάρια με συνέπεια την απόφραξή της και την ατροφία και ίνωση των σπειραμάτων. Επίσης μπορεί να προκύπτει από διάχυτη εναπόθεση στη βασική μεμβράνη των ουροφόρων σωληναρίων, το διάμεσο ιστό, ακόμη και στα σπειράματα, νεφροτοξικών ελαφρών αλυσίδων. Αμυλοείδωση νεφρού ή πλασματοκυτταρική διήθηση των

νεφρών είναι σπάνιες αιτίες νεφρικής ανεπάρκειας. Η κατάσταση επιδεινώνεται όταν υπάρχει υπερασβεστιαμία, υπερουριχαιμία ή ο ασθενής έχει λάβει νεφροτοξικά φάρμακα (π.χ. μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη).

- Οστεολυτικές βλάβες, οστεοπενία και ενίοτε παθολογικά κατάγματα ανευρίσκονται στο 70-80% των περιπτώσεων ΠΜ. Οι βλάβες, στις απλές ακτινογραφίες, εμφανίζονται ως ‘περιγεγραμμένες’, στρογγυλές διαβρωτικές αλλοιώσεις στις περιοχές ερυθρού μυελού των οστών, χωρίς εμφανή σχηματισμό νέου οστού. Η σπονδυλική στήλη, το κρανίο, οι πλευρές και η πύελος προσβάλλονται συνηθέστατα και ακολουθούν τα βραχιόνια, τα μηριαία οστά και η γνάθος. Το σπινθηρογράφημα οστών με τεχνήτιο-99 υστερεί στην αποκάλυψη της οστικής προσβολής, διότι τα ευρήματά του αντανακλούν την οστεοβλαστική δραστηριότητα, που στο ΠΜ είναι ασήμαντη ή ελλείπει. Μεγάλη ευαισθησία στην αποκάλυψη οστικής νόσου έχει η απεικόνιση με μαγνητικό συντονισμό (MRI), που είναι ιδιαίτερα χρήσιμη σε ασυμπτωματική οστική νόσο.
- Αμυλοείδωση ανευρίσκεται σε 10% των περιπτώσεων ΠΜ αν και είναι συχνότερη η υποκλινική παρουσία της. Το σύνδρομο υπεργλοιοτήτας δεν είναι συχνό στο ΠΜ και η συσχέτιση μεταξύ της εργαστηριακής εκτίμησης της γλοιοτήτας του πλάσματος και της συμπτωματολογίας είναι πτωχή. Τα συμπτώματα πάντως, όταν εμφανίζονται, οφείλονται σε επιβράδυνση της ροής του αίματος στον εγκέφαλο, τον πνεύμονα, τους νεφρούς και άλλα όργανα. Το σύνδρομο είναι συχνότερο σε μυελώματα που παράγουν IgA παραπρωτεΐνη, λόγω της ιδιότητάς της να πολυμερίζεται. Σημαντικό κλινικό εύρημα είναι η διάταση των φλεβών και οι φλογοειδείς

αιμορραγίες του αμφιβληστροειδούς. Τέλος η ευαισθησία σε λοιμώξεις είναι μείζον αίτιο νοσηρότητας και θνητότητας του ΠΜ, οφειλόμενο, μεταξύ των άλλων, στην υπογαμμασφαιριναιμία. Οι λοιμώξεις οφείλονται στην αρχή σε ελυτροφόρα κυρίως βακτήρια όπως ο πνευμονιόκοκκος και ο αιμόφιλος της ινφλουέντζας.

1.3 Μονοκλωνική γαμμοπάθεια αδιευκρίνιστης σημασίας

Η μονοκλωνική γαμμοπάθεια αδιευκρίνιστης σημασίας (monoclonal gammopathy of undetermined significance, MGUS) δηλώνει την παρουσία μονοκλωνικής ανοσοσφαιρίνης (παραπροτεΐνης) στον ορό ή στα ούρα σε άτομα χωρίς στοιχεία πολλαπλού μυελώματος, μακροσφαιριναιμίας Waldstrom, αμυλοείδωσης ή άλλης σχετικής πλασματοκυτταρικής ή λεμφοϋπερπλαστικής διαταραχής. Τα διαγνωστικά κριτήρια της MGUS δίδονται στον πίνακα 4. Η συχνότητα της MGUS ανέρχεται στο 3% των ατόμων ηλικίας άνω των 50 ετών. Η συχνότητά της αυξάνεται με την ηλικία (1,7% σε άτομα 50-59 ετών αλλά >5% σε άτομα ηλικίας άνω των 70 ετών)³². Είναι συχνότερη στους άνδρες εν σχέσει με τις γυναίκες και στις ΗΠΑ, πολύ συχνότερη (τρεις φορές) στους αφροαμερικάνους από αυτήν που βρίσκεται στους καυκάσιους. Ασθενείς με MGUS έχουν αυξημένο κίνδυνο οστεοπενίας και οστεοπόρωσης ιδίως της σπονδυλικής στήλης με αυξημένο κίνδυνο καταγμάτων. Επίσης η MGUS συνδέεται με την ανάπτυξη περιφερικής νευροπάθειας και θρομβοεμβολικής νόσου³³.

Η MGUS μπορεί να εξελιχθεί σε πολλαπλό μυέλωμα ή άλλο σχετικό νόσημα με ρυθμό 1% κατ' έτος, και ο ρυθμός παραμένει σταθερός καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής των ασθενών. Σε πρόσφατη μελέτη διαπιστώθηκε ότι η εξέλιξη αυτής έφθανε το 12% στα 10 έτη,

25% στα 20 έτη και 30% στα 30 έτη³⁴. Εν τούτοις η πραγματική πιθανότητα προόδου όταν ληφθούν υπόψη ανταγωνιστικές αιτίες θανάτου είναι μικρότερη και ανέρχεται στο 11% στα 25 έτη³⁵. Αντίστροφα υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν ότι MGUS προηγείται σχεδόν πάντοτε της εμφάνισης πολλαπλού μυελώματος³⁶.

Η MGUS συνδυάζεται με περιορισμένη ανάπτυξη μονοκλωνικών ΠΚ στο ΜΟ, όπου ανευρίσκονται διάσπαρτα ή σε πολύ μικρές συσσωρεύσεις. Η συχνότητα των ισοτύπων των ανοσοσφαιρινών αντανakλά περίπου τα φυσιολογικά της επίπεδα στον ορό και είναι 65-70% IgG, 9-11% IgA και 17% IgM³². Στο 3% είναι δικλωνική. Οι ελαφρές αλυσίδες στο 62% είναι κ και στο 38% λ. Οι φυσιολογικές ανοσοσφαιρίνες είναι μειωμένες στο 35-40% των περιπτώσεων χωρίς το εύρημα αυτό να προδικάζει εξέλιξη σε κακοήθεια. Στο 35% περίπου των περιπτώσεων MGUS ανιχνεύεται μικρή ποσότητα ελαφρών αλυσίδων στα ούρα. Ούτε αυτό το εύρημα προδικάζει αυξημένη πιθανότητα εξέλιξης και άτομα με ποσότητα ελαφρών αλυσίδων στα ούρα >1g/L μπορεί να έχουν καλοήγη πορεία. Τελευταία ταυτοποιήθηκε ομάδα ατόμων με διαταραχή του λόγου των ελεύθερων ελαφρών αλυσίδων στον ορό, αυξημένη τη συγκέντρωση της μιας ελαφράς αλυσίδας, χωρίς έκφραση του IgH γονιδίου. Οι περιπτώσεις αυτές έχουν συχνότητα 0,8% σε άτομα άνω των 50 ετών και θεωρούνται MGUS των ελαφρών αλυσίδων³⁷.

Κίνδυνος εξέλιξης της MGUS σε κακοήθεια εξαρτάται από τον ισότυπο της παραπρωτεΐνης (η IgA και IgM ενέχουν υψηλότερο κίνδυνο συγκριτικά με την IgG) και ιδίως την ποσότητά της³⁴. Συγκέντρωση παραπρωτεΐνης 1,5g/dL ενέχει διπλάσιο κίνδυνο εξέλιξης εν συγκρίσει με συγκέντρωση 0,5g/dL. Επίσης ο παθολογικός λόγος ελεύθερων ελαφρών αλυσίδων στον ορό παριστά σπουδαίο δυσμενή προγνωστικό

παράγοντα εν σχέσει με φυσιολογικό λόγο^{35,38}. Έχει προταθεί προγνωστικό σύστημα με βάση τον ισότυπο της παραπρωτεΐνης, την συγκέντρωση της παραπρωτεΐνης στον ορό και τον λόγο κ:λ των ελεύθερων ελαφρών αλυσίδων στον ορό. Τα άτομα με MGUS μπορεί να διαστρωματωθούν ανάλογα με τον αριθμό των δυσμενών παραγόντων σε προγνωστικές ομάδες. Με 3 δυσμενείς προγνωστικούς παράγοντες ο κίνδυνος εξελίξεως ανέρχεται στο 57% ενώ με απουσία δυσμενών προγνωστικών παραγόντων ο κίνδυνος περιορίζεται στο 5%.

Ορισμένες περιπτώσεις παραπρωτεϊναιμίας απαιτούν περαιτέρω σχολιασμό:

- Παραπρωτεϊναιμία ανευρίσκεται σε αυξημένη συχνότητα (5-7%) στην χρόνια λεμφογενή λευχαιμία και σε όλους σχεδόν τους τύπους μη-Hodgkin λεμφωμάτων. Η παραπρωτεΐνη στις περιπτώσεις αυτές ανήκει στην τάξη IgG ή IgM των ανοσοσφαιρινών (σε ίδια συχνότητα), η παρουσία ελαφρών αλυσίδων στα ούρα δεν είναι συχνή (10%) και η IgA πρωτεϊναιμία είναι σπανιώτατη. Στις περιπτώσεις αυτές η παραπρωτεϊναιμία πρέπει να θεωρείται εκδήλωση της υποκείμενης λεμφοϋπερπλαστικής νόσου.
- Ο συνδυασμός παραπρωτεϊναιμίας IgM με περιφερική νευροπάθεια αποτελεί ειδική κατηγορία και οι ασθενείς έχουν ανάγκη ειδικής αντιμετώπισης.
- Η κρυοσφαιριναιμία τύπου 2 επίσης αποτελεί ιδιαίτερη κλινική οντότητα.
- Παραπρωτεϊναιμία έχει περιγραφεί σε μεγάλη ποικιλία νόσων και κλινικών καταστάσεων. Π.χ. έχει περιγραφεί στα αυτοάνοσα νοσήματα, σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς λόγω μεταμοσχεύσεως

οργάνων, σε αιματολογικά νοσήματα (μυελοϋπερπλαστικά σύνδρομα, μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα κ.α.) Η αιτιολογία και παθογένεια της παραπρωτεϊναιμίας στις περιπτώσεις αυτές δεν είναι διευκρινισμένη και δεν είναι σαφές αν αποτελεί εκδήλωση της υποκείμενης νόσου ή τυχαία συνύπαρξη της νόσου αυτής με MGUS.

1.4 Πολλαπλό μυέλωμα

Το πολλαπλό μυέλωμα είναι από πάσης πλευράς η σημαντικότερη κακοήθης μονοκλωνική πλασματοκυτταρική διαταραχή. Πρόκειται για κακοήθη ανάπτυξη ενός κλώνου ΠΚ που παράγουν Μ- πρωτεΐνη. Ο κλώνος αναπτύσσεται στον ΜΟ, όπου συχνά διηθεί το γειτονικό οστίτη ιστό αν και σε ορισμένες περιπτώσεις, ιδίως σε προχωρημένη νόσο, αναπτύσσεται και εξωμυελικά^{29,30}. Το ΠΜ αποτελεί το 10-15% των αιματολογικών νεοπλασιών με επίπτωση 3-4 περιπτώσεις ανά 100000 άτομα. Η συχνότητα του ΠΜ αυξάνεται με την ηλικία και η διάμεση ηλικία διαγνώσεως της νόσου είναι τα 67 έτη. Είναι σπάνιο σε ηλικίες μικρότερες των 40 ετών (μόνον το 3% των ασθενών). Η νόσος είναι συχνότερη στους άνδρες, τρεις φορές συχνότερη στους αφροαμερικάνους και λιγότερο συχνή στους Ιάπωνες και Κινέζους.

Τα διαγνωστικά κριτήρια των πλασματοκυτταρικών νεοπλασμάτων αναγράφονται στους πίνακες 4 και 5^{29,31}. Όπως εύκολα προκύπτει από τους πίνακες, η διάγνωση κάθε πλασματοκυτταρικού νεοπλασματος απαιτεί αξιολόγηση της πλασματοκυτταρικής διηθήσεως του ΜΟ, ανίχνευση και προσδιορισμό της συγκεντρώσεως παραπρωτεΐνης στον ορό ή τα ούρα και κλινικοεργαστηριακό έλεγχο για την ανεύρεση βλαβών στα τελικά όργανα ή ιστούς που καθορίζονται επακριβώς.

Η μορφολογική αξιολόγηση της αναλογίας των πλασματοκυττάρων του ΜΟ σε μυελικά επιχρίσματα (χρωσμένα με την χρώση May-Grunwald-Giemsa) είναι μείζονος σημασίας στη διάγνωση³⁰. Στο ΠΜ τα ΠΚ του ΜΟ υπερβαίνουν συνήθως το 10%, αν και λόγω της ετερογενούς εστιακής κατανομής των ΠΚ στο ΜΟ), η αναλογία μπορεί να ποικίλει εξαρτώμενη από τη θέση λήψεως του επιχρίσματος. Η οστεομυελική βιοψία είναι πολύ περισσότερο ακριβής για την αξιολόγηση της διηθήσεως του ΜΟ. Ανοσοϊστοχημικές τεχνικές όπως η χρώση για το αντιγόνο CD138 αυξάνουν την ακρίβεια της αξιολογήσεως. Σημαντική βοήθεια μπορεί να προσφέρει η ανοσοϊστοχημική αξιολόγηση της μονοκλωνικότητας με την ανοσοϊστοχημική χρώση των ελαφρών αλυσίδων ή με κυτταρομετρία ροής. Η προσέγγιση αυτή είναι ιδιαίτερα χρήσιμη σε περιπτώσεις που η διήθηση του ΜΟ με ΠΚ είναι πολύ περιορισμένη.

Η ανίχνευση Μ-πρωτεΐνης και ο ποσοτικός της προσδιορισμός είναι το δεύτερο ουσιαστικό διαγνωστικό κριτήριο στη διάγνωση και διαφορική διάγνωση των πλασματοκυτταρικών νεοπλασμάτων³⁰. Ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών του ορού και ανοσοκαθήλωση αποτελούν τις μεθόδους εκλογής για τον σκοπό αυτό (σχήμα 3 και 4). Για την ανάλυση μονοκλωνικών πρωτεϊνών στα ούρα, απαιτείται λήψη ούρων 24ώρου με τον προσδιορισμό της συνολικής απεκκρινόμενης πρωτεΐνης ημερησίως. Ηλεκτροφόρηση πρωτεϊνών και ανοσοηλεκτροφόρηση ή ανοσοκαθήλωση γίνεται σε συμπύκνωμα δείγματος ούρων που λαμβάνεται από της 24ωρη συλλογή. Τελευταία έχει αναπτυχθεί ο ανοσοπροσδιορισμός των ελεύθερων ελαφρών αλυσίδων στον ορό. Η μέθοδος αυτή απεδείχθη ιδιαίτερα χρήσιμη στη διάγνωση και παρακολούθηση ασθενών με μη-εκκριτικό μύελωμα και πρωτοπαθή αμυλοείδωση. Επίσης έχει χρησιμοποιηθεί για τις

περιπτώσεις μονοκλωνικής γαμμοπάθειας αδιευκρίνιστης σημασίας. Έχει επίσης υποστηριχθεί ότι ο συνδυασμός ανοσοκαθήλωσης και προσδιορισμού των ελεύθερων ελαφρών αλυσίδων στον ορό καθιστούν περιττή τη μελέτη των ούρων στη διερεύνηση ασθενών για πιθανή παραπρωτεϊναιμία³⁹.

1.4.1 Συμπτωματικό πολλαπλό μυέλωμα

Τα κριτήρια διαγνώσεως του συμπτωματικού ΠΜ αναγράφονται στον πίνακα 4 και αφορούν στη διήθηση του ΜΟ με κλωνικά ΠΚ, την ανεύρεση M- πρωτεΐνης στον ορό ή και στα ούρα και στην προσβολή οργάνων και ιστών- στόχων που συνδέονται με τη νόσο.

Η μορφολογική αξιολόγηση της αναλογίας των ΠΚ στο ΜΟ είναι ένα από τα μείζονα κριτήρια της διαγνώσεως³⁰. Η αξιολόγηση αυτή βασίζεται στη μελέτη επιχρισμάτων του ΜΟ που έχουν υποβληθεί στην χρώση May-Grunwald- Giemsa. Η ταυτοποίηση και αρίθμηση των ΠΚ έχει σημασία για τη διάκριση μεταξύ συμπτωματικού μυελώματος από τη MGUS και το μονήρες πλασμοκύτωμα. Στο ΠΜ η αναλογία των ΠΚ στο ΜΟ υπερβαίνει το 10%, μολονότι λόγω της ετερογενούς κατανομής της διηθήσεως, η αναλογία των ΠΚ εξαρτάται από το σημείο της παρακεντήσεως. Η βιοψία του ΜΟ θεωρείται πιο ακριβής μέθοδος αξιολογήσεως της πλασματοκυτταρικής διηθήσεως του ΜΟ^{40,41} και η αξιοπιστία της ενισχύεται με την ανοσοϊστοχημική ταυτοποίηση των ΠΚ με την χρώση για το αντιγόνο CD138. Επίσης η ανοσοϊστοχημική χρώση των ελαφρών αλυσίδων κ και λ έχει ιδιαίτερη διαγνωστική αξία, ιδιαίτερα σε αμφίβολες περιπτώσεις, δεδομένου ότι αποκαλύπτει την κλωνικότητα της πλασματοκυτταρικής διηθήσεως. Πάντως η ανομοιογενής προσβολή του ΜΟ έχει ως συνέπεια την αδυναμία διαγνώσεως σε μικρή αναλογία ασθενών (<5%).

Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των ΠΚ στο ΠΜ μπορεί να είναι φυσιολογικά αλλά συχνά εμφανίζουν δυσπλαστικές διαταραχές: Πυρηνοκυτταροπλασματική ασυγχρονία (ώριμο πρωτόπλασμα αλλά διάχυτο πρότυπο χρωματίνης στον πυρήνα ή εμφανές πυρήνιο), πλεομορφισμό, αυξημένο μέγεθος, παρουσία σημαντικού αριθμού πολυπύρηνων ΠΚ, λοβίωση του πυρήνα, φαγοκυττάρωση, ομοιόμορφη κυτταροπλασματική βασεοφιλία χωρίς την διακριτική ζώνη της συσκευής του Golgie, έγκλειστα κτλ.

Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των ΠΚ όμως δεν έχουν αξιοποιηθεί πολύ στη μελέτη των ασθενών, σε αντίθεση με την πρακτική στις άλλες αιματολογικές κακοήθειες. Εν τούτοις έχουν γίνει αρκετές ερευνητικές προσπάθειες . Ο Greipp και συνεργάτες⁴² διέκριναν 4 μορφολογικούς τύπους ΠΚ στο ΠΜ (πίνακας 6), με βάση δε αυτούς τους

Πίνακας 6. Μορφολογικοί τύποι πλασματοκυττάρων στο πολλαπλό μυέλωμα.

Τύπος κυττάρου	Χαρακτηριστικά
Ωριμα πλασματοκύτταρα	Μικρός έκκεντρος πυρήνας με πυκνές συσσωματώσεις χρωματίνης, καλώς αναπτυγμένο βασεόφιλο πρωτόπλασμα με παραπυρηνική ωχρή ζώνη (συσκευή Golgie)
Ενδιάμεσα πλασματοκύτταρα	Δεν καλύπτουν τα κριτήρια κατατάξεως σε άλλο τύπο
Άωρα πλασματοκύτταρα	Μεγάλος (>10μm) πυρήνας με διάχυτη χρωματίνη και/ή εμφανές πυρήνιο (>2μm), άφθονο κυτταρόπλασμα με παραπυρηνική ωχρή ζώνη
Πλασμαβλάστη	Υψηλός λόγος πυρήνα-κυτταροπλάσματος, περιορισμένο κυτταρόπλασμα, κεντρικός μεγάλος πυρήνας με δικτυωτή χρωματίνη, εμφανέστατο πυρήνιο και ελάχιστα ορατή ή απύουσα παραπυρηνική ωχρή ζώνη

τύπους πρότειναν τη μορφολογική ταξινόμηση σε 4 μορφολογικές ομάδες (πίνακας 7). Η προγνωστική αξία της μορφολογικής αυτής ταξινόμησης και ιδιαίτερα της πλασμαβλαστικής μορφολογίας έχει αναγνωρισθεί⁴³.

Πίνακας 7. Μορφολογική ταξινόμηση πολλαπλού μυελώματος

Τύπος	Κριτήρια
Ωριμο ΠΜ	>10% ώριμα ΠΚ <13% άωρα ΠΚ <2% πλασμαβλάστες
Ανώριμο ΠΜ	<10% ώριμα ΠΚ >12% άωρα ΠΚ <2% πλασμαβλάστες
Ενδιάμεσο ΠΜ	Περιπτώσεις που δεν εκπληρώνουν τα κριτήρια ταξινομήσεως στους υπόλοιπους τύπους
Πλασμαβλαστικό ΠΜ	>2% πλασμαβλάστες

Στην οστεομυελική βιοψία η διήθηση μπορεί να είναι ενδιάμεση με ή χωρίς παραδοκιδωτή εντόπιση των ΠΚ (δηλαδή τα ΠΚ είναι διάσπαρτα μεταξύ των αιμοποιητικών και λιπωδών κυττάρων), οζώδης ή να υπάρχει πλήρης διηθημένος ΜΟ με εξάλειψη της φυσιολογικής του αρχιτεκτονικής. Ο τύπος της διηθήσεως έχει συνδεθεί με την πρόγνωση: η ενδιάμεση διήθηση συνδέεται με καλή ενώ η πλήρης διήθηση του ΜΟ με ιδιαίτερα δυσμενή πρόγνωση⁴³.

Η κυτταρομετρία ροής είναι μια διαρκώς εξελισσόμενη προσέγγιση ταυτοποίησης και αριθμώσεως των ‘παθολογικών’ ΠΚ του ΜΟ. Εν τούτοις η μέθοδος τείνει να υποεκτιμά το βαθμό διηθήσεως του ΜΟ συγκριτικά με τα επιχρίσματα και την οστεομυελική βιοψία. Η

υστέρηση αυτή πιθανώς οφείλεται στο γεγονός ότι το δείγμα ΜΟ για την κυτταρομετρική εξέταση λαμβάνεται μετά την οστεομυελική βιοψία με συνέπεια να μην είναι πάντα αντιπροσωπευτικό.

Μ- πρωτεΐνη στον ορό ή στα ούρα ανιχνεύεται στο 80% των περιπτώσεων με ανοσοηλεκτροφόρηση που υπερβαίνει το 95% με ανοσοκαθήλωση. Πρόκειται συνήθως για ανοσοσφαιρίνες IgG ή IgA σε συχνότητα 52-62% και 18-24% αντίστοιχα. Σπανιότερα η ανοσοσφαιρίνη ανήκει στον ισότυπο IgD (1-3%) και σπανιότατα στον ισότυπο IgE. IgM μύελωμα αν και σπάνιο υπάρχει και έχει ερευνητικό ενδιαφέρον. Σε σπάνιες περιπτώσεις επίσης ανιχνεύονται δύο Μ-πρωτεΐνες (δικλωνικό μύελωμα). Στο 2-3% των περιπτώσεων δεν ταυτοποιείται Μ- πρωτεΐνη στον ορό ή στα ούρα. Η οντότητα αυτή είναι γνωστή ως μη- εκκριτικό μύελωμα. Στο 75% των περιπτώσεων ανιχνεύονται ελαφρές αλυσίδες στα ούρα και μάλιστα στο 15-20% των περιπτώσεων, γνωστών ως ΠΜ ελαφρών αλυσίδων ανευρίσκονται μόνον ελαφρές αλυσίδες. Η συχνότητα ανευρέσεως κ και λ αλυσίδων αντιστοιχεί με την συχνότητά τους στις φυσιολογικές ανοσοσφαιρίνες (η σχέση κ προς λ είναι 2:1 περίπου). Εξάιρεση αποτελεί το IgD μύελωμα στο οποίο συνήθως παράγονται λ αλυσίδες. Η συγκέντρωση την παραπρωτεΐνης δεν έχει προγνωστική σημασία. Σε όλες τις περιπτώσεις συμπτωματικού ΠΜ οι φυσιολογικές ανοσοσφαιρίνες του ορού είναι μειωμένες (υπογαμμασφαιριναιμία).

Το ΠΜ είναι εξαιρετικά ετερογενής νόσος ως προς την πρόγνωση. Η διάμεση επιβίωση κυμαίνεται μεταξύ 3-4 έτη αλλά η διακύμανση της επιβιώσεως εκτείνεται από λιγότερο των 6 μηνών έως περισσότερο των 10 ετών. Επομένως η ανάγκη για ταυτοποίηση προγνωστικών παραγόντων υπήρξε επιτακτική. Οι σχετικές μελέτες προσδιόρισαν

μεγάλο αριθμό κλινικοεργαστηριακών παραμέτρων με προγνωστική αξία. Οι κυριότερες από αυτές αναγράφονται στον πίνακα 8.

Πίνακας 8. Προγνωστικοί παράγοντες στο πολλαπλό μυέλωμα

Ηλικία

Μορφολογία

- Βαθμός πλασματοκυτταρικής διήθησης ΜΟ
- Μορφολογία πλασματοκυττάρων
- Αρχιτεκτονική μυελικής διήθησεως από πλασματοκύτταρα
- Παρουσία ΠΚ στο περιφερικό αίμα

Βαρύτητα οστικών βλαβών

Τύπος και ποσότητα παραπρωτεΐνης

Αιματολογικές παράμετροι

- Αιμοσφαιρίνη
- Θρομβοπενία

Βιοχημικές παράμετροι

- Κρεατινίνη ορού
- β_2 - μικροσφαιρίνη ορού
- C- αντιδρώσα πρωτεΐνη
- LDH
- Επίπεδα ασβεστίου ορού
- Αλβουμίνη ορού

Ρυθμός πολλαπλασιασμού των πλασματοκυττάρων

- Δείκτης επισημάνσεως
- Κυτταρομετρική ανάλυση κυτταρικού κύκλου (φάση S)

Ανοσοφαινοτυπικά χαρακτηριστικά πλασματοκυττάρων

Κυτταρογενετικά ευρήματα (πλοειδία, del 13 κτλ.)

Οι προγνωστικοί όμως αυτοί παράγοντες έχουν διαφορετική προγνωστική ισχύ και διαφορετική αναπαραγωγιμότητα. Έγιναν επίσης προσπάθειες να αξιολογηθούν και οι πιο πρόσφατες κατακτήσεις που αφορούν στα κυτταρογενετικά χαρακτηριστικά της νόσου με ενθαρρυντικά αποτελέσματα.

Στην κλινική πράξη έχουν επικρατήσει συστήματα σταδιοποιήσεως που στηρίζονται σε συνδυασμούς κλινικοεργαστηριακών προγνωστικών παραγόντων. Μεταξύ αυτών, ευρείας εφαρμογής έτυχε το σύστημα των Durie και Salmon⁴⁴ που προτάθηκε το 1975 (πίνακας 9). Το σύστημα αυτό επιτρέπει να εκτιμηθεί με απλό τρόπο το φορτίο της νόσου. Μειονέκτημα του συστήματος είναι η πολυπλοκότητά του και το γεγονός ότι η εκτίμηση της βαρύτητας της οστικής νόσου είναι υποκειμενική. Στη συνέχεια αποδείχθηκε η μεγάλη προγνωστική αξία των επιπέδων της β₂-μικροσφαιρίνης του ορού, τα οποία αντανακλούν το φορτίο της νόσου αλλά εξαρτώνται και από το βαθμό της νεφρικής ανεπάρκειας. Καίτοι η προγνωστική αξία των επιπέδων της β₂-μικροσφαιρίνης είναι εξαίρεση θεωρήθηκε ότι ο συνδυασμός τους με άλλους προγνωστικούς παράγοντες θα βελτιώνει της αποτελεσματικότητά της, και έγιναν αρκετές προσπάθειες προς αυτήν την κατεύθυνση. Σχετικά πρόσφατα δημοσιεύτηκε το Διεθνές Σταδιοποιητικό Σύστημα⁴⁵ που βασίστηκε στην ανάλυση πολύ μεγάλου αριθμού ασθενών με ΠΜ. Το σύστημα αυτό ταξινομεί τους ασθενείς σε τρεις προγνωστικές ομάδες με βάση τα επίπεδα της β₂-μικροσφαιρίνης και της λευκωματίνης του ορού (πίνακας 10). Η απλή αυτή σταδιοποίηση έτυχε ευμενούς και ευρείας αποδοχής, χωρίς όμως να υποκαταστήσει πλήρως την σταδιοποίηση των Durie και Salmon που προσδιορίζει το φορτίο της νόσου. Εξάλλου το Διεθνές Σταδιοποιητικό Σύστημα δεν έχει δοκιμασθεί επαρκώς σε ασθενείς που θεραπεύονται με τις νέες και πιο αποτελεσματικές θεραπείες της νόσου

Πίνακας 9. Σταδιοποιητικό σύστημα Salmon και Durie

Στάδιο	Κριτήρια	Μυελωματική μάζα (ΠΚx10 ¹⁰ /m ²)
I	Όλα τα ακόλουθα: Hb>10,5g/dL Ασβέστιο ορού <12mg/dL Φυσιολογικός ακτινολογικός έλεγχος οστών ή μονήρες πλασμοκύττωμα οστού χαμηλή συγκέντρωση παραπρωτεΐνης IgG<5g/dL IgA<3g/dL	<0,6
II	Οι περιπτώσεις που δεν εμπίπτουν στα στάδια I και III	0,6-1,2
III	Ένα ή περισσότερα από τα ακόλουθα: Hb<8,5g/dL Ασβέστιο>12mg.dL Προχωρημένες οστικές βλάβες/ μείζονα κατάγματα Υψηλά επίπεδα παραπρωτεΐνης IgG>7g/dL IgA>5g/dL Ελαφρές αλυσίδες ούρων >12g/24ωρο	>1,2
Κάθε στάδιο διακρίνεται σε δύο κατηγορίες, την A με κρεατινίνη <2mg/dL και τη B με κρεατινίνη>2mg/dL		
Διαβάθμιση οστικής νόσου: 0: φυσιολογικό, 1: οστεοπόρωση, 2:πολλαπλές οστεολύσεις, 3:μείζονες πολλαπλές οστικές βλάβες ή σοβαρά κατάγματα		

και δεν είναι γνωστό αν εξακολουθεί και με τις θεραπείες αυτές να διατηρεί τη διακριτική του ικανότητα.

Πίνακας 10. Διεθνές σύστημα σταδιοποίησης

Στάδιο	Κριτήρια	Διάμεση επιβίωση (μήνες)
1	β ₂ -μικροσφαιρίνη ορού <3,5μg/ml και λευκωματίνη ορού ≥3,5g/dL	62
2	Οι περιπτώσεις που δεν εμπίπτουν στα στάδια 1 και 2*	44
3	β ₂ -μικροσφαιρίνη ορού ≥5,5μg/ml	29
* Υπάρχουν δύο υποκατηγορίες για το στάδιο 2: β ₂ -μικροσφαιρίνη ορού <3,5μg/ml αλλά λευκωματίνη ορού <3,5g/dL και β ₂ -μικροσφαιρίνη ορού 3,5-5,5μg/ml ασχέτως της τιμής λευκωματίνης		

1.4.2 Ασυμπτωματικό μυέλωμα

Το ασυμπτωματικό μυέλωμα ή υποβόσκων ή έρπον (smoldering, indolent) μυέλωμα διαγιγνώσκεται συνήθως με την ανεύρεση παθολογικών εργαστηριακών εξετάσεων που γίνονται προληπτικά ή κατά τη διερεύνηση άλλης νόσου⁴⁶. Τα διαγνωστικά κριτήρια του ασυμπτωματικού μυελώματος δίδονται στον πίνακα 4²⁹. Η μετάβαση από το MGUS σε ασυμπτωματικό μυέλωμα δεν είναι ευδιάκριτη, τα δε όρια της M-πρωτεΐνης και της αναλογίας των ΠΚ στο ΜΟ είναι από τη φύση τους εντελώς συμβατικά. Άλλο ζήτημα που προκαλεί σύγχυση είναι η τεκμηρίωση παρουσίας ή μη οστικών βλαβών, η οποία εξαρτάται από την απεικονιστική μεθοδολογία που χρησιμοποιείται για την αποκάλυψή τους. Ασθενείς με αρνητικές τις απλές ακτινογραφίες οστών μπορεί να έχουν βλάβες ορατές στην απεικόνιση με μαγνητικό συντονισμό (MRI). Σήμερα τείνει να επικρατήσει η άποψη ότι το MRI είναι απαραίτητο για την αξιολόγηση των ασθενών αυτών. Εν τούτοις σε πολλές μελέτες η

διάγνωση βασίστηκε σε απλό οστικό έλεγχο, ενώ τα ευρήματα του MRI αξιολογήθηκαν ως προγνωστικός παράγοντας. Λόγω των δυσκολιών αυτών η συχνότητα του ασυμπτωματικού μυελώματος δεν μπορεί να καθοριστεί με ακρίβεια. Γενικά πάντως θεωρείται ότι αποτελεί το 15% περίπου των περιπτώσεων πολλαπλού μυελώματος.

Στη μεγάλη πλειονότητα των ασθενών, οι φυσιολογικές ανοσοσφαιρίνες του ορού είναι μειωμένες ενώ ελαφρές αλυσίδες στα ούρα ελλείπουν ή ανιχνεύονται σε μικρή ποσότητα.

Ο κίνδυνος εξελίξεως του ασυμπτωματικού σε συμπτωματικό μυέλωμα είναι υψηλός (υψηλότερος από το MGUS) και ανέρχεται σε 10% ετησίως με διάμεσο χρόνο από τη διάγνωση έως την εξέλιξη 3-4 έτη. Πιο συγκεκριμένα η πιθανότητα εξελίξεως ανέρχεται σε 10% ετησίως για τα 5 πρώτα έτη, 3% για τα επόμενα 10 έτη και 1-2% στη συνέχεια. Προγνωστικοί παράγοντες⁴⁷ έχουν ταυτοποιηθεί η μάζα της νόσου όπως αντανακλάται στη συγκέντρωση της Μ-πρωτεΐνης και της αναλογίας των ΠΚ στο ΜΟ, ο παθολογικός λόγος κ προς λ ελευθέρων ελαφρών αλυσίδων στον ορό, η αναλογία των φαινοτυπικά νεοπλασματικών κυττάρων στο ΜΟ και η ανοσοπάρεση. Όπως ήδη έχει αναφερθεί η παρουσία βλαβών στην απεικόνιση με MRI είναι δυσμενής προγνωστικός παράγοντας.

1.4.3 Μη εκκριτικό μυέλωμα

Πρόκειται για ασθενείς που εμφανίζουν το σύνολο των κλινικοεργαστηριακών εκδηλώσεων του ΠΜ χωρίς να ανιχνεύεται Μ-πρωτεΐνη στον ορό ή τα ούρα με ανοσοκαθήλωση. Αντιπροσωπεύει το 2-3% των περιπτώσεων ΠΜ. Πάντως όσο πιο ευαίσθητες τεχνικές ανιχνεύσεως Μ-πρωτεΐνης εφαρμόζονται τόσο λιγότερες περιπτώσεις μη εκκριτικού μυελώματος θα διαγιγνώσκονται. Πράγματι με ευαίσθητες

ανοσολογικές τεχνικές είναι δυνατή η αποκάλυψη μονοκλωνικών ελεύθερων ελαφρών αλυσίδων στον ορό τουλάχιστον στα δυο τρίτα των περιπτώσεων, με συνέπεια οι περιπτώσεις πραγματικά μη- εκκριτικού ΠΜ να περιοριστούν⁴⁸. Συνηθέστατα ανιχνεύεται ανοσοϊστοχημικά μονοκλωνική ανοσοσφαιρίνη στο κυτταρόπλασμα των ΠΚ του ΜΟ, δηλαδή υπάρχει σύνθεση ανοσοσφαιρίνης η οποία όμως δεν εκκρίνεται. Έχουν όμως περιγραφεί και ελάχιστες περιπτώσεις στα οποίες αποδεδειγμένα δε διαπιστώνεται σύνθεση παραπρωτεΐνης. Τα υπόλοιπα βιολογικά χαρακτηριστικά και η επιβίωση των ασθενών με μη- εκκριτικό ΠΜ δε διαφέρουν από αυτά των ασθενών με παρουσία Μ- πρωτεΐνης στον ορό ή στα ούρα.

1.4.4 Δικλωνικό πολλαπλό μυέλωμα

Σε σπάνιες περιπτώσεις (0,5-2%) αποκαλύπτονται δύο Μ- πρωτεΐνες στον ορό ασθενών με ΠΜ. Αλληλούχιση της μεταβλητής περιοχής των ελαφρών και βαρειών αλυσίδων των ανοσοσφαιρινών αυτών δείχνει μεγάλη ομοιότητα, εύρημα που υποδηλώνει ότι προέρχονται από κοινό προγονικό κύτταρο. Η κλινική συμπεριφορά πάντως των περιπτώσεων δικλωνικού ΠΜ είναι παρόμοια με αυτών των μονοκλωνικών⁴⁹.

1.4.5 Πλασματοκυτταρική λευχαιμία

Η πλασματοκυτταρική λευχαιμία χαρακτηρίζεται από την ανεύρεση στο περιφερικό αίμα τουλάχιστον $2.0 \times 10^9/L$ πλασματοκυττάρων τα οποία αποτελούν >20% των εμπύρηνων κυττάρων του περιφερικού αίματος. Η πλασματοκυτταρική λευχαιμία αποτελεί το 2-5% των περιπτώσεων ΠΜ. Η μορφολογία των ΠΚ εμφανίζει μεγάλη ποικιλία αλλά συχνά έχουν λίγο κυτταρόπλασμα και λεμφοκυτταροπλασματικούς χαρακτήρες. Η πλασματοκυτταρική

λευχαιμία μπορεί να είναι πρωτοπαθής όταν η λευχαιμική εικόνα υπάρχει κατά τη διάγνωση ή δευτεροπαθής όταν αποτελεί εξέλιξη διαγνωσμένου ήδη ΠΜ. Στο 60% των περιπτώσεων η νόσος είναι πρωτοπαθής και στο λοιπό ποσοστό δευτεροπαθής. Στην περίπτωση πρωτοπαθούς πλασματοκυτταρικής λευχαιμίας η εν γένει κλινικοεργαστηριακή εικόνα δεν διαφέρει ουσιωδώς από αυτήν του ΠΜ αλλά οι ασθενείς είναι νεώτεροι, έχουν λιγότερες οστικές βλάβες, μικρότερη ποσότητα παραπρωτεΐνης, συχνότερη διήθηση εξωμυελικών οργάνων (λεμφαδενοπάθεια, οργανομεγαλία, διήθηση του υπεζωκότα, ασκίτη) και μακρότερη επιβίωση εν συγκρίσει με τις δευτεροπαθείς περιπτώσεις⁵⁰.

1.5 Μονήρες πλασμοκύττωμα

Πρόκειται για εντοπισμένη μάζα μονοκλωνικών ΠΚ χωρίς ένδειξη νόσου σε άλλη περιοχή του οργανισμού. Αποτελεί το 3-5% των κακοήθων πλασματοκυτταρικών νεοπλασμάτων. Συχνότερα (65%) εντοπίζεται στα οστά (ενδομυελικό πλασμοκύττωμα) και σχετικά σπανιότερα (35%) εντοπίζεται σε μαλακούς ιστούς (εξωμυελικό πλασμοκύττωμα)^{46,51}.

Ενδομυελικό πλασμοκύττωμα. Η διάμεση ηλικία διαγνώσεως είναι τα 55 έτη, δηλαδή εμφανίζεται 10 έτη νωρίτερα από το ΠΜ και είναι συχνότερο στους άνδρες. Προσβάλλει συχνότερα τον αξονικό σκελετό και συγκεκριμένα τους σπονδύλους, πλευρές, κρανίο και πύελο. Τα διαγνωστικά κριτήρια αναγράφονται στον πίνακα 4. Βασικής σημασίας είναι η ιστολογική εξέταση της βιοψίας του όγκου, που δείχνει διήθηση από μονοκλωνικά ΠΚ παρόμοια με αυτά του ΠΜ, ενώ η εικόνα του ΜΟ είναι φυσιολογική και πάντως μη συμβατή με τη διάγνωση ΠΜ. Απαιτείται πλήρης αρνητικός οστικός έλεγχος σε απλές ακτινογραφίες

και αρνητικό MRI σπονδυλικής στήλης και πυέλου. Τυπικά δεν ανευρίσκεται M-πρωτεΐνη στον ορό ή στα ούρα με τη μεθοδολογία της ανοσοκαθήλωσης αν και στις μισές περιπτώσεις αποκαλύπτει μικρή ποσότητα ανοσοσφαιρίνης στον ορό, ενώ στο 10% ανιχνεύεται μικρή ποσότητα ελαφρών αλυσίδων στα ούρα. Οι φυσιολογικές ανοσοσφαιρίνες του ορού δεν είναι επηρεασμένες. Οι ασθενείς παρά την τοπική θεραπεία (ακτινοθεραπεία), μπορεί να εξελιχθούν σε ΠΜ. Τούτο συνήθως συμβαίνει εντός των πρώτων 3-4 ετών αλλά η γενίκευση μπορεί να συμβεί και αργότερα. Μόνον το 25-40% των ασθενών παραμένουν ελεύθεροι νόσου στα 10 έτη από την αρχική διάγνωση.

Εξωμυελικό πλασμοκύττωμα. Συνηθέστατα (στο 80%) και πλέον των περιπτώσεων αναπτύσσεται στο ανώτερο αναπνευστικό σύστημα περιλαμβανομένων των κόλπων του κρανίου, της ρινικής κοιλότητας, του ρινοφάρυγγα και του λάρυγγα. Μπορεί όμως να αναπτυχθεί σε οποιοδήποτε άλλο όργανο όπως το γαστρεντερικό σωλήνα, το κεντρικό νευρικό σύστημα, την ουροδόχο κύστη κτλ. Τα κριτήρια διαγνώσεως αναγράφονται στον πίνακα 4. Τα ΠΚ του όγκου παράγουν συχνά IgA μονοκλωνική ανοσοσφαιρίνη. Συνήθως δεν ανευρίσκεται M-πρωτεΐνη στον ορό ή τα ούρα, αλλά στο 25% των περιπτώσεων ανιχνεύεται σε μικρή ποσότητα. Αντίθετα με το μονήρες ενδομυελικό πλασμοκύττωμα η εξέλιξη του εξωμυελικού σε ΠΜ δεν είναι συχνή.

1.6 Οστεοσκληρυντικό μυέλωμα και σύνδρομο POEMS

Το ΠΜ χαρακτηρίζεται από οστεολυτικές βλάβες που δε συνοδεύονται από οστεοβλαστική αντίδραση. Σε σπάνιες όμως περιπτώσεις, γνωστές ως οστεοσκληρυντικό μυέλωμα, οι οστικές βλάβες

είναι οστεοσκληρυντικού τύπου. Επομένως το οστεοσκληρυντικό μυέλωμα ορίζεται ως μονοκλωνική πλασματοκυτταρική διήθηση συνοδευόμενη από ίνωση και οστεοσκλήρυνση των οστικών δοκίδων.

Το σύνδρομο POEMS έχει περιγραφεί ως ένα σύμπλεγμα κλινικών εκδηλώσεων⁵²: πολυνευροπάθεια (Polyneuropathy), οργανομεγαλία (Organomegaly), ενδοκρινικές διαταραχές (Endocrine disorders), μονοκλωνική γαμοπάθεια (Monoclonal gammopathy) και δερματικές βλάβες (Skin lesions). Πλέον των εκδηλώσεων αυτών, που συνοψίζονται στην ακρονυμία POEMS, παρατηρούνται και πολλές άλλες όπως πλασματοκυτταρική νόσος του Castleman, εξωαγγειακή υπερφόρτωση υγρών (οίδημα, πλευριτική συλλογή, ασκίτης), οίδημα θηλής, πληκτροδακτυλία, θρομβοκυττάρωση και ερυθροκυττάρωση.

Το οστεοσκληρυντικό μυέλωμα αποτελεί το 1-2% των περιπτώσεων ΠΜ. Σύνδρομο POEMS συνοδεύει το 30-50% των περιπτώσεων οστεοσκληρυντικού μυελώματος αλλά οστεοσκληρυντικό μυέλωμα υπάρχει σχεδόν πάντοτε (>95%) στο σύνδρομο POEMS. Το σύνδρομο POEMS εμφανίζεται σε μια διάμεση ηλικία 51 έτη και είναι συχνότερο στους άνδρες.

Η διάγνωση του συνδρόμου POEMS δεν είναι εύκολη. Τα διαγνωστικά κριτήρια του συνδρόμου αναγράφονται στον πίνακα 4⁵³. Η μονοκλωνική πλασματοκυτταρική διαταραχή είναι προϋπόθεση για τη διάγνωση. Συνήθως απαιτείται βιοψία οστεοσκληρυντικής βλάβης, η οποία αποδεικνύει την μονοκλωνική πλασματοκυτταρική διήθηση. Ο ΜΟ συνήθως δεν είναι διηθημένος και μόνον στο 10% των περιπτώσεων τα ΠΚ υπερβαίνουν το 10% των εμπύρηνων κυττάρων του μυελού. Για τη διάγνωση απαραίτητη είναι επίσης η παρουσία πολυνευροπάθειας, που είναι του τύπου της χρόνιας βραδέως εξελισσόμενης απομυελινικής

νευροπάθειας. Επιπλέον των δύο αυτών μείζονων κριτηρίων για τη διάγνωση απαιτείται και η παρουσία μιας τουλάχιστον από τις υπόλοιπες εκδηλώσεις που αναγράφονται στον πίνακα 4. Η οργανομεγαλία ανευρίσκεται στο 50% των περιπτώσεων, ενώ η ενδοκρinoπάθεια (δεν λαμβάνονται υπόψη ο σακχαρώδης διαβήτης και οι θυρεοειδοπάθειες) και οι δερματικές εκδηλώσεις (υπέρχρωση δέρματος, υπερτρίχωση κτλ) στο 60%. Στο 15% των περιπτώσεων η βιοψία λεμφαδένος αποδεικνύει ιστολογική εικόνα πλασματοκυτταρικής νόσου Castleman. Η ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών του ορού και η ανοσοκαθήλωση αποδεικνύει την παρουσία παραπρωτεΐνης στο 80% περίπου των περιπτώσεων. Η παραπρωτεΐνη ανήκει στους ισότυπους IgG ή IgA και περιέχει σχεδόν πάντα λ ελαφρές αλυσίδες. Πάντως τα κριτήρια αυτά δεν είναι πάντοτε ασφαλή για τη διάγνωση. Η απουσία οστεοσκληρυντικών βλαβών ή νόσου Castleman καθιστά τη διάγνωση αμφίβολη. Για το λόγο αυτόν έχουν προταθεί πιο αυστηρά κριτήρια⁵³.

Το σύνδρομο POEMS θεωρείται παρανεοπλασματική εκδήλωση μονοκλωνικής πλασματοκυτταρικής διαταραχής για την οποία ευθύνεται η παραγωγή, έκκριση και κυκλοφορία κυττοκινών. Πράγματι έχει περιγραφεί αύξηση πολλών κυττοκινών στο περιφερικό αίμα. Κυρίαρχη σημασία έχει αποδοθεί στην αύξηση των επιπέδων του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (vascular endothelial growth factor, VEGF) που ανευρίσκεται αυξημένος σε όλες σχεδόν τις περιπτώσεις. Ο προσδιορισμός του VEGF στον ορό είναι και διαγνωστικά χρήσιμος σε αμφίβολες περιπτώσεις.

1.7 AL αμυλοείδωση

Αμυλοείδωση είναι σύνολο νόσων που οφείλονται στην εξωκυττάριο εναπόθεση σε όργανα και ιστούς παθολογικού ινωδόμορφου πρωτεϊνικού υλικού, γνωστό ως αμυλοειδές. Το αμυλοειδές συνίσταται από άκαμπτα γραμμικά, μη διακλαδιζόμενα ινίδια συσσωματωμένα σε β-πτυχωτή διαμόρφωση και χαρακτηρίζεται από την χρώση του με ερυθρό του Κονγκό και πρασινωπή διπλοθλαστικότητα υπό την επίδραση πολωμένου φωτός. Υπάρχουν πολλοί τύποι αμυλοειδούς που προέρχονται από μια σειρά πρωτεϊνών .

Η AL αμυλοείδωση (Α από το Amyloid και L από το Light chain) αναφέρεται στον τύπο αμυλοειδώσεως που προέρχεται από θραύσματα της ελαφράς αλυσίδας (και ειδικά της μεταβλητής περιοχής) μονοκλωνικών ελαφρών αλυσίδων και σπάνια από ακέραιες μονοκλωνικές αλυσίδες⁵⁴. Είναι αποτέλεσμα μονοκλωνικής πλασματοκυτταρικής ή λεμφοπλασματοκυτταρικής διαταραχής που παράγει και εκκρίνει στην κυκλοφορία αμυλοειδογόνους ελαφρές αλυσίδες. Μέρος μόνον των ελαφρών αλυσίδων είναι αμυλοειδογόνοι⁵⁵. Καταρχήν ανήκουν συνήθως στον λ τύπο. Έτσι ενώ η σχέση των κ προς τις λ αλυσίδες φυσιολογικά είναι περίπου 2:1 στην AL αμυλοείδωση υπερέχουν οι λ αλυσίδες (σχέση κ προς λ 1:3). Επίσης ορισμένοι υπότυποι ελαφρών αλυσίδων είναι πιο επιρρεπείς στη δημιουργία αμυλοειδούς και ανευρίσκονται συχνότερα στους ασθενείς. Ορισμένα δηλαδή μικρογονίδια από αυτά που κωδικοποιούν τις μεταβλητές περιοχές των ελαφρών αλυσίδων εμπλέκονται συχνότερα στον σχηματισμό αμυλοειδούς. Π.χ. ενώ ο υπότυπος V_{LVI} βρίσκεται στο 5% των φυσιολογικών ανοσοσφαιρινών αντιπροσωπεύεται πολύ πιο συχνά στην AL αμυλοείδωση. Ανάλογες παρατηρήσεις έχουν γίνει και για τον υπότυπο V_{KI}. Επίσης ορισμένες μεταλλάξεις της μεταβλητής περιοχής

των ελαφρών αλυσίδων οδηγούν σε ελαττωματική στερεοδιάταξη και τελικά σε αποσταθεροποίηση του μορίου με συνέπεια την συσσωμάτωση και συναρμολόγηση ινιδίων αμυλοειδούς.

Η AL αμυλοείδωση μπορεί να είναι εντοπισμένη η συστηματική. Η τελευταία είναι επίσης γνωστή ως πρωτοπαθής συστηματική αμυλοείδωση ή απλά πρωτοπαθής αμυλοείδωση. Η AL συστηματική αμυλοείδωση εκδηλώνεται σε διάμεση ηλικία 65 ετών και είναι συχνότερη στους άνδρες. Η διάγνωση τίθεται σε περιπτώσεις συμβατών κλινικοεργαστηριακών συνδρόμων όταν συνδυάζονται με στοιχεία μονοκλωνικής πλασματοκυτταρικής διαταραχής (πίνακας 4)³¹. Καταρχήν η διάγνωση αμυλοειδώσεως προϋποθέτει την ανεύρεση αναποθέσεων αμυλοειδούς. Απλή και γρήγορη προσέγγιση είναι η βιοψία κοιλιακού λίπους. Μπορεί όμως να χρησιμοποιηθεί και η βιοψία ορθού ή ΜΟ ή εν ανάγκη και βιοψία προσβεβλημένου οργάνου. Στην AL αμυλοείδωση παραπρωτεϊναιμία αποκαλύπτεται στο 50% των περιπτώσεων με ηλεκτροφόρηση πρωτεϊνών του ορού αλλά με την ανοσοκαθήλωση στον ορό και τα ούρα η αναλογία φθάνει το 85%. Οι συγκεντρώσεις της Μ-πρωτεΐνης είναι συνήθως χαμηλές, <1g/dL. Με τον ανοσοπροσδιορισμό του λόγου κ προς λ των ελαφρών αλυσίδων του ορού, διαταραχή διαπιστώνεται στο 98% των περιπτώσεων και η μέθοδος αυτή θεωρείται σήμερα πολύ σημαντική στη διάγνωση και παρακολούθηση των ασθενών με AL αμυλοείδωση. Στο 20% των περιπτώσεων της AL αμυλοειδώσεως υπόκειται ΠΜ. Στις περιπτώσεις αυτές κυριαρχεί πάντως η κλινική εικόνα της μιας εκ των δύο νόσων. Στις περισσότερες περιπτώσεις AL αμυλοειδώσεως τα ευρήματα είναι συμβατά με MGUS.

Οι κλινικές εκδηλώσεις της AL αμυλοειδώσεως ποικίλουν ανάλογα με τα όργανα που έχουν κυρίως προσβληθεί. Η δυσλειτουργία των οργάνων αποδίδεται στη διαταραχή της αρχιτεκτονικής που επιφέρει

η εναπόθεση του αμυλοειδούς αλλά υπάρχουν ενδείξεις ότι το αμυλοειδές έχει και άμεση κυτταροτοξική δράση. Συνήθως προσβάλλονται πολλαπλά όργανα και ιστοί αν και στο 25% των περιπτώσεων η προσβολή αφορά σε ένα μόνον όργανο. Συχνότερα η νόσος εκδηλώνεται ως νεφρωσικό σύνδρομο, περιοριστική μυοκαρδιοπάθεια και περιφερική ή αυτόνομη πολυνευροπάθεια. Συνοδά φαινόμενα όπως η μακρογλωσσία, το σύνδρομο καρπιαίου σωλήνα, πορφυρικές βλάβες στο δέρμα δεν είναι σπάνια. Πάντως η προσβολή των οργάνων δεν πρέπει να είναι τυχαία αλλά εξαρτάται από το μικρογονίδιο της μεταβλητής περιοχής (V_L) που εμπλέκεται στο συγκεκριμένο υποκείμενο πλασματοκυτταρικό κλώνο. Π.χ. ασθενείς με κλώνο που εμπλέκει το μικρογονίδιο $6aV_{LVI}$ έχει μέγιστη πιθανότητα νεφρικής κατά κύριο λόγο προσβολής.

Η πρόγνωση ποικίλει ανάλογα με τον αριθμό των προσβεβλημένων οργάνων και το κυρίως προσβεβλημένο όργανο. Η προσβολή της καρδιάς έχει δυσμενή πρόγνωση³¹.

1.8 Νόσοι εξ εναποθέσεως ελαφρών και βαριών αλυσίδων

Πρόκειται για σπάνιες πλασματοκυτταρικές νεοπλασίες που χαρακτηρίζονται από παραγωγή και έκκριση ελαφρών (συνηθέστερα) ή βαριών αλυσίδων ή και των δύο, που έχουν παθολογική δομή και εναποτίθενται στους ιστούς προκαλώντας δυσλειτουργία οργάνων. Οι εναποθέσεις αυτές δεν έχουν τα χαρακτηριστικά αμυλοειδούς. Πρόκειται συνήθως για ασθενείς με ΠΜ (στο 70%) ή MGUS (15%) ή μονήρες πλασμοκύττωμα ή λεμφοπλασματοκυτταροειδές μη- Hodgkin λέμφωμα. Στο 85% των περιπτώσεων ανιχνεύεται Μ-πρωτεΐνη στον ορό ή τα ούρα. Πρόκειται συνήθως, και αντίθετα με ότι συμβαίνει στην AL

αμυλοείδωση, για εναπόθεση κ ελαφρών αλυσίδων. Η εναπόθεση αποδίδεται σε πολλαπλές μεταλλάξεις της μεταβλητής περιοχής του μορίου, που αλλάζουν τις φυσικοχημικές της ιδιότητες με συνέπεια την καθίζησή τους στους ιστούς.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Γ΄

ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΩΝ ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΩΝ ΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΔΙΑΤΑΡΑΧΩΝ

1.1 Χρωματοσωμικές αλλοιώσεις

Η συστηματική κυτταρογενετική διερεύνηση του ΠΜ προσέκρουε στη χαμηλή μιτωτική δραστηριότητα των μυελωματικών κυττάρων. Ο διάμεσος δείκτης επισημάνσεως (labeling index) των ΠΚ του ΜΟ των ασθενών δεν υπερβαίνει το 1%. Με τη μέθοδο των χρωματοσωμικών ζωνών (banding analysis) παθολογικοί καρυότυποι ταυτοποιούνται στο 30-40% των περιπτώσεων. Επιπλέον η τεχνική αυτή δεν επιτρέπει τον εντοπισμό μικρών απαλειφών, ενθέσεων και ορισμένου τύπου μεταθέσεων χρωματοσωμικού υλικού. Η διερεύνηση επιταχύνθηκε με την εφαρμογή σύγχρονων μοριακών κυτταρογενετικών μεθόδων όπως ο φθορίζων *in situ* υβριδισμός (fluorescent *in situ* hybridization, FISH), ο πολυχρωματικός FISH, η φασματική καρυοτυπική απεικόνιση (spectral karyotype imaging) και ο συγκριτικός γενωμικός υβριδισμός (comparative genomic hybridization) και οδήγησε στην καλύτερη κατανόηση της βιολογίας των πλασματοκυτταρικών νεοπλασιών. Με τις τεχνικές αυτές αποκαλύφθηκαν χρωμοσωμικές ανωμαλίες σε όλους σχεδόν τους ασθενείς με ΠΜ και στους περισσότερους με MGUS^{56,57}.

Πρωτογενείς χρωματοσωμικές μεταθέσεις. Κλωνικές μεταθέσεις που εμπλέκουν τον τόπο της βαρείας αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών (IgH) στη ζώνη 14q32 είναι κεντρικής σημασίας στην ανάπτυξη των πλασματοκυτταρικών νεοπλασιών αν και χαρακτηρίζουν μέρος μόνον των ασθενών^{58,59,60,61}. Οι συχνότερες πέντε, που ανευρίσκονται στο 40-60% των περιπτώσεων, παρατίθενται στον πίνακα 11^{56,57}. Αποτέλεσμα όλων αυτών των μεταθέσεων είναι η αυξημένη έκφραση ογκογονιδίων

των οποίων οι αλληλουχίες έρχονται σε γειτνίαση με τους ισχυρούς ενισχυτές του γονιδίου IgH .

Πίνακας 11. Πρωτογενείς αντιμεταθέσεις στις πλασματοκυτταρικές νεοπλασίες

τόπος	συχνότητα (%)	εμπλεκόμενα ογκογονίδια	λειτουργία ογκογονιδίου
11q13	15-21	κυκλίνη D1	ρυθμιστής κυτταρικού κύκλου
4p16.3	10-15	FGFR3 και MMSET	υποδοχείς τυροσινικών κινασών
16q23	2-10	c-maf	μεταγραφικός παράγων τύπου bzip
6p21	3-5	κυκλίνη D3	ρυθμιστής κυτταρικού κύκλου
20q11	2	mafB	μεταγραφικός παράγων τύπου bzip

Η αντιμετάθεση t(11;14)(q13;q32) οδηγεί σε υπερέκφραση της κυκλίνης D1 και συνδέεται με ώριμη μορφολογία των μυελωματικών κυττάρων, την έκφραση του CD20, τα ολίγο- ή μη- εκκριτικά μυελώματα και δε φαίνεται να έχει προγνωστική σημασία⁶².

Η αντιμετάθεση t(4;14)(p16;q32) οδηγεί σε απορρύθμιση δύο ογκογονιδίων: του υποδοχέα 3 του αυξητικού παράγοντα των ινοβλαστών (fibroblast growth factor receptor 3, FGFR3) και του γονιδίου του πολλαπλού μυελώματος με SET περιοχή (multiple myeloma SET domain gene, MMSET) άγνωστης λειτουργίας.⁶³ Το γονίδιο MMSET υπερεκφράζεται όλες τις περιπτώσεις με την συγκεκριμένη αντιμετάθεση ενώ το γονίδιο FGFR3 δεν εκφράζεται στο 1/3 των περιπτώσεως λόγω απαλειφής. Η αντιμετάθεση t(4;14) είναι συχνότερη

στα IgA μυελώματα και σε ασθενείς με επιθετικά κλινικά χαρακτηριστικά και είναι δείκτης δυσμενούς πρόγνωσης.⁶²

Η αντιμετάθεση t(14;16)(q32;q23) είναι καρυοτυπικά κρυμμένη και οδηγεί σε υπερέκφραση του μεταγραφικού παράγοντα c-maf του τύπου βασικού φερμουάρ λευκίνης.⁶² Υπάρχουν ενδείξεις ότι συνδέεται με δυσμενή πρόγνωση αν και τούτο δεν είναι πλήρως τεκμηριωμένο.

Αριθμητικές χρωματοσωμικές ανωμαλίες. Οι καρυότυποι των πλασματοκυτταρικών νεοπλασιών είναι σύνθετοι αλλά συστηματικές μελέτες οδήγησαν στη διάκριση δύο ομάδων ανωμαλιών^{64,65,66}:

α. Υπερδιπλοειδικές που έχουν πολλαπλές τρισωμίες των χρωμοσωμάτων 3,5,7,9,11,15,19 και 21 και

β. Μη υπερδιπλοειδικές που περιλαμβάνουν περιπτώσεις υποδιπλοειδίας με απώλειες μεταξύ των χρωμοσωμάτων 13,14,16 και 22, ψευδοϋποδιπλοειδίας και σχεδόν τετραπλοειδίας (>75 χρωμοσώματα). Οι τελευταίες περιλαμβάνονται στην ομάδα αυτή διότι εμφανίζουν συχνά χρωματοσωμικές απώλειες. Οι περιπτώσεις με μη- υπερδιπλοειδικούς καρυότυπους χαρακτηρίζονται από υψηλή συχνότητα των ως άνω περιγραφεισών αντιμεταθέσεων (>85%) έναντι των υπερδιπλοειδικών (<30%), συχνότερη απώλεια του χρωμοσώματος 13/13q14 και έχουν δυσμενέστερη πρόγνωση.^{66,67}

Η ανευπλοειδία και οι χρωμοσωμικές μεταθέσεις παρατηρούνται με την ίδια περίπου συχνότητα στο συμπτωματικό μυέλωμα, το ασυμπτωματικό και τις MGUS, γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για πρώιμα ογκογενετικά συμβάματα.^{67,68}

Ανεύρεση της ελείψεως -13/13q-. Η ανωμαλία -13/13q- παρατηρείται στο 40-50% των περιπτώσεων ΠΜ με τη μέθοδο FISH

(αλλά μόνον 10-20% με τη συμβατική μεθοδολογία). Πρόκειται είτε για μονοσωμία 13 είτε η απαλειφή επικεντρώνεται στο 13q14 που όμως ισοδυναμεί με μονοσωμία.⁶⁹ Είναι συχνότερη σε μη υπερδιπλοειδικούς έναντι υπερδιπλοειδικών περιπτώσεων (65% έναντι 25-35%) και πολύ συχνότερη σε ασθενείς με αντιμεταθέσεις t(4;14)(p16;q32) ή t(14;16)(q32;q23) όπου η συχνότητα φθάνει το 90%.^{61,66,68} Η διάμεση αναλογία των ΠΚ με την απώλεια ανέρχεται στο 75 με 90%. Η βλάβη πιθανώς εμπλέκεται στην πρόοδο της νόσου διότι παρατηρείται πρώιμα στο 20% των περιπτώσεων MGUS, και 40% στο ασυμπτωματικό μυέλωμα. Θεωρείται δευτερογενές σύμβαμα που παρέχει πλεονεκτήματα στον πληθυσμό των ΠΚ που φέρουν την βλάβη αυτή. Η παρουσία της βλάβης -13/13q- συνδέεται με πτωχή πρόγνωση.⁷⁰

Δευτερογενείς μεταθέσεις και μεταλλάξεις. Η συχνότητα των μεταθέσεων που εμπλέκει τον τόπο 14q32 αυξάνει με την πρόοδο της νόσου και φθάνει το 90% σε προχωρημένα στάδια, αντανακλώντας την αύξηση των δευτερογενών μεταθέσεων. Οι μεταθέσεις αυτές απουσιάζουν από την MGUS και το ασυμπτωματικό μυέλωμα. Οι δευτερογενείς μεταθέσεις είναι δομικά σύνθετες, δε συνδέονται με τον ειδικό μηχανισμό ανασυνδυασμού του γονιδίου IgH και τα ρήγματα σπάνια εντοπίζονται στην ή πλησίον της περιοχής της μεταστροφής τάξεως.⁵⁶ Παράδειγμα δευτερογενούς μετάθεσης είναι αυτή που εμπλέκει το γονίδιο c-myc t(8;14)(8q24;q32). Το σημείο ρήξεως του χρωμοσώματος 14q32 στην περίπτωση αυτή είναι διαφορετικό από αυτό των πρωτογενών μεταθέσεων. Επίσης η μετάθεση είναι όψιμο σύμβαμα δεδομένου ότι σπανιότατα ανευρίσκεται κατά τη διάγνωση του ΠΜ ενώ συναντάται στο 40% των περιπτώσεων σε προχωρημένα στάδια της νόσου. Αντιμεταθέσεις που εμπλέκουν τα γονίδια των ελαφρών αλυσίδων είναι σπάνιες. Πράγματι μεταθέσεις του γονιδίου IgL_k είναι

σπανιότατες ενώ του γονιδίου IgL_λ βρίσκονται στο 20% των περιπτώσεων σε προχωρημένη νόσο.

Μεταλλάξεις των γονιδίων N-ras και K-ras είναι σπάνιες σε MGUS, ασυμπτωματικό μυέλωμα και μονήρες πλασμοκύττωμα αλλά συναντάται στο 35-50% των περιπτώσεων ΠΜ κατά τη διάγνωση και ακόμη συχνότερα σε όψιμα στάδια της νόσου. Θεωρείται ότι η ενεργοποίηση των γονιδίων Ras είναι σημαντική στην ογκογένεση του ΠΜ.

Απαλειφή του γονιδίου p53 (συνήθως ενδιάμεση απαλειφή του 17p13 που απαιτεί μοριακές κυτταρογενετικές τεχνικές για να αποκαλυφθεί) είναι σπάνια σε νεοδιαγνωσμένο πολλαπλό μυέλωμα (5-10%) αλλά λειτουργική αδρανοποίηση του γονιδίου ανευρίσκεται στο 40% των ασθενών με προχωρημένη νόσο. Βλάβες του γονιδίου p53 δεν έχουν ευρεθεί σε MGUS. Θεωρείται δείκτης προόδου της νόσου, έχει αρνητική προγνωστική αξία και συνδέεται με βραχύτερη επιβίωση.⁷¹ Ανωμαλίες του χρωμοσώματος 1q έχουν παρατηρηθεί σε προχωρημένα στάδια της νόσου και συνδέονται με κακή πρόγνωση. Πολλαπλασιασμός και υπερέκφραση του γονιδίου CKS1B (που λειτουργεί ως ρυθμιστής του κυτταρικού κύκλου και βρίσκεται στο 1q21) συνδέεται με ιδιαίτερα κακή πρόγνωση.⁷²

Επιγενετικές διαταραχές. Είναι αλλοιώσεις στην έκφραση των γονιδίων που δεν οφείλονται σε αλλαγές της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας του DNA. Στο πολλαπλό μυέλωμα έχει περιγραφεί υπερμεθυλίωση των ρυθμιστών του κυτταρικού κύκλου p15 και p16 (που λειτουργούν ως αναστολείς της προόδου της φάσης G₁ του κύκλου), η οποία συνεπάγεται την αδρανοποίησή τους. Οι αλλοιώσεις αυτές στην ίδια σχεδόν αναλογία περιπτώσεων έχουν περιγραφεί στην MGUS γεγονός που υποδηλώνει ότι

πρόκειται για πρώιμα συμβάματα που δε συνδέονται με την πρόοδο της νόσου. Πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η υπερμεθυλίωση του p16 δεν έχει εμφανείς και άμεσες βιολογικές και κλινικές συνέπειες.⁷³

1.2 Ογκογένεση πλασματοκυτταρικών νεοπλασμάτων

Τα μυελωματικά κύτταρα φέρουν σωματικές υπερμεταλλάξεις (περισσότερες από οποιαδήποτε άλλη B- λεμφοϋπερπλαστική νεοπλασία) χωρίς να παρατηρείται ενδοκλωνική διαφοροποίηση και η αλληλουχία των μεταβλητών περιοχών των γονιδίων της ανοσοσφαιρίνης παραμένει σταθερή στην πορεία της νόσου.⁷⁴ Επομένως τα μυελωματικά κύτταρα προέρχονται από ένα μεταλεμφοζιδιακό B- λεμφοκύτταρο, δηλαδή ένα κύτταρο που έχει διέλθει (και υποστεί την αντιγονο-εξαρτώμενη διεργασία) από βλαστικό κέντρο. Όπως έχει ήδη σκιαγραφηθεί τα B- λεμφοκύτταρα επιλέγονται από ξένα αντιγόνα με τις διεργασίες που υφίστανται στα βλαστικά κέντρα υφιστάμενα σημειακές υπερμεταλλάξεις και στη συνέχεια μεταστροφή τάξεως των ανοσοσφαιρινών ώστε τελικά να παραχθούν λειτουργικά κύτταρα που μεταναστεύουν στο ΜΟ. Κατά τις διεργασίες αυτές μπορεί να συμβεί βλάβη σε ένα μοναδικό κύτταρο, η οποία του προσδίδει πλεονεκτήματα επιβιώσεως και αναπτύξεως με συνέπεια να παραχθεί ένας νεοπλασματικός κλώνος. Γενικά γίνεται δεκτό ότι υπάρχουν δύο οδοί που εμπλέκονται στην πρώιμη παθογένεση της MGUS και του πολλαπλού μυελώματος. Ο ένας δρόμος αφορά τους υποδιπλοειδικούς όγκους οι οποίοι έχουν ως επί το πλείστον μεταθέσεις που εμπλέκουν το IgH γονίδιο και ο άλλος αφορά τους υπερδιπλοειδικούς όγκους.⁷⁵

Στις περιπτώσεις με αντιμεταθέσεις εμπλέκουσες τον τόπο IgH (14q32) η βλάβη συμβαίνει κατά τη φυσιολογική διεργασία μεταστροφής

τάξεως της ανοσοσφαιρίνης. Τούτο προκύπτει από τα μοριακά χαρακτηριστικά των μεταθέσεων που εμπλέκουν τις περιοχές που ελέγχουν τη διαδικασία μεταστροφής τάξεως (switch) του γονιδίου IgH.⁷⁶ Συγκεκριμένα τα λάθη συμβαίνουν κατά τη διαδικασία διασπάσεως και επανασυνδέσεως του διπλοελικωμένου DNA ώστε να επιτευχθεί η μεταστροφή τάξεως. Αντί η επανασύνδεση να γίνει σε αλληλουχίες του γονιδίου της ανοσοσφαιρίνης γίνεται με αλληλουχίες άλλου χρωμοσώματος με συνέπεια να προκύπτουν αντιμεταθέσεις. Οι 'νόθες' αυτές μεταθέσεις έχουν ως συνέπεια την ενεργοποίηση ογκογονιδίων που ευνοούν τη διατήρηση και επέκταση του προκύπτοντος παθολογικού κλώνου. Οι πρωτογενείς μεταθέσεις συμβαίνουν κατά κύριο λόγο στο μη λειτουργικό αλληλίο IgH, όπως προκύπτει από το γεγονός ότι στη συντριπτική πλειονότητα των περιπτώσεων πλασματοκυτταρικών νεοπλασιών τα ΠΚ συνθέτουν ώριμη ανοσοσφαιρίνη (παραπροτεΐνη) από το λειτουργικό VDJ_H ανασυνδυασμό. Εναλλακτικά μπορούν να συμβούν μεταθέσεις που εμπλέκουν τους τόπους 2p11 ή 22q11 των ελαφρών κ ή λ αλυσίδων αντίστοιχα αν και τούτο είναι σπάνιο σύμβαμα.

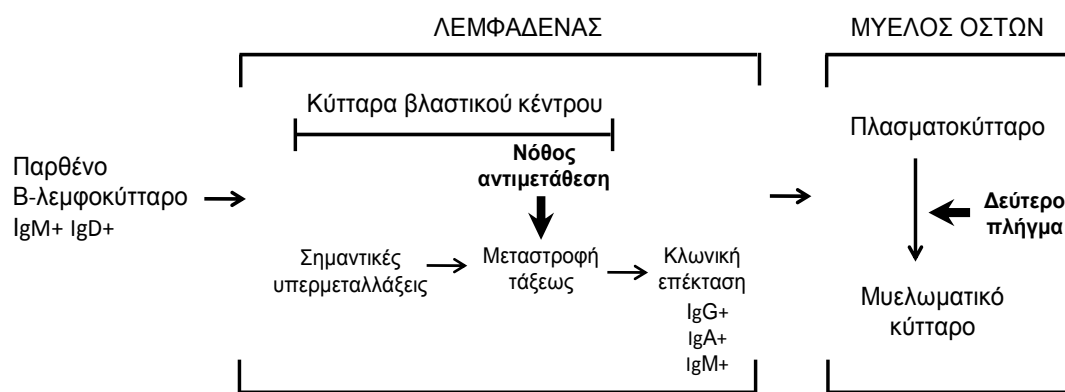
Στις περιπτώσεις υπερδιπλοειδικών νεοπλασματικών νεοπλασιών χωρίς παρουσία πρωτογενών μεταθέσεων η βλάβη φαίνεται ότι συμβαίνει επίσης κατά τη διέλευση του B- λεμφοκυττάρου από το βλαστικό κέντρο. Στις περιπτώσεις αυτές το λειτουργικό πλεόνασμα (gain) συγκεκριμένων ογκογονιδίων αποτελεί το κύριο μετασχηματιστικό γεγονός. Π.χ. στο 40% των περιπτώσεων με τρισωμία του χρωμοσώματος 11 χωρίς τη μετάθεση t(11;14) βρέθηκε υπερέκφραση της κυκλίνης D1.⁷⁷

Ειδικός σχολιασμός απαιτείται για τις περιπτώσεις IgG ή IgA νεοπλασματικών νεοπλασιών στις οποίες ανευρίσκονται κλωνοτυπικά IgM+ λεμφοκύτταρα στο ΜΟ ή το περιφερικό αίμα (δηλαδή κύτταρα με πανομοιότυπη V_H αλληλουχία με αυτήν των νεοπλασματικών κυττάρων

που έχουν υποστεί μεταστροφή τάξεως. Αν η μετασχηματιστική βλάβη συμβεί πριν από τη μεταστροφή τάξεως της ανοσοσφαιρίνης (π.χ. αν ο 'νόθος' ανασυνδυασμός συμβεί πριν από το 'νόμιμο' του λειτουργικού αλληλίου IgH) θα παραχθεί ένα μείγμα IgM+ και IgG+ (ή IgA+) υποπληθυσμών που έχουν πλεονέκτημα επιβιώσεως και επεκτάσεως. Τα υπολειπόμενα IgM+ λεμφοκύτταρα διαφοροποιούνται σε μνημονικά κύτταρα, παραμένουν εξαρτώμενα από τη σηματοδότηση μέσω του υποδοχέα τους και αλληλεπιδρούν με τα αντίστοιχα αντιγόνα με συνέπεια να υφίστανται κλωνική επέκταση και να επανακυκλοφορούν μέσω του περιφερικού αίματος και του ΜΟ επιτρέποντας την ανίχνευσή τους.⁷⁶

Η ανευπλοειδία με ή χωρίς πρωτοπαθείς χρωματοσωμικές μεταθέσεις αποτελούν πολύ πρώιμα ογκογενετικά συμβάματα δεδομένου ότι πρώτον ανευρίσκονται σε όλα σχεδόν τα κύτταρα του νεοπλασματικού κλώνου και δεύτερον παρατηρούνται στην ίδια περίπου συχνότητα στην MGUS, το ασυμπτωματικό και συμπτωματικό μυέλωμα. Πρόκειται επομένως για αναγκαίες αλλά όχι επαρκείς βλάβες του κακοήθους μετασχηματισμού του παθολογικού κλώνου. Οι αλλοιώσεις αυτές εκκινούν τη νεοπλασματική διαδικασία αλλά δεν είναι υπεύθυνες για την πλήρη κακοήθη εξαλλαγή. Η πλήρης εξαλλαγή σε κακοήθεια συμβαίνει στο ΜΟ δηλαδή αφού το αρχικά μετασχηματισμένο κύτταρο εγκαταλείψει το περιβάλλον του βλαστικού κέντρου. Η εξαλλαγή αυτή προκύπτει ως συνέπεια ενός δεύτερου πλήγματος που απορρυθμίζει γονίδια κριτικής σημασίας. Η φύση αυτού του δεύτερου πλήγματος δεν έχει αποσαφηνισθεί. Μεταλλάξεις των ογκογονιδίων N-ras και K-ras, δευτερογενείς μεταθέσεις όπως t(8;14), μεθυλίωση του p16, μεταλλάξεις του p53 αποτελούν μερικές μόνον από τις βλάβες που μπορεί να είναι υπεύθυνες. Πάντως η κακοήθης εξαλλαγή αποτελεί τυχαία εξέλιξη και όχι συνέπεια αθροιστικών βλαβών διότι ο ρυθμός εξέλιξης σε ΠΜ των

περιπτώσεων MGUS είναι σταθερός και ο κίνδυνος δεν σχετίζεται με τη διάρκεια της προηγούμενης MGUS. Στο Σχ 6 συνοψίζεται η διαδικασία που οδηγεί στο ΠΜ.



Σχήμα 6. Η ογκογένεση του πολλαπλού μυελώματος περιλαμβάνει δύο πλήγματα (two hits theory). Το πρώτο συμβαίνει κατά τη διαδικασία μεταστροφής τάξεως στα βλαστικά κέντρα των περιφερικών λεμφικών οργάνων και συνιστά αναγκαία όχι όμως επαρκή βλάβη για την ανάπτυξη της νόσου. Η πλήρης εξαλλαγή σε κακοήθεια συμβαίνει στο μυελό των οστών ως συνέπεια δεύτερου πλήγματος η φύση του οποίου δεν έχει αποσαφηνιστεί.

1.3 Ο ρόλος του μυελικού μικροπεριβάλλοντος στις νεοπλασματικές πλασματοκυτταρικές διαταραχές.

1.3.1 Προσκόλληση, κυττοκίνες και χημειοκίνες

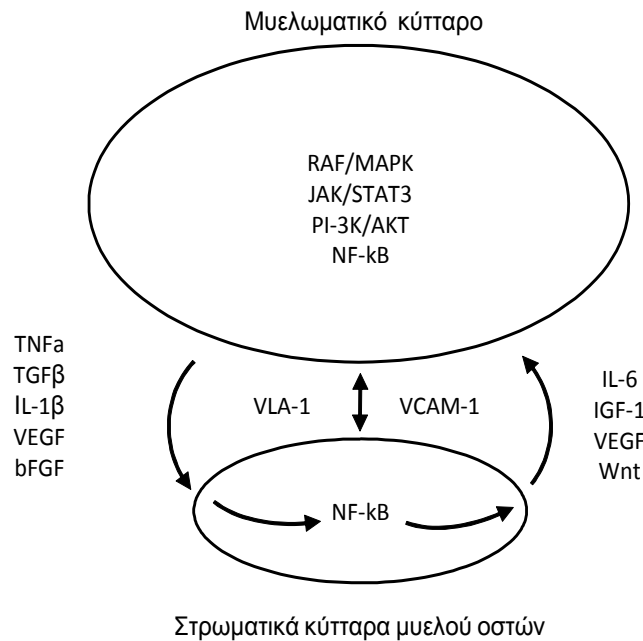
Η αμφίδρομη αλληλεπίδραση των νεοπλασματικών ΠΚ με το μικροπεριβάλλον του ΜΟ είναι κριτικής σημασίας για την επιβίωση, τη διαφοροποίηση, την ανάπτυξη και την ανθεκτικότητά τους στη φαρμακευτική αγωγή.^{75,78,79} Η ικανότητα του μυελικού μικροπεριβάλλοντος να υποστηρίζει τα μυελωματικά κύτταρα μπορεί να θεωρηθεί ως παθοφυσιολογικά δυσμενής εκδήλωση του φυσιολογικού τους ρόλου να υποστηρίζουν τα ΠΚ όπως και τα αιμοποιητικά κύτταρα γενικότερα.⁷⁸ Τα ΠΚ, φυσιολογικά και νεοπλασματικά, προσκολλώνται στα στρωματικά κύτταρα του ΜΟ (bone marrow stromal cells, BMSC). Δεν έχει διευκρινιστεί αν κάποιοι συγκεκριμένοι πληθυσμοί των BMSC είναι πιο υπεύθυνοι από άλλους για την υποστήριξη των νεοπλασματικών ΠΚ. Πολύ σημαντικά μόρια για την προσκόλληση των μυελωματικών κυττάρων στα BMSC είναι οι ιντεγρίνες LFA-1 (lymphocyte function antigen 1) και VLA-4 (very late antigen 4) των κυττάρων του ΠΚ και τα προσκολλητικά μόρια τύπου ανοσοσφαιρίνης ICAM-1 (intracellular cell adhesion molecule 1) και VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule 1) των BMSC.^{80,81} Και άλλα προσκολλητικά μόρια συμμετέχουν όπως το NCAM και η συντεκάνη 1 (CD138) αλλά η λειτουργική τους σημασία δεν έχει επαρκώς αποσαφηνισθεί.

Οι ως άνω διακυτταρικές αλληλεπιδράσεις συνεισφέρουν στην επιβίωση, ανάπτυξη και επέκταση του μυελωματικού κλώνου με σειρά διακριτών αλλά αμοιβαία συμπληρωματικών μηχανισμών.⁷⁸ Πρώτον, έχουν άμεση, διαμεσολαβούμενη από τα προσκολλητικά μόρια, ενεργοποίηση ενδοκυττάρων σηματοδοτικών καταρρακτών και δεύτερον

δρουν με την επαγόμενη σύνθεση και έκκριση στο μικροπεριβάλλον του ΜΟ κυττοκινών/αυξητικών παραγόντων και άλλων μορίων που έχουν αυτοκρινική ή παρακρινική δράση. Σε *in vitro* μηχανιστικές μελέτες έχει δειχθεί ότι η άμεση διαμεσολαβούμενη με την προσκόλληση αντιαποπτωτική σηματοδότηση προηγείται της εκκρίσεως κυττοκινών αλλά τελικά η άμεση δράση συνεργάζεται με την επαγόμενη από τις κυττοκίνες. Έχει γενικά γίνει δεκτό ότι και οι δύο μηχανισμοί συνεργούν *in vivo*. Παράλληλα με τις διακυτταρικές συντελούνται και αλληλεπιδράσεις μεταξύ των νεοπλασματικών κυττάρων και συστατικών της θεμελίου ουσίας. Η σύνδεση π.χ. των μυελωματικών κυττάρων με μόρια ινωδονεκτίνης αυξάνει τις αντιαποπτωτικές τους πρωτεΐνες και επάγει την φαρμακευτική αντίσταση.

Όπως ήδη ελέχθη η αλληλεπίδραση μεταξύ των μυελωματικών κυττάρων και των BMSC είναι αμφίδρομη (Σχήμα 7).^{75,78,82} Τα μυελωματικά κύτταρα συνθέτουν και εκκρίνουν παράγοντες όπως νεκρωτικό παράγοντα των ιστών (tissue necrosis factor α , TNF α), μετασχηματιστικό αυξητικό παράγοντα (transforming growth factor β , TGF β), ιντερλευκίνη 1 β (IL-1 β) κ.α. που επάγουν την ενεργοποίηση των BMSC. Τα τελευταία παράγουν σειρά παραγόντων όπως ιντερλευκίνη 6 (IL-6), ινσουλινοειδή αυξητικό παράγοντα (insuline like growth factor 1, IGF-1), αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα (vascular endothelial growth factor, VEGF) και πολλούς άλλους που ευοδώνουν την επιβίωση και ανάπτυξη των κυττάρων του ΠΜ.

Ο σημαντικός ρόλος που διαδραματίζει η IL-6 στην παθογένεια του ΠΜ αναγνωρίστηκε νωρίς και ερευνήθηκε εντατικά.^{75,78,79,82} Τα νεοπλασματικά ΠΚ συνθέτουν IL-6, η οποία εκκρινόμενη δρα αυτοκρινικά, πρωτίστως όμως παράγεται από τα BMSC. Η παραγωγή της



Σχήμα 7. Αλληλεπιδράσεις μεταξύ μυελωματικών κυττάρων και στρωματικών κυττάρων του μυελού των οστών. Εμφανίζονται οι κυριότερες οδοί και σηματοδοτικά μόρια που εμπλέκονται στην παθοφυσιολογία του πολλαπλού μυελώματος.

από τα BMSC είναι άμεση συνέπεια της προσκολλησεως στα κύτταρα αυτά των μυελωματικών κυττάρων αλλά και της δράσης παραγόντων που εκφράζονται και εκκρίνονται από τα μυελωματικά κύτταρα όπως ο παράγων νεκρώσεως των ιστών (TNFα), ο μετασχηματιστικός αυξητικός παράγων 1 (TGF-1), η ιντερλευκίνη 1β (IL-1β), ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγων (VEGF) κ.α. Τα επίπεδα της IL-6 και του υποδοχέα της (IL-6R) αυξάνονται στο ΠΜ και συνιστούν δείκτη της προόδου της νόσου. Οι τιμές της στον ορό αντανακλούν το αυξητικό κλάσμα του νεοπλασματικού κλώνου. Η IL-6 θεωρήθηκε ότι είναι ο

κεντρικός ρυθμιστής της βιολογικής συμπεριφοράς του ΠΜ. Εν τούτοις αναστολή των IL-6R σε συγκαλλιέργειες μυελωματικών κυττάρων με BMSC δεν οδήγησε στην απόπτωσή τους.⁸³ Επίσης κλινικές μελέτες στις οποίες χορηγήθηκαν αντισώματα που είχαν ανασταλτική δράση στον IL-6R δεν έδειξαν αξιόλογες κλινικές ανταποκρίσεις. Τα αποτελέσματα αυτά σε συνδυασμό και με άλλες ενδείξεις δείχνουν ότι υπάρχουν οδοί ανεξάρτητες από την IL-6 που ασκούν αντιαποπτωτική και αυξητική δράση στα μυελωματικά κύτταρα. Τα BMSC δηλαδή εκκρίνουν και άλλους παράγοντες που ευοδώνουν την επιβίωση και ανάπτυξη των μυελωματικών κυττάρων και δεν είναι απλά μια μόνον κυττοκίνη υπεύθυνη για τη βιολογική συμπεριφορά του ΠΜ.

Ο ινσουλινοειδής αυξητικός παράγων 1 (IGF-1)^{78,82} παράγεται στο ήπαρ, στα BMSC και στις οστεοβλάστες. Ο IGF-1 στηρίζει την επιβίωση και διεγείρει την ανάπτυξη των μυελωματικών κυττάρων, τόσο αυτών που η ανάπτυξή τους εξαρτάται από την IL-6 με την οποία δρα συνεργικά, όσο και αυτών που αναπτύσσονται ανεξάρτητα από την παρουσία IL-6. Τα επίπεδα του IGF-1 στον ορό και το πλάσμα του μυελικού μικροπεριβάλλοντος των ασθενών έχουν βρεθεί αυξημένα. Γενικά θεωρείται ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια του ΠΜ.

Ο VEGF συντίθεται και εκκρίνεται από τα μυελωματικά κύτταρα και τα BMSC. Ο VEGF συμμετέχει στη νεοαγγειογένεση αλλά έχει και άμεση δράση στα μυελωματικά κύτταρα.^{75,82} Επάγει μέτρια την ανάπτυξή τους, ενισχύει την επιβίωσή τους μέσω αυξημένης παραγωγής αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών και έχει ισχυρή δράση στη μεταναστευτική τους ικανότητα. Η προσκόλληση των μυελωματικών κυττάρων στα BMSC αυξάνει την έκκριση από τα τελευταία του VEGF ενώ η IL-6 την

έκκρισή του από τα μυελωματικά κύτταρα. Αντίστροφα ο VEGF αυξάνει τη σύνθεση και έκκριση της IL-6 από τα BMSC.

Ο προερχόμενος από στρωματικά κύτταρα παράγων 1 (stromal cell derived factor 1, SDF-1)^{75,84}, είναι χημειοκίνη και συζεύκτης του υποδοχέα CXCR4 που εκφράζεται στα μυελωματικά κύτταρα. Ο SDF-1 παράγεται από τα BMSC. Επάγει μέτρια ανάπτυξη και αυξάνει τη μεταναστευτική ικανότητα των μυελωματικών κυττάρων. Επίσης αυξάνει την έκκριση παραγόντων όπως IL-6 και VEGF από τα BMSC καθώς και τη σύνθεση του προσκολλητικού μορίου VLF4.

Ο TNFα εκφράζεται και εκκρίνεται από τα μυελωματικά κύτταρα και πυροδοτεί την έκφραση και έκκριση IL-6 από τα BMSC πιο έντονα από τον VEGF. Διαμεσολαβεί την αυξημένη παραγωγή προσκολλητικών μορίων στα κύτταρα του ΠΜ και στα BMSC αυξάνοντας τις μεταξύ τους διακυτταρικές συνδέσεις.

1.3.2 Ενδοκυττάριοι σηματοδοτικοί καταρράκτες.

Οι αλληλεπιδράσεις των μυελωματικών κυττάρων με το μικροπεριβάλλον του ΜΟ οδηγούν στην ενεργοποίηση σειράς ενδοκυττάρων σηματοδοτικών καταρρακτών όπως Raf/MAPK, JAK/STAT3, PI-3K/Akt, NF-kB (Σχ 7).^{75,78,82,85,86,87} Η ενεργοποίηση αυτή είναι συνέπεια:

α) της προσκολλησεως των μυελωματικών κυττάρων στα BMSC μέσω των προσκολλητικών μορίων που πυροδοτούν μονοπάτια ενδοκυττάρων κινασών όπως της εστιακής προσκολλητικής κινάσης (focal adhesion kinase, FAK)· β) της δράσεως κυττοκινών/αυξητικών παραγόντων στους αντίστοιχους υποδοχείς· γ) ογκογόνων μεταλλάξεων όπως οι μεταλλάξεις του ογκογονιδίου ras. Τα σηματοδοτικά αυτά μονοπάτια είναι συχνά

αλληλοεπικαλυπτόμενα αλλά οι βιολογικές τους συνέπειες δεν είναι ταυτόσημες.

Το μονοπάτι Raf/MAPK ενεργοποιούν η πλειονότητα των κυττοκινών/αυξητικών παραγόντων που διεγείρουν τα μυελωματικά κύτταρα (IL-6, VEGF, IGF-1 κ.α.) αλλά και ογκογόνες μεταλλάξεις του ογκογονιδίου Ras. Η ενεργοποίηση του μονοπατιού αυτού συμβάλει στην ανάπτυξη των μυελωματικών κυττάρων. Το μονοπάτι JAK/STAT3 ενεργοποιείται πρωτίστως από την IL-6 και συμμετέχει στην επιβίωση των μυελωματικών κυττάρων. Η αναστολή όμως της ενεργοποίησης της STAT3 παρουσία BMSC δεν επηρεάζει την επιβίωση των μυελωματικών κυττάρων που προφανώς εξασφαλίζεται από ανεξάρτητες οδούς με αντιαποπτωτική δράση. Το μονοπάτι PI-3K/Akt ενεργοποιείται επίσης από τις περισσότερες κυττοκίνες/αυξητικούς παράγοντες και διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο διότι ρυθμίζει την έκφραση μεγάλου αριθμού γονιδίων που εμπλέκονται στη επιβίωση και φαρμακευτική αντοχή των μυελωματικών κυττάρων.

Η ενεργοποίηση του NF-kB έχει αναδειχθεί σε κεντρικής σημασίας μηχανισμό στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ μυελωματικών κυττάρων και μικροπεριβάλλοντος του ΜΟ.⁸⁷ Τον NF-kB στα BMSC ενεργοποιούν προσκολλητικά μόρια και ποικίλοι παράγοντες (IL-1β, TNFα, TGF κ.α.) που εκκρίνονται από τα μυελωματικά κύτταρα. Η ενεργοποίηση αυτή οδηγεί στην έκφραση και έκκριση από τα BMSC των παραγόντων (IL-6, IGF-1, SDF-1 κτλ.) που στη συνέχεια υποστηρίζουν την επιβίωση και ανάπτυξη των κυττάρων του ΠΜ. Ο παράγων NF-kB βρίσκεται ενεργοποιημένος και στα μυελωματικά κύτταρα στην πλειονότητα των ασθενών. Τούτο είναι συνέπεια αφενός της δράσης των κυττοκινών/αυξητικών παραγόντων που εκκρίνονται από τα BMSC και αφετέρου μεταλλάξεων σηματογωγών μορίων που οδηγούν σε

ιδιοσυστασιακή ενεργοποίηση του. Ο NF-kB ρυθμίζει την έκφραση μεγάλου αριθμού γονιδίων των μυελωματικών κυττάρων που εμπλέκονται στην ανάπτυξη, διαφοροποίηση και επιβίωσή τους καθώς και στην αγγειογένεση και τη μεταναστευτική τους ικανότητα. Ειδική αναστολή του NF-kB αναστέλλει την ανάπτυξη και οδηγεί τα μυελωματικά κύτταρα σε απόπτωση.

Τελευταία έχει δοθεί ιδιαίτερη σημασία στη συμμετοχή πρωτεϊνών της οικογένειας Notch στην παθογένεια του ΠΜ.⁸⁸ Μέλη της οικογένειας Notch και οι συζεύκτες τους (Jagged 1 και 2) εκφράζονται στα μυελωματικά κύτταρα. Επιπλέον ο συζευκτής Jagged 1 εκφράζεται στα BMSC. Αλληλεπιδράσεις μεταξύ των υποδοχέων Notch και των συζευκτών τους (ομοτυπικές μεταξύ μυελωματικών κυττάρων και ετεροτυπικές μεταξύ μυελωματικών κυττάρων και BMSC) ευοδώνουν την ανάπτυξη και επιβίωση των νεοπλασματικών ΠΚ.

1.3.3 Νεοαγγειογένεση

Η νεοαγγειογένεση συνιστά κεντρικής σημασίας διεργασία στην ανάπτυξη των συμπαγών όγκων. Απεδείχθη όμως ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο και στα αιματολογικά νεοπλάσματα περιλαμβανομένων και των πλασματοκυτταρικών.^{89,90,91} Έχει δειχθεί ότι η μικροαγγειακή πυκνότητα (microvessel density, MVD) είναι υψηλή σε ενεργό ΠΜ, σχετικά με το ασυμπτωματικό και την MGUS. Επίσης η MVD μειώνεται κατά την ύφεση του ΠΜ. Κατά συνέπεια η MVD βαίνει παράλληλα με την πρόοδο της νόσου. Επιπλέον η MVD συσχετίζεται θετικά με το δείκτη επισημάνσεως (Labelling index) και με τις παραμέτρους που είναι ενδεικτικές ενεργού νόσου. Είναι γνωστό ότι τα μυελωματικά κύτταρα εκκρίνουν VEGF και FGF που συμμετέχουν στην νεοαγγειογένεση. Στην ανάπτυξη νέων αγγείων όμως συμμετέχουν και τα BMSC. Άλλοι

παράγοντες που έχουν συμμετοχή είναι η αγγειοποιητίνη-1 (Ang-1) με τον υποδοχέα της Tie-2, ο ηπατικός αυξητικός παράγων (HGF) κ.α. Όπως σε όλα πάντως τα νεοπλάσματα και στο ΠΜ διαταράσσεται η ισορροπία μεταξύ αγγειογενετικών και αντιαγγειογενετικών παραγόντων. Σε πρόσφατη μελέτη μεγάλου αριθμού ασθενών αξιολογήθηκε η έκφραση αγγειογενετικών και αντιαγγειογενετικών γονιδίων με τη μέθοδο των DNA μικροσυστοιχιών (DNA microarrays) σε απομονωμένα μυελωματικά κύτταρα. Στη μελέτη αυτή διαπιστώθηκε ότι τα μυελωματικά κύτταρα εκφράζουν πλεόνασμα αγγειογενετικών έναντι αντιαγγειογενετικών γονιδίων.

Ο μηχανισμός της αγγειογενετικής μεταστροφής (switch), δηλαδή της ανάπτυξης νεοαγγειογένεσης κατά τη μετάβαση από MGUS σε συμπτωματικό ΠΜ δεν είναι αποσαφηνισμένος. Πιθανώς συνδέεται με το νεοπλασματικό φορτίο ή την απώλεια αντιαγγειογενετικής δραστηριότητας.

1.3.4 Παθογένεια των οστεολύσεων στο ΠΜ

Οι οστεολύσεις αποτελούν τυπική εκδήλωση του ΠΜ και το χαρακτηρίζουν στο 70-80% των περιπτώσεων. Σχετικά με το μηχανισμό των οστεολυτικών βλαβών τα ακόλουθα είναι βασικής σημασίας: Πρώτον, οι οστεολύσεις οφείλονται σε αυξημένη δράση των οστεοκλαστών που είναι τα φυσιολογικά κύτταρα οστικής αποδομήσεως. Δεύτερον, οι οστεοκλάστες συσσωρεύονται στις επιφάνειες της οστικής καταστροφής εν γειτονία με συσσωρεύσεις μυελωματικών κυττάρων ενώ δεν παρατηρείται καταστροφή οστού σε περιοχές φυσιολογικού ΜΟ, δηλαδή το φαινόμενο είναι καθαρά τοπικό. Τρίτον, η αύξηση της οστεοκλαστικής δραστηριότητας συνοδεύεται από εξεσημασμένη έκπτωση της οστεοβλαστικής λειτουργίας. Τέταρτον, καλλιέργειες

μυελωματικών κυττάρων *in vitro* παράγουν αρκετούς ενεργοποιητές των οστεοκλαστών αλλά καμιά από τους παραγόμενους παράγοντες δεν είναι καθεαυτή και αποκλειστικά υπεύθυνη για την καταστροφή του οστού *in vivo*. Η έρευνα έχει κατά περιόδους εστιάσει την προσοχή σε μια ποικιλία κυττοκινών, χημειοκινών, ενζύμων κτλ που παράγονται από τα μυελωματικά κύτταρα αλλά και τα BMSC υπό την επήρεια των μυελωματικών κυττάρων και αναφέρονται συλλογικά ως ενεργοποιητικοί παράγοντες των οστεοκλαστών (osteoclast activating factors, OAF).

Υπό φυσιολογικές συνθήκες τα οστά υφίστανται μια συνεχή διεργασία δομικής αναδιάταξης κατά την οποία οι οστεοκλάστες προκαλούν οστική απορρόφηση του παλαιωμένου οστίτιου ιστού που τη διαδέχεται ενεργοποίηση των οστεοβλαστών και σχηματισμός νέου. Στο ΠΜ οι δύο αυτές διεργασίες δε λειτουργούν πια αρμονικά. Υπερισχύουν οι παράγοντες που διεγείρουν τον σχηματισμό και λειτουργία των οστεοκλαστών σε συνδυασμό με καταστολή των παραγόντων που περιορίζουν την οστεοκλαστογένεση και τον σχηματισμό του νέου οστού. Μεταξύ των OAF κεντρικό ρόλο διαδραματίζει το σύστημα RANKL (receptor activation of NF-kB ligand) – OPG(osteoprogenin).^{92,93} Ο RANKL είναι μέλος της οικογένειας πρωτεϊνών τύπου TNF και είναι δεσμευμένος στην επιφάνεια οστεοβλαστών και BMSC, από την οποία απομακρύνεται και δρα ως διαλυτό μόριο. RANKL ως διαλυτό μόριο παράγουν και τα ενεργοποιημένα T- λεμφοκύτταρα και σε μικρή ποσότητα τα μυελωματικά κύτταρα. Ο RANKL δρα στα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών ενεργοποιώντας τον NF-kB και προάγει τη διαφοροποίησή τους σε ώριμους οστεοκλάστες. Η OPG είναι διαλυτός παραπλανητικός υποδοχέας (μέλος της οικογένειας των υποδοχέων του TNF) που παρεμποδίζει τη δέσμευση του RANKL στον υποδοχέα του RANK. Παράγεται και αυτή από τα BMSC και τους οστεοβλάστες και

φυσιολογικά αντισταθμίζει την υπερβολική οστεοκλαστογένεση. Η σχετική αναλογία παραγωγής RANKL και OPG καθορίζει τον σχηματισμό οστεοκλαστών. Σε καλλιέργειες BMSC με μυελωματικά κύτταρα η έκφραση του RANKL είναι πολύ αυξημένη ενώ της OPG έντονα μειωμένη. Το ίδιο συμβαίνει, όπως αποδείχθηκε με ανοσοϊστοχημικές τεχνικές, και στο ΜΟ των ασθενών. Οι παρατηρήσεις αυτές σε συνδυασμό και με πολλές άλλες οδηγούν στο συμπέρασμα ότι τα μυελωματικά κύτταρα διαταράσσουν την ισορροπία παραγωγής RANKL και OPG που ευνοεί τον σχηματισμό οστεοκλαστών και την απορρόφηση του οστικού ιστού. Η απορρύθμιση αυτή της ομοιόστασης του συστήματος RANKL/OPG αντανakλάται στα επίπεδα των δύο αυτών παραγόντων στο πλάσμα των ασθενών με οστεολύσεις όπου οι στάθμες του RANKL είναι αυξημένες, της OPG μειωμένες και η αύξηση του λόγου του RANKL προς OPG συνδέεται με πτωχή πρόγνωση. Η υπερέκφραση του RANKL στα BMSC πυροδοτείται από διαλυτούς παράγοντες που εκκρίνουν τα μυελωματικά κύτταρα όπως IL-1β, IL-11, IL-7, TNFα κ.α. Αντίθετα με τον RANKL ο μηχανισμός καταστολής της παραγωγής της OPG δεν είναι αποσαφηνισμένος. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η OPG συνδέεται με τη συντεκάνη-1 (CD138) των μυελωματικών κυττάρων, ενδοκυτταρώνεται και αποδομείται στα λυσοσωμάτια.

Σημαντικός παράγον της οστεοκλαστογένεσως απεδείχθη και η φλεγμονώδης πρωτεΐνη των μακροφάγων -1α (macrophage inflammation protein -1α, MIP-1α),^{84,94} μια CCR5 χημειοκίνη που παράγεται σε μεγάλη ποσότητα από τα μυελωματικά κύτταρα και είναι αυξημένη στο πλάσμα του ΜΟ στην πλειονότητα των ασθενών.⁹⁴ Η MIP-1α ενισχύει την ανάπτυξη των GM-CFU που είναι τα πρωιμότερα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών, είναι χημειοτακτικός παράγον για τις οστεοκλάστες και

κυρίως διεγείρει άμεσα τα πρόδρομα κύτταρα να διαφοροποιηθούν σε οστεοκλάστες.

Μεταξύ των άλλων παραγόντων που συμμετέχουν έμμεσα ή άμεσα στην οστεοκλαστογένεση αναφέρονται ο M-CSF και η IL-3. Ο M-CSF που εκκρίνεται από τα BMSC διεγείρει μαζί με τον RANKL την διαφοροποίηση πρόδρομων μορφών σε οστεοκλάστες, η δε IL-3 επάγει άμεσα τον σχηματισμό οστεοκλαστών αλλά και έμμεσα ενισχύοντας την δράση του RANKL.

Παράλληλα με την οστεοκλαστική υπερδραστηριότητα το ΠΜ προκαλεί καταστολή των οστεοβλαστών και αδυναμία παραγωγής οστίτου ιστού στις περιοχές της βλάβης. Ο μηχανισμός της οστεοβλαστικής αυτής καταστολής έχει αρχίσει να αποσαφηνίζεται.⁹⁵ Πρόσφατα αναδείχθηκε η σημασία του αντιγραφικού παράγοντα Runx2 στη διαφοροποίηση και ωρίμανση των οστεοβλαστών από στελεχειαία μεσεγχυματικά κύτταρα. Έχει αποδειχθεί *in vitro* ότι η κυτταρο-κυτταρική επαφή μεταξύ μυελωματικών και οστεοβλαστικών προδρομικών κυττάρων (μέσω των προσκολλητικών μορίων VLA-4 και VCAM-1 αναστέλλει την έκφραση του παράγοντος Runx2 και τη διαφοροποίηση των πρόδρομων μορφών σε οστεοβλάστες. Επίσης σε βιοψίες ΜΟ ασθενών με ΠΜ αποκαλύφθηκε ανοσοϊστοχημικά μεγάλη ελάττωση του αριθμού των οστεοβλαστών αλλά και οστεοβλαστών που εκφράζουν τον Runx2. Η IL-7 σε καλλιέργειες ΜΟ αναστέλλει τον σχηματισμό CFU-F (μονάδων σχηματισμού ινοβλαστών), CFU-OB (μονάδες σχηματισμού οστεοβλαστών) και ελαττώνει την δραστηριότητα του Runx2 στα προγονικά κύτταρα των οστεοβλαστών. Ακόμη μεγαλύτερη σημασία έχει αποδοθεί στην έκκριση από τα μυελωματικά κύτταρα της πρωτεΐνης DDK1 (Dickkopf 1), η οποία δρα ως αναστολέας του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt, μέσω αποκλεισμού του υποδοχικού

συμπλέγματος του συζεύκτου Wnt.^{96,97,98} Το μονοπάτι αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό για τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστικών κυττάρων. Ο DDK1 προκαλεί αναστολή της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών, τα δε επίπεδά του στον ορό συσχετίζονται θετικά με τις οστεολυτικές βλάβες του ΠΜ. Η δράση του DDK1 δεν περιορίζεται στην καταστολή της οστεοβλαστικής δραστηριότητας αλλά ενισχύει και τον σχηματισμό οστεοκλαστών έμμεσα αυξάνοντας την έκφραση του RANKL και μειώνοντας την έκφραση της OPG.

Πάντως οι μηχανισμοί αυτοί δεν ερμηνεύουν το γεγονός ότι οι οστεολυτικές βλάβες δεν αποκαθίστανται στους ασθενείς κατά την πλήρη ύφεση της νόσου. Είναι φανερό ότι τα μυελωματικά κύτταρα προκαλούν μια μόνιμη βλάβη του μυελικού μικροπεριβάλλοντος που οδηγεί σε αδυναμία των προγονικών οστεοβλαστικών κυττάρων να διαφοροποιηθούν σε ώριμους οστεοβλάστες. Ο μηχανισμός της επίμονης αυτής καταστολής δεν είναι γνωστός.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Δ΄

ΑΝΟΣΟΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ ΚΑΙ Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ CD56 ΣΤΙΣ ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΕΣ ΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ

1.1 Ανοσοφαινοτυπικά γνωρίσματα νεοπλασματικών ΠΚ

Ο καθορισμός των ανοσοφαινοτυπικών χαρακτηριστικών του νεοπλασματικού πληθυσμού αποτελεί σημαντικό εργαλείο στη διάγνωση, ταξινόμηση και πρόγνωση των αιματολογικών κακοηθειών. Ανάλογη προσέγγιση έχει επιχειρηθεί και στη μελέτη των πλασματοκυτταρικών νεοπλασμάτων, αν και η πρακτική εφαρμογή ανοσοφαινοτύπου περιορίζεται προς το παρόν στη μελέτη άτυπων περιπτώσεων και στην έρευνα. Προσεκτική ανάλυση της βιβλιογραφίας αποκαλύπτει ασυμφωνίες στα αποτελέσματα ως προς τον ακριβή φαινότυπο των κακοήθων πλασματοκυττάρων και την κλινική και βιολογική του σημασία. Θα περιγραφούν συνοπτικά τα δεδομένα που αφορούν στην εφαρμογή ανοσοφαινοτυπικών μεθόδων στη μελέτη των πλασματοκυτταρικών νεοπλασιών.

(1) Ταυτοποίηση και αρίθμηση των ΠΚ στο ΜΟ. Το CD138 είναι ευαίσθητος και ειδικός δείκτης των ΠΚ, φυσιολογικών, αντιδραστικών και νεοπλασματικών. Η ανοσοϊστοχημική χρώση του ΜΟ για CD138 είναι η πιο ευαίσθητη μέθοδος για την αξιολόγηση του βαθμού πλασματοκυτταρικής διηθήσεως κατά τη διάγνωση αλλά και παρακολούθηση των ασθενών με πλασματοκυτταρικά νεοπλάσματα.^{99,100} Στην κυτταρομετρία ροής η χρώση του CD138 σε συνδυασμό με το CD38 είναι η κατεξοχήν τεχνική που χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση και αρίθμηση των ΠΚ σε βιολογικά υλικά.¹⁰¹

(2) Αντιγόνα σχετιζόμενα με κακοήθεια. Δεν έχει βρεθεί ένα συγκεκριμένο αντιγόνο που μπορεί να διακρίνει τα νεοπλασματικά από τα φυσιολογικά και αντιδραστικά ΠΚ. Η διάκριση αυτή είναι όμως επιτεύξιμη με την χρήση συνδυασμού αντιγόνων.^{102,103,104} Στον πίνακα 12 δίδεται ο ανοσοφαινότυπος των φυσιολογικών και αντιδραστικών ΠΚ σε σύγκριση με αυτόν των νεοπλασματικών ΠΚ. Στην κυτταρομετρία ροής η ταυτοποίηση των νεοπλασματικών ΠΚ έχει επιχειρηθεί με το συνδυασμό των αντιγόνων CD19 και CD56 αλλά είναι γενικά παραδεκτό ότι η χρήση περισσότερων δεικτών όπως του CD20, CD117, CD27 και CD28 καθιστά τη μέθοδο πιο αποτελεσματική.¹⁰¹

Πίνακας 12. Αντιγόνα σχετιζόμενα με τα νεοπλασματικά πλασματοκύτταρα.

Αντιγόνα	Έκφραση σε φυσιολογικά ΠΚ	Ανώμαλη έκφραση σε νεοπλασματικά ΠΚ	Αναλογία (%) περιπτώσεων με ανώμαλη έκφραση
CD19	+	-	>95
CD56	-	+	60-75
CD45	+	-	10-30
CD20	-	+	20-30
CD117	-	+	15-30
CD28	- ή ασθενής	+	15-45
CD27	++	- ή ασθενής	40-50

(3) Διαφορική διάγνωση μεταξύ MGUS και ΠΜ. Υπάρχουν μελέτες που δείχνουν ότι ο συνδυασμός ανοσοφαινοτυπικής ανάλυσης με την ανεύρεση περιορισμού της εκφράσεως των ελαφρών αλυσίδων με τη μεθοδολογία της κυτταρομετρίας ροής μπορεί να διακρίνει την MGUS από το ΠΜ.^{105,106} Στην MGUS ταυτοποιούνται δύο πληθυσμοί ΠΚ, ένας με φυσιολογικό ανοσοφαινότυπο που είναι πολυκλωνικός και ένας με

ανώμαλο ανοσοφαινότυπο που είναι μονοκλωνικός. Ο φυσιολογικός πληθυσμός ανέρχεται στο 30-35% του ολικού αριθμού ΠΚ και δεν είναι μικρότερος του 3%. Αντίθετα στο ΠΜ ο φυσιολογικός πληθυσμός είναι τελείως αποθημένος σε επίπεδα 0,25% και δεν υπερβαίνει το 3%. Επομένως το όριο 3% για τον φυσιολογικό πληθυσμό διακρίνει την MGUS από το ΠΜ.¹⁰⁵ Επιπλέον υπάρχουν ενδείξεις ότι ο λόγος των παθολογικών ΠΚ προς το συνολικό τους αριθμό έχει αξιολογη προγνωστική αξία στην αξιολόγηση του κινδύνου εξέλιξης της MGUS και του ασυμπτωματικού μυελώματος σε συμπτωματικό ΠΜ.¹⁰⁷

(4) Ανοσοφαινοτυπικά χαρακτηριστικά ως προγνωστικός δείκτης. Η έκφραση του CD28 συνδέεται με επέκταση του ΠΜ και αυξάνεται κατά την ενδομυελική και περισσότερο κατά την εξωμυελική υποτροπή και αποτυχία της θεραπείας.¹⁰⁸ Αντίθετα η έκφραση του CD117 είναι συχνότερη σε υπερδιπλοειδικούς όγκους και συνδέεται με καλύτερη πρόγνωση. Σε μεγάλη σειρά οι Mateo και συν¹⁰⁹ διέκριναν τους ασθενείς με ΠΜ επί τη βάση της εκφράσεως ή μη των CD28 και CD117 σε τρεις προγνωστικές ομάδες. Η ομάδα CD28+ και CD117- είχε την καλύτερη πρόγνωση, η ομάδα CD28- και CD117+ τη δυσμενέστερη και η ομάδα με τους άλλους συνδυασμούς ενδιάμεση. Χαμηλή έκφραση του CD27 έχει συσχετισθεί με πρόοδο του πλασμοκυττώματος σε ΠΜ και χαρακτηρίζει την πλασματοκυτταρική λευχαιμία.¹¹⁰ Επίσης ασθενείς που δεν εκφράζουν το CD45 έχουν βραχεία επιβίωση ύστερα από μεγαθεραπεία.¹¹¹ Αντίστροφα έκφραση του CD45RO¹¹² καθώς και του CD33^{113,114} έχει συνδεθεί με δυσμενή πρόγνωση. Εν τούτοις άλλες εργασίες δεν έχουν επιβεβαιώσει αυτά τα ευρήματα. Είναι φανερό ότι απαιτούνται περισσότερες μελέτες για να αξιολογηθεί η πρακτική αξία της ανοσοφαινοτυπικής ταυτότητας των μυελωματικών κυττάρων στην πρόγνωση ασθενών με ΠΜ.

(5) Αξιολόγηση της ελάχιστης υπολειπόμενης νόσου. Η αξιολόγηση αυτή γίνεται συμβατικά με τον προσδιορισμό της αναλογίας των ΠΚ προς το συνολικό αριθμό των εμπύρηνων κυττάρων του ΜΟ, με τη μορφολογία των ΠΚ, τη μονοκλωνικότητά τους (όπως προκύπτει από τη μελέτη του λόγου των κ προς τις λ αλυσίδες στο κυτταρόπλασμα των ΠΚ) και την ανίχνευση παραπρωτεΐνης στον ορό ή τα ούρα με ανοσοκαθήλωση. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η ανοσοφαινοτυπική μελέτη των υπολειπόμενων ΠΚ του ΜΟ με πολυκαναλική κυτταρομετρία ροής για την εκτίμηση της ελάχιστης υπολειπόμενης νόσου είναι μέθοδος εφικτή και αξιόπιστη.^{115,116} Εξαιρετικά ευαίσθητη είναι η μεθοδολογία της ποσοτικής PCR σε πραγματικό χρόνο με χρήση ειδικών ολιγονουκλεοτιδίων αλλά η τεχνική είναι επίπονη και δύσκολα εφαρμόσιμη. Ο ανοσοφαινοτυπικός προσδιορισμός της πλήρους ύφεσης και της ελάχιστης υπολειπόμενης νόσου αν και εξίσου ειδικός με τις μοριακές τεχνικές είναι πολύ πιο προσιτός.¹¹⁷ Υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν ότι ο προσδιορισμός της αναλογίας των ανώμαλων ΠΚ έχει προγνωστική αξία στην αξιολόγηση της έκβασης των ασθενών που υποβλήθηκαν σε αυτόλογη μεταμόσχευση ΜΟ.^{101,118}

1.2 Προσκολλητικό μόριο νευρικών κυττάρων (CD56)

Το προσκολλητικό μόριο νευρικών κυττάρων (neural cell adhesion molecule, NCAM) ή CD56 είναι επιφανειακή γλυκοπρωτεΐνη η οποία διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην εμβρυογένεση που αφορά στην ανάπτυξη του εγκεφάλου και άλλων ιστών και οργάνων.¹¹⁹ Στους ενήλικους βρίσκεται κυρίως στο νευρικό ιστό, του μύες και τα νευροενδοκρινικά όργανα. Το NCAM κωδικοποιείται σε ένα γονίδιο του χρωμοσώματος 11q13, το οποίο εκτείνεται σε περισσότερες από 314kb και περιέχει 19 μείζονα και 6 ελάσσονα εξόνια. Εναλλακτικό ‘μάτισμα’ έχει ως συνέπεια την παραγωγή 27 εναλλακτικά ‘ματισμένων’ mRNA

δίδοντας ποικιλία ισομορφών. Μεταξύ αυτών τρεις είναι οι κύριες, που διαφέρουν στις σχέσεις τους με την κυτταρική μεμβράνη και την ενδοκυτταροπλασματική μοίρα τους. Το CD56^{120KD} είναι μια αγκυροβολημένη στην κυτταρική επιφάνεια, μέσω GPI, πρωτεΐνη (δηλαδή μια πρωτεΐνη που δεσμεύεται στην κυτταρική επιφάνεια μέσω γλυκοζυλο-φωσφατιδυλο-ινοσιτόλη). Τα CD56^{140KD} και CD56^{180KD} είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες με βραχεία και μακρά ενδοπλασματοκυτταρική μοίρα αντίστοιχα. Το εξωκυττάριο τμήμα της αποτελείται από 5 περιοχές τύπου ανοσοσφαιρίνης και 2 περιοχές τύπου ινωδονεκτίνης II. Οι διάφορες περιοχές έχουν διαφορετική λειτουργία. Οι περιοχές τύπου ανοσοσφαιρίνης εμπλέκονται σε ομοτυπικές συνδέσεις κατά τις οποίες 2 μόρια NCAM συνδέονται κατά παράλληλο τρόπο. Δέσμευση πολυσιαλικού οξέος στην πέμπτη ανοσοσφαιρινική περιοχή δρα ανασταλτικά στις ομοτυπικές δεσμεύσεις μειώνοντας τη διακυτταρική προσκόλληση. Εκτός των ομοτυπικών το NCAM συμμετέχει και σε ετεροτυπικούς διμερισμούς με ευρύ φάσμα μορίων όπως ο FGFR₁, GCLDMF (glial cell line-derived metotropic factor) και θετικές πρωτεογλυκάνες.

Αρχικά το NCAM θεωρείτο διαμεσολαβητής διακυτταρικών συνδέσεων αλλά απεδείχθη ότι δρα και ως σηματοδοτικός υποδοχέας με εμπλοκή στην κυτταρική προσκόλληση, μετανάστευση, πολλαπλασιασμό, απόπτωση και διαφοροποίηση κυττάρων. Στις σηματοδοτικές διεργασίες συμμετέχουν οι περιοχές τύπου ινωδονεκτίνης της εξωκυττάριας μοίρας.

Στους ενήλικους το NCAM εκφράζεται όπως ελέχθη στον εγκέφαλο και στην παρεγκεφαλίδα (επιφάνεια νευρώνων και γλοίας), στις νευρομυικές συνάψεις και τα νευροενδοκρινικά όργανα. Όσον αφορά στον αιμοποιητικό και λεμφικό ιστό είναι ενδιαφέρον ότι

εκφράζεται και χαρακτηρίζει τα NK- λεμφοκύτταρα και ένα υποπληθυσμό ενεργοποιημένων T- λεμφοκυττάρων. Επίσης εκφράζεται χαρακτηριστικά στις οστεοβλάστες που επαλείφουν τις παρυφές των οστικών δοκίδων.

Ο NCAM εκφράζεται σε μεγάλη ποικιλία νεοπλασμάτων όπως είναι κακοήθεις όγκοι του νευρικού ιστού (αστροκυττώματα και μεδουλοβλαστώματα), ο μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονος, φαιοχρωμοκύττωμα, νευροενδοκρινικοί όγκοι, ραβδομυοσάρκωμα, νευροβλάστωμα, μελάνωμα και μια ποικιλία επιθηλιακών όγκων. Επίσης ο NCAM εκφράζεται και σε αιματολογικά νεοπλάσματα όπως η οξεία μυελοβλαστική λευχαιμία (ιδιαίτερα σε περιπτώσεις με την αντιμετάθεση t(8;21)), το λέμφωμα από NK/T λεμφοκύτταρα και το πολλαπλό μυέλωμα. Γενικά η έκφραση του CD56 στα κακοήθη νεοπλάσματα συνδέεται με δυσμενή πρόγνωση. Ενώ στους υγιείς ιστούς των ενηλίκων ανευρίσκεται κυρίως η ισομορφή CD56^{120KD} στα κακοήθη νεοπλάσματα έχει ταυτοποιηθεί αποκλειστικά η ισομορφή CD56^{140KD} η οποία, όπως απεδείχθη, επάγει αυξητικά και αντιαποπτωτικά ενδοκυττάρια μονοπάτια και ειδικά επάγει τη φωσφορυλίωση εξαρτώμενων από Ca⁺⁺ φωσφοκινασών.¹²⁰

Οι van Camp και συν¹²¹ ανακοίνωσαν για πρώτη φορά την ανοσοϊστοχημική έκφραση του CD56 στο 78% μεταξύ 78 περιπτώσεων ΠΜ. Έκτοτε η παρατήρηση αυτή επιβεβαιώθηκε κατ' επανάληψη ανοσοϊστοχημικά σε βιοπτικό υλικό του ΜΟ αλλά και με τη μεθοδολογία της κυτταρομετρίας ροής.¹²² Η αναλογία των περιπτώσεων ΠΜ με έκφραση του CD56 ποικίλει ευρέως από 33% έως 78% (Πίνακας 13). Το CD56 δεν εκφράζεται στα φυσιολογικά ΠΚ ούτε στις αντιδραστικές πλασμοκυτταρώσεις. Επομένως το CD56 αποτελεί έναν από τους δείκτες κακοηθείας των ΠΚ. Απ' αυτής της πλευράς η ανοσοϊστοχημική χρώση

Πίνακας 13. Συχνότητα ταυτοποίησης και κλινικές συσχετίσεις του CD56 στο πολλαπλό μυέλωμα

Μελέτη	Μεθοδολογία	Αριθμός ασθενών που μελετήθηκαν και αναλογία CD56+ περιπτώσεων	Κλινικές συσχετίσεις
van Camp et al ¹²¹	AIX ¹	76(78%)	Τα CD56(-) μυελώματα πιο επιθετικά
Mathew et al ¹²³	KP	68(55%)	Το CD56 δεν προσδιορίζει μια ιδιαίτερη κλινική ή προγνωστική ομάδα
Ely et al ¹²⁴	AIX	150(71%)	Η θετικότητα στο CD56 συνδέεται με οστεολυτικές βλάβες
Sahara et al ¹²⁵	KP ²	70(79%)	Τα CD56(-) μυελώματα έχουν επιθετική κλινική συμπεριφορά και βραχύτερη επιβίωση
Chang et al ¹²⁶	AIX	107(71%)	Η απουσία CD56 συνδέεται με οστεολυτικές βλάβες όχι όμως με βιολογικούς παράγοντες κινδύνου ή βραχύτερη επιβίωση σε ασθενείς που υποβάλλονται σε μεγαθεραπεία
Dunphy et al ¹²⁷	AIX	43(33%)	Η έκφραση ή μη του CD56 δε συνδέεται με κλινικές παραμέτρους
Kraj et al ¹²⁸	KP	204(66%)	Χαμηλότερη συχνότητα οστεολύσεων σε CD56(-) περιπτώσεις αλλά όχι άλλες διαφορές
Mateo et al ¹⁰⁹	KP	685(60%)	Η έκφραση του CD56 δεν συνδέεται με την πρόγνωση σε ασθενείς που η θεραπεία περιλαμβάνει μεγαθεραπεία και αυτομεταμόσχευση MO
1: ανοσοϊστοχημεία, 2: κυτταρομετρία ροής			

για το CD56 συνιστά χρήσιμο στοιχείο, μαζί με την αναλογία των ΠΚ και την αναζήτηση μονοκλωνικότητας, στην ιστοπαθολογική διάγνωση του ΠΜ. Επίσης στην κυτταρομετρία ροής το CD56 περιλαμβάνεται στα αντιγόνα που χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση των νεοπλασματικών ΠΚ.¹⁰¹

Εξαρχής διερευνήθηκε η τυχόν συσχέτιση της έκφρασης ή μη του CD56 στα ΠΚ του ΠΜ με κλινικοεργαστηριακές και βιολογικές παραμέτρους της νόσου καθώς και με την πρόγνωσή της. Τα αποτελέσματα των μελετών αυτών αναγράφονται συνοπτικά στον πίνακα 13. Είναι φανερό ότι η σχετική βιβλιογραφία είναι αντιφατική, χωρίς να επιτρέπει σαφή συμπεράσματα. Το γενικό συμπέρασμα που μπορεί να εξαχθεί, ανεξάρτητα από τις πιθανές αιτίες αυτών των ασυμφωνιών, είναι ότι το CD56 δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην κλινική ως δείκτης μιας ιδιαίτερης κλινικοεργαστηριακής οντότητας ή ως προγνωστικός δείκτης.

Τα νεοπλασματικά κύτταρα που ταυτοποιούνται στο περιφερικό αίμα του ΠΜ αλλά και σε εξωμυελικές εστίες δεν εκφράζουν ως επί το πλείστον το CD56.^{129,130} Το ίδιο συμβαίνει και στην πλασματοκυτταρική λευχαιμία.¹³¹ Δεδομένου ότι το CD56 είναι προσκολλητικό μόριο η απουσία του πιθανόν συνδέεται με τη διασπορά της νόσου.

Όπως ήδη έχει τονισθεί το CD56 έχει χρησιμοποιηθεί στην κυτταρομετρία ροής ως ένας από τρεις ή περισσότερους δείκτες που συνδυαστικά ταυτοποιούν τα νεοπλασματικά ΠΚ και τα διαχωρίζουν από τα φυσιολογικά. Με τη μέθοδο αυτή είναι δυνατή η διάκριση μεταξύ MGUS και ΠΜ (ιδε υποκεφάλαιο 1.1 του κεφαλαίου Δ'). Αντιθέτως η θέση της ανοσοϊστοχημικής χρώσεως του CD56 στο ΜΟ στη διαφορική διάγνωση μεταξύ MGUS και ΠΜ δεν είναι σαφής. Σε ορισμένες μελέτες δεν βρέθηκαν ΠΚ που εκφράζουν το CD56 στο ΜΟ ασθενών με MGUS

και επομένως η ανοσοϊστοχημική χρώση του CD56 θεωρήθηκε ότι μπορεί να διακρίνει την MGUS από το ΠΜ.^{124,132,133} Υπάρχουν όμως και μελέτες που δείχνουν το αντίθετο, δηλαδή ότι υπάρχουν περιπτώσεις MGUS με CD56(+) ΠΚ.¹²⁷ Το όλο ζήτημα παραμένει ανοικτό.

Η σημασία του CD56 μαζί με άλλα αντιγόνα στην αξιολόγηση της πλήρους υφέσεως και της ελάχιστης υπολειπόμενης νόσου στο ΠΜ με τη μεθοδολογία της κυτταρομετρίας ροής έχει ήδη αναφερθεί. Αντίθετα τα δεδομένα για την αξία της ανοσοϊστοχημικής χρώσης του CD56 στην αξιολόγηση της πλήρους ύφεσης στο ΠΜ είναι πενιχρά. Πάντως σε πρόσφατη μελέτη οι Harrington και συν¹³⁴, διαπίστωσαν έκφραση του CD56 στα ΠΚ του ΜΟ στο 80% των ασθενών στους οποίους δεν είχε επιτευχθεί πλήρης ύφεση ενώ στους ασθενείς με πλήρη ύφεση έκφραση του CD56 διαπιστώθηκε μόνον στο 5%. Κατά τους συγγραφείς η ανοσοϊστοχημική χρώση του CD56 μπορεί να είναι χρήσιμη στην αξιολόγηση της πλήρους υφέσεως ύστερα από θεραπεία. Το όλο μήνυμα βεβαίως απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το προσκολλητικό μόριο των νευρικών κυττάρων (Neural Cell Adhesion Molecule, NCAM) ή CD56 είναι μεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη που ανήκει στην υπερικογένεια των ανοσοσφαιρινών^{119,135}. Ήδη το 1990 οι van Camp και συν¹²¹ ανακοίνωσαν για πρώτη φορά την ανοσοϊστοχημική έκφραση του CD56 στα πλασματοκύτταρα του μυελού των οστών σημαντικής αναλογίας ασθενών με πολλαπλό μυέλωμα, εύρημα το οποίο είναι σήμερα απολύτως τεκμηριωμένο. Μάλιστα με τη μεθοδολογία της πολυκαναλικής κυτταρομετρίας ροής αποδείχθηκε ότι αποτελεί αντιγόνο χαρακτηριστικό των μονοκλωνικών (νεοπλασματικών) πλασματοκυττάρων και περιλαμβάνεται στη δέσμη των αντιγόνων που χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίησή τους¹⁰¹. Η χρησιμότητα όμως της ανοσοϊστοχημικής χρώσεως του CD56 στην αξιολόγηση των βιοψιών του μυελού των οστών δεν έχει πλήρως αποσαφηνισθεί. Λίγες εργασίες έχουν δημοσιευθεί σχετικά με την ανοσοϊστοχημική έκφραση του CD56 στις αντιδραστικές πλασματοκυτταρώσεις. Επίσης η συχνότητα θετικής ανοσοϊστοχημικής έκφρασης στα πλασματοκύτταρα του πολλαπλού μυελώματος εμφανίζει ευρεία διακύμανση μεταξύ των εργασιών που έχουν δημοσιευθεί^{121,123,124,126,127} ενώ τα αποτελέσματα της έκφρασης του αντιγόνου στις περιπτώσεις μονοκλωνικής γαμμοπάθειας αδιευκρίνιστης σημασίας (MGUS) είναι αντιφατικά^{123,124,127,132,133}. Έχει επιχειρηθεί επιπλέον η ανεύρεση συσχετισμού μεταξύ της εκφράσεως ή μη του αντιγόνου CD56 με κλινικοεργαστηριακές εκδηλώσεις και την πρόγνωση του πολλαπλού μυελώματος. Οι Sahara και συν¹²⁵ χρησιμοποιώντας τη μεθοδολογία της κυτταρομετρίας ροής διαπίστωσαν ότι η απουσία εκφράσεως του CD56 συνδέεται με υψηλή συχνότητα εξωμυελικής προσβολής, νεφρική ανεπάρκεια, πλασμαβλαστική μορφολογία και κακή πρόγνωση. Σύνδεση της εκφράσεως του CD56 με επιθετικότητα της

νόσου διεπίστωσαν επίσης οι van Camp και συν¹²¹. Αντίθετα άλλοι δε διαπίστωσαν συσχέτιση της εκφράσεως του CD56 με δυσμενείς προγνωστικούς παράγοντες και την επιβίωση των ασθενών^{123,124,126,127,128}. Η σύνδεση εξωμυελικής διασποράς του πολλαπλού μυελώματος με την απουσία εκφράσεως του CD56 έχει πάντως ευρύτερα διαπιστωθεί^{129,130,131,136}. Ορισμένοι βρήκαν συσχέτιση της εκφράσεως του CD56 με παρουσία οστεολυτικών βλαβών^{124,128} ενώ άλλοι ανακοίνωσαν τελείως αντίθετα αποτελέσματα¹²⁶. Επομένως τα αποτελέσματα της συσχέτισης της εκφράσεως του CD56 με κλινικοεργαστηριακά ευρήματα και την επιβίωση του πολλαπλού μυελώματος είναι αντιφατικά και χρήζουν περαιτέρω μελέτης.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η ανοσοϊστοχημική έκφραση σε οστεομυελικό βιοπτικό υλικό του CD56 σε αξιόλογο αριθμό αντιδραστικών πλασματοκυτταρώσεων, στο πολλαπλό μύελωμα και στη μονοκλωνική γαμμοπάθεια αδιευκρίνιστης σημασίας (MGUS) με σκοπό να αξιολογηθεί η χρησιμότητά του στη διαφορική διάγνωση μεταξύ αυτών των οντοτήτων. Επίσης έγινε σύγκριση των κλινικοεργαστηριακών εκδηλώσεων των ασθενών με πολλαπλό μύελωμα μεταξύ των ασθενών που εκφράζουν και αυτών που δεν εκφράζουν το CD56 στην οστεομυελική βιοψία.

2. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Πρόκειται για αναδρομική μελέτη του υλικού του Παθολογοανατομικού εργαστηρίου του ΠΓΝΑ που περιέλαβε αντιδραστικές πλασματοκυτταρώσεις του μυελού των οστών, περιπτώσεις μονοκλωνικής γαμμοπάθειας αδιευκρίνιστης σημασίας και

ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα. Οι κλινικές πληροφορίες που αφορούσαν στην αρχική διάγνωση ελήφθησαν από τους φακέλους των ασθενών και αξιολογήθηκαν σε συνεργασία με τους κλινικούς ιατρούς που τους παρακολουθούσαν.

Μελετήθηκαν 95 ασθενείς με αντιδραστική πλασματοκυττάρωση. Τα κλινικά προβλήματα στο πλαίσιο των οποίων έγινε η οστεομυελική βιοψία στους ασθενείς με αντιδραστική πλασματοκυττάρωση ήταν τα ακόλουθα: 25 ασθενείς έπασχαν από χρόνιες λοιμώξεις (λεισμανίαση, φυματίωση, βρουκέλλωση, τοξοπλάσμωση, λοίμωξη από HIV, χρόνιες ηπατίτιδες B και C). 20 ασθενείς έπασχαν από αυτοάνοσα νοσήματα (ρευματοειδή αρθρίτιδα και συστηματικό ερυθηματώδη λύκο). 10 ασθενείς έπασχαν από κίρρωση του ήπατος. 10 ασθενείς έπασχαν από σακχαρώδη διαβήτη. 15 ασθενείς έπασχαν από νεοπλάσματα χωρίς διήθηση του μυελού των οστών και 15 ασθενείς διερευνήθηκαν για αναιμία ποικίλης αιτιολογίας (σιδηροπενική, μεγαλοβλαστική, επίκτητη αιμολυτική). Το περιφερικό αίμα ενίοτε έδειχνε κάποιο βαθμό πλασματοκυτταρώσεως αλλά είχε αποκλεισθεί η παρουσία μονοκλωνικής ανοσοσφαιρίνης στον ορό. Παρακολούθηση για 2 έτη μετά τη διενέργεια της οστεομυελικής βιοψίας δεν έδειξε την ανάπτυξη νεοπλασματικής πλασματοκυτταρικής διαταραχής.

Οι 10 ασθενείς με MGUS διαγνώστηκαν με βάση τα παραδεκτά κριτήρια, δηλαδή παρουσία μονοκλωνικής ανοσοσφαιρίνης στον ορό <3g/dl, αναλογία πλασματοκυττάρων στο μυελό των οστών <10% και απουσία κλινικοεργαστηριακών εκδηλώσεων σχετιζόμενων με το πολλαπλό μυέλωμα.

Οι ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα διαγνώστηκαν με βάση τα επικρατούντα κριτήρια, δηλαδή μονοκλωνική πλασματοκυττάρωση του

μυελού των οστών, μονοκλωνική ανοσοσφαιρίνη στον ορό ή και στα ούρα και παρουσία κλινικοεργαστηριακών εκδηλώσεων σχετιζόμενων με πολλαπλό μυέλωμα. Περιπτώσεις με πλασματοκυττάρωση >10% ή μονοκλωνική ανοσοσφαιρίνη ορού >3g/dl χωρίς όμως κλινικοεργαστηριακές εκδηλώσεις σχετιζόμενες με πολλαπλό μυέλωμα ταξινομήθηκαν ως πολλαπλό μυέλωμα (ασυμπτωματικό).

Σε όλες τις περιπτώσεις πολλαπλού μυελώματος καταγράφονταν τα ακόλουθα: ηλικία, φύλο, αιμοσφαιρίνη αίματος, αιματοκρίτης, αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων, αριθμός αιμοπεταλίων, κρεατινίνη ορού, λευκωματίνη ορού, LDH, β2 μικροσφαιρίνη, ασβέστιο ορού. Καταγράφονταν επίσης ο τύπος της μονοκλωνικής ανοσοσφαιρίνης του ορού (ανοσοκαθήλωση) και η ποσότητά της, καθώς και η παρουσία, ο τύπος και η ποσότητα ελαφρών αλυσίδων στα ούρα. Σε όλες τις περιπτώσεις αξιολογούνταν οι οστικές βλάβες όπως αυτές προέκυπταν από τον οστικό έλεγχο ως ακολούθως: φυσιολογικός με 0, οστεοπόρωση ή μονήρης οστεόλυση με 1, πολλαπλές οστεολύσεις με 2 και μείζονες πολλαπλές οστικές βλάβες ή κατάγματα με 3. Οι περιπτώσεις με βαθμολογία 2 ή 3 θεωρούνταν ως θετικές για οστική νόσο.

2.2 Οστεομυελικές βιοψίες

Οι οστεομυελικές βιοψίες λαμβάνονταν από την οπίσθια άνω λαγόνιο άκανθα, το υλικό μονιμοποιούνταν σε ουδέτερη φορμόλη, η αφαλάτωση επιτυγχάνονταν με μυρμηκικό οξύ και υφίσταντο τις συνήθεις διεργασίες για την έγκλειση σε κύβους παραφίνης.

Η αρχική μελέτη όλων των περιπτώσεων γινόταν με χρώσεις αιματοξυλίνης – εοσίνης, Giemsa και ιστοχημικές χρώσεις για σίδηρο (χρώση Perl) και δικτυωτές ίνες (χρώση reticulín)

2.3 Ανοσοϊστοχημικές χρώσεις

Σε όλες τις περιπτώσεις αντιδραστικής πλασματοκυτταρώσεως, μονοκλωνικής γαμμοπάθειας αδιευκρίνιστης σημασίας και πολλαπλού μυελώματος έγιναν ανοσοϊστοχημικές χρώσεις για το CD138, τις ελαφρές αλυσίδες κ και λ και για το CD56 με την εφαρμογή της τεχνικής στρεπταμιδίνης – βιοτίνης.

Οι χρώσεις αυτές έγιναν σε υλικό προερχόμενο από κύβους παραφίνης . Από τους κύβους παραφίνης κόπηκαν συνεχόμενες παράλληλες τομές πάχους 3μm και τοποθετήθηκαν σε πλακίδια DAKO (DAKO REALTM capillary gap microscope slides, 75μm) ειδικά για τη διενέργεια ανοσοϊστοχημικών χρώσεων.

Σε όλες τις περιπτώσεις η αποπαραφίνωση των τομών γινόταν ως ακολούθως:

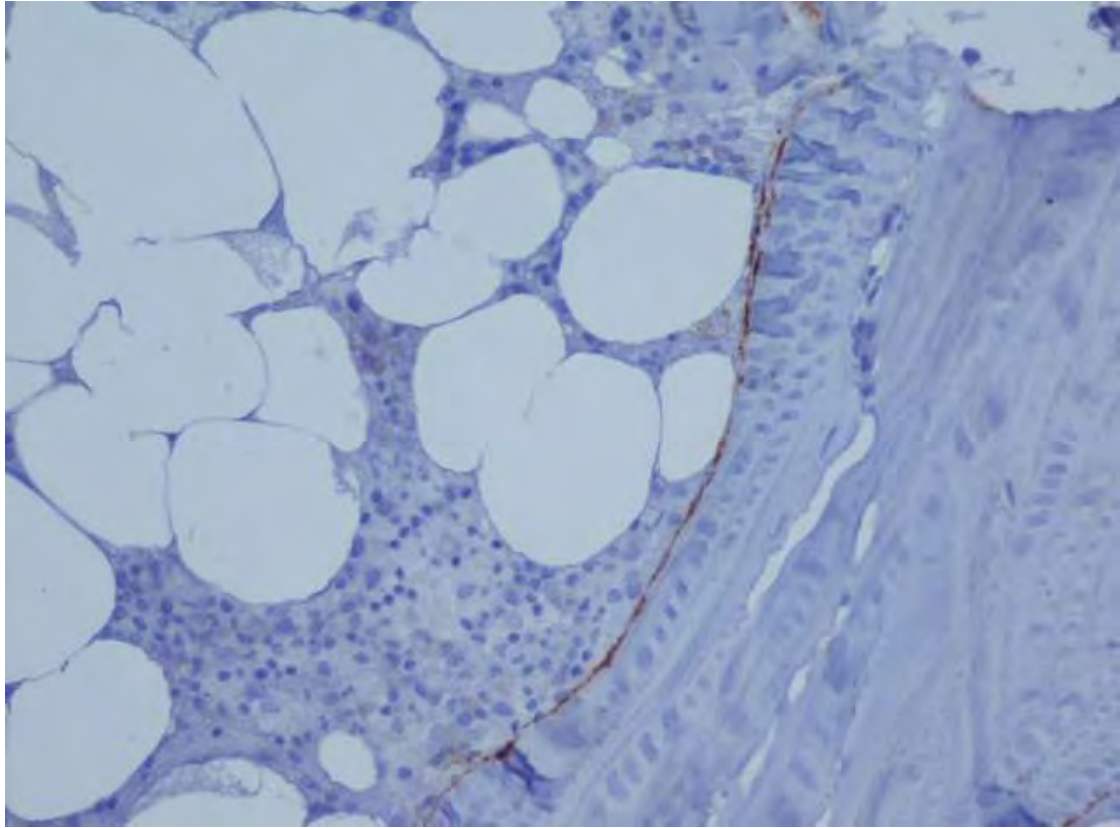
- Μερική αποπαραφίνωση των τομών σε κλίβανο 60°C ολονυκτίως.
- Ολική αποπαραφίνωση των τομών με ξυλόλη για 15min.
- Ενυδάτωση των τομών με κατιούσα ως προς τη συγκέντρωση σειρά διαλυμάτων αλκοόλης (100°, 100°, 96°, 80°, 70°) διάρκειας 5min σε κάθε διάλυμα αλκοόλης.
- Ξέπλυμα με νερό της βρύσης και στη συνέχεια με αποσταγμένο νερό.

Το πρωτόκολλο των ανοσοϊστοχημικών χρώσεων περιελάμβανε τα ακόλουθα:

- Τοποθέτηση των κύβων παραφίνης σε υδατόλουτρο PT(90°C) για 11/2h.
- Διατήρηση των τομών για 20min.
- Έκπλυση των τομών με νερό βρύσης και αποσταγμένο νερό.

- Τοποθέτηση των τομών σε διάλυμα υπεροξειδίου (H₂O₂) 3% για 10min.
- Έκπλυση των τομών με αποσταγμένο νερό.
- Ενυδάτωση των τομών με διάλυμα TBST.
- Τοποθέτηση του αντισώματος σε κάθε τομή. Για τη σήμανση του CD138 χρησιμοποιήθηκε μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του CD138 (DAKO, clone M115, isotype IgG₁) σε αραιώση 1:50 για 30min. Για τη σήμανση των ελαφρών αλυσίδων κ και λ των ανοσοσφαιρινών χρησιμοποιήθηκαν πολυκλωνικά αντισώματα έναντι των κ και των λ αλυσίδων της DAKO σε αραιώση 1:30000 για 30min σε θερμοκρασία δωματίου. Για τη σήμανση του CD56 χρησιμοποιήθηκε μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του CD56 (CD56 clone 1B6, isotype IgG₁, Novocasta, Newcastle, UK) σε αραιώση 1:50 για 30min σε θερμοκρασία δωματίου. Η αραιώση αυτή επελέγη ως βέλτιστη (βέλτιστη χρώση χωρίς ανοσοχρωματισμό του υποστρώματος) ύστερα από εκτεταμένες δοκιμές με εν σειρά αραιώσεις.
- Έκπλυση με ρυθμιστικό διάλυμα TBST.
- Τοποθέτηση του συστήματος ανιχνεύσεως (EnVision detection system) για 30min.
- Έκπλυση με ρυθμιστικό διάλυμα TBST.
- Τοποθέτηση TAB για 5min.
- Έκπλυση με νερό βρύσης και αποσταγμένο νερό.
- Τοποθέτηση στις τομές αιματοξυλίνης 10% για 3min.
- Έκπλυση με νερό βρύσης.
- Αφυδάτωση των τομών.
- Κάλυψη των τομών με καλυπτρίδες.

Στην ανοσοϊστοχημική χρώση για CD56 χρησιμοποιήθηκε ως εσωτερικός μάρτυρας θετικότητας η έντονη έκφραση (χρώση) του CD56 στους οστεοβλάστες (εικόνα 1).



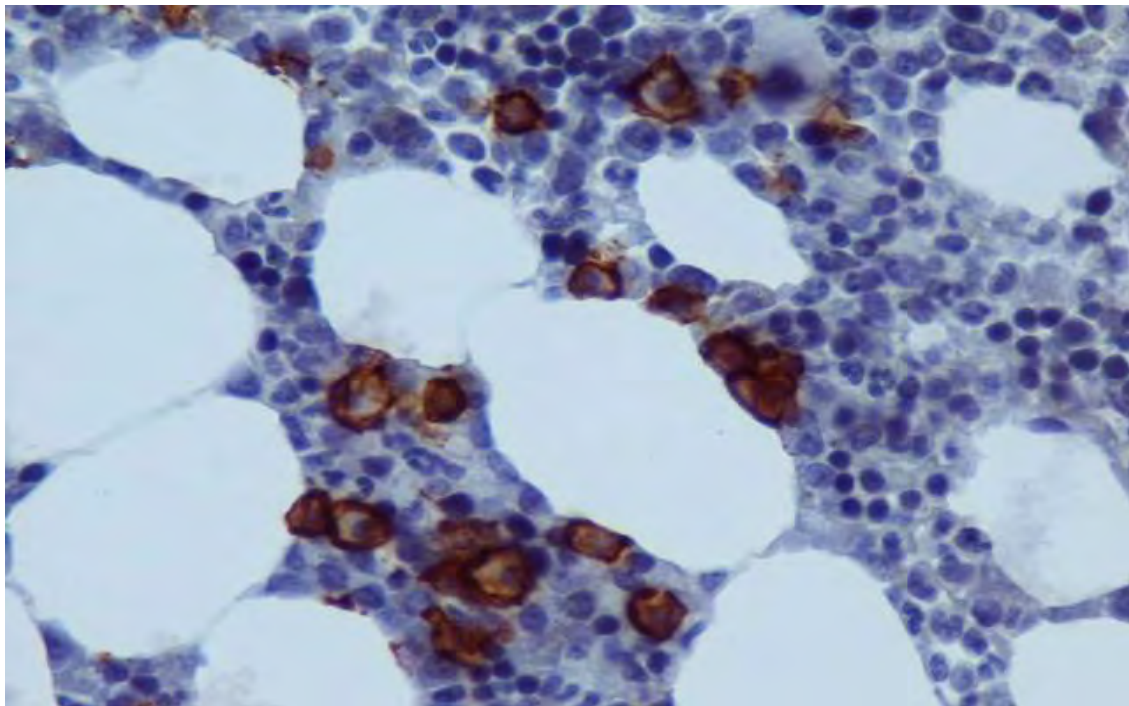
Εικ 1. Φυσιολογικός μυελός των οστών που δείχνει τη θετικότητα των οστεοβλαστών στο CD56.

2.4 Στατιστική ανάλυση

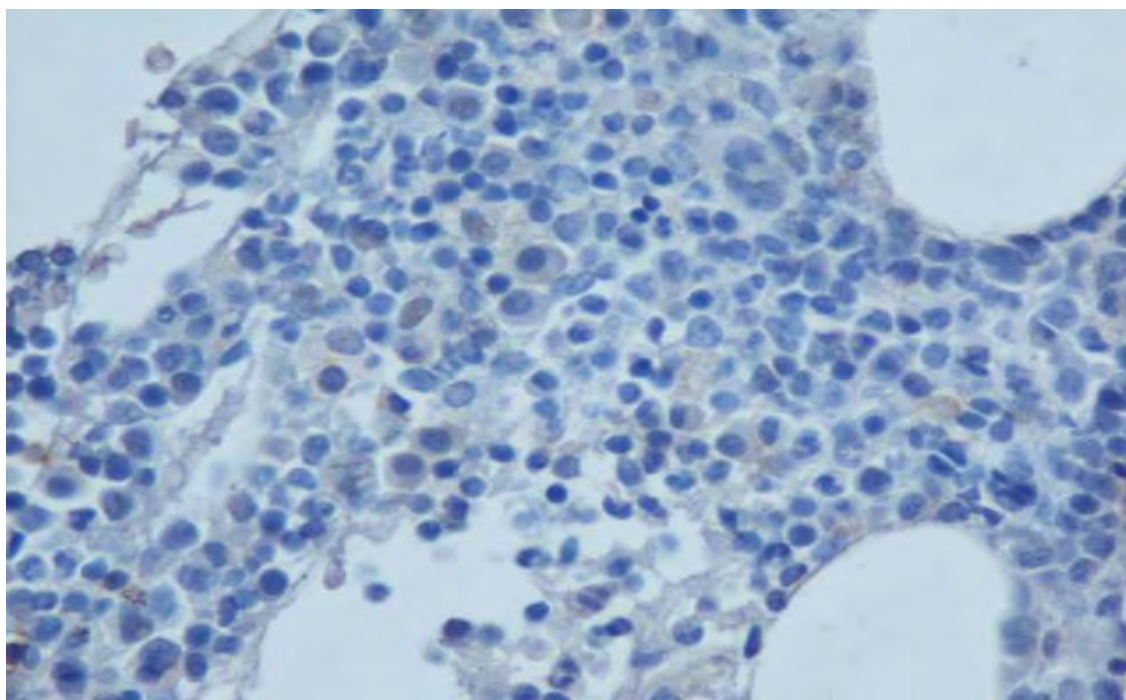
Ο υπολογισμός της στατιστικής σημασίας των διαφορών έγινε με την εφαρμογή της μεθοδολογίας χ^2 ή στις κατάλληλες περιπτώσεις χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία student-t.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η αναλογία των πλασματοκυττάρων του μυελού των οστών στις 95 περιπτώσεις αντιδραστικής πλασματοκυτταρώσεως εκυμαίνεται μεταξύ 5 και 25%. Δεν παρατηρήθηκαν συναθροίσεις πλασματοκυττάρων αλλά η κατανομή τους είχε διάμεσο πρότυπο και υπήρχαν πλασματοκύτταρα γύρω από τριχοειδή αγγεία του μυελού των οστών. Ανοσοϊστοχημικά τα πλασματοκύτταρα εξέφραζαν το αντιγόνο CD138 (εικόνα 2) και η χρώση των κ- και λ- αλυσίδων έδειχνε σαφή πολυκλωνικότητα σε όλες τις περιπτώσεις. Ανοσοέκφραση του CD56 (NCAM) δεν παρατηρήθηκε σε καμία περίπτωση (εικόνα 3).



Εικ 2. Χρώση για CD138 αντιδραστικής πλασματοκυτταρώσεως.

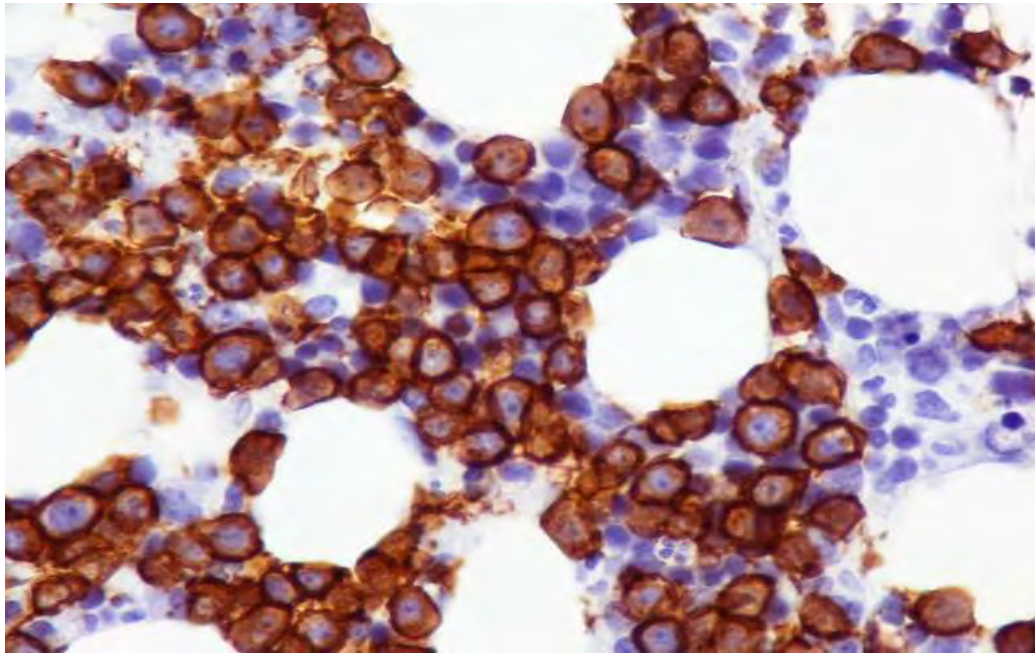


Εικ 3. Αντιδραστική πλασματοκυττάρωση. Δεν παρατηρείται ανοσοϊστοχημική έκφραση του CD56.

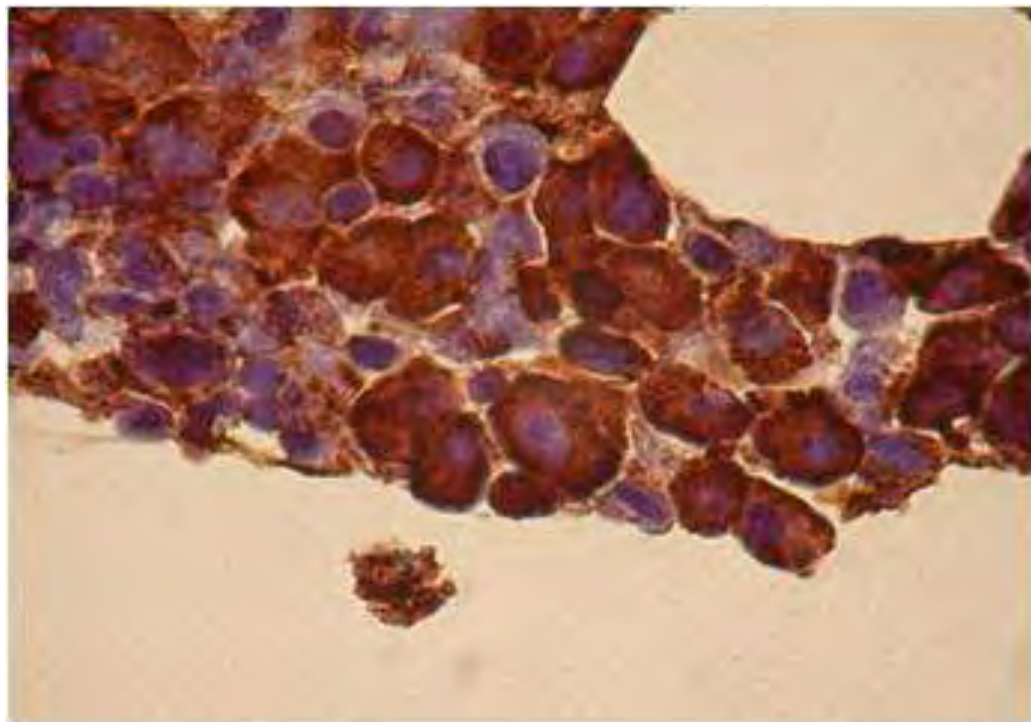
Από τις 10 περιπτώσεις μονοκλωνικής γαμμοπάθειας αδιευκρίνιστης σημασίας σε μια μόνον αναδείχθηκε θετικότητα στο CD56 αντιγόνο. Στη περίπτωση αυτή υπήρχε μια μικρή αναλογία (<2%) CD56(+) πλασματοκυττάρων μεταξύ των IgG_λ(+) που αποτελούσαν το 8% των εμπύρηνων κυττάρων του μυελού των οστών.

Μελετήθηκαν 85 περιπτώσεις πολλαπλού μυελώματος με μέση ηλικία 65.19±12.54 έτη (διακύμανση 36-88 έτη) εκ των οποίων 49 ήταν άνδρες και 36 γυναίκες. Τα μυελωματικά κύτταρα στο μυελό των οστών εξέφραζαν το αντιγόνο CD138 (εικόνα 4) σε όλες τις περιπτώσεις και αποδείχθησαν μονοκλωνικά ως προς τις κ- ή λ- ελαφρές αλυσίδες(εικόνα 5,6). Θετικότητα στο αντιγόνο CD56 απεδείχθη σε 39 περιπτώσεις (45,9%) (εικόνα 7,8) ενώ οι υπόλοιπες 46 (54,1%) ήταν αρνητικές (εικόνα 9). Από τα 85 μυελώματα τα 77 ήταν συμπτωματικά και τα 8

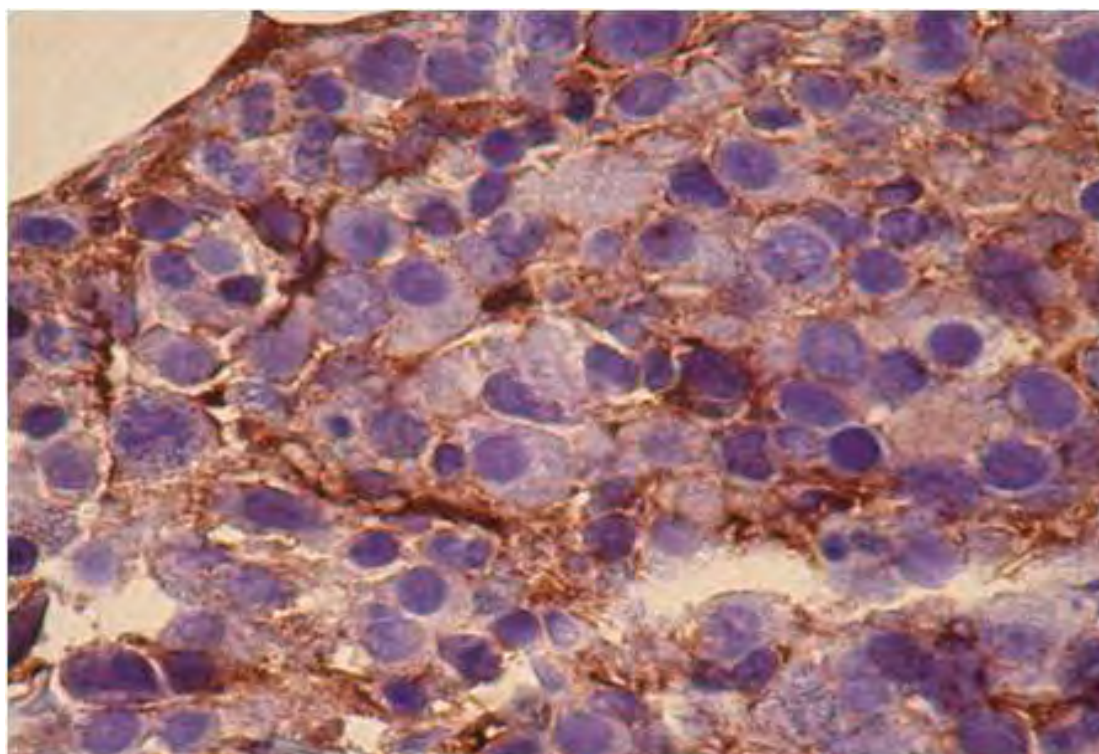
ασυμπτωματικά. Τα 3 από τα 8 (37,5%) ασυμπτωματικά μυελώματα ήταν θετικά στο CD56 αντιγόνο.



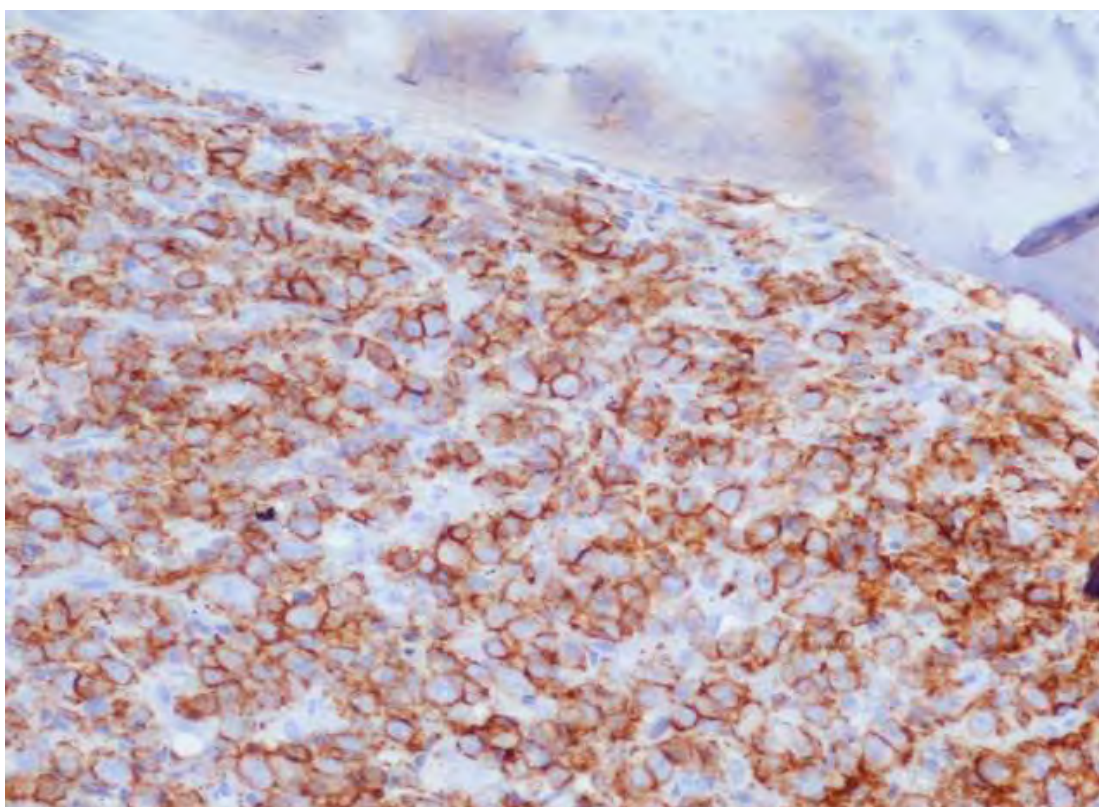
Εικ 4. Χρώση για CD138 σε πολλαπλό μυέλωμα.



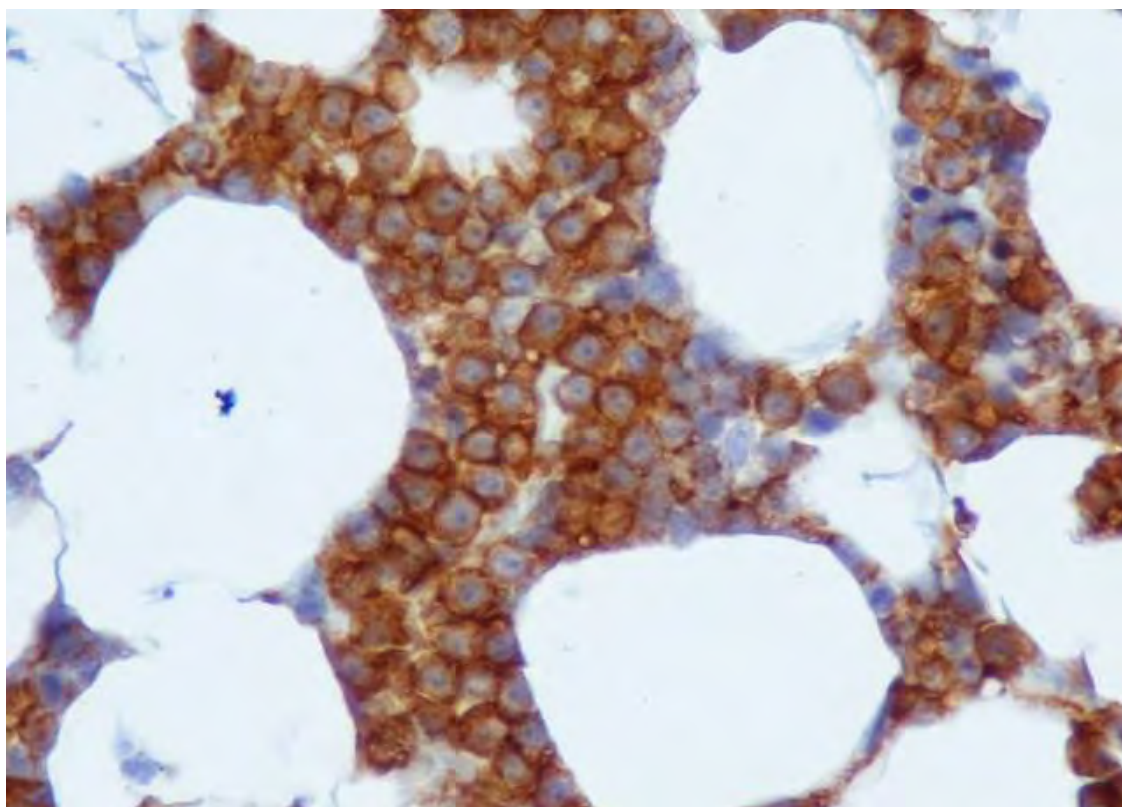
Εικ 5. Πολλαπλό μυέλωμα θετικό στις κ-ελαφρές αλυσίδες.



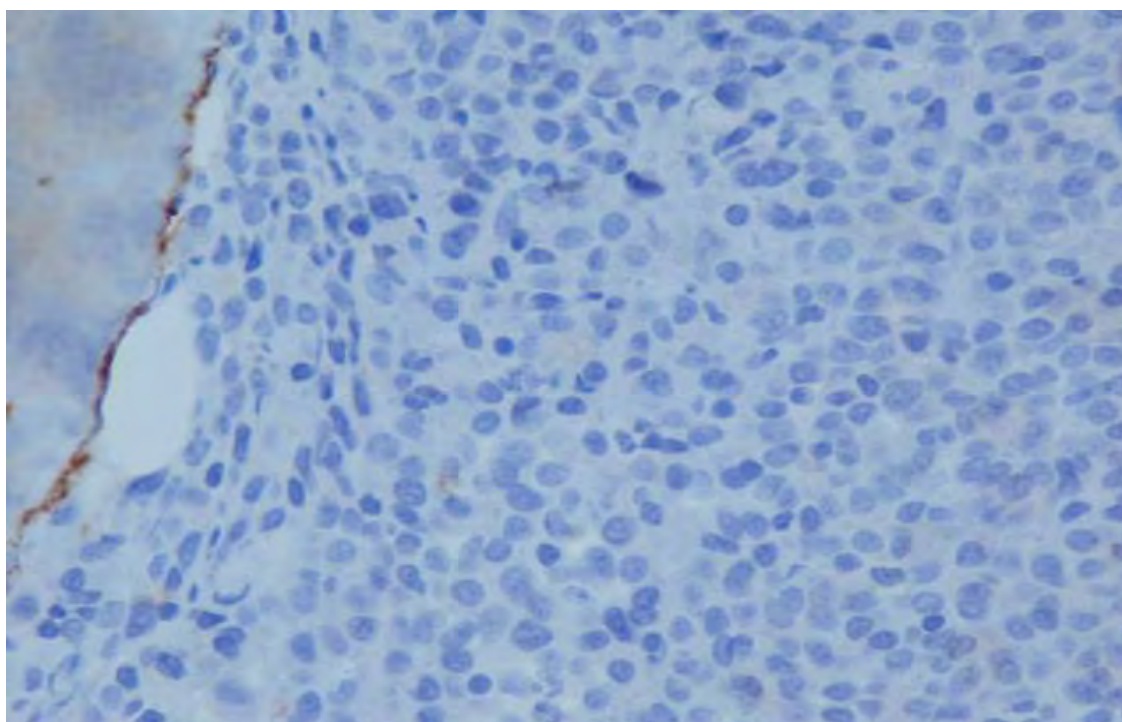
Εικ 6. Πολλαπλό μυέλωμα αρνητικό στις λ- ελαφρές αλυσίδες.



Εικ 7. CD56 θετικό πολλαπλό μυέλωμα



Εικ 8. CD56 θετικό πολλαπλό μυέλωμα



Εικ 9. CD56 αρνητικό πολλαπλό μυέλωμα. Σημειώνεται η έντονη θετικότητα των οστεοβλαστών.

Αναλύθηκαν οι κλινικοεργαστηριακές παράμετροι του συνόλου των περιπτώσεων πολλαπλού μυελώματος εν σχέσει με την έκφραση ή μη του CD56 αντιγόνου. Δεν ευρέθησαν διαφορές μεταξύ των ασθενών με έκφραση ή χωρίς έκφραση του CD56 ως προς τα δημογραφικά στοιχεία (πίνακας 14), τα βασικά κλινικοεργαστηριακά στοιχεία (πίνακας 15), στάδια της νόσου (πίνακας 16) και τύπο παραγόμενης ανοσοσφαιρίνης (πίνακας 17) ($p>0,05$ σε όλες τις περιπτώσεις).

Πίνακας 14. Δημογραφικά στοιχεία στους ασθενείς με CD56(+) και CD56(-) πολλαπλό μύελωμα.

Δημογραφικά στοιχεία	CD56(+)	CD56(-)
Φύλο		
άνδρες	23 (59%)	26 (56%)
γυναίκες	16 (41%)	20 (44%)
Ηλικία (έτη)		
μέση	64,2±11,2	66,1±10,4
διάμεση	66	68
<55	8 (20,5%)	8 (16,6%)
<65	11 (28,2%)	14 (29,2%)

Πίνακας 15. Βασικά αιματολογικά, βιοχημικά και κλινικά χαρακτηριστικά στους ασθενείς με CD56(+) και CD56(-) πολλαπλό μυέλωμα.

	CD56(+)	CD56(-)
Αιμοσφαιρίνη(g/dL)	11,4±2,3	11,7±2,3
Αιμοσφαιρίνη<10g/dL	10 (27,0%)	11 (23,9%)
Κρεατινίνη>2mg/dL	10 (28,5%)	11 (26,2%)
Λευκωματίνη(g/dL)	3,5±0,7	3,5±0,6
Λευκωματίνη<3,5g/dL	15 (42,8%)	19 (45,2%)
β ₂ - μικροσφαιρίνη>3,5mg/dL	15 (44,1%)	23 (57,5%)
β ₂ - μικροσφαιρίνη>5,5mg/dL	11 (33%)	15 (39,4%)
Ασβέστιο ορού>12mg/dL	5 (18,5%)	3 (8,8%)
Διήθηση μυελού των οστών με πλασματοκύτταρα		
<30%	8 (22,8%)	16 (35,5%)
<60%	16 (45,7%)	27 (53,3%)
Οστεολύσεις παρούσες	26 (70%)	30 (56,7%)
απούσες	9 (30%)	13 (43,3%)

Πίνακας 16 . Κατανομή των ασθενών με CD56(+) και CD56(-) πολλαπλό μυέλωμα σε κλινικά στάδια.

	CD56(+)	CD56(-)
κατά Salmon και Durie		
I	6 (17,1%)	9 (24,3%)
II	21 (60%)	21 (56,75%)
III	8 (22,9%)	7 (18,9%)
κατά το διεθνές σταδιοποιητικό σύστημα		
A	9 (27,3%)	11 (28,9%)
B	13 (39,4%)	12 (31,8%)
C	11 (33,3%)	15 (39,5%)

Πίνακας 17. Τύπος ανοσοσφαιρινών των ασθενών με CD56(+) και CD56(-) πολλαπλό μυέλωμα.

Τύπος Ανοσοσφαιρινών	CD56(+)	CD56(-)
IgG	21 (70%)	24 (58,5%)
IgA	5 (16,6%)	6 (14,6%)
IgD	0	2 (4,9%)
ελαφρών αλυσίδων	3 (10%)	8 (19,5%)
Μη εκκριτικό	1 (3%)	1 (2,5%)
κ- ελαφρές αλυσίδες	22 (56,4%)	27 (58,7%)
λ- ελαφρές αλυσίδες	17 (43,7%)	19 (41,3%)

Παρατηρήθηκε αυξημένη συχνότητα υπερασβεστιαμίας και οστεολυτικών βλαβών στους ασθενείς με θετικό το CD56 αντιγόνο αλλά

η διαφορά εν σχέσει προς τους ασθενείς χωρίς έκφραση του αντιγόνου αυτού δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Το ίδιο ισχύει και για την αυξημένη διήθηση του μυελού των οστών με μυελωματικά κύτταρα στους ασθενείς με αρνητική ανοσοαντιδραστικότητα στο CD56.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η μελέτη και αξιολόγηση της πλασματοκυτταρικής διηθήσεως του μυελού των οστών είναι απαραίτητη για τη διάγνωση του πολλαπλού μυελώματος και των συναφών νεοπλασματικών διαταραχών. Μολονότι η διάγνωση του πολλαπλού μυελώματος στην οστεομυελική βιοψία γίνεται ως επί το πλείστον χωρίς δυσκολίες, ιδιαίτερα όταν η πλασματοκυτταρική διήθηση είναι σημαντική¹³⁷ εν τούτοις υπάρχουν περιπτώσεις που η διάκριση μεταξύ πολλαπλού μυελώματος και αντιδραστικής πλασματοκυττάρωσης παρουσιάζει δυσκολίες με βάση μόνο τη μορφολογία. Η έκταση της πλασματοκυτταρικής διηθήσεως του μυελού των οστών στο πολλαπλό μυέλωμα μπορεί να κυμαίνεται από <5% έως 100%, ενώ στην αντιδραστική πλασματοκυττάρωση δεν υπερβαίνει το 20% αν και σπάνια φθάνει ή και υπερβαίνει το 50%. Το πρότυπο επίσης της διηθήσεως του μυελού των οστών στο πολλαπλό μυέλωμα εμφανίζει ποικιλία¹³⁷. Κυμαίνεται από τυχαία διασκορπισμένες αθροίσεις πλασματοκυττάρων έως μεγάλες εστίες ή όζους ή εμφανίζει πλήρη κατάληψη του μυελού των οστών με εκτόπιση του φυσιολογικού μυελικού λίπους και του αιμοποιητικού ιστού¹³⁸. Στις αντιδραστικές πλασματοκυττάρωσεις τυπικά η κατανομή των πλασματοκυττάρων είναι ενδιάμεση, αλλά υπάρχουν και περιπτώσεις στις οποίες ανευρίσκονται μικρές αθροίσεις πλασματοκυττάρων¹. Οι αθροίσεις αυτές αποτελούνται

από 5-6 (πάντως λιγότερα από 10) πλασματοκύτταρα που περιβάλλουν μακροφάγα ή αρτηριόλια¹³⁹. Εν τούτοις οι περιαγγειακές συναθροίσεις πλασματοκυττάρων δεν είναι πάντα καλοήθεις και μπορεί να παρατηρηθούν μέχρι και στο 30% των περιπτώσεως πολλαπλού μυελώματος¹⁴⁰. Τέλος, ορισμένες μορφολογικές αλλοιώσεις όπως διπύρρηνα και πολυπύρρηνα πλασματοκύτταρα, πυρηνική ανωριμότητα, πλειομορφισμός και κυτταροπλασματικά ή ενδοπυρηνικά έγκλειστα μπορεί να υπάρχουν και στην αντιδραστική πλασματοκυττάρωση¹. Λόγω των δυσκολιών αυτών η ανοσοϊστοχημία είναι πολύτιμο εργαλείο στη διαφορική διάγνωση της αντιδραστικής από τις νεοπλασματικές πλασματοκυτταρώσεις του μυελού των οστών. Η ανοσοϊστοχημική χρώση των ελαφρών αλυσίδων των ανοσοσφαιρινών αποκαλύπτει περιορισμό των ελαφρών αλυσίδων συμβατό με μονοκλωνική πλασματοκυττάρωση ή ισόρροπη σχέση συμβατή με αντιδραστική πλασματοκυττάρωση. Εν τούτοις υπάρχουν περιπτώσεις με μικρή πλασματοκυτταρική διήθηση ή ανεπαρκές υλικό στις οποίες η τεκμηρίωση της διαγνώσεως δεν είναι εφικτή. Έχουν κατά συνέπεια αναζητηθεί νέα αντιγόνα που να λειτουργούν ως δείκτης μονοκλωνικότητας των πλασματοκυττάρων. Μεταξύ αυτών προέχουσα σημασία έχει αποδοθεί στο αντιγόνο CD56.

Στην παρούσα εργασία ουδεμία από τις 95 περιπτώσεις αντιδραστικής πλασματοκυττάρωσης παρουσίαζε θετικότητα στο CD56. Το εύρημα αυτό είναι σύμφωνο με προηγούμενα ευρήματα των Ely και Knowles¹²⁴, Martin και συν¹³² και Dunphy και συν¹²⁷. Πρέπει όμως να σημειωθεί ότι οι Ely και συν διεπίστωσαν ότι ένας μικρός αριθμός βιοψιών περιείχαν πλασματοκύτταρα που εξέφραζαν το CD56 αλλά η ένταση της εκφράσεως ήταν πολύ αδύναμη και μόνον σε ένα μικρό υποπληθυσμό πλασματοκυττάρων <10%. Επίσης οι Martin και συν

ανακοίνωσαν μία περίπτωση πολυκλωνικής πλασματοκυτταρώσεως με έκφραση του CD56. Τέτοιες διαφοροποιήσεις πιθανότατα πρέπει να αποδοθούν τουλάχιστον εν μέρει στα διαφορετικά μονοκλωνικά αντισώματα και ανοσοϊστοχημικές τεχνικές.

Στην παρούσα εργασία θετικότητα στο αντιγόνο CD56 απεδείχθη σε 39/85 (45,9%) περιπτώσεις πολλαπλού μυελώματος. Σε όλες τις περιπτώσεις η έκφραση του αντιγόνου ήταν έντονη και παρόμοια με αυτήν των οστεοβλαστών που χρησίμευαν ως εσωτερικός δείκτης της χρώσης¹²⁴. Η συχνότητα των θετικών στο CD56 περιπτώσεων εμφανίζει ευρεία διασπορά, από 33%¹²⁷ έως 71%^{124,126} ή και περισσότερο. Σε κάθε όμως περίπτωση τα ευρήματα της παρούσας μελέτης επιβεβαιώνουν ότι ένας σημαντικός αριθμός περιπτώσεων πολλαπλού μυελώματος εκφράζει ανοσοϊστοχημικά το αντιγόνο CD56, ενώ ως ήδη αναφέρθη το αντιγόνο ουδόλως εκφράζεται στις αντιδραστικές πλασματοκυτταρώσεις.

Τα ευρήματα της παρούσης μελέτης πάντως σε συνδυασμό με αυτά της βιβλιογραφίας επιτρέπουν τη διαπίστωση ότι η ανοσοϊστοχημική έκφραση του CD56 μπορεί να βοηθήσει στη διαφορική διάγνωση μεταξύ αντιδραστικής πλασματοκυτταρώσεως και πολλαπλού μυελώματος στις περιπτώσεις που η μορφολογική αξιολόγηση του μυελού των οστών και η ανοσοϊστοχημική χρώση των ελαφρών αλυσίδων των ανοσοσφαιρινών αδυνατεί να τεκμηριώσει τη διάγνωση είτε λόγω μικρής διηθήσεως του μυελού με πλασματοκύτταρα είτε λόγω ανεπαρκούς βιοπτικού υλικού.

Σχετικά με το μη εκκριτικό μύελωμα, μια σπάνια μορφή (3%) πολλαπλού μυελώματος στο οποίο δεν ανιχνεύεται μονοκλωνική γαμμοπάθεια στον ορό ή στα ούρα, η διάγνωση τεκμηριώνεται με βάση την παρουσία ατυπιών, την ανοσοϊστοχημική αποκάλυψη πλασματοκυτταρικών αθροίσεων και ιδίως μονοκλωνική υπεροχή μιας εκ

των δύο ελαφρών αλυσίδων. Στις περιπτώσεις αυτές ο ρόλος της ανοσοεκφράσεως του CD56 μπορεί να είναι καθοριστικός. Κατ' αρχήν προσφέρει μεγάλη διαγνωστική βοήθεια, ειδικότερα στις περιπτώσεις που χαρακτηρίζονται όχι μόνο από αδυναμία εκκρίσεως αλλά και συνθέσεως ανοσοσφαιρινών, στις οποίες βέβαια η κυτταροπλασματική χρώση ανοσοσφαιρινών δεν είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί. Επίσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη διάκριση αυτής της μορφής πολλαπλού μυελώματος από έντονες αντιδραστικές πλασματοκυτταρώσεις.

Η έκφραση του αντιγόνου CD56 στα μονοτυπικά πλασματοκύτταρα της MGUS έχει ενδιαφέρον. Στην παρούσα εργασία σε μία από τις 10 περιπτώσεις MGUS ένα πολύ μικρός υποπληθυσμός μονοτυπικών πλασματοκυττάρων ήταν θετικός στην χρώση για CD56. Η σημασία του ευρήματος δεν είναι σαφής. Ενδέχεται η παρουσία CD56 θετικών πλασματοκυττάρων σε ορισμένες περιπτώσεις MGUS να αντιπροσωπεύει ένα λανθάνοντα κλωνικό πληθυσμό πολλαπλού μυελώματος μεταξύ των πλασματοκυττάρων της MGUS ο οποίος μπορεί να εξελιχθεί. Η πρακτική σημασία όμως του ευρήματος είναι περιορισμένη λόγω του μικρού αριθμού MGUS που χρησιμοποιήθηκε και της περιορισμένης ευαισθησίας της τεχνικής. Η χρησιμότητα του CD56 στη διαφορική διάγνωση μεταξύ MGUS και πολλαπλού μυελώματος έχει τεκμηριωθεί με την εφαρμογή της μεθοδολογίας της κυτταρομετρίας ροής. Με τη μέθοδο αυτή αποδείχθηκε ότι στις περιπτώσεις MGUS ταυτοποιούνται 2 πληθυσμοί πλασματοκυττάρων, ένας με φυσιολογικό ανοσοφαινότυπο που είναι πολυκλωνικός και ένας με παθολογικό ανοσοφαινότυπο που είναι μονοκλωνικός. Ο διαχωρισμός αυτός επιτυγχάνεται με τη χρησιμοποίηση μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι του CD56 σε συνδυασμό με άλλους δείκτες όπως το CD19. Η ποσοτική σχέση μεταξύ των δύο πληθυσμών μπορεί να διακρίνει την

MGUS από το πολλαπλό μυέλωμα^{105,106}. Αντίθετα η θέση της ανοσοϊστοχημικής χρώσης του CD56 στο μυελό των οστών στη διαφορική διάγνωση μεταξύ MGUS και πολλαπλού μυελώματος δεν είναι αποσαφηνισμένη. Σε ορισμένες μελέτες δεν βρέθηκε ανοσοϊστοχημική έκφραση του CD56 στη MGUS, εύρημα που τη διακρίνει από το πολλαπλό μυέλωμα^{132,133}. Τη δυνατότητα της ανοσοϊστοχημικής χρώσης του CD56 να διακρίνει τη MGUS από το πολλαπλό μυέλωμα υποστήριξαν και οι Ely και Knowles¹²⁴ με βάση τη διαφορά συχνότητας θετικών περιπτώσεων μεταξύ πολλαπλού μυελώματος και MGUS (71% έναντι 7%). Αντίθετα οι Mathew και συν¹²³ υποστήριξαν ότι το CD56 δεν μπορεί να διακρίνει τις δύο οντότητες διότι διεπίστωσαν ισχυρή θετικότητα και στις περιπτώσεις MGUS. Την ίδια άποψη διατύπωσαν οι Dunphy και συν¹²⁷ παρά το γεγονός ότι οι θετικές περιπτώσεις MGUS δεν ήταν στο υλικό τους συχνές (1/7). Στην παρούσα εργασία, όπως ήδη αναφέρθηκε, σε μία μόνο από τις 10 περιπτώσεις MGUS βρέθηκε θετικός υποπληθυσμός πλασματοκυττάρων στο μυελό των οστών. Το εύρημα αυτό δε διαφέρει από τα αντίστοιχα των Ely και Knowles¹²⁴ και Dunphy και συν¹²⁷. Λαμβάνοντας υπόψη το σύνολο αυτών των δεδομένων μπορεί να υποστηριχθεί ότι η ανοσοϊστοχημική χρώση για CD56 δεν μπορεί επί του παρόντος να χρησιμεύσει στη διάκριση μεταξύ MGUS και πολλαπλού μυελώματος. Απαιτείται περαιτέρω έρευνα για να επιλυθεί το εν λόγω ζήτημα.

Έχει υποστηριχθεί ότι η έκφραση ή μη του CD56 συνδέεται με συγκεκριμένες κλινικοεργαστηριακές παραμέτρους και την πρόγνωση του πολλαπλού μυελώματος. Οι van Camp και συν¹²¹ ήδη από το 1990 συνέδεσαν την απουσία του CD56 με επιθετική νόσο. Οι Sahara και συν¹²⁵ διεπίστωσαν χρησιμοποιώντας τη μεθοδολογία της

κυτταρομετρίας ροής ότι η απουσία του CD56 χαρακτηρίζει περιπτώσεις πολλαπλού μυελώματος με εξωμυελική επέκταση, νεφρική ανεπάρκεια, πλασμαβλαστική μορφολογία και πτωχή πρόγνωση. Επίσης η θετικότητα του CD56 έχει συνδεθεί με αυξημένη συχνότητα οστεολυτικών βλαβών, έχει όμως δημοσιευθεί και η αντίστροφη συσχέτιση, δηλαδή αυξημένη συχνότητα οστεολύσεων σε CD56 αρνητικά μυελώματα. Σειρά άλλων εργασιών πάντως δε διαπιστώνει συσχέτιση της απουσίας της εκφράσεως του CD56 με δυσμενείς προγνωστικούς παράγοντες και πτωχή πρόγνωση^{123,124,126,127,128}. Στην παρούσα εργασία δεν βρέθηκε συσχέτιση της θετικότητας ή μη των πλασματοκυττάρων του μυελού των οστών στο CD56 με τα δημογραφικά στοιχεία, τις βασικές κλινικοεργαστηριακές παραμέτρους, τα στάδια της νόσου και τον τύπο της παραγόμενης ανοσοσφαιρίνης. Τα ευρήματα αυτά σε συνδυασμό με τα δεδομένα της βιβλιογραφίας δείχνουν ότι η έκφραση ή μη του CD56 δεν χαρακτηρίζει μια ιδιαίτερη νοσολογική οντότητα πολλαπλού μυελώματος.

Εν συνόψει, τα δεδομένα της παρούσας εργασίας επιβεβαιώνουν τη χρησιμότητα της ανοσοϊστοχημικής χρώσης του CD56 στο φαινοτυπικό χαρακτηρισμό της αντιδραστικής πλασματοκυτταρώσεως και τη διαφορική διάγνωση εκτεταμένης πολυκλωνικής και κακοήθους πλασματοκυτταρικής διηθήσεως του μυελού των οστών. Τούτο ισχύει ιδιαίτερα σε περιπτώσεις ανεπαρκούς υλικού ή περιορισμένης διηθήσεως στις οποίες η κλωνικότητα των πλασματοκυττάρων είναι δύσκολο να διαπιστωθεί καθώς και σε περιπτώσεις μη εκκριτικού πολλαπλού μυελώματος. Η χρησιμότητα της χρώσεως στη διάκριση μεταξύ MGUS και πολλαπλού μυελώματος δεν μπορεί να θεωρηθεί τεκμηριωμένη. Τέλος, η έκφραση ή μη του CD56 δεν χαρακτηρίζει μια ιδιαίτερη κλινικοεργαστηριακή και προγνωστική ομάδα πολλαπλού μυελώματος.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Bain BJ, et al. Bone marrow pathology. Blackwell scientific publications, Oxford
2. Baird SJ. Morphology of lymphocytes and plasma cells, p.911-918. In Williams Hematology, 6th ed, McGraw-Hill, 2001
3. Fahey JL. Antibodies and immunoglobulins. I. Structure and function. JAMA 1995;194:71-4
4. Kipps TJ. Function of B lymphocytes and plasma cells in immunoglobulin production, p.937-47. In Williams Haematology, 6th edition, McGraw-Hill, 2001
5. Frazier JK, Capra JD. Immunoglobulins: structure and function. In Paul WE et al, ed. Fundamental Immunology, 4th edition, Philadelphia: Lippincott-Raven Publications 1999:37
6. Matsuda F, Honjo T. Organization of the human immunoglobulin heavy chain locus. Adv Immunol 1997;62:1
7. Burrows PD, Cooper MD. B cell development and differentiation. Curr Opin Immunol 1997; 9:239-44
8. Kuppers R, Klein U, Hansmann ML. Cellular origin of human B- cell lymphomas. N Eng J Med 1999;341:1520-9

9. Tonegawa S. Somatic generation of antibody diversity. *Nature* 1983;302:575-81

10. Tonegawa S. The nobel lectures in immunology. The nobel prize for physiology or medicine, 1987. Somatic generation of immune diversity. *Scand Journal of Immunol* 1993;38:303

11. Gellert M. Recent advances in understanding V(D)J recombination. *Adv Immunol* 1997 ;64:39-64

12. Chang Y, Bosma MJ, Bosma GC. Extended duration of DHJH rearrangement in immunoglobulin heavy chain gene transgenic mice: implications for regulation of allele exclusion. *J exp Med* 1999;189:1295-05

13. Pallares N, Frippiat JP, Gindicelli V, et al. The human immunoglobulin lamda variable (IgLV) genes and joining (IgLJ) segments. *Exp clin immunogenet* 1998;15:8-18

14. Melthers F, Rolink A, Grawander, et al. Positive and negative selection events during B lymphopoiesis. *Curr Opin Immunol* 1995;7:214-27

15. Nussenzweig MC. Immune receptor editing: revise and select. *Cell* 1998;95:875-8

16. Lam KP, Kuhn R, Rajewsky K. In vivo ablation of surface immunoglobulin on mature B cells by inducible gene targeting results in rapid cell death. *Cell* 1997;90:1073-83

17. Liu YI, Arpin C, de Bouteiller O, et al. Sequential triggering of apoptosis, somatic mutation and isotype switch during germinal center development. *Semin Immunol* 1996;8:169-77
18. Jacob J, Kelsoe G, Rajewsky K, et al. Intraclonal generation of antibody mutants in germinal centers. *Nature* 1991;354:389-92
19. Neuberger MS, Milstein C. Somatic hypermutation. *Current Opin Imuunol* 1995;7:248-54
20. Wabl M, Cascalho M, Steinberg C. Hypermutation in antibody affinity maturation. *Curr Opin Immunol* 1999;11:186-9
21. Diaz M, Casali P. Somatic hypermutation. *Curr Opin Immunol* 2002;14:235-40
22. Dunn- Walters DK, Boursier I, Spencer J. Hypermutation, diversity and dissemination of human intestinal lamina propria plasma cells. *Eur J Immunol* 1997;27:2959-64
23. Kuppers R, Rhao M, Hansmann MI, et al. Tracing B cell development in human germinal centers by molecular analysis of single cells picked from histological sections. *EMBO J* 1993;12:4955-67
24. Stavnezer J. Immunoglobulin class switching. *Curr Opin Immunol* 1996;8:199-205

25. Carey DJ. Syndecans: multifunctional cell- surface co- receptors. *Biochem J* 1997;327:1-16
26. Mehta K, Shahib U, Malavasi F. Human CD38: a cell surface protein with multiple functions. *FASEB J* 1996;10:1408-17
27. Klein H and Block M. Bone marrow plasmacytosis. *Blood* 1953;8:1034-41
28. Hyun BH, Kwa D, Gabaldon H, et al. Reactive plasmacytic lesions of the bone marrow. *Amer J Clin Pathol* 1976;65:921-8
29. The international myeloma working group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders : a report of the international myeloma working group. *Brit J Haematol* 2003 ;121 :749-57
30. San Miguel JF, Cutierrez NC, Mateo G, et al. Conventional diagnostics in multiple myeloma. *Eur J Cancer* 2005;42:1510-9
31. Rajkumar SV, Dispenzieri A, Kyle RA. Monoclonal gammopathy of undetermined significance, Waldenström macroglobulinemia, AL amyloidosis and related plasma cell disorders: Diagnostis and treatment. *Mayo Clin Proc* 2006;81:693-03
32. Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, et al. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Eng J Med* 2006;354:1362-9

33. Berenson JR, Anderson KC, Audell RA. Monoclonal gammopathy of undetermined significance: a consensus statement. *Br J Haematol* 2010;150:28-38
34. Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, et al. A long term study of prognosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Eng J Med* 2002;346:564-9
35. Rajkumar SV, Kyle RA, Therneau TM, et al. Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood* 2005;106:812-7
36. Landgren O, Kyle RA, Pfeiffer RM, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) consistently precedes multiple myeloma: a prospective study. *Blood* 2009;113:5412-7
37. Dispenzieri A, Katzmann JA, Kyle RA, et al. Prevalence and risk of progression of light chain monoclonal gammopathy of undetermined significance: a retrospective population- based cohort study. *Lancet* 2010;375:1721-8
38. Kyle RA, Durie BG, Rajkumar SV, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering (asymptomatic) multiple myeloma: IMWG consensus perspective risk factors for progression and guidelines for monitoring and management. *Leukemia* 2010;24:1121-7
39. Katzmann JA, Dispenzieri A, Kyle RA, et al. Elimination for the need of urine studies in the screening algorithm for monoclonal gammopathies by using serum immunofixation and free light chain assays. *Mayo Clin Proc* 2006;81:1575-8

40. Terpstra WE, Lokhorst HM, Blomjous F, et al. Comparison of plasma cell infiltration in bone marrow biopsies and aspirates in patients with multiple myeloma. *Br J Haematol* 1992;82:46-9

41. Barti R, Frisch B, Burkhardt R, et al. Bone marrow histology in myeloma: its importance in diagnosis, prognosis, classification and staging.

Brit J Haematol 1982;51:361-75

42. Greipp PR, Raymond NM, Kyle RA, et al. Multiple myeloma : significance of plasmablastic subtype in morphological classification. *Blood* 1985;65:305-10

43. Rajkumar SV, Fonseca R, Lacy MQ, et al. Plasmablastic morphology is an independent predictor of poor survival after autologous stem cell transplantation for multiple myeloma. *J Clin Oncol* 1999;17:1551-7

44. Durie BGM, Salmon SE. A clinical staging system in multiple myeloma.

Cancer 1975;36:842-54

45. Greipp PR, San Miguel J, Durie BGM, et al. International staging system for multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2006;23:3412-20

46. Dimopoulos MA, Moulopoulos LA, Maniatis A, et al. Solitary plasmacytoma and asymptomatic multiple myeloma. *Blood* 2000 ;96 :2037-44

47. Bladé J, Dimopoulos MA, Rosinol L, et al. Smoldering (asymptomatic) multiple myeloma: current diagnostic criteria, new predictors of outcome, and follow up recommendations. *J Clin Oncol* 2010;28:690-7

48. Drayson M, Tang LX, Drew R, et al. Serum free light chains measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma. *Blood* 2001;93:1032-7

49. Kyle RA, Robinson RA, Katzmann JA. The clinical aspects of biclonal gammopathies. Review of 57 cases. *Amer J Med* 1981;71:999-1008

50. Garcia- Sanz R, Orfao A, Gonzales M, et al. Primary plasma cell leukemia: clinical, immunophenotypic, DNA ploidy, and cytogenetic characteristics. *Blood* 1999;93:1032-7

51. Dimopoulos MA, Kiamouris C, Moulopoulos LA. Solitary plasmacytoma of bone and extramedullary plasmacytoma. *Hematol Oncol Clin NA* 1999;13:1249-57

52. Dispenzieri A, Kyle RA, Lacy MQ, et al. POEMS syndrome: definitions and long term outcome. *Blood* 2003;101:2496-506

53. Dispenzieri A. POEMS syndrome. *Blood rev* 2007;21:285-99

54. Falk RH, Comenzo RL and Skinner M. The systemic amyloidosis. *N Eng J Med* 1997;337:898-912

55. Merlini G, Bellotti V. Molecular mechanisms of amyloidosis. *N Eng J Med* 2003;349:583-96
56. Tassone P, Tagliaferi P, Rossi M. Genetic and molecular profiling in multiple myeloma: novel tools for clinical management? *Eur J Cancer* 2006;42:1530-8
57. Liebisch P, Döhner H. Cytogenetics and molecular cytogenetics in multiple myeloma. *Eur J Cancer* 2006;42:1520-29
58. Nishida K, Tamura A, Nagazawa N, et al. The Ig heavy chain is frequently involved in chromosomal translocations in multiple myeloma, plasma cell leukemia as detected by in situ hybridization. *Blood* 1997;90:526-34
59. Avert-Loiseau H, Li JY, Facon T, et al. High incidence of translocations t(11;14)(q13;q32) and t(4;14)(p16;q32) in patients with plasma cell malignancies. *Cancer Res* 1998;58:5460-5
60. Bergsagel PL, Kuehl WM. Chromosome translocations in multiple myeloma. *Oncogene* 2001;20:5611-22
61. Avet-Loiseau H, Facon T, Grosbois B, et al. Oncogenesis of multiple myeloma: 14q32 and 13q chromosomal abnormalities are not randomly distributed, but correlate with natural history, immunological features, and clinical presentation. *Blood* 2002;99:2185-91

62. Fonseca R, Blood E, Rue M, et al. Clinical and biologic implications of recurrent genomic aberrations in myeloma. *Blood* 2003;101:4569-75
63. Chesi M, Nardini E, Lim RS, et al. The t(4;14) translocation in myeloma dysregulates both FGFR3 and a novel gene, MMSET, resulting in IgH/MMSET hybrid transcripts. *Blood*, 1998;92:3025-34
64. Zandecki M, Lai JL, Facon T. Multiple myeloma: almost- all patients are cytogenetically abnormal. *Br J Haematol* 1996;94:217-27
65. Taberero D, San Miguel JM, Garcia-Sanz M, et al. Incidence of chromosome numerical changes in multiple myeloma: fluorescence in situ hybridization analysis using 15 chromosome- specific probes. *Am J Pathol* 1996;149:153-61
66. Smagda NV, Bastard C, Brigaudeau C, et al. Hypodiploidy is a major prognostic factor in multiple myeloma. *Blood* 2001;98: 2229-38
67. Seong C, Balasalle K, Hayes K, et al. Prognostic value of cytogenetics in multiple myeloma. *Brit J Haematol* 1998;101:189-94
68. Fonseca R, Bailey RJ, Ahmann GJ, et al. Genomic abnormalities in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood* 2002;100:1417-24
69. Shaughnessen J, Tan E, Sawyer J, et al. High incidence of chromosome 13 deletion in multiple myeloma detected by multiprobe interphase FISH. *Blood* 2000;96:1505-11

70. Fonseca R, Harrington D, Oken M, et al. Biologic and prognostic significance of interphase fluorescence in situ hybridization detection of chromosome 13 abnormalities (Δ_{13}) in multiple myeloma: an eastern cooperative group (ECOG) study. *Cancer Res* 2002;62:715-20
71. Chang H, Qi C, Yi Q-L, et al. p53 gene deletion detected by fluorescence in situ hybridization is an adverse prognostic factor for patients with multiple myeloma following autologous stem cell transplantation. *Blood* 2005;105:358-60
72. Shaughnessy J. Amplification and overexpression of CKS1B at chromosome band 1q21 is associated with reduced levels of p27(kip1) and an aggressive clinical course in multiple myeloma. *Haematology* 2005;10(suppl 1):117-26
73. Gonzalez-Paz N, Wee JC, McClure RF. Tumor suppressor p16 methylation in multiple myeloma: biological and clinical implications. *Blood* 2007;109:1228-32
74. Ludwig H, Meran J and Zager N. Multiple myeloma: an update on biology and treatment. *Ann Oncol* 1999;10(suppl 6):531-543
75. Hideshima T, Bergsagel PL, Kuehl WM and Anderson KC. Advances in biology of multiple myeloma: clinical applications. *Blood* 2004;104:607-18
76. Gonzalez D, van der Burg M, Garcia-Sanz R, et al. Immunoglobulin gene rearrangement and the pathogenesis of multiple myeloma. *Blood* 2007;110:3112-21

77. Specht K, Harabam E, Bink K, et al. Different mechanism of D₁ overexpression in multiple myeloma revealed by fluorescence in situ hybridization and quantitative analysis of mRNA levels. *Blood* 2004;104:1120-6
78. Mitsiades CS, Mitsiades NS, Munshi NC, et al. The role of the bone microenvironment in the pathophysiology and therapeutic management of multiple myeloma : interplay of growth factors, their receptors and stromal interactions. *Eur J Cancer* 2005;42:1564-73
79. Bommert K, Bargou RC, Stühmer T. Signalling and survival pathways in multiple myeloma. *Eur J Cancer* 2006;42:1574-80
80. Uchiyama H, Barut BA, Chauham D, et al. Characterization of adhesion molecules on human myeloma cell lines. *Blood* 1992 80:2306-14
81. Teoh G, Anderson KC. Interactions of tumor and host cells with adhesion and extracellular matrix molecules in the development of multiple myeloma. *Haematol Oncol Clin NA* 1997;11:27-42
82. van de Donk NW, Lokhorst HM, Bloem AC. Growth factors and antiapoptotic signaling pathways in multiple myeloma. *Leukemia* 2005;19:2177-85
83. Chatterjee M, Stühmer T, Hermann P, et al. Combined disruption of both the MEK/ERK and IL-6R/STAT3 pathways is required to induce apoptosis of multiple myeloma cells in the presence of bone marrow stromal cells. *Blood* 2004;104:3712-21

84. Aggarwal R, Ghobrial IM and Roodman GD. Chemokines in multiple myeloma. *Exper Hematol* 2006;34:1289-95
85. Lentzsch S, Chatterjee M, Gries M, et al. PI3-K/AKT/FKHR and MAPK signaling cascades are redundantly stimulated by a variety of cytokines and contribute independently to proliferation and survival of multiple myeloma cells. *Leukemia* 2004;18:1883-90
86. Bharti AC, Shishodia S, Reuben JM, et al. Nuclear factor-kB and STAT3 are constitutively active in CD138+ cells derived from multiple myeloma patients, and suppression of these transcription factors leads to apoptosis. *Blood* 2004;103:3175-84
87. Li ZW, Chen H, Cambell RA, et al. Nuclear factor-kappaB in the pathogenesis and treatment of multiple myeloma. *Cur Op Haematology* 2008;15:391-99
88. Jundt F, Probsting KS, Anagnostopoulos I, et al. Jagged1-induced Notch signaling drives proliferation of multiple myeloma cells. *Blood* 2004;103:3511-15
89. Vacca A, Ribatti D. Bone marrow angiogenesis in multiple myeloma. *Leukemia* 2006;20:193-9
90. Hose D, Moreaux J, Meissner T, et al. Induction of angiogenesis by normal and malignant plasma cells. *Blood* 2009;114:128-43
91. Jakob C, Sterz J, Zavrski I, et al. Angiogenesis in multiple myeloma. *Eur J Cancer* 2006;42:1581-90

92. Roodman GD. Pathogenesis of myeloma bone disease. *Blood Cells Mol Dis* 2004;32:290-92
93. Silvestris F, Lombardi L, De Matteo M. Myeloma bone disease: pathogenetic mechanisms and clinical assessment. *Leuk Res* 2007;31:129-38
94. Terpos E, Politou M, Rahemtalla A. New insights in the pathophysiology and management of bone disease in multiple myeloma. *Brit J Haematol* 2003;123:7586-9
95. Giuliani N, Rizzoli V, Roodman GD. Multiple myeloma bone disease: pathophysiology of osteoblast inhibitions. *Blood* 2006;108:3992-6
96. Tian E, Zhan F, Walker R, et al. The role of the Wnt-signaling antagonist DKK1 in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma. *N Eng J Med* 2003;349:2483-94
97. Pearse RN. Wnt antagonism in multiple myeloma: a potential cause of uncoupled bone remodeling. *Clin Cancer Res* 2006;12:6274-8
98. Qiang YW, Chen Y, Stephens O, et al. Myeloma derived Dickkopf-1 disrupts Wnt-regulated osteoprotegerin and RANKL production by osteoblasts: a potential mechanism underlying osteolytic bone lesions in multiple myeloma. *Blood* 2008;112:196-207

99. Chilosi M, Adami F, Lestani M, et al. CD138/syndecan-1: a useful immunohistochemical marker of normal and neoplastic plasma cells on routine trephine bone marrow biopsies. *Mod Pathol* 1999;12:1101-6
100. Ng AP, Wei A, Bhurani D, et al. The sensitivity of CD138 immunostaining of bone marrow trephine specimens for quantifying marrow involvement in MGUS and myeloma, including samples with a low percentage of plasma cells. *Haematologica* 2006;91:971-75
101. Rawstron AC, Orfao A, Beksac M, et al. Report of the European Myeloma Network on multiparametric flow cytometry in multiple myeloma and related disorders. *Haematologica* 2008;93:431-8
102. Harada H, Kawano MM, Hwang N, et al. Phenotypic difference of normal plasma cells from mature myeloma cells. *Blood* 1993;81:2658-63
103. Bataille R, Jégo G, Robillard N, et al. The phenotype of normal, reactive and malignant plasma cells. Identification of "many and multiple myelomas" and of new targets for myeloma therapy. *Haematologica* 2006;91:1234-40
104. Lin P, Owens R, Tricot G, Wilson CS. Flow cytometric immunophenotypic analysis of 306 cases of multiple myeloma. *Am J Clin Pathol* 2004;121:482-8
105. Ocqueteau M, Orfao A, Almeida J, et al. Immunophenotypic characterization of plasma cells from monoclonal gammopathy of undetermined significance patients. Implications for the differential diagnosis between MGUS and multiple myeloma. *Amer J Pathol* 1998;152:1655-65

106. Sezer O, Heider U, Zavrski I, et al. Differentiation of monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma using flow cytometric characteristics of plasma cells. *Haematologica* 2001;86:837-43
107. Pérez-Persona E, Vidriales M-B, Mateo G, et al. New criteria to identify risk of progression in monoclonal gammopathy of uncertain significance and smoldering multiple myeloma based on multiparameter flow cytometry analysis of bone marrow plasma cells. *Blood* 2007;110:2586-92
108. Robillard N, Jegou G, Pellat-Deceunynck C, et al. CD28, a marker associated with tumoral expansion in multiple myeloma. *Clin Cancer Res* 1998;4:1521-6
109. Mateo G, Montalban MA, Vidriales M-B, et al. Prognostic value of immunophenotyping in multiple myeloma: a study by the PETHEMA/GEM cooperative study groups on patients uniformly treated with high-dose therapy. *J Clin Oncol* 2008;26:2737-44
110. Morgan TK, Zhao S, Chang KL, et al. Low CD27 expression in plasma cell dyscrasias correlates with high-risk disease: an immunohistochemical analysis. *Am J Clin Path* 2006;126:545-51
111. Moreau P, Robillard N, Avert-Loiseau H, et al. Patients with CD45 negative multiple myeloma receiving high-dose therapy have a shorter survival than those with CD45 positive multiple myeloma. *Haematologica* 2004;89:547-551

112. Menke DM, Horny HP, Griesser H, et al. Immunophenotypic and genotypic characterisation of multiple myelomas with adverse prognosis characterised by immunohistological expression of the T cell related antigen CD45RO (UCHL-1). *J Clin Pathol* 1998;51:432-37
113. Robillard N, Wuillème S, Lodé L, et al. CD33 is expressed on plasma cells of a significant number of myeloma patients, and may represent a therapeutic target. *Leukemia* 2005;19:2021-22
114. Sahara N, Ohnishi K, Ono T, et al. Clinicopathological and prognostic characteristics of CD33-positive multiple myeloma. *Eur J Heamatol* 2006;77:14-18
115. Kobayashi S, Hyo R, Amitani Y, et al. Four-color flow cytometric analysis of myeloma plasma cells. *Amer J Clin Path* 2006;26:908-15
116. Gupta R, Bhaskar A, Kumar L, et al. Flow cytometric immunophenotyping and minimal residual disease analysis in multiple myeloma. *Amer J Clin Path* 2009;132:728-32
117. Sarasquete ME, García-Sanz R, González D, et al. Minimal residual disease monitoring in multiple myeloma: a comparison between allelic-specific oligonucleotide real-time quantitative polymerase chain reaction and flow cytometry. *Haematologica* 2005;90:1365-72
118. Rawstron AC, Davies FF, DasGupta R, et al. Flow cytometric disease monitoring in multiple myeloma: the relationship between normal and neoplastic plasma cells predicts outcome after transplantation. *Blood* 2002;9:3095-00

119. Goridis C, Brunet JF. NCAM: structural diversity, function and regulation of expression. *Semin Cell Biol* 1992;3:189-97
120. Gattenlöhner S, Stühmer T, Leich E, et al. Specific detection of CD56 (NCAM) isoforms for the identification of aggressive malignant neoplasms with progressive development. *Amer J Pathol* 2009;174:1160-1171
121. van Camp B, Durie BG, Spier C, et al. Plasma cells in multiple myeloma express a natural killer cell-associated antigen: CD56 (NKH-1; Leu-19). *Blood* 1990;76:377-82
122. Kaiser U, Auerbach B, Oldenburg M. The neural cell adhesion molecule NCAM in multiple myeloma. *Leuk Lymph* 1996;20:389-95
123. Mathew P, Ahmann GJ, Witzig TE, et al. Clinicopathological correlates of CD56 expression in multiple myeloma: a unique entity? *Brit J Haematol* 1995;90:459-61
124. Ely SA, Knowles DM. Expression of CD56/neural cell adhesion molecule correlates with the presence of lytic bone lesions in multiple myeloma and distinguishes myeloma from monoclonal gammopathy of undetermined significance and lymphomas with plasmacytoid differentiation. *Amer J Pathol* 2002;160:1293-99
125. Sahara N, Takeshita A, Shigeno K, et al. Clinicopathological and prognostic characteristics of CD56-negative multiple myeloma. *Br J Haematol* 2002;117:882-5

126. Chang H, Samiee S, Yi QL. Prognostic relevance of CD56 expression in multiple myeloma: a study including 107 cases treated with high-dose melphalan-based chemotherapy and autologous stem cell transplant. *Leuk Lymph* 2006;47:43-7
127. Dunphy CH, Nies MK, Gabriel DA. Correlation of plasma cell percentages by CD138 immunohistochemistry, cyclin D1 status, and CD56 expression with clinical parameters and overall survival in plasma cell myeloma. *Immunohist Mol Morphol* 2007;15:248-54
128. Kraj M, Sokołowska U, Kopeć-Szlezak J, et al. Clinicopathological correlates of plasma cell CD56 (NCAM) expression in multiple myeloma. *Leuk Lymph* 2008;49:298-05
129. Dahl IMS, Rasmussen T, Kauric G, et al. Differential expression of CD56 and CD44 in the evolution of extramedullary myeloma. *Br J Haematol* 2002;116:273-7
130. Kremer M, Ott G, Nathrath M, et al. Primary extramedullary plasmacytoma and multiple myeloma: phenotypic differences revealed by immunohistochemical analysis. 2005;205:92-101
131. Pellat-Deceunynck C, Barillé S, Jegu G, et al. The absence of CD56 (NCAM) on malignant plasma cells is a hallmark of plasma cell leukemia and of a special subset of multiple myeloma. *Leukemia* 1998;12:1977-82
132. Martín P, Santón A, Bellas C. Neural cell adhesion molecule expression in plasma cells in bone marrow biopsies and aspirates allows discrimination between

multiple myeloma, monoclonal gammopathy of uncertain significance and polyclonal plasmacytosis. *Histopathology* 2004;44:375-80

133. Sonneveld P, Durie BG, Lokhorst HM, et al. Analysis of multidrug-resistance (MDR-1) glycoprotein and CD56 expression to separate monoclonal gammopathy from multiple myeloma. *Brit J Haematol* 1993;83:63-7

134. Harrington AM, Hari P and Kroft SH. Utility of CD56 immunohistochemical studies in follow up of plasma cell myeloma. *Am J Clin Pathol* 2009;132:60-6

135. Cunningham BA, Hempenly JJ, Murray BA, et al. Neural cell adhesion molecule: structure, immunoglobulin-like domains, cell surface modulation, and alternative RNA splicing. *Science* 1987;236:799-806

136. Rawstron AC, Barrans SL, Blythe D, et al. Distribution of myeloma plasma cells in peripheral blood and bone marrow correlates with CD56 expression. *Br J Haematol* 1999;104:138-43

137. Fend F and Kremer M. Diagnosis and classification of malignant lymphoma and related entities in the bone marrow trephine biopsy. *Pathobiology* 2007;74:133-43

138. Kremer M, Quintanilla-Martinez L, Nahrig J, et al. Immunohistochemistry in bone marrow pathology: a useful adjunct for morphologic diagnosis. *Virchows Arch* 2005;447:920-37

139. Wei A and Juneja S. Bone marrow immunohistology of plasma cell neoplasms. *J Clin Pathol* 2003;56:406-11

140. Sukpanichnant S, Cousar JB, Leelasizi A, et al. Diagnostic criteria and histologic grading in multiple myeloma. Histologic and immunohistologic analysis of 176 cases with clinical correlation. *Human Pathol* 1994;25:308-18

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το προσκολλητικό μόριο των νευρικών κυττάρων (Neural Cell Adhesion Molecule, NCAM) ή CD56 είναι μια μεμβρανική πρωτεΐνη που ανήκει στην οικογένεια των ανοσοσφαιρινών και εκφράζεται στα πλασματοκύτταρα μιας σημαντικής αναλογίας περιπτώσεων πολλαπλού μυελώματος. Η σημασία όμως της ανοσοϊστοχημικής εκφράσεως του CD56 στη μελέτη των πλασματοκυτταρώσεων του μυελού των οστών δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η έκφραση του CD56 σε 95 περιπτώσεις αντιδραστικής πλασματοκυττάρωσης, 85 περιπτώσεις πολλαπλού μυελώματος και 10 περιπτώσεις μονοκλωνικής γαμμοπάθειας αδιευκρίνιστης σημασίας. Επίσης στις περιπτώσεις πολλαπλού μυελώματος έγινε συσχέτιση της έκφρασης ή μη του αντιγόνου με ποικίλες κλινικοεργαστηριακές παραμέτρους των ασθενών. Η τεκμηρίωση της διάγνωσης περιελάμβανε τη συμβατική μελέτη τομών οστεομυελικών βιοψιών, ανοσοϊστοχημική χρώση του CD138 για την ακριβή εκτίμηση της πλασματοκυτταρικής διήθησης, ανοσοϊστοχημική χρώση των ελαφρών αλυσίδων των ανοσοσφαιρινών για τον καθορισμό μονο- ή πολυκλωνικότητας της πλασματοκυτταρικής διήθησης καθώς και τις απαραίτητες κλινικοεργαστηριακές παραμέτρους. Στην ανοσοϊστοχημική χρώση του CD56 χρησιμοποιήθηκε ως εσωτερικός μάρτυρας η έκφραση του αντιγόνου στους οστεοβλάστες. Σε καμία περίπτωση αντιδραστικής πλασματοκυττάρωσης δεν παρατηρήθηκε έκφραση, έστω χαμηλή, του CD56 (0/95), ενώ θετικό αποτέλεσμα παρατηρήθηκε σε 39/85 (45,19%) περιπτώσεις πολλαπλού μυελώματος. Σε μία από τις 10 περιπτώσεις μονοκλωνικής γαμμοπάθειας

αδιευκρίνιστης σημασίας παρατηρήθηκε θετικότητα σε μικρό αριθμό μονοκλωνικών πλασματοκυττάρων. Η έκφραση ή μη του CD56 αντιγόνου στα πλασματοκύτταρα του μυελού των οστών του πολλαπλού μυελώματος δεν εμφάνιζε συσχέτιση με τα δημογραφικά στοιχεία, τις κλινικοεργαστηριακές παραμέτρους, το στάδιο της νόσου και τον τύπο της παραγόμενης ανοσοσφαιρίνης. Η ανοσοϊστοχημική χρώση επομένως του CD56 μπορεί να αποτελέσει χρήσιμο βοηθητικό στοιχείο στη διάκριση της αντιδραστικής πλασματοκυττάρωσης από το πολλαπλό μύελωμα. Με τα υπάρχοντα δεδομένα όμως η χρώση δεν προσφέρεται στη διάκριση της μονοκλωνικής γαμμοπάθειας αδιευκρίνιστης σημασίας από το πολλαπλό μύελωμα. Τέλος η έκφραση ή μη του αντιγόνου CD56 δεν καθορίζει μια ξεχωριστή κλινικοεργαστηριακή οντότητα.

SUMMARY

Neural Cell Adhesion Molecule (NCAM) or CD65 is a membrane protein belonging to the immunoglobulin family of proteins and is expressed on the plasma cells of a significant number of cases of multiple myeloma. The diagnostic significance of the immunohistochemical expression of the CD56 in the evaluation of the bone marrow plasmocytosis is not entirely clear. We therefore studied the expression of CD56 in 95 cases of reactive plasmocytosis, 85 cases of multiple myeloma and 10 cases of monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS), in order to evaluate its possible utility as a marker of malignancy. The correlation of the antigen expression with several clinicolaboratory findings of the cases with

multiple myeloma was also studied. The documentation of the diagnosis included conventional study of the bone marrow biopsies, immunohistochemical staining of CD138 in order to accurately estimate the plasma cell infiltration, immunohistochemical staining of the light chains of immunoglobulins for the assesment of mono- or polyclonal plasma cell infiltrate and the necessary clinicolaboratory parameters. We did not find any CD56 expression, not even a weak or doubtful one, in all biopsies (95 of 95, 100%) with reactive plasmocytosis. On the contrary, myeloma associated plasma cells showed strong CD56 immunoreactivity in 39/85 cases (41,19%). In 1 of 10 cases with MGUS the antigen was expressed in a small number of monoclonal plasma cells. The expression or lack of expression of CD56 on the bone marrow plasma cells in multiple myeloma did not show any correlation with demographics, the clinicolaboratory parameters, the stage of the disease or the type of the produced immunoglobulin.

In conclusion, the immunohistochemical staining of CD56 can be a very useful marker in the distinction between reactive plasmocytosis and multiple myeloma. Our data, however, does not confirm that CD56 staining is helpful in the distinction betwwen MGUS and multiple myeloma. Finally, the expression or lack of expression of CD56 antigen does not determine a discrete clinicopathological entity of multiple myeloma.

