

Příspěvek k hodnocení sérových hladin vybraných biologických působků u monoklonální gamapatie nejistého významu a v jednotlivých klinických stádiích mnohočetného myelomu

V. Ščudla¹, P. Petrová², J. Minařík¹, T. Pika¹, M. Budíková², J. Bačovský¹, Š. Repovský³, Česká myelomová skupina

¹ III. interní klinika Lékařské fakulty UP a FN Olomouc, přednosta prof. MUDr. Vlastimil Ščudla, CSc.

² Oddělení klinické biochemie FN Olomouc, přednosta prof. MUDr. Martin Petřek, CSc.

³ Hematologicko transfuzní oddělení Nemocnice Přerov, přednosta prim. MUDr. Štefan Repovský

Souhrn: Úvod: Náplní studie bylo vyhodnocení sérových hladin 12 vybraných ukazatelů u monoklonální gamapatie nejistého významu (MGNV) a iniciální, asymptomatické fáze mnohočetného myelomu (MM), a to i z pohledu potenciálního přínosu pro odlišení obou stavů. Soubor a metody: Analyzovanou 131člennou sestavu tvořilo 62 jedinců s MGNV a 69 nemocných s MM splňujících International Myeloma Working Group (IMWG) kritéria. K vyšetření sérových hladin byly použity metody: kvantitativní imunoradiometrie (kostní forma alkalické fosfatázy – bALP a inzulinu podobný růstový faktor-1 – IGF-1), chemiluminiscenční enzymová imunochemická reakce (parathormon – PTH), kvantitativní sendvičová enzymatická imunoesej (osteopontin – OPN, endostatin – ES, makrofágový zánětlivý faktor-1 α / β – MIP-1 α / β , angiogenin – ANG a IL-17). Statistické šetření bylo provedeno s pomocí Pearsonova χ^2 testu a U-testu dle Manna-Whitneye ($p < 0,05$). Výsledky: Analýza prokázala statisticky významné rozdíly sérových koncentrací mezi MGNV a symptomatickou formou MM (stadium 2–3 vyhodnocené podle Durieho-Salmona – D-S) v případě: albuminu, β_2 -mikroglobulinu (β_2 -M) a OPN ($p = 0,0001$ a $< 0,0001$); v případě stadia 2 u osteokalcinu ($p = 0,006$) a v případě stadia 3 u MIP-1 α ($p = 0,0002$). Při použití International Staging System (ISS) byly přítomny statisticky významné rozdíly mezi MGNV a všemi stadii MM (1–3) v případě albuminu a OPN ($p = 0,003$, resp. $0,001$, resp. $0,0001$), oproti stadiím 2 a 3 v případě β_2 -M a ES ($p = 0,015$ a resp. $0,00009$), proti stadiu 2 v případě ANG ($p = 0,014$) a se stadiem 3 v případě MIP-1 α ($p = 0,00001$). Statisticky významná rozdílnost mezi MGNV a iniciální, asymptomatickou fází MM (stadium 1 dle D-S) bylo zjištěno jen v případě bALP ($p = 0,01$) a při použití ISS i v případě albuminu ($p = 0,004$) a OPN ($p = 0,003$). Postižení renální funkce (podstadium B dle D-S) se vyznačovalo oproti MGNV signifikantní elevací sérové hladiny β_2 -M ($p < 0,0001$), OC ($p = 0,011$), IGF-1 ($p = 0,014$), OPN ($p = 0,003$), ES ($p = 0,0001$), MIP-1 α ($p = 0,0004$) a ANG ($p = 0,005$), zatímco vůči podstadiu A pouze v případě albuminu ($p < 0,0001$), β_2 -M ($p < 0,0001$) a OPN ($p < 0,0001$). Závěr: Z analyzovaných ukazatelů prokázal použitelný, i když nespecifický diskriminační potenciál mezi MGNV a všemi stadii MM dle ISS pouze albumin a OPN, se stadii 2 a 3 (ISS) β_2 -M a ES, ostatní parametry se lišily pouze v případě stadia 2 (ANG), stadia 3 (MIP-1 α) a při použití stratifikace dle D-S oproti stadiu 1 (bALP), stadiu 2 (OC) a stadiu 3 (MIP-1 α).

Klíčová slova: monoklonální gamapatie nejistého významu – mnohočetný myelom – klinická stadia – biochemické ukazatele – biologické působky – osteopontin

Úvod

Přes pokroky, kterých bylo dosaženo v posledních několika letech u monoklonálních gamapatií (MG), zůstává v této problematice stále mnoho nejasného, což omezuje preciznost diagnostiky a zužuje prostor pro nové, účinnější možnosti léčby. I v koncepci „multistep“ etiopatogeneze mnohočetného myelomu (MM), zahrnující postupné změny od normální plazmatické buňky přes monoklonální gamapatii nejistého významu (MGNV) k plně rozvinuté, symptomatické formě MM [1,2]

zůstává i nadále mnoho nevyjasněných otázek. I současná, International Myeloma Working Group (IMWG) diagnostická kritéria [3], používaná k odlišení MGNV od MM, nejsou dokonalá, neboť opomíjejí již všeobecně známé vnitřní biologické vlastnosti plazmatických buněk a faktory mikroprostředí kostní dřeně, a snad právě proto selhávají v řešení hraničních situací a stavů. Je tedy zcela legitimní snaha o nalezení ukazatelů, jež by zpřesnily možnosti odlišení MGNV od iniciální, asymptomatické fáze MM

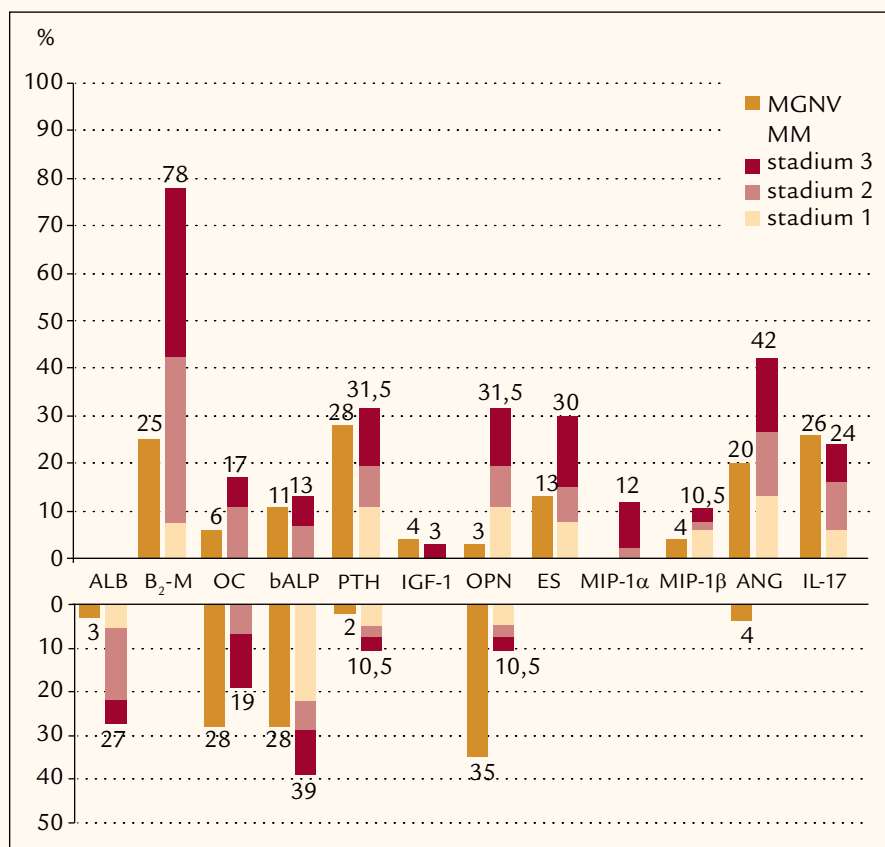
i včasný záchyt nástupu maligní transformace MGNV.

Náplní předloženého sdělení bylo doplnění předchozích vlastních studií, věnovaných problematice angiogeninových cytokinů, markerů kostního obratu, cytoadhezivních molekul a dalších působků s intimním vztahem k patobiologii MGNV a MM [4–6] o ukazatele, které se vyznačující známostí nebo potenciální rozdílností ve stupni exprese a/nebo výši sérových hladin u MGNV a v různých fázích pokročilosti MM. Na rozdíl od předchozí

Contribution to the evaluation of serum levels of selected biological parameters in monoclonal gammopathy of undetermined significance and in individual clinical stages of multiple myeloma

Summary: *Introduction:* This study aimed to measure serum levels of 12 selected parameters in patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and initial, asymptomatic phase of multiple myeloma (MM) to assess their potential benefit in differentiating both conditions. *Patient sample and methodology:* The analysed sample of 131 patients consisted of 62 patients with MGUS and 69 patients with MM fulfilling the criteria of the International Myeloma Working Group (IMWG). The following techniques were used to assess serum levels: quantitative immunoradiometry (bone-type alkaline phosphatase – bALP and insulin-like growth factor-1 – IGF-1), chemiluminescent enzyme immunochemical reaction (parathormone – PTH), quantitative sandwich enzyme immunoassay (osteopontin – OPN, endostatin (ES), macrophage inflammatory protein-1 α/β – MIP-1 α/β , angiogenin – ANG a IL-17). Pearson χ^2 test and Mann-Whitney U-test were applied during the statistical analysis. *Results:* The analysis showed statistically significant differences in serum concentrations between MGUS and symptomatic form of MM (Durie-Salmon (D-S) stage 2–3) for: albumin, β_2 -microglobulin (β_2 -M) and OPN ($p = 0.0001$ and < 0.0001); osteocalcin for stage 2 ($p = 0.006$) and MIP-1 α for stage 3 patients ($p = 0.0002$). Using the International Staging System (ISS), statistically significant differences between MGUS and all stages of MM (1–3) were identified for albumin and OPN ($p = 0.003$ and 0.001 and 0.00009 , respectively), stages 2 and 3 for β_2 -M and ES ($p = 0.015$ and 0.0001 , respectively), stage 2 for ANG ($p = 0.014$) and stage 3 for MIP-1 α ($p = 0.00001$). Statistically significant differences between MGUS and initial, asymptomatic phase of MM (D-S stage 1) was found only for bALP ($p = 0.01$) and for albumin ($p = 0.004$) and OPN ($p = 0.003$) when ISS was applied. Renal function impairment (D-S substage B) showed in comparison to MGUS significant elevation of serum levels of β_2 -M ($p < 0.0001$), OC ($p = 0.011$), IGF-1 ($p = 0.014$), OPN ($p = 0.003$), ES ($p = 0.0001$), MIP-1 α ($p = 0.0004$) and ANG ($p = 0.005$) and for albumin ($p < 0.0001$), β_2 -M ($p < 0.0001$) and OPN ($p < 0.0001$) only when compared to substage A. *Conclusion:* Only albumin and OPN showed useful even though non-specific potential to differentiate MGUS from all ISS stages of MM, β_2 -M and ES for ISS stages 2 and 3, the other parameters differed for stage 2 (ANG), stage 3 (MIP-1 α) only and stage 1 (bALP), stage 2 (OC) and stage 3 (MIP-1 α) when D-S stratification was applied.

Key words: monoclonal gammopathy of undetermined significance – multiple myeloma – clinical stages – biochemical markers – endogenous factors – osteopontin



Graf 1. Grafické srovnání četnosti výskytu zvýšených hodnot analyzovaných biologických působků u jedinců s monoklonální gamapatií nejistého významu (MGNV) a jedinců v různých klinických stádiích mnohočetného myelomu (MM) vyhodnocených dle Durieho-Salmona (D-S) při diagnóze před zahájením léčby.

Alb – albumin, β_2 -M – β_2 -mikroglobulin, OC – osteokalcin, bALP – kostní forma alkalické fosfatázy, PTH – parathormon, IGF-1 – inzulinu podobný růstový faktor-1, OPN – osteopontin, ES – endostatin, MIP-1 α – makrofágový zánětlivý faktor-1 α , ANG – angiogenin, IL-17 – interleukin 17

studie [4] se nynější analýza zaměřila na vyhodnocení rozdílů sérových koncentrací osteokalcinu (OC), kostní formy alkalické fosfatázy (bALP), parathormonu (PTH), inzulinu podobnému růstovému faktoru-1 (IGF-1), osteopontinu (OPN), endostatinu (ES), zánětlivému makrofágovému faktoru-1 α (MIP-1 α), MIP-1 β , angiogeninu (ANG) a interleukinu-17 (IL-17), z klasických faktorů byla pro úplnost pohledu přiřazena analýza sérové hladiny albuminu a β_2 -mikroglobulinu (β_2 -M). S ohledem na řešení potenciální možnosti praktického využití byly vyhodnoceny hladiny analyzovaných působků u MGNV a v jednotlivých stádiích pokročilosti nemoci (stadium 1–3) vyhodnocených podle Durieho-Salmona (D-S) [7] a International Staging System (ISS) [8].

Soubor nemocných a použité metody

Analýzovanou sestavu 138 nemocných tvořilo 62 jedinců s MGNV a 69 nemocných s MM splňujících IMWG diagnostická kritéria, nemocní s MM byli vyšetřeni při diagnóze před zahájením indukční terapie [3,9]. Z původní sestavy byla v rámci snahy o nezkrácenou analýzu vyřazena skupina

Tab. 1. Srovnání sérových hladin vybraných biologických působků mezi jedinci s MGNV a klinickými stadii MM vyhodnocenými podle Durieho-Salmona [7].

MM (D-S)		Albumin (g/l)	β_2 -M (mg/l)	OC (ng/ml)	bALP (μ g/l)	PTH (ng/l)	IGF-1 (ng/ml)
stadium 1	n	6	5	5	5	5	5
	medián	43	1,9	18,9	4,4	69	120
	(rozmezí)	(42–44)	(1,7–4,1)	(14,5–29,4)	(2–7,9)	(47–78)	(97–218)
stadium 2	n	26	26	21	20	21	20
	medián	38,6	3,5	34	9,8	49	147
	(rozmezí)	(29–50)	(1,8–9,3)	(9,6–105,5)	(0,2–20,3)	(3–94)	(78–204)
stadium 3	n	37	37	32	29	32	30
	medián	36,5	5,2	20,3	8,3	50	144,5
	(rozmezí)	(27–49)	(1,8–19,6)	(7–128,9)	(2–30)	(3–1 657)	(17–284)
MGNV	n	62	60	15	53	54	53
	medián	44,5	2	19,9	9,9	52	131
	(rozmezí)	(31,9–50,2)	(1,2–11,7)	(4–49,9)	(2–23,3)	(3–146)	(25–305)
statist. význ.							
MGNV vs	stadium 1	NS	NS	NS	0,01	NS	NS
MGNV vs	stadium 2	0,0003	< 0,0001	0,006	NS	NS	NS
MGNV vs	stadium 3	< 0,0001	< 0,0001	NS	NS	NS	NS

MM (D-S)		OPN (ng/ml)	ES (ng/ml)	MIP-1 α (pg/ml)	MIP-1 β (pg/ml)	ANG (pg/ml)	IL-17 (pg/ml)
stadium 1	n	6	5	5	5	5	5
	medián	65,6	151,9	10	115,9	369 034	15
	(rozmezí)	(35,7–183)	(101,1–271,6)	(10–11,5)	(34–539)	(275 338 až 451 540)	(15–50)
stadium 2	n	25	20	21	20	19	21
	medián	103	181,2	10,9	80,4	381 600	15
	(rozmezí)	(26,7–500)	(86,1–332,9)	(10–1 500)	(11–750,7)	(195 140 až 648 494)	(15–105)
stadium 3	n	34	31	30	30	29	31
	medián	162,5	197,4	20,1	82,2	405 600	15
	(rozmezí)	(3–500)	(73,5–500)	(10–155,3)	(11–257,4)	(190 852 až 800 000)	(15–101)
MGNV	n	61	55	54	55	55	54
	medián	56,5	154,4	10	86,9	348 160	15
	(rozmezí)	(10,5–288)	(70,9–328,4)	(10–37,4)	(11–354)	(121 980 až 682 668)	(15–106)
statist. význ.							
MGNV vs	stadium 1	NS	NS	NS	NS	NS	NS
MGNV vs	stadium 2	0,0001	NS	NS	NS	NS	NS
MGNV vs	stadium 3	< 0,0001	NS	0,0002	NS	NS	NS

D-S – stážovací systém dle Durieho-Salmona, β_2 -M – β_2 -mikroglobulin, OC – osteokalcin, bALP – kostní forma alkalické fosfatázy, PTH – parathormon, IGF-1 – inzulínu podobný růstový faktor-1, OPN – osteopontin, ES – endostatin, MIP-1 α / β – makrofágový zá-
nětlivý faktor – 1 α / β , ANG – angiogenin, IL-17 – interleukin 17, NS – nesignifikanční vztah

7 nemocných, u nichž nebylo možno s pomocí stávajících kritérií jednoznačně zařazení mezi jedince s MGNV v transformaci nebo již v symptomatické fázi MM (stadium 1). Věkový medián souboru MGNV byl 67 (31–84) let, poměr muži/žena (M/Ž) byl 0,55, imunochemický typ IgG byl zastoupen v 74% (n = 46), IgA ve 13% (n = 8), IgM

v 10% (n = 6), IgD v 1,5% (n = 1), bi-
klonální v 1,5% (n = 1), poměr κ / λ byl 1,3. V souboru nemocných s MM byl věkový medián 68 (32–86) let a poměr M/Ž byl 1,1, IgG imunochemický typ byl zastoupen v 60% (n = 41), IgA v 17% (n = 12), B- λ typ v 17% (n = 12), IgD v 1,5% (n = 1), biklonální v 1,5% (n = 1) a nesekreční ve 3% (n = 2),

poměr κ / λ byl 2,2. Při hodnocení stupně pokročilosti nemoci s pomocí stážovacího systému dle D-S [7] bylo stadium 1 zastoupeno v 9% (n = 6), stadium 2 ve 37% (n = 26), stadium 3 v 54% (n = 37), podstadium A v 84% (n = 58) a podstadium B v 16% (n = 11). Při použití ISS (8) bylo stadium 1 zastoupeno ve 36% (n = 25),

Tab. 2. Srovnání sérových hladin vybraných biologických působků mezi jedinci s MGNV a substadií A vs B vyhodnocených podle Durieho-Salmona [7].

MM (D-S)		Albumin (g/l)	β_2 -M (mg/l)	OC (ng/ml)	bALP (μ g/l)	PTH (ng/l)	IGF-1 (ng/ml)
podstadium A	n	58	57	48	46	48	46
	medián	38,3	3,8	23,1	8,3	52,5	129
	(rozmezí)	(27–50)	(1,7–11,1)	(7–128,9)	(0,2–30)	(3–1 657)	(17–284)
podstadium B	n	11	11	10	8	10	9
	medián	40,8	9,3	37,8	8,7	33,5	176
	(rozmezí)	(29–49)	(3,1–19,6)	(12–105,5)	(4,5–28,9)	(3–247)	(110–201)
MGNV	n	62	60	15	53	54	53
	medián	44,5	2	19,9	9,9	52	131
	(rozmezí)	(31,9–50,2)	(1,2–11,7)	(4–49,9)	(2–131)	(3–146)	(25–305)
Statist. význ.							
MGNV vs	podstadium A	< 0,0001	< 0,0001	NS	NS	NS	NS
MGNV vs	podstadium B	NS	< 0,0001	0,011	NS	NS	0,014

MM (D-S)		OPN (ng/ml)	ES (ng/ml)	MIP-1 α (pg/ml)	MIP-1 β (pg/ml)	ANG (pg/ml)	IL-17 (pg/ml)
podstadium A	n	56	47	47	47	45	48
	medián	120	165,8	11,5	86,5	376 560	15
	(rozmezí)	(3–500)	(73,5–500)	(10–1 500)	(11–750,7)	(190 852 až 800 000)	(15–105)
podstadium B	n	9	9	9	8	8	9
	medián	289,2	315,6	22,9	66,7	459 832	27
	(rozmezí)	(39,7–500)	(189,6–397,6)	(10–155,3)	(32,8–257,4)	(368 920 až 632 200)	15–93
MGNV	n	61	55	54	55	55	54
	medián	56,5	154,4	10	86,9	348 160	15
	(rozmezí)	(10,5–288)	(70,9–328,4)	(10–37,4)	11–354	(121 980 až 682 668)	(15–106)
Statist. význ.							
MGNV vs	podstadium A	< 0,0001	NS	NS	NS	NS	NS
MGNV vs	podstadium B	0,003	0,0001	0,0004	NS	0,005	NS

D-S – stážovací systém dle Durieho-Salmona, β_2 -M – β_2 -mikroglobulin, OC – osteokalcin, bALP – kostní forma alkalické fosfatázy, PTH – parathormon, IGF-1 – inzulinu podobný růstový faktor-1, OPN – osteopontin, ES – endostatin, MIP-1 α / β – makrofágový zánětlivý faktor – 1 α / β , ANG – angiogenin, IL-17 – interleukin 17, NS – nesignifikantní vztah

stadium 2 ve 33% (n = 23) a stadium 3 ve 31% (n = 21).

Hladina albuminu séra byla vyšetřena s pomocí gelové elektroforézy (35–50 g/l), k vyšetření hladiny β_2 -M (0,1–2,5 mg/l) byla použita metoda Immulite 1000 Siemens Medical Solutions Diagnostic. K vyšetření sérové hladiny osteokalcinu (OC > 50 let 14–46 ng/ml) byl použit diagnostický kit Cobas 6000, Roche Diagnostic, hladina kostní formy alkalické fosfatázy byla vyšetřena s pomocí kvantitativní imunoradiometrie soupravou Immunotech, Beckman Coulter Company (bALP, muži 7,3–15,9 μ g/l, ženy 7,8–17,2 μ g/l), sérová hladina parat-

hormonu (PTH, 10–69 ng/ml) byla stanovena oboustrannou chemiluminiscenční enzymovou imunochemickou reakcí na analyzátoru IMMULITE 2000, soupravou Siemens, k vyšetření hladiny inzulinu podobnému růstovému faktoru-1 (IGF-1, < 269 ng/ml) bylo použito imunoradiometrické stanovení kitem Immunotech, Praha. Analýza sérové hladiny osteopontinu (OPN, 49,2–175,0 ng/ml), endostatinu (ES, 58–232 ng/ml), makrofágového zánětlivého faktoru-1 α (MIF-1 α , < 46,9 pg/ml), MIP-1 β (< 212 pg/ml), angiogeninu (ANG, 196 000/437 000 pg/ml) a interleukinu-17 (IL-17, < 31,2 pg/ml) byla

provedena technikou kvantitativní sendvičové enzymatické imunoeseje, kity Quantikine R&D Systems, Minneapolis, USA. Veškerá měření byla prováděna dle doporučení výrobce, duplikátním způsobem a byla reprodukovatelná. Ke statistickému vyhodnocení byl použit Pearsonův χ^2 test a neparametrický pořadový U-test dle Manna-Whitneye, případně Studentův dvouvýběrový t-test na hranici významnosti p < 0,05.

Výsledky

Z analýzy vyplynulo, že jedinci s MGNV se vyznačují ve srovnání s nemocnými s čerstvě stanovenou diagnózou MM

tendencí k normálním, případně i sníženým hodnotám vyšetřených parametrů. Frekvence výskytu odchylných, vesměs zvýšených hodnot vůči normálnímu rozmezí v souboru 62 jedinců s MGNV a 69 jedinců s MM vyplývá z grafu 1. Jak patrně, žádný z analyzovaných ukazatelů neumožňuje z hlediska pouhé přítomnosti abnormální hodnoty odlišení mezi MGNV a iniciální/asymptomatickou fází MM (stadium 1 dle D-S), a to ani u tak široce používaných ukazatelů, jakými jsou albumin a β_2 -M, na nichž je založen ISS stážovací systém [8]. Hlubší analýza sérových hladin působků majících vztah k intenzitě kostního obratu ukázala, že jak u MGNV, tak i u MM se vyskytují situace se subnormální, ale i zvýšenou hladinou markerů osteoformace (OC a bALP). Ukázalo se, že v případě MGNV mělo 28 % jedinců hodnotu OC pod dolní hranici normálního rozmezí, zatímco žádný pacient s MM ve stadiu 1 (D-S), avšak 19 % nemocných se symptomatickou formou MM (ve 2. stadiu 15 % a ve 3. stadiu 25 %). Zvýšenou hodnotu OC mělo jen 6 % jedinců s MGNV, ale 17 % s MM (ve stadiu 1 žádný nemocný, ve stadiu 2 25 % a ve stadiu 3 13 % nemocných). Méně rozdílně se chovala hladina bALP, kdy subnormální sérovou hodnotu mělo u MGNV 28 % jedinců, zatímco u MM 39 %, zatímco výskyt zvýšené hodnoty se u MGNV a MM prakticky nelišil (11 % vs 13 %). Je zajímavé, že zvýšení bALP nebylo zaznamenáno u žádného pacienta v 1. stadiu MM (D-S), zatímco sníženou hodnotu měli 4 z 5 nemocných. Sérové hladiny PTH byly zvýšeny obdobně u MGNV a u MM (28 % a 31,5 %), snížení hladin pod normální rozmezí bylo častěji zaznamenáno u MM nežli u MGNV (10,5 % vs 2 %). V souboru MGNV byla zaznamenána snížená hladina OSP u 35 % jedinců, zatímco elevace pouze ve 3 %, což je výrazně odlišné od nemocných s MM, u nichž bylo snížení zaznamenáno jen u 10,5 % (ve stadiu 1 ve 34 %, ve stadiu 2 u 17 % a ve stadiu 3 v 15 %), zatímco zvýšení sérových hladin u MM ve

31,5 % (stadium 1 v 16 %, stadium 2 ve 25 % a stadium 3 ve 49 %). Při hodnocení působků majících přednostní vztah k angiogenezi byl v souboru jedinců s MGNV zaznamenán nižší výskyt zvýšené hladiny ES (13 %) nežli v souboru s MM (30 %; stadium 1 dle D-S ve 20 %, stadium 2 ve 21 % a stadium 3 v 37,5 %). Sérová hladina ANG byla zvýšená u MGNV u 20 % jedinců, snižena ve 4 %, zatímco u MM byly zjištěny zvýšené hodnoty u 42 % pacientů (ve stadiu 1 dle D-S u 40 %, ve stadiu 2 u 39 % a ve stadiu 3 u 49 %). Jak vyplývá z grafu 1, frekvence zvýšených sérových hladin IGF-1, MIP-1 α , MIP-1 β a IL-17 byla vesměs nízká a v souborech MGNV a MM se podstatně nelišila.

Při statistické analýze, zaměřené na srovnání naměřených hodnot u MGNV s hodnotami u MM, byly zjištěny pouze u některých parametrů narůstající rozdíly související se stupněm pokročilosti nemoci (stadium 1–3). Při použití klinického stážovacího systému dle D-S [7] byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi MGNV a stadii 1 pouze v případě hladiny bALP, ostatní parametry se v této asymptomatické fázi MM od MGNV neodlišovaly. Při srovnání MGNV se stadiem 2 byl zjištěn statisticky vysoce významný rozdíl v případě sérové koncentrace albuminu, β_2 -M, OC a OPN, při porovnání se stadiem 3 s hladinami albuminu, β_2 -M, OPN a MIP-1 α , zatímco v případě sérových koncentrací PTH, IGF-1, ES, MIP-1 β , ANG a IL-17 nebyly jakékoliv rozdíly zjištěny (tab. 1). Při porovnání podstadií A (bez poruchy renální funkce) a B (hladina S-kreatininu > 170 μ mol/l) oproti MGNV bylo zjištěno, že nemocní v podstadiu A se statisticky významně lišily pouze nižší hodnotou albuminu séra a vyšší hodnotou β_2 -M a OPN (tab. 2). Podstatně častější rozdílnost byla zaznamenána u podstadií B, kde statisticky významné rozdíly byly zjištěny navíc i v případě sérových hladin OC, IGF-1, ES, MIP-1 α a ANG, zatímco v případě albuminu, bALP, PTH, MIP-1 β a IL-17 nebyla významná odlišnost vyjádřena (tab. 2). Nutno vzít ale

v potaz, že početní zastoupení nemocných ve stadiu 1 (D-S) bylo velmi nízké, a výsledky statistické analýzy je nutno proto přijímat značně obezřetně.

Analýza vycházející z prognostické stratifikace MM podle ISS [8] prokázala při srovnání MGNV se stadiem 1 MM statisticky významně nižší hladinu albuminu v séru a vyšší hladinu pouze v případě OPN. Ve stadiu 2 byla zaznamenána rozdílnost vedle odchylné hladiny albuminu, β_2 -M a OPN i v případě ES a ANG. Při porovnání MGNV se stadiem 3 MM byla zaznamenána rozdílnost sérových koncentrací v případě albuminu, β_2 -M, OPN, ES a MIP-1 α (tab. 3). Žádný statisticky významný rozdíl nebyl zjištěn při porovnání MGNV se stadii 1–3 MM (ISS) v případě sérových hladin OC, bALP, PTH, IGF-1, MIP-1 β a IL-17.

Podrobnější rozbor ukázal, že v případě sérové hladiny OC > 49,9 ng/ml, OPN > 288 ng/ml a ES > 328 ng/ml je nutno pomýšlet s vysokou naléhavostí na MM, neboť hodnoty nad tuto mez nebyly v námi analyzovaném souboru s MGNV zachyceny (tab. 1–3). Uvedený závěr se ale týká poměrně nízkého počtu jedinců s MM (v případě OC 13 %, u OPN 16 % a u ES 11 % nemocných s MM).

Diskuze

Je všeobecně známo, že pro spolehlivé odlišení MGNV od MM není v klinické praxi k dispozici stále žádný, jednoznačně platný a všeobecně dostupný ukazatel, který by oba typy MG s tak diametrálně odlišnou prognózou a přístupem k léčbě spolehlivě odlišil [6,10]. Zatímco MGNV je pouze potenciálně maligní, diskrétní klonální expanze plazmocelulárních elementů vyznačující se stabilitou a klinicky bezpříznakovým průběhem nevyžadujícím aktivní léčbu, je MM i v současnosti vesměs progresivním, stále nevyléčitelným onemocněním, a to i přes významné pokroky v transplantační léčbě a zejména v moderní chemo-imunoterapii. V patobiologii MM hraje stěžejní roli nukleární faktor κ B (NF- κ B) podíle-

Tab. 3. Srovnání sérových hladin vybraných biologických působků mezi jedinci s MGNV a klinickými stadii MM vyhodnocenými podle International Staging System [8].

MM (ISS)		Albumin (g/l)	β_2 -M (mg/l)	OC (ng/ml)	bALP (μ g/l)	PTH (ng/l)	IGF-1 (ng/ml)
stadium 1	n	25	24	22	22	22	22
	medián	41,9	2,4	24,8	8,5	61	137,5
	(rozmezí)	(35–50)	(1,7–4,1)	(8,3–88,9)	(0,2–20,3)	(4–1 657)	(78–218)
stadium 2	n	23	23	18	17	18	17
	medián	36,5	4,3	191	8,1	42	129
	(rozmezí)	(27–49)	(2,5–8,2)	(9,6–86,6)	(2–28,9)	(5–115)	(81–201)
stadium 3	n	21	21	18	15	18	16
	medián	37,7	8,1	32,1	9,3	30,5	149
	(rozmezí)	(27–49)	(5,6–19,6)	(7–128,9)	(4,5–30)	(3–247)	(17–284)
MGNV	n	62	60	15	53	54	53
	medián	44,5	2	19,9	9,9	52	131
	(rozmezí)	(31,9–50,2)	(1,2–11,7)	(4–49,9)	(2–131)	(3–146)	(25–305)
Statist. význ.							
MGNV vs	stadium 1	0,004	NS	NS	NS	NS	NS
MGNV vs	stadium 2	< 0,0001	< 0,0001	NS	NS	NS	NS
MGNV vs	stadium 3	0,0002	< 0,0001	NS	NS	NS	NS

MM (ISS)		OPN (ng/ml)	ES (ng/ml)	MIP-1 α (pg/ml)	MIP-1 β (pg/ml)	ANG (pg/ml)	IL-17 (pg/ml)
stadium 1	n	25	22	22	22	21	22
	medián	95,5	145,4	10	90,6	347 584	15
	(rozmezí)	(26,7–500)	(73,5–271,6)	(10–25,5)	(34–539)	(190 852 až 524 816)	(15–105)
stadium 2	n	22	17	18	17	17	18
	medián	120	218,3	15,3	58,4	406 094	15
	(rozmezí)	(3–406,4)	(97,2–500)	(10–105,4)	(11–257,4)	(238 218 až 800 000)	(15–93)
stadium 3	n	18	17	16	16	15	17
	medián	185,6	249,6	24,8	72,4	427 186	15
	(rozmezí)	(45,7–500)	(125,1–397,5)	(10–1 500)	(32,8–750,7)	(243 400 až 632 200)	(15–15)
MGNV	n	61	55	54	55	55	54
	medián	56,5	154,4	10	86,9	348 160	15
	(rozmezí)	(10,5–288)	(70,9–328,4)	(10–37,4)	(11–354)	(121 980 až 682 668)	(15–106)
Statist. význ.							
MGNV vs	stadium 1	0,003	NS	NS	NS	NS	NS
MGNV vs	stadium 2	0,001	0,015	NS	NS	0,014	NS
MGNV vs	stadium 3	< 0,0001	0,00009	0,00001	NS	NS	NS

D-S – stážovací systém dle Durieho–Salmona, β_2 -M – β_2 -mikroglobulin, OC – osteokalcin, bALP – kostní forma alkalické fosfatázy, PTH – parathormon, IGF-1 – inzulinu podobný růstový faktor-1, OPN – osteopontin, ES – endostatin, MIP-1 α / β – makrofágový zá-
nětlivý faktor – 1 α / β , ANG – angiogenin, IL-17 – interleukin 17, NS – nesignifikantní vztah

jící se na výsledném poměru osteoklas-
tické kostní resorpce a osteoblastické
kostní formace i intenzitě neoangioge-
neze, tj. procesů, které mají daleko-
sáhlý dopad na průběh, klinický obraz
a prognózu MM [11,12]. Mezi použi-
vané, i když nepřilíš spolehlivé předpo-
vědní faktory přechodu MGNV v MM
patří vedle vysoké hodnoty M-pro-

teinu v séru a/nebo v moči snížená hla-
dina normálních imunoglobulinů, po-
kles hodnoty hemoglobinu, nárůst
počtu a morfologické atypie plazmo-
cytů v kostní dřeni (KD), výskyt cirku-
lujících monoklonálních plazmocytů
v obvodové krvi, abnormální imuno-
fenotyp plazmocytů, zvýšená prolife-
rační, případně i snížená apoptotická

aktivita plazmocytů, nález vysoce pa-
tologického poměru volných lehkých
řetězců κ/λ v séru a zejména známky
zvýšené kostní remodelace dokumen-
tované vzestupem ukazatelů kost-
ního obratu nebo patologickým nále-
zem při použití celotělové formy MRI
a/nebo ^{18}F -FDG-PET/CT [10]. Mo-
lekulární mechanismy, uplatňující se

v transformaci MGNV v MM zůstávají stále přes dílčí pokroky do značné míry neobjasněny, takže klinická praxe je i v současnosti v podstatě odkázána na dlouhodobé monitorování změny klinicko-laboratorního obrazu [1,9,10].

Přestože sérové hodnoty albuminu a β_2 -M jsou u MM vysoce významnými faktory, které byly na podkladě multivariační analýzy více než 11tisícového souboru nemocných s MM vybrány za ukazatele, na nichž je založen v současnosti již nejpoužívanější, ISS stážovací systém u MM, vypovídají především o stupni pokročilosti a prognóze MM nežli o rozdílnosti MGNV a MM [3]. I z naší analýzy vyznělo, že jak z hlediska výskytu patologických hodnot, tak i na podkladě výsledku statistické analýzy nepřispívá hodnocení sérových hladin albuminu a β_2 -M k použitelnému rozlišení MGNV od asymptomatické fáze (stadium 1 dle D-S) MM.

Vyšetřování sérových hladin OC u MM se doposud setkala s rozporuplnými výsledky. Je známo, že snížení funkce osteoblastů (OBL) je u MM ve srovnání s MGNV a zdravými jedinci provázena poklesem OC [13,14], takže hladina OC je považována za předpovědní faktor kostního obratu [15]. Hladina OC koreluje s histomorfometricky prokázaným paralelním zvýšením resorpčních a osteoidních povrchů u MM ve stadiu 1 [16]. Bylo rovněž zjištěno, že hodnoty OC jsou ve stadiích 1 a 2 oproti stadiu 3 zvýšené [17] a koncentrace OC korelují s postižením skeletu citlivěji nežli vyšetření konvenční radiografií [18]. Nebyl shledán význam OC pro hodnocení progresu a výskytu kostních zlomenin [13,14], zatímco však jiné studie v rámci nárůstu osteolytických lézí vzestup koncentrace OC v séru zaznamenaly [19]. Bylo zjištěno, že nemocní s osteoporózou mají obdobný medián hladiny OC jako jedinci s MGNV a MM [20]. Osteokalcin není vzhledem k pozdnímu snížení kostní novotvorby u MM vhodným markerem v odlišení MM od MGNV, neboť hodnoty OC v séru jsou u pacientů ve stadiu 1 MM obdobné

jako u MGNV [21]. I z naší studie vyplynulo, že v hladinách OC nebyl mezi MGNV a stadiem 1 (D-S) statisticky významný rozdíl, byla však odhalena statisticky významná rozdílnost oproti stadiu 2 a podstadiu B (D-S). Zajímavým nálezem je častější snížení hodnoty OC jedinců s MGNV oproti nemocným s MM (28% vs 19%). I námi ověřená nespolehlivost praktického využívání OC u MM zřejmě vyplývá z ložiskového charakteru MM, kdy normální novotvorba kosti může pokračovat v nepostižených oblastech a/nebo skutečností, že případné mikrofraktury skeletu jsou doprovázeny lokální stimulací osteoblastické funkce [22]. Osteokalcin produkují nejen OBL, ale je uvolňován rovněž při mineralizaci kostní matrix, avšak jeho sérová hodnota je zvýšena i při poruše funkce ledvin, a to již při nevelkém snížení glomerulární filtrace, což bylo patrné i v našem souboru [22]. Všeobecně je ale přijímán názor, že OC je u MM s pokročilou formou nemoci snížen v důsledku potlačení kostní novotvorby, zatímco v iniciační fázi nemoci s mírným nebo chybějícím postižením skeletu jsou hodnoty OC normální, nebo dokonce zvýšené [14,19,20,23,24].

Hladina bALP je u MM často snížena s výjimkou hojení kosti v důsledku kostních fraktur, neboť jeho hladina je výrazem osteoblastické kostní formace [24]. Stejně jako OC, tak i bALP není vhodným ukazatelem pro odlišování MGNV od MM, poněvadž k jeho alteraci dochází u MM pozdě, a to formou poklesu v rámci pokročilé myelomové kostní nemoci (MKN) [21]. Hladina bALP byla shledána u MGNV vyšší nežli u MM [13], bALP rovněž významně koreloval s přítomností kostní bolesti, rozsahem osteolytických lézí a zlomeninami skeletu [14]. V souladu se závěry ojedinelých předchozích studií byl i v naší analýze zaznamenán statisticky významný rozdíl ve stupni poklesu hladiny bALP ve stadiu 1 MM oproti MGNV, kdy medián jeho hodnoty byl prakticky poloviční (4,4 ng/ml vs 9,9 ng/ml), což

ale platilo pouze pro stážování dle D-S, nikoliv ISS. V souladu s předchozími studiemi jsme rovněž zaznamenali častější pokles bALP u MM nežli u MGNV [13,22], což naznačuje určitý potenciál bALP v odlišení MGNV od velmi časně, asymptomatické fáze MM [22]. Poměrně častý vzestup bALP v naší studii, a to zejména ve stadiích 2 a 3 (dle D-S), lze vysvětlit možným zvýšením osteoblastické aktivity v rámci hojení kostních fraktur v rámci pokročilé MKN. Analýze chování sérových hladin PTH nebyla u MM věnována soustavnější pozornost. Je ale známo, že v případě hyperkalcemie dochází k poklesu hodnoty PTH, k jeho vzestupu naopak v případě hypokalcemie navozené terapií bisfosfonáty [25]. V případě dlouhodobé terapie bisfosfonáty dochází k lehkému vzestupu hladin PTH. V naší studii byl medián sérové hladiny PTH v iniciační fázi MM (ve stadiu 1 dle D-S i ISS) nevýznamně vyšší nežli ve stadiu 2 a stadiu 3 a velmi obdobný hladinám u MGNV, a to i z hlediska frekvence výskytu zvýšené i snížené hodnoty. Vyšetřování sérové hladiny PTH tedy nemá kromě speciálních situací, např. podezření na současnou primární hyperparatyreózu, u MM význam.

IGF-1 je parakrinní růstový faktor myelomových buněk indukující jejich proliferaci, inhibici apoptózy, invazi a migraci, případně i lékovou rezistenci, podílí se i na ovlivnění afinity myelomových plazmocytů ke kostní dřeni [26,27]. Interakce IGF-1/IGF-1R hraje důležitou úlohu v patogenezi MM a účinek IGF-1 je stejně jako účinek IL-6 zprostředkován aktivací ras-MAPK a P13K/Akt-1 signální kaskády se setrvalou aktivací NF- κ B [27]. Imunohistochemická analýza prokázala aktivaci AKT-kinázy v plazmatických buňkách u MM, nikoliv u MGNV [28]. V předchozí studii bylo prokázáno významné snížení IGF-1 v séru u MM a MGNV oproti zdravým jedincům, přičemž nemocní s MM měli podstatně nižší hladiny nežli jedinci s MGNV [29]. Do tohoto pilotního zjištění zapadá i námi

pozorované pouze sporadické zvýšení sérové hladiny IGF-1 u MGNV a u MM i chybějící rozdílnost úrovně sérových hladin v jednotlivých stadiích pokročilosti MM. Nutno ale upozornit na vyšší, vůči nálezů u MGNV statisticky odlišnou hladinu IGF-1 u nemocných v podstadiu B (s poruchou funkce ledvin) patrné v našem souboru. Je zřejmé, že vyšetřování sérových hladin IGF-1 není pro klinickou praxi přínosné, což je vysvětlitelné známým nesouladem mezi sérovou hladinou a stupněm exprese na myelomových plazmocyttech u řady působků.

Osteopontin, tento fosfoglykoprotein chovající se jako multifunkční cytokin, se vyznačuje širokou škálou biologických účinků, včetně zásahu do angiogeneze, imunitních funkcí, kostní homeostázy a progresu MM. Je exprimován a secernován myelomovými buňkami, osteoklasty, osteoblasty a dalšími elementy kostní matrix i mikroprostředí KD [30,31], přičemž sekrece OPN koreluje s intenzitou exprese *maf* transkripčních faktorů [30]. Uplatňuje se v procesu adheze, chemotaxe, migrace, růstu a inhibice apoptózy nádorových buněk, byla popsána i jeho úloha v regulaci signálních buněčných drah v rámci neoplastické transformace a jako mediátoru nádorové progresu [32]. OPN je zapojen do procesu osteoklastogeneze a osteoklastické resorpce, podílí se na zvýšené expresi MMP-9 (matrixové metaloproteinázy-9) v neoplastických elementech, které mají úzký vztah k nádorové progresu [32]. Při analýze angiogenního potenciálu myelomových buněk byl zjištěn vztah exprese OPN k aktivaci NF- κ B [33], OPN spolu s IL-6 hraje stěžejní úlohu v růstu a přežití myelomových buněk a v rozvoji MKN [30]. Imunocytochemická analýza prokázala výraznou pozitivitu OPN v plazmocyttech u rozvinuté formy MM, nikoliv ale u MGNV. Kultury plazmocytů nemocných s pokročilou formou MM produkovaly více OPN nežli kultury plazmocytů od nemocných s doutnajícím formou MM nebo MGNV a hladina OPN v séru

byla u pacientů s MM rovněž významně vyšší nežli u jedinců s MGNV [34,35]. Zvýšené hladiny OPN v séru byly zjištěny v případě přechodu MGNV v MM [34], ovšem vysoké titry OPN ne vždy korelují se známkami maligní progresu a tíží MKN, takže prognostický potenciál tohoto ukazatele musí být vždy posuzován ve spojení s molekulární *maf* subtypizací, jež představuje jednotku s odlišnou biologii [30]. Při srovnání sérových hladin OPN mezi MGNV a různými stadii pokročilosti nemoci vyzněly naše výsledky odlišně při použití D-S a ISS stážovacího systému. V případě D-S stratifikace byla zjištěna statisticky významná odlišnost mezi MGNV a stadii 2, 3, substadii A a B, avšak na rozdíl od zkušenosti Saekiho [34] nikoliv vůči iniciační/asymptomatické fázi MM (stadium 1), což může být ale podmíněno nízkým počtem vyšetřených nemocných. Při použití stážovacího systému dle ISS byl ovšem zjištěn statisticky významný rozdíl mezi MGNV a všemi třemi stadii MM (stadia 1–3). Za přínosné považujeme rovněž zjištění, že jedinci s MGNV měly zvýšené hodnoty OPN pouze ve 3 % oproti 31,5 % u nemocných s MM, a s navyšující se hodnotou mediánu OPN s pokročilostí MM, tj. od stadia 1–3 (dle D-S i ISS) a významně vyšší hodnoty u nemocných s poruchou renální funkce, tj. v podstadiu B. Naopak hodnoty pod dolní hranicí normálního rozmezí byly zjištěny v souboru s MGNV u 1/3 jedinců, zatímco v souboru s MM pouze u 1/10 nemocných. Podstatná odlišnost sérových hladin OPN u MGNV přináší navíc v případě výrazně zvýšené hodnoty (v naší studii > 288 ng/ml u 16 % pacientů s MM) i další diferenciálně-diagnostický potenciál.

Mezi nálezy odlišující MGNV od MM patří i hustota kapilární sítě v KD, neboť MGNV je považována za stav „preangiogenní“, zatímco MM za stav „vaskulární“, v němž stupeň angiogeneze je kritickým mechanismem v patogenezi MM [11,36]. Endostatin (ES), C-koncový proteolytický fragment kolagenu XVIII, je specifický endogenní

inhibitor angiogeneze nacházející se v bazální zóně membrány cév, který vstupuje do interakce s různými molekulami endoteliálních buněk, což vede v důsledku inhibice anti-apoptotických proteinů Bcl-2 a Bcl-XL k jejich apoptóze. ES je vytvářen endotelovými buňkami a s ostatními proangiogenními a antiangiogenními faktory se podílí na udržování angiogenní rovnováhy s přiměřenou tvorbou cévních struktur [37,38]. ES inhibuje novotvorbu cév, což vede spolu se stabilizací cévních stěn k útlumu nádorového růstu, je proto považován za negativní biomarker nádorové progresu [38]. Úloha ES u MM je doposud nejasná, neboť této problematice byla věnována doposud jen nedostatečná pozornost [12]. I když hodnoty ES v séru byly u MGNV poněkud nižší nežli ve 2. a 3. stadiu MM (dle D-S i dle ISS), vyznělo srovnání statisticky nevýznamně, přičemž medián ES ve stadiu 1 (asymptomatická fáze MM) byl s hodnotou u MGNV téměř totožný. Frekvence výskytu zvýšených hodnot ES byla u MGNV podstatně nižší nežli u MM, přičemž u 1/10 nemocných s MM převyšovala naměřená hodnota ES nejvyšší hodnotu zjištěnou u MGNV (328,4 ng/ml). Rozbor naší sestavy prokázal vysoce význačně zvýšenou hodnotu mediánu ES u jedinců s MGNV oproti nemocným s myelomem podmíněnou poruchou renální funkce (podstadium B dle D-S).

MIP-1 α a MIP-1 β jsou pluripotentní chemokiny mající významnou roli v biologii, patogenezi a klinickém obraze MM [24,39]. Uplatňují se v diferenciaci OKL z preosteoklastických buněk stromatu, a tím i na osteoklastické resorpci a rozvoji MKN, podílejí se i na útlumu syntézy imunoglobulinů. Zatímco MIP-1 α je potentní inhibitor erytropoézy, MIP-1 β indukuje apoptózu pre-B buněk [40,41]. Biologické účinky MIP-1 α jsou regulovány prostřednictvím FGFR3 (receptor č. 3 fibroblastového růstového faktoru) a spojeny s aktivací RAS-MAPK signální dráhy, což mj. ovlivňuje proliferaci a přežití myelomových buněk,

rychlost nádorového růstu a celkové přežívání nemocných [42]. Vysoká exprese MIP-1 α v myelomových buňkách byla prokázána u 59 %, střední u 13 % a chybějící u 28 % nemocných s MM, a to s dobrou korelací k hladině v séru i k denzitě kapilární sítě v KD [43]. Chemokiny MIP-1 α i MIP-1 β mají úzký vztah k tíži MKN (24,40,41), projevující se mj. i vysokou sekrecí MIP-1 α a MIP-1 β . V určitém souladu se závěry Terpose [44], který zaznamenal chybějící expresi MIP-1 α v plazmocyttech u MGNV vyznělo i naše zjištění, že u žádného jedince s MGNV nebyla zjištěna zvýšená hodnota v séru a prokázána statisticky významně nižší hodnota MIP-1 α u MGNV nežli ve stadiu 3 (dle D-S i dle ISS), nikoliv ale ve stadiích 1 a 2. Významně odlišná, prakticky 2krát zvýšená byla rovněž hladina mediánu MIP-1 α u nemocných s projev myelomové renální choroby (podstadium B dle D-S). Zcela nepřínosně ale vyznělo hodnocení sérové hladiny MIP-1 β , jehož hladiny se u MGNV a v jednotlivých stadiích i podstadiích MM nelišily, a zvýšené hodnoty byly zaznamenány pouze u velmi nízkého počtu nemocných.

Angiogenin, tento neglykosylovaný polypeptid patřící do skupiny ribonukleáz s angiogenní aktivitou, se uplatňuje v procesu nádorového růstu, hojení kostí i u dalších patologických stavů, je exprimován buňkami endotelu cév, fibroblasty, lymfocyty i některými nádorovými buňkami. V procesu angiogeneze se prostřednictvím stimulace aktivátoru tkáňového plazminogenu s tvorbou plazminu podílí na degradaci membránového lamininu a fibronektinu, což vede k narušení bazální membrány cév s následnou migrací endoteliálních buněk v průběhu neovaskularizace. U primární makroglobulinemie koreluje výše ANG v séru s klinickým obrazem. Prakticky jediné předchozí sdělení věnované poměrům u MM prokázalo jeho zvýšenou hladinu (spolu s vaskulárním endoteliálním růstovým faktorem a angiopoetinem) u nemocných s MM s významným

poklesem po absolvování léčby [44]. V námi analyzovaném souboru byla sérová hladina ANG zvýšena u 42 % nemocných s MM, avšak i u 20 % jedinců s MGNV, přičemž mediány a rozmezí naměřených hodnot byly velmi blízké a lišily se pouze při srovnání MGNV se stadiem 2 (dle ISS) a podskupinou nemocných s poruchou renální funkce (podstadium B dle D-S).

Interleukin-17, tento disulfidický homodimer vytvářený aktivovanými paměťovými T buňkami, je považován za prostředníka mezi imunitním a hematopoetickým systémem. Stimuluje tvorbu IL-6, ICAM a dalších působků v elementech mikroprostředí KD, přičemž produkce IL-17 v KD nemocných s MM T pomahačskými lymfocyty je zprostředkována dendritickými buňkami. Kostní dřevina nemocných s MM obsahuje na rozdíl od jedinců s MGNV vysoký podíl Th-17-1 buněk s koexpresí IL-17 a IFN- γ [45], vstupujících do interakce s apoptotickými myelomovými elementy. Přes tyto vztahy naše analýza neodhalila žádné zřejmé odlišnosti v sérových hladinách u MGNV a MM, a to jak z hlediska frekvence zvýšených hodnot, tak i z hlediska sérových koncentrací u obou srovnávaných stavů a mezi jednotlivými stadii pokročilosti MM.

Závěr

Z provedené analýzy vyplývá, že rozšíření IMWG kritérií o ukazatele, které by obohatily diagnostiku MGNV a iniciační stadia MM, zůstává i nadále problémem, a to zřejmě i proto, že mezi MGNV a iniciační fází MM existuje plynulá linie přechodných stavů s různou mírou neoplastické transformační proměny. Z 10 analyzovaných ukazatelů neprokázal žádný s výjimkou osteopontinu klinicky použitelnou míru rozdílnosti, použitelnou v diferenciální diagnostice mezi MGNV a asymptomatickou formou MM. Nadějný diskriminační potenciál prokázaly výsledky hodnocení osteopontinu s významně zvýšenými hodnotami u 31,5 % nemocných s MM oproti 3 % s MGNV, a to ve všech stadiích MM dle ISS, nikoliv

ale mezi MGNV a stadiem 1 dle D-S. K diferenciaci přispívá i výskyt subnormálních hodnot OPN u 35 % jedinců s MGNV oproti 10 % pacientů s MM. Jistým přínosem pro odlišení MGNV od MM je rovněž i přítomnost vysokých hodnot OC (> 49,9 ng/ml), OPN (> 288 ng/ml) a ES (> 328,4 ng/ml), tj. hodnot převyšujících nejvyšší naměřenou sérovou koncentraci v souboru s MGNV, uvedený nález se ovšem týká pouze úzkého, asi 10 % počtu nemocných. Za přínosné nutno považovat potvrzení úlohy OPN, MIP-1 α a ES v patobiologii MM, jejichž sérové hodnoty byly v pokročilých stadiích MM významně vyšší nežli u MGNV a v iniciační, asymptomatické fázi MM. Nelze pominout ani zjištění, že u nemocných s projevy renálního postižení s retencí dusíkatých látek (podstadium B) byly význačně vyšší sérové koncentrace IGF-1, OPN, ES, MIP-1 α a ANG. Ze studie tedy vyplynulo, že analýza poměrně snadno analyticky dostupných sérových ukazatelů není z hlediska diskriminačního potenciálu mezi MGNV a iniciační fází MM příliš perspektivní, neboť jde o ukazatele odvozené, nevystihující zásadní rozdíly mezi MGNV a MM. Budoucí studie se musí orientovat na analýzy založené na použití molekulárně-biologických metod, techniky genové expresní analýzy či proteomiky.

Podpora IGA MZ ČR NR 9500, NR 9489, VVZ 6198959205.

Literatura

1. Urashima M, Chen BP, Chen S et al. The development of a model for the homing of multiple myeloma cells to human bone marrow. *Blood* 1997; 90: 754–765.
2. Hideshima T, Bergsagel PL, Kuehl WM et al. Advances in biology of multiple myeloma: clinical applications. *Blood* 2004; 104: 607–618.
3. International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Br J Haematol* 2003; 121: 749–757.
4. Ščudla V, Budíková M, Petrová P et al. Analýza sérových hladin vybraných

- biologických ukazatelů u monoklonální gamapatie nejistého významu a mnohočetného myelomu. *Klin Onkol* 2010; 23: 171–181.
5. Ščudla V, Budíková M, Pika T et al. Srovnání sérových hladin vybraných biologických působků u monoklonální gamapatie nejistého významu a mnohočetného myelomu. *Čas Lék Čes* 2009; 148: 315–322.
 6. Scudla V, Pika T, Budíková M et al. The importance of serum levels of selected biological parameters in the diagnosis, staging and prognosis of multiple myeloma. *Neoplasma* 2010; 57: 102–110.
 7. Durie BG, Salmon SE. A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival. *Cancer* 1975; 36: 842–854.
 8. Greipp PR, San Miguel J, Durie BG et al. International staging system for multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2005; 23: 3412–3420.
 9. Hájek R, Adam Z, Maisnar V et al. Česká myelomová skupina. Souhrn doporučení 2009 „Diagnostika a léčba mnohočetného myelomu“. *Transfuz Hematol Dnes* 2009; 15 (Suppl 2): 1–80.
 10. Kyle RA, Rajkumar SV. Monoclonal gammopathy of undetermined significance and smouldering multiple myeloma: emphasis on risk factor for progression. *Br J Haematol* 2007; 139: 730–743.
 11. Vacca A, Ria R, Ribatti D et al. A paracrine loop in the vascular endothelial growth factor pathway triggers tumor angiogenesis and growth in multiple myeloma. *Haematologica* 2003; 88: 176–185.
 12. Pour L, Hájek R, Buchler T et al. Angiogeneze a antiangiogenní terapie u nádorů. *Vnitř Lék* 2004; 50: 930–938.
 13. Corso A, Arcaini L, Mangiacavalli S et al. Biochemical markers of bone disease in asymptomatic early stage multiple myeloma. A study on their role in identifying high risk patients. *Haematologica* 2001; 86: 394–398.
 14. Fonseca R, Trendle MC, Leong T et al. Prognostic value of serum markers of bone metabolism in untreated multiple myeloma patients. *Br J Haematol* 2000; 109: 24–29.
 15. Abildgaard N, Bentzen SM, Nielsen JL et al. Nordic Myeloma Study Group (NMSG). Serum markers of bone metabolism in multiple myeloma: Prognostic value of the carboxy-terminal telopeptide of type I collagen (ICTP). *Br J Haematol* 1997; 96: 103–110.
 16. Laroche M, Attal M, Dromer C et al. Bone remodelling in monoclonal gammopathies of uncertain significance, symptomatic and nonsymptomatic myeloma. *Clin Rheumatol* 1996; 15: 347–352.
 17. Alexandrakakis MG, Passam FH, Maliraki N et al. Evaluation of bone disease in multiple myeloma: a correlation between biochemical markers of bone metabolism and other clinical parameters in untreated multiple myeloma patients. *Clin Chim Acta* 2002; 325: 51–57.
 18. Carlson K, Larsson A, Simonsson B et al. Evaluation of bone disease in multiple myeloma: a comparison between the resorption markers urinary deoxypyridinoline/creatinine (DPD) and serum ICTP, and an evaluation of the DPD/osteocalcin and ICTP/osteocalcin ratios. *Eur J Haematol* 1999; 62: 300–306.
 19. Abildgaard N, Glerup H, Rungby J et al. Biochemical markers of bone metabolism reflect osteoclastic and osteoblastic activity in multiple myeloma. *Eur J Haematol* 2000; 64: 121–129.
 20. Woitge HW, Horn E, Keck AV et al. Biochemical markers of bone formation in patients with plasma cell dyscrasias and benign osteoporosis. *Clin Chem* 2001; 47: 686–693.
 21. Bataille R, Chappard D, Klein B. Mechanisms of bone lesions in multiple myeloma. *Hematol Oncol Clin North Am* 1992; 6: 285–295.
 22. Terpos E. Biochemické markery kostního metabolismu u mnohočetného myelomu. *Cancer Treat Rev* 2006; 32 (Suppl 1): 15–19.
 23. Bataille R, Delmas PD, Chappard D et al. Abnormal serum bone GLA protein levels in multiple myeloma: crucial role of bone formation and prognostic implications. *Cancer* 1990; 66: 167–172.
 24. Heider V, Fleissner C, Zavrski I et al. Bone markers in multiple myeloma. *Eur J Cancer* 2006; 42: 1544–1553.
 25. Fraser WD, Logue FC, Gallacher SJ et al. Direct and indirect assessment of the parathyroid hormone response to pamidronate therapy in Paget's disease of bone and hypercalcaemia of malignancy. *Bone Miner* 1991; 12: 113–121.
 26. Renzulli MR, Terragna C, Testoni N et al. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) is overexpressed in multiple myeloma plasma cells (PC) and regulates the expression of the IGF-1 receptor. *Haematologica* 2006; 91: 87.
 27. Menu E, van Valckenborgh E, van Camp B et al. The role of the insulin-like growth factor 1 receptor axis in multiple myeloma. *Arch Physiol Biochem* 2009; 115: 49–57.
 28. Hsu JH, Shi Y, Krajewski S et al. The AKT kinase is activated in multiple myeloma tumor cells. *Blood* 2001; 98: 2853–2855.
 29. Greco C, Vitelli G, Vercillo G et al. Reduction of serum IGF-1 levels in patients affected with monoclonal gammopathies of undetermined significance or multiple myeloma. Comparison with bFGF, VEGF and κ -ras gene mutation. *J Exp Clin Cancer Res* 2009; 28: 35.
 30. Robbiani DF, Colon K, Ely S et al. Osteopontin dysregulation and lytic bone lesions in multiple myeloma. *Hematol Oncol* 2007; 25: 16–20.
 31. Gravalles EM. Osteopontin: a bridge between bone and the immune system. *J Clin Invest* 2003; 112: 147–149.
 32. Johnston NI, Gunasekharan VK, Ravindranath A et al. Osteopontin as a target for cancer therapy. *Front Biosci* 2008; 13: 4361–4372.
 33. Stifter S, Valkovic T, Nacinovic-Duletic et al. Vascular endothelial growth factor, osteopontin and NF- κ B/P65 expression in multiple myeloma. *Haematologica* 2008; 93: 80.
 34. Saeki Y, Mima T, Ishii T et al. Enhanced production of osteopontin in multiple myeloma: clinical and pathogenic implications. *Br J Haematol* 2003; 123: 263–270.
 35. Standal T, Hjorth-Hansen H, Rasmussen T et al. Osteopontin is an adhesive factor for myeloma cells and is found in increased levels in plasma from patients with multiple myeloma. *Haematologica* 2004; 89: 174–182.
 36. Rajkumar SV, Mesa RA, Fonseca R et al. Bone marrow angiogenesis in 400 patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance, multiple myeloma, and primary amyloidosis. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 2210–2216.
 37. Pour L, Svachova H, Adam Z et al. Pretreatment hepatocyte growth factor and thrombospondin-1 levels predict response to high-dose chemotherapy for multiple myeloma. *Neoplasma* 2010; 57: 29–34.
 38. Ergün S, Kilic N, Wurmbach JH et al. Endostatin inhibits angiogenesis by stabilization of newly formed endothelial tubes. *Angiogenesis* 2001; 4: 193–206.
 39. Terpos E, Politou M, Szydlo R et al. Serum levels of macrophage inflammatory protein-1 α (MIP-1 α) correlate with the extent of bone disease and survival in patients with multiple myeloma. *Br J Haematol* 2003; 123: 106–109.
 40. Abe M, Hiura K, Wilde J et al. Role for macrophage inflammatory protein MIP-1 α and MIP-1 β in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma. *Blood* 2002; 100: 2195–2202.
 41. Choi SJ, Cruz JC, Craig F et al. Macrophage inflammatory protein 1- α is a potential osteoclast stimulatory factor in multiple myeloma. *Blood* 2000; 96: 671–675.

42. Lentzsch S, Gries M, Janz M et al. Macrophage inflammatory protein 1- α (MIP-1 α) triggers migration and signaling cascades mediating survival and proliferation in multiple myeloma (MM) cells. *Blood* 2003; 101: 3568–3573.

43. Terpos E, Tasidou A, Roussou M et al. Increased expression of macrophage inflammatory protein-1 α on trephine biopsies correlates with advanced myeloma, extensive bone disease and elevated microvessel density in newly diagnosed pa-

tients with multiple myeloma. *Haematologica* 2009; 94: 146.

44. Terpos E, Anagnostopoulos A, Kastritis E et al. The combination of bortezomib melphalan, dexamethasone and intermittent thalidomide (VMDT) is an effective regimen for relapsed/refractory myeloma and reduces serum levels of RANKL, MIP1A and angiogenic cytokines. *Haematologica* 2006; 91: 84.

45. Dhodapkar KM, Barbuti S, Matthews P et al. Dendritic cells mediate the induction

of polyfunctional human IL17-producing cells (Th17-1 cells) enriched in the bone marrow of patients with myeloma. *Blood* 2008; 112: 2878–2885.

prof. MUDr. Vlastimil Ščudla, CSc.

www.fnol.cz

e-mail: vlastimil.scudla@fnol.cz

Doručeno do redakce: 30. 4. 2010