



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών
— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ ΑΘΗΝΩΝ

Α' ΠΡΟΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΕΤΡΟΣ ΣΦΗΚΑΚΗΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΘΕΜΑ:

«Κλινικοί και βιολογικοί προγνωστικοί παράγοντες ανταπόκρισης στη
θεραπεία στο Πολλαπλούν Μυέλωμα»

ANNITA- ΙΩANNA ΓΚΙΟΚΑ

ΕΙΔΙΚΕΥΟΜΕΝΗ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΙΑΤΡΟΣ

ΑΘΗΝΑ, ΝΟΕΜΒΡΙΟΣ 2023

«Η υλοποίηση της διδακτορικής διατριβής συγχρηματοδοτήθηκε από την Ελλάδα και την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Ανάπτυξη Ανθρώπινου Δυναμικού, Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση», 2014-2020, στο πλαίσιο της Πράξης «Ενίσχυση του ανθρώπινου δυναμικού μέσω της υλοποίησης διδακτορικής έρευνας Υποδράση 2: Πρόγραμμα χορήγησης υποτροφιών ΙΚΥ σε υποψηφίους διδάκτορες των ΑΕΙ της Ελλάδας».



Επιχειρησιακό Πρόγραμμα
Ανάπτυξη Ανθρώπινου Δυναμικού,
Εκπαίδευση και Διά Βίου Μάθηση

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



Ὁρκος του Ιπποκράτη

Ὅμνυμι Ἀπόλλωνα ἰητρὸν, καὶ Ἀσκληπιὸν, καὶ Ὑγίαν, καὶ Πανάκειαν, καὶ θεοὺς πάντας τε καὶ πάσας, ἴστορας ποιούμενος, ἐπιτελέα ποιήσῃν κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν ὄρκον τόνδε καὶ ξυγγραφὴν τήνδε. ἠγήσασθαι μὲν τὸν διδάξαντά με τὴν τέχνην ταύτην ἴσα γενέτησιν ἐμοῖσι, καὶ βίου κοινώσασθαι, καὶ χρεῶν χρηίζοντι μετάδοσιν ποιήσασθαι, καὶ γένος τὸ ἐξ ωὔτεου ἀδελφοῖς ἴσον ἐπικρινέειν ἄρρεσι, καὶ διδάξειν τὴν τέχνην ταύτην, ἣν χρηίζωσι μαθάνειν, ἄνευ μισθοῦ καὶ ξυγγραφῆς, παραγγελίης τε καὶ ἀκροήσιος καὶ τῆς λοιπῆς ἀπάσης μαθήσιος μετάδοσιν ποιήσασθαι υἱοῖσί τε ἐμοῖσι, καὶ τοῖσι τοῦ ἐμὲ διδάξαντος, καὶ μαθηταῖσι συγγεγραμμένοισί τε καὶ ὄρκισμένοις νόμῳ ἰητρικῷ, ἄλλῳ δὲ οὐδενί. Διαιτήμασί τε χρήσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν, ἐπὶ δηλήσει δὲ καὶ ἀδικίῃ εἴρξειν. Οὐ δώσω δὲ οὐδὲ φάρμακον οὐδενὶ αἰτηθεὶς θανάσιμον, οὐδὲ ὑφηγήσομαι ξυμβουλίην τοιήνδε. ὁμοίως δὲ οὐδὲ γυναικὶ πεσσὸν φθόριον δώσω. Ἄγνῶς δὲ καὶ ὁσίως διατηρήσω βίον τὸν ἐμὸν καὶ τέχνην τὴν ἐμὴν. Οὐ τεμέω δὲ οὐδὲ μὴν λιθιῶντας, ἐκχωρήσω δὲ ἐργάτησιν ἀνδράσι πρήξιος τῆσδε. Ἐς οἰκίας δὲ ὀκόσας ἂν ἐσίω, ἐσελεύσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων, ἐκτὸς ἐὼν πάσης ἀδικίης ἐκουσίης καὶ φθορίης, τῆς τε ἄλλης καὶ ἀφροδισίων ἔργων ἐπὶ τε γυναικείων σωμαίων καὶ ἀνδρώων, ἐλευθέρων τε καὶ δούλων. Ἄ δ' ἂν ἐν θεραπείῃ ἢ ἴδω, ἢ ἀκούσω, ἢ καὶ ἄνευ θεραπείης κατὰ βίον ἀνθρώπων, ἢ μὴ χρὴ ποτε ἐκλαλέεσθαι ἔξω, σιγήσομαι, ἄρρητα ἠγεύμενος εἶναι τὰ τοιαῦτα. Ὅρκον μὲν οὖν μοι τόνδε ἐπιτελέα ποιέοντι, καὶ μὴ ξυγγέοντι, εἴη ἐπαύρασθαι βίου καὶ τέχνης δοξαζομένῳ πᾶσιν ἀνθρώποις ἐς τὸν αἰεὶ χρόνον παραβαίνοντι δὲ καὶ ἐπιορκοῦντι, τάναντία τουτέων.

Στοιχεία Διδακτορικής Διατριβής

Αίτηση για ορισμό τριμελούς επιτροπής : 19/09/2018

Ορισμός Τριμελούς Επιτροπής : 18/12/2018

Τριμελής Επιτροπή:

Καθ. Κυρτσώνη Μαρία-Χριστίνα (ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ)

Καθ. Παναγιωτίδης Παναγιώτης

Καθ. Βασιλακόπουλος Θεόδωρος

Καθορισμός Θέματος Διδακτορικής Διατριβής: 15/03/2019

Ημερομηνία Ορισμού 7μελούς επιτροπής : 31/10/2023

Μέλη 7μελούς Εξεταστικής Επιτροπής:

Καθ. Κυρτσώνη Μαρία-Χριστίνα (ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ)

Καθ. Παναγιωτίδης Παναγιώτης

Καθ. Βασιλακόπουλος Θεόδωρος

Καθ. Δεδούσης Γεώργιος

Καθ. Κοντοπίδου Φλώρα

Καθ. Τέρπος Ευάγγελος

Καθ. Τσιριγώτης Παναγιώτης

Στην οικογένεια μου

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Προσωπικά Στοιχεία

Όνοματεπώνυμο: Αννίτα-Ιωάννα Γκιόκα

Τόπος Γέννησεως: Αθήνα, Αττική

Υπηκόοτητα: Ελληνική

Ηλεκτρονικό ταχυδρομείο: annigk@med.uoa.gr

Εκπαίδευση- Τίτλοι Σπουδών

2012-2018. Ιατρική εκπαίδευση στην Ιατρική σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Άδεια Ασκήσεως Ιατρικού Επαγγέλματος: 26/7/2018 Νομαρχία Αθηνών - Δ/νση Υγιεινής. Αριθ. Πρωτοκόλλου: 15166

Φεβρ 2019-Φεβρ 2020. Υπηρεσία Υπαίθρου ως Αγροτικός Ιατρός στο Γενικό Νοσοκομείο-Κέντρο Υγείας Κυπαρισσίας.

Οκτ 2020 – Οκτ. 2022 Ειδικευόμενη Παθολογίας στο Γ ' Παθολογικό τμήμα του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών «Ερυθρός Σταυρός»

Οκτ. 2022- Σήμερα Ειδικευόμενη Αιματολογίας στην Α' Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική, ΓΝΑ «Λαϊκο»

Ξένες Γλώσσες

Αγγλικά C2

Γαλλικά B2

Άλλα Πιστοποιητικά

- Πιστοποιητικά παρακολούθησης σεμιναρίων βιοστατιστικής για την εκμάθηση του προγράμματος SPSS.
- ECDL, Άριστη γνώση υπολογιστών (word, excel, internet, powerpoint)
- Πιστοποιητικό καλής κλινικής πρακτικής “ICH GOOD CLINICAL PRACTICE E6 (R2)”
- Advance Life Support Certificate (ALS) , Ελληνική Εταιρεία Καρδιοαναπνευστικής Ανοξωογονησης

Υποτροφίες

- Υπότροφος του ΙΚΥ στα πλαίσια του προγράμματος :
«Ενίσχυση του ανθρώπινου δυναμικού μέσω της υλοποίησης διδακτορικής έρευνας – Υπο δράση 2: Πρόγραμμα χορήγησης υποτροφιών ΙΚΥ σε υποψήφιους διδάκτορες των ΑΕΙ της Ελλάδος»

Συμμετοχή σε ερευνητικά προγράμματα, 2018-σήμερα

- Συν ερευνητής σε 12 κλινικές μελέτες της Α' Προπαιδευτικής Παθολογικής Κλινικής με Κύριο Ερευνητή την Καθηγήτρια κα. Κυρτσώνη Μαρία-Χριστίνα.

Συμμετοχή στη συγγραφή Κεφάλαιου στο Βιβλίο

- *Αιματολογία στην Κλινική Πράξη 2η έκδοση*
Εκδόσεις Broken, ISBN: 978-992-557-634-0, Ημερομηνία έκδοσης: 2022, Υπο εκτύπωση

Βραβεία

1. Βραβείο καλύτερης προφορικής ανακοίνωσης κατά τη διάρκεια του 29^{ου} Πανελληνίου Αιματολογικού Συνεδρίου, 1-4 Νοεμβρίου, 2018 Θεσσαλονίκη για την εργασία «Πολυεστιακό Μυέλωμα (MFMM): Συχνότητα κλινικά χαρακτηριστικά και έκβαση στην εποχή των νέων θεραπειών: Μελέτη της Ελληνο-Ισραηλινής συνεργατικής ομάδας πολλαπλούν μυελώματος».
2. Βραβείο Καλύτερης Προφορικής Ανακοίνωσης κατά τη διάρκεια του 12^{ου} Πανελληνίου Ανοσολογικού Συνεδρίου, Αθήνα 2022, για την εργασία με τίτλο. Ο λόγος CD4/CD8 ως προγνωστικός δείκτης για την ολική επιβίωση και το χρόνο έναρξης θεραπείας στους ασθενείς με ΧΛΛ
3. Βραβείο καλύτερης προφορικής ανακοίνωσης κατά τη διάρκεια του 34^{ου} Πανελληνίου Αιματολογικού Συνεδρίου, 8-12 Νοεμβρίου Αθήνα, 2023 για την εργασία « Ανάλυση δεδομένων καθημερινής πρακτικής για την πρόγνωση και επιβίωση των ασθενών με πολλαπλούν μυέλωμα κεντρικού νευρικού (ΠΜ-ΚΝΣ): Μία πολυκεντρική μελέτη της Ελληνικής Ομάδας Πολλαπλού Μυελώματος.

Συμμετοχή σε Ελληνικά/Διεθνή Συνέδρια με προφορική /αναρτημένη ανακοίνωση

1. **A.-I. Γκικόκα**, Α. Γκικόκας, Α. Αλεξανδρόπουλος, Μ. Παπαδάτου-Γιγάντε, Α. Κουδούνα, Β. Μπάρτζη, Θ.-Μ. Τρύφου, Μ.-Χ. Κυρτσώνη. Επίπεδα ορού Cereblon (CRBN) ασθενών με ΠΜ μετά από θεραπεία με Λεναλιδομίδη/Δεξαμεθαζόνη (RD): Προγνωστική σημασία και κλινικές συσχετίσεις. 34ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, 2023
2. **A.-I. Γκικόκα***, Μ. Τσώτα*, Α. Γκικόκας, Χ.-Α. Μητροπούλου, Α. Παλαιοκρασσά, Α. Αλεξανδρόπουλος, Μ. Παπαδάτου-Γιγάντε, Β. Μπάρτζη, Α. Κουδούνα, Μ.-Θ. Τρύφου, Γ.-Β. Δεδούσης*, Μ.-Χ. Κυρτσώνη*. Κυκλοφορούντα διαλυτά miR-16 και miR-21 σε ασθενείς με Πολλαπλούν Μυέλωμα (ΠΜ): Προγνωστική Σημασία για την επιβίωση και την ανταπόκριση στη θεραπεία με Λεναλιδομίδη. 34ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 2023
3. **A.-I. Γκικόκα**, Β. Μπάρτζη, Α. Γκικόκας, Α. Αλεξανδρόπουλος, Μ. Παπαδάτου-Γιγάντε, Α. Κουδούνα, Θ.-Μ. Τρύφου, Μ.-Χ. Κυρτσώνη. Εκτίμηση πρώιμης υποτροπής ασθενών με Πολλαπλούν Μυέλωμα (ΠΜ). 34ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 2023

4. Α. Κουραμπά, Α. Ζάννου, Ε. Θεοδώρου, Ε. Μπουτάκογλου, **Α-Ι Γκικόκα**, Γ. Θηβαίος, Σ. Χρηστίδη, Α. Χάνος, Ο. Κατσαρού. Θεραπεία προφύλαξης με Epcizumab σε ασθενείς με αιμορροφιλία Α: εμπειρία από ένα αιμορροφιλικό κέντρο. 34ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 2023
5. **ΑΙ Γκικόκα**, Α. Γκικόκας, Μ Παπαδάτου-Γιγαντε, Α. Αλεξανδρόπουλος, Β. Μπαρτζή, Α. Κουδούνα, Θ-Μ Τρύφου, ΜΧ Κυρτσώνη. Ο διαλυτός υποδοχέας CD163 (sCD163) ως δείκτης ενεργότητας νόσου στο Πολλαπλούν Μυελωμα: Πρωιμα αποτελέσματα, Comy 2023, Μαΐος 2023, Παρίσι
6. Ε. Κατωδρύτου, Δ. Δαλαμπέρα, Σ. Δελήμπαση, Ι. Ντάνασης-Σταθόπουλος, Φ. Καραολίδου, **Α.Ι. Γκικόκα**, Β. Λαμπροπούλου, Ε. Σπανουδάκης, Θ. Τριανταφύλλου, Μ. Κωτσοπούλου, Χ. Βαδικόλια, Θ. Παπαδοπούλου, Α. Σεβαστούδη, Μ. Μιχαήλ, Α. Δάιου, Α. Πεντίδου, Ι. Κωστόπουλος, Β. Παλάσκα, Μ. Γαβριατοπούλου, Μ.Χ. Κυρτσώνη, Ε. Βέρρου, Ε. Καστρίτης, Μ.Α. Δημόπουλος, Ε. Τέρπος. Ανάλυση δεδομένων καθημερινής πρακτικής για την πρόγνωση και επιβίωση των ασθενών με πολλαπλούν μυελωμα κεντρικού νευρικού (ΠΜ-ΚΝΣ): Μία πολυκεντρική μελέτη της Ελληνικής Ομάδας Πολλαπλού Μυελώματος. 34ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, 2023
7. Μ. Παπαδάτου, Α. Κουδούνα, **Α. Γκικόκα**, Α. Αλεξανδρόπουλος, Α. Γκικόκας, Β. Μπαρτζή, Μ.Χ. Κυρτσώνη Μικτού Φαινοτύπου Οξεία Λευχαιμία (MPAL) με T λεμφοκυτταρικό και μυελικό στοιχείο (T/Mγ) και εξωμυελική εντόπιση: Κλινική περίπτωση. 34ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 2023
8. Α. Γκικόκας, **Α.-Ι. Γκικόκα**, Μ. Παπαδάτου-Γιγαντε, Α. Αλεξανδρόπουλος, Β. Μπαρτζή, Α. Κουδούνα, Μ.-Θ. Τρύφου, Ν. Καφάση, Μ-Χ Κυρτσώνη. Ο διαλυτός υποδοχέας CD163 ως προγνωστικός δείκτης για τη συνολική επιβίωση και το χρόνο έως την έναρξη θεραπείας στην WM και στο LPL. 34ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 2023
9. Α. Κουδούνα, Β. Μπαρτζή, Μ. Παπαδάτου, Α. Γκικόκας, **Α-Ι Γκικόκα**, Α. Αλεξανδρόπουλος, Μ.Χ. Κυρτσώνη Ο διαλυτός υποδοχέας CD163 ως προγνωστικός δείκτης στους χημειοευαίσθητους ασθενείς με DLBCL. 34ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 2023.
10. Α. Αλεξανδρόπουλος, **Α.Ι. Γκικόκα**, Α. Γκικόκας, Μ. Παπαδάτου, Β. Μπαρτζή, Α. Κουδούνα, Μ.Τ. Τρύφου, Ν. Καφάση, Μ.Χ. Κυρτσώνη. Προγνωστική σημασία του διαλυτού CD163 (sCD163) στα μυελουπερπλαστικά νεοπλάσματα. 34ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 2023.
11. Σ. Χρηστίδη, **Α-Ι. Γκικόκα**, Α. Ζάννου, Ε. Κελαϊδής, Θ-Μ. Τρύφου, Μ-Χ. Κυρτσώνη, Α. Κουραμπά. Διερεύνηση επιπέδων οστεοπροτεγερίνης (OPG/RANKL) σε ασθενείς

υπό emicizumab: η εμπειρία ενός κέντρου. 34^ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 2023.

12. A. Alexandropoulos, **A-I Gkioka**, A Gkiokas, M. Papadatou, V. Bartzi, A. Koudouna, M. Tryfou, N. Kafasi, MC Kyrtonis P41- Soluble CD163: A possible survival predictor in myeloproliferative neoplasms. 14-17 September 2023 | 10th Aegean Hematology Oncology Symposium | Istanbul
13. **A-I Gkioka ***, **M. Tsota***, A. Gkiokas, CA Mitropoulou , A Palaiokrassa , A. Alexandropoulos M. Papadatou-Gigante, V. Bartzi, A. Koudouna, M-T, George V Dedousis*, MC Kyrtonis*. P40- Circulating miR-16 and miR-21 levels in Multiple Myeloma (MM); Prognostic significance on survival and response to lenalidomide treatment. 14-17 September 2023 | 10th Aegean Hematology Oncology Symposium | Istanbul
14. A. Gkiokas, **A-I Gkioka**, M. Papadatou-Gigante , A. Alexandropoulos, V. Bartzi, A. Koudouna, T-M Tryfou, N. Kafasi, MC Kyrtonis. Soluble CD163 predictive of overall survival and time to treatment in WM and LPL. 14-17 September 2023 | 10th Aegean Hematology Oncology Symposium | Istanbul
15. Μ. Παπαδάτου, Α. Δημητρακοπούλου, Α. Γκιόκας, **Α-Ι. Γκιόκα**, Α. Αλεξανδρόπουλος, Μ-Τ. Τρύφου, Μ-Χ. Κυρτσώνη, Ν. Καφάση. Ο λόγος CD4/CD8 ως προγνωστικός δείκτης για την ολική επιβίωση και το χρόνο έναρξης θεραπείας στους ασθενείς με Χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία (ΧΛΛ) . 12^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ανοσολογίας (2022) προφορική ανακοίνωση.
16. **Α-Ι Γκιόκα**, Α. Γκιόκας, Μ. Παπαδάτου, Γ. Καραμανάκος, Β. Μπάρτζη, Α. Μπιτσάνη, Α. Κουδούνα, Μ. Δήμου, Θ. Ηλιάκης, Β. Παρδάλης, Π. Παναγιωτίδης, Μ.-Χ. Κυρτσώνη, Η ταχεία ελάττωση της παραπρωτεϊνης ασθενών με Πολλαπλούν Μυέλωμα (ΠΜ) υπό θεραπεία με Λεναλιδομίδη προβλέπει την επιβίωση. Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 2022, αναρτημένη ανακοίνωση.
17. **Α-Ι. Γκιόκα**, Μ. Παπαδάτου, Α. Γκιόκας, Α. Κουδούνα, Β. Μπάρτζη, Α. Μπιτσάνη, Θ. Ηλιάκης, Μ. Δήμου, Β. Παρδάλης, Π. Παναγιωτίδης, Μ.-Χ. Κυρτσώνη, Δεδομένα Ασθενών με Πολλαπλούν Μυέλωμα (ΠΜ) ανθεκτικοί στην Λεναλιδομίδη, 32ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 2022.
18. **Α-Ι. Γκιόκα** , Α. Γκιόκας , Μ. Παπαδατου, Α. Κουδούνα , Β. Μπάρτζη, Α. Μπιτσάνη , Μ. Δήμου, Β. Παρδάλης, Θ. Ηλιάκης , Ν.Α. Βόνιου , Π. Τσαφταρίδης , Θ. Βασιλακόπουλος, Μ. Αγγελοπούλου , Π. Παναγιωτίδης, Μ.-Χ. Κυρτσώνη, Έκβαση και προοπτική χορήγησης πολλαπλών θεραπευτικών γραμμών σε ασθενείς με ΠΜ την εποχή των νέων παραγόντων. 32ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 2022, αναρτημένη ανακοίνωση

19. **A-I Gkioka**, Aspasia Koudouna, Vasiliki Bartzi, Maria Dimou, Theodoros Iliakis, Aikaterini Bitsani, Vasileios Pardalis, Panayiotis Panayiotidis, Marie-Christine Kyrtsionis; 2264, Serum Soluble Syndecan-1 (ssCD138) Can Contribute to the Discrimination of Lenalidomide Resistant Multiple Myeloma (MM) Patients. 62nd ASH Annual Meeting and Exposition; Dec. 2021, oral and poster presentation

20. **A-I Gkioka**, M. Papadatou, A. Gkiokas, A. Koudouna V. Bartzi, A. Bitsani, T. Pliakis, M. Dimou, V. Pardalis, P. Panayiotidis, Marie –Christine Kyrtsionis. Updated outcomes on Lenalidomide (Len) Refractory MM Patients’ 8^o Συνέδριο Αιματολογίας Ογκολογίας Αιγαίου, Διαδυκτιακό, Σεπτέμβριος, 2021. Προφορική ανακοίνωση

21. **A-I Gkioka**, A. Gkiokas A. M. Papadatou, Bartzi V. A. Bitsani, A. Koudouna M. Dimou, T Pliakis, V. Pardalis, P. Repousis, P. Panayiotidis, M-C. Kyrtsionis Involved Immunoglobulin (Ig) and Free-Light Chain (FLC) serum early after Lenalidomide treatment predicts survival. 8^o Συνέδριο Αιματολογίας Ογκολογίας Αιγαίου, Διαδυκτιακό, Σεπτέμβριος, 2021. Αναρτημένη ανακοίνωση.

22. **A-I Gkioka**, M. Papadatou, A. Gkiokas, A. Koudouna V. Bartzi, A. Bitsani, T. Pliakis, M. Dimou, V. Pardalis, P. Panayiotidis, Marie –Christine Kyrtsionis. Outcome And Number of Treatment Lines Administered To Multiple Myeloma Patients’ Treated Since the Introduction of New Drugs . A Single-Center Experience. 8^o Συνέδριο Αιματολογίας Ογκολογίας Αιγαίου, Διαδυκτιακό, Σεπτέμβριος, 2021. Αναρτημένη Ανακοίνωση.

23. **A-I Gkioka**, Paraskevi Papaioannou, Ioannis Grafakos, Aspasia Koudouna, George Karamanakos, Vasilliki Bartzis, Niki Rougkala, Aikaterini Bitsani, Efstathios Koulieris, Maria Dimou, Theodoros Iliakis, Vasileios Pardalis, Nora-Athina Viniou, Panayiotis Panayiotidis, Marie-Christine Kyrtsionis. Monoclonal immunoglobulins prognostic significance for the evaluation of sensitivity to Lenalidomide -Dexamethasone (RD) treatment. EHA 2020, Virtual.

24. T. Tryfou, P. Papaioannou, P. Repousis, **A- I Gkioka**, E. Koulieris, S. Sachanas, A. Bitsani, M. Dimou, N. Rougkala, A. Koudouna, A. Kopsaftopoulou, K. Chalmoukou, I. Grafakos, S. Kokkori, A. Tsantes, G. Pagkalis, C. Matsouka, P. Panayiotidis, MC Kyrtsionis. Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) patients with increased serum von Willebrand Levels at diagnosis have a shorter time to treatment. 24th Congress of European Hematology Association, June 2019, Amsterdam, Abstract Book

25. P. Papaioannou , **A.I. Gkioka** , K. Tsalimalma , A. Koudouna , S. Kotsanti , K. Bitsani , D. Maltezas , T. Iliakis , M. Dimou, N. Kafassi , P. Sfikakis , P. Panayiotidis, M.C. Kyrtsonis. Uninvolved IgA Suppression predicts evolution to symptomatic myeloma in contemporary diagnosed SMM; Preliminary Results. 23rd Congress of European Hematology Association, June 2018, Stockholm, Abstract Book
26. Θ-Μ. Τρύφου, **A-I. Γκικόκα**, Π. Παπαϊωάννου, Α. Κουδούνα, Ι. Γραφάκος , Α. Μπιτσάνη, Μ. Δήμου, Θ. Ηλιάκης, Β. Παρδάλης, Π. Κορκολοπούλου, Ν. Καβαντζάς, Σ. Κοκόρη, Α. Τσάντες, Π. Παναγιωτίδης , Μ-Χ. Κυρτσώνη. Προκαταρκτικά αποτελέσματα συσχέτισης των επιπέδων του ορού του παράγοντα vonWillebrand με τα αγγειογενετικά χαρακτηριστικά σε νεοδιαγνωσμένους ασθενείς με μακροσφαιριναιμία Waldenstrom. 29^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Αιματολογίας, Θεσσαλονίκη, Νοέμβριος, 2018, Αναρτημένη ανακοίνωση.
27. **A-I. Γκικόκα**, Π. Παπαϊωάννου, Δ. Μαλτέζας, Α. Κουδούνα, Ι. Γραφάκος , Α. Μπιτσάνη, Μ. Δήμου, Θ. Ηλιάκης, Β. Παρδάλης, Π. Παναγιωτίδης , Μ-Χ. Κυρτσώνη. Μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας βήτα-1 (TGF-β1): προγνωστική αξία σε ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα (ΠΜ) και συσχετίσεις με χαρακτηριστικά νόσου. 29^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Αιματολογίας, Θεσσαλονίκη, Νοέμβριος, 2018,
28. **A-I Γκικόκα**, Γ-Ε Δενδρινού, Π. Παπαϊωάννου, Π. Παναγιωτίδης, Π. Σφηκάκης, Μ-Χ. Κυρτσώνη, Ανάπτυξη διπλής έκφρασης λεμφώματος από μεγάλα Β κύτταρα και σαρκοείδωση σε επι εδάφους πολλαπλού μυελώματος-αναφορά περίπτωσης και βιβλιογραφική ανασκόπηση. 23^ο συνέδριο φοιτητών Ιατρικής και 11^ο διεθνές φόρουμ φοιτητών ιατρικής και νέων ιατρών, Λάρισα, Μάιος 2017.
29. Ε. Νικολαου Ε.*, **A-I Γκικόκα***, Μαλτέζας Δ., Κωτσαντή Σ., Παπαϊωάννου Π., Πέτσα Π., Κουδούνα Α., Δήμου Μ., Ηλιάκης Θ., Βύνιου Ν-Α, Αγγελοπούλου ΜΚ, Παναγιωτίδης Π, Κυρτσώνη Μ-Χ (*Ίση συμμετοχή επιστημονικών συνεργατών Α΄ Προπαιδευτικής Παθολογικής Κλινικής Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών “Λαϊκό”). Πορεία και έκβαση ασθενών με πολλαπλούν μυέλωμα. Αριθμός και είδος χορηγούμενων θεραπευτικών γραμμών στο πλαίσιο κλινικής πρακτικής από το 2000. 4^ο Συνέδριο Αιματολογίας Ογκολογίας Αιγαίου, Ρόδος, Σεπτέμβριος, 2017.
30. Γεωργιάδου Μ-Χ*, Δενδρινού Γ-Ε*, **Γκικόκα Α-Ι***, Δαφνής Α-Ν*, Δουμουλιάκα Ε.*, Νικολάου Ε., Παναγιωτίδης Π., Σφηκάκης Π., Κυρτσώνη Μ-Χ. (*Ίση συμμετοχή φοιτητών της Α΄ προπαιδευτικής παθολογικής κλινικής). Η προγνωστική αξία της λεμφοπενίας, της λεμφοκυττάρωσης και της αναστροφής του λευκοκυτταρικού τύπου σε ασθενείς με πολλαπλούν μυέλωμα. 3^ο Συνέδριο Αιματολογίας Ογκολογίας Αιγαίου, Θεσσαλονίκη, Σεπτέμβριος, 2016. Αναρτημένη ανακοίνωση.

Ξενόγλωσσες Δημοσιεύσεις, 2017- σήμερα

1. **A-I Gkioka**, A. Gkiokas, M. Papadatou-Gigante, A. Alexandropoulos, A. Koudouna, V. Bartzi, MC Kyrtsionis. "P-192 Increased serum CRBN levels are associated with improved survival in MM patients." *ClinicalLymphoma, Myeloma and Leukemia* 23 (2023): S141.
2. **A-I Gkioka**, A. Gkiokas, A. Alexandropoulos, M. Papadatou, A.Koudouna, V. Bartzi, TM Tryfou, MC Kyrtsionis. PB2140: Evaluation of early relapse in multiple myeloma patients. *HemaSphere* 7(S3):p e35250bc, August 2023.
3. E.Katodritou, E.Kastritis, D.Dalampira, S.Delimpasi, E.Spanoudakis, V.Labropoulou, I.NtanasisStathopoulos, **AIGkioka**, N.Giannakoulas, N.Kanellias, T.Papadopoulou, A.Sevastoudi, E.Michalis, M.Papathanasiou, M.Kotsopoulou, A.Sioni, T.Triantafyllou, A,Daiou, M.Papadatou, A.Pouli, I.Kostopoulos, E.Verrou, M.ADimopoulos, E. Terpos. Improved survival of patients with primary plasma cell leukemia with VRd or daratumumab-based quadruplets: A multicenter study by the Greek myeloma study group. *American Journal Of Hematology*, March 2023
4. A. Koudouna, **A-I Gkioka**, A. Alexandropoulos, T. Tryfou, M. Papadatou, A. Gkiokas, V. Bartzi, M. Kyrtsionis. Increased soluble serum (sCD163) levels predict a short disease free survival in diffuse large B cell lymphoma (DLBCL).Volume41, IssueS2, Supplement: 17th International Conference on Malignant Lymphoma, Palazzo dei Congressi, Lugano, Switzerland, 13 - 17 June, 2023
5. A. Gkiokas, **A-I. Gkioka**, M. Papadatou, T. Tryfou, V. Bartzi, A. Koudouna, A. Alexandropoulos, MC Kyrtsionis. Soluble serum CD163 (SCD163) levels is a marker of disease activity in lymphoplasmacytic lymphoma; preliminary results. Supplement: 17th International Conference on Malignant Lymphoma, Palazzo deiCongressi, Lugano.
6. E. Katodritou, E. Kastritis, D. Dalampira, S. Delimpasi, E. Spanoudakis, V. Labropoulou, I. Ntanasis-Stathopoulos, **A- I Gkioka**, N. Giannakoulas, N. Kanellias, A. Sevastoudi, E. Michali, et al. Improved Survival of Patients with Primary Plasma Cell Leukemia with VRD or Daratumumab-Based Quadruplets: A Multicenter Study By the Greek Myeloma Study Group *Blood* (2022) 140 (Supplement 1): 4386–4387.

7. A. Gkiokas, **A-I Gkioka**, M. Papadatou, A. Alexandropoulos, V. Bartzi, MC Kyrtsionis. "P-174: Validation of Mayo Clinic 2018 and IMWG 2020 prognostic risk score for smoldering multiple myeloma (SMM), real world data; single center experience." *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia* 22 (2022): S130-S131.
8. **A-I Gkioka**, M. Tsota M, Papadatou M, Gkiokas A, Alexandropoulos A, Bartzi V, Dedousis GV, Kyrtsionis MC. PB1957: Circulating miRNA-16 and miRNA 21 expression levels in myeloma ; preliminary results. *Hemasphere*. 2022 Jun 23;6(Suppl):1830-1831.
9. **AI Gkioka** , M.Papadatou , A. Gkiokas , A. Koudouna , V. Bartzi , A. Bitsani , T. Iliakis ,M. Dimou,V. Pardalis, P. Panayiotidis, MC Kyrtsionis Updated outcomes on Lenalidomide (Len) refractory MM patients'. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*, Volume 21, Supplement 2, October 2021, Pages S85-S86
10. **A-I Gkioka**, A. Koudouna, V. Bartzi, Maria Dimou, Theodoros Iliakis, Aikaterini Bitsani, Vasileios Pardalis, Panayiotis Panayiotidis, Marie-Christine Kyrtsionis. Serum Soluble Syndecan-1 (ssCD138) Can Contribute to the Discrimination of Lenalidomide Resistant Multiple Myeloma (MM) Patients, *Blood*, Volume 136, Suppl. 1, 2020
11. **A-I Gkioka**, P. Repousis, N. Rougkala, E. Asmanis, V. Bartzi, M. Dimou, T. Iliakis, N- A Vyniou, P. Panayiotidis, MC Kyrtsionis.Lenalidomide (Len) Refractory MM Patients' Outcomes. *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia* 19(10), e160-161.2019
12. **A-I Gkioka**, P. Repousis, P. Papaioannou, T. Tryfou, N. Rougkala, M. Dimou, T. Iliakis, V. Pardalis, A. Bitsani, A. Koudouna, I. Grafakos, P. Panayiotidis, MC Kyrtsionis. Prognostic value and clinical correlations of serum cereblon (CRBN) levels in multiple myeloma patients treated with Lenalidomide/Dexamethasone (RD). *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia* 19 (10), e117.2019
13. P Papaioannou, P Repousis, **A-I Gkioka**, E Koulieris, S Sachanas, A Bitsani, M Dimou, R Niki, A Koudouna, A Kopsaftopoulou, K Chalmoukou, I Grafakos, S Kokkori, A Tsantes, G Pangalis, C Matsouka, P Panayiotidis, M-C Kyrtsionis Chronic lymphocytic leukemia patients with increased serum von willebrand levels at diagnosis have a shorter time to treatment. *HemaSphere*. 3, 863-864.2019
14. **A-I Gkioka**, P Papaioannou, R Niki, M Dimou, I Theodoros, V Pardalis, A Bitsani, A Koudouna, I Grafakos, P Panayiotidis, M-C Kyrtsionis. Serum Cereblon levels predict five-year post lenalidomide/dexamethasone survival in multiple myeloma patients and correlate with disease characteristics. *Hemasphere*, 3, 267. 2019

15. E Katodritou, E Kastritis, M E Gatt, YC Cohen, I. Avivi, A. Pouli, A. Lalayianni, N. Lavi, S. Delibasi, M-C Kyrtonis, M. D Michael, C. Suriu, M. Zektser, K. Herzog Tzarfati, C. Vadikolia, D. Maltezas, P. Zikos, C. Ganzel, I. Vaxman, A. Aviv, A. Christoforidou, M. Gavriatopoulou, A. Shaulov, E. Verrou, A-M Papanota, G. Fakinos, **A-I Gkioka**, V. Palaska, T. Triantafyllou, P. Konstantinidou, A. Anagnostopoulos, E. Terpos, M A Dimopoulos. Real-World Data on Incidence, Clinical Characteristics and Outcome of Patients with Macrofocal Multiple Myeloma (MFMM) in the Era of Novel Therapies: A Study of the Greco-Israeli Collaborative Myeloma Working Group. *Blood*. 132 (Suppl.1):3295-3295,2018

16. P. Papaioannou, **A- I Gkioka**, K. Tsalimalma, A. Koudouna, A. Kopsaftopoulou, K. Chamoukou, I. Grafakos, A. Bitsani, T. Iliakis, M. Dimou, N. Kafassi, P. Sfikakis, P. Panayiotidis, M-C Kyrtonis. Uninvolved Immunoglobulin Suppression Determined By" Hevylite" ASSAY. Strongly Predicts Evolution of Smoldering Myeloma (SMM) to Symptomatic Multiple Myeloma (MM). *Blood*. 132 (Suppl.1):5584-5584,2018

17. T. Tryfou, P. Papaioannou, P. Repousis, **A-I Gkioka**, S. Sachanas, A. Bitsani, M. Dimou, D. Maltezas, A. Koudouna, A. Kopsaftopoulou, K. Chamoukou, I. Grafakos, S. Kokori, A. Tsantes, G. Pangalis, P. Panayiotidis, M-C Kyrtonis. Increased serum von Willebrand levels in Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) Patients Are Related to a Shorter Time to Treatment. *Blood*. 132 (Suppl.1):5547-5547,2018

18. E. Nikolaou, I. Pessach, P. Papaioannou, D.Maltezas, A. Bitsani, **A-I Gkioka**, P.Panayiotidis P, Sfikakis P and Kyrtonis M-C. The impact of age and frailty in multiple myeloma patients' outcome. *International Journal of Current Research in Life Sciences*. 7(3):1391-1396, 2018

19. **A-I Gkioka**, E. Nikolaou , V.Bartzis , P. Papaioannou, A. Koudouna, S. Kotsanti, P.Petsa , M. Dimou , D. Maltezas , T. Iliakis, A.Bitsani , S.Sachanas , P. Sfikakis , P. Panayiotis and MC Kyrtonis. Long-lasting Responses to Immunomodulatory Drugs (IMiDs) in Combination with Dexamethasone in Multiple Myeloma; Identification of Exceptional Responders at any Treatment Line.*Haematol Int J*. 1(2): 000108, 2017.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διατριβή εκπονήθηκε στο Αιματολογικό τμήμα και εργαστήριο της Α' Προπαιδευτικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής Αθηνών κατά το χρονικό διάστημα 2018-2023 με επιστημονική υπεύθυνη την Καθηγήτρια κα. Κυρτσώνη Μαρία-Χριστίνα.

Η υλοποίηση της συγχρηματοδοτήθηκε «Η υλοποίηση της διδακτορικής διατριβής συγχρηματοδοτήθηκε μέσω του προγράμματος «Ανάπτυξη Ανθρώπινου Δυναμικού, Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση», 2014-2020, στο πλαίσιο της Πράξης «Ενίσχυση του ανθρώπινου δυναμικού μέσω της υλοποίησης διδακτορικής έρευνας Υποδράση 2: Πρόγραμμα χορήγησης υποτροφιών ΙΚΥ σε υποψηφίους διδάκτορες των ΑΕΙ της Ελλάδας».

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση κλινικών και βιολογικών προγνωστικών παραγόντων ανταπόκρισης στη θεραπεία του Πολλαπλού Μυελώματος.

Αισθάνομαι ιδιαίτερα την ανάγκη να ευχαριστήσω την Καθηγήτρια κα. Κυρτσώνη Μαρία-Χριστίνα για την καθοδήγηση της σε όλα τα στάδια εκπόνησης της μελέτης, το ενδιαφέρον, τις συμβουλές της και την πολυπλευρη προσφορά της στην παρούσα διατριβή και στην εκπαίδευση μου αρχικά ως φοιτήτρια και στην συνέχεια ως Ειδικευόμενη στην Αιματολογία.

Ακόμη, ευχαριστώ τον Καθηγητή-Διευθυντή κ. Παναγιωτίδη Παναγιώτη και τον Καθηγητή κ. Βασιλακόπουλο Θεόδωρο για τις συμβουλές τους και την καθοδήγηση τους ως μέλη της Τριμελούς Επιτροπής καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της μελέτης.

Ιδιαίτερα ευχαριστώ τον Καθηγητή κ. Δεδούση Γεώργιο που δέχτηκε να διεξαχθεί, στο Εργαστήριο Επιστημονικής Ευθύνης του, ένα μέρος των πειραμάτων της παρούσας διατριβής. Ακόμη, τον ευχαριστώ για τις συμβουλές του όσον αφορά τη συγγραφή της διατριβής.

Ακόμη, ευχαριστώ την κα. Τρύφου Θωμαή-Μαρίνα και την Παπαιωάννου Παρασκευή για την βοήθεια στην διακπεραίωση μέρους των πειραμάτων της διατριβής.

Ένα ξεχωριστό ευχαριστώ στην κα. Μαρία Τσώτα για την εκπαίδευση της μεθοδολογίας και τη βοήθεια στην διεξαγωγή ενός μέρους των πειραμάτων της διατριβής.

Επίσης, ευχαριστώ την κα. Ρισσάκη Ειρήνη για την καθοδήγηση και διεκπεραίωση διοικητικών εργασιών της διατριβής.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελ.
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ- I	19
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Α- ΠΟΛΛΑΠΛΟΥΝ ΜΥΕΛΩΜΑ	20
A1. Εισαγωγή	20
A2. Ιστορική Αναδρομή	23
A3. Επιδημιολογία –Προδιαθεσικοί Παράγοντες	24
A4. Παθοφυσιολογία	25
A5. Διαγνωστικά Κριτήρια	37
A6. Κλινικά Χαρακτηριστικά	38
A7. Κριτήρια Ανταπόκρισης	43
A8. Θεραπεία	47
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Β. – ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ	54
B1.Συστήματα Σταδιοποίησης	54
B2. Γενετικές Ανωμαλίας και Πρόγνωση	57
B3. Προγνωστικοί Παράγοντες στην Υποτροπή	59
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Γ. – ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ	60
Γ1. Μηχανισμοί Ανθεκτικότητας	60
Γ2. Cereblon: Η πρωτεΐνη στόχος των ανοσοτροποποιητικών φαρμάκων .	63
Γ3. Τα microRNAs στο ΠΜ	64
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ- II	67
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Δ- ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ	68
Δ1. Ασθενείς	68
Δ2. Μέθοδος	69
Δ3. Στατιστική Ανάλυση	71
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ε. –ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	72
E1. Θεραπευτικές γραμμές στο ΠΜ	72
E2. Αποτελέσματα ασθενών που έλαβαν Λεναλιδομίδη-Δεξαμεθαζόνη	75
E3. Επίπεδα Cereblon ορού	79
E4. Επίπεδα ορού miR-16 και miR-21	91
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ζ. - ΣΥΖΗΤΗΣΗ	102

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	111
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	112
ABSTRACT	114
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	116

I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Α.

ΠΟΛΛΑΠΛΟΥΝ ΜΥΕΛΩΜΑ

Α1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το Πολλαπλούν Μυέλωμα (ΠΜ) είναι ένας νεοπλασματικός πολλαπλασιασμός πλασματοκυττάρων που παράγονται στον μυελό των οστών ο οποίος μπορεί να αναπτυχθεί σε πολλαπλές εστίες, Συνήθως σχετίζεται με παραπρωτεΐνη Μ στον ορό ή/και στα ούρα και ενδείξεις βλάβης οργάνων που σχετίζονται με τα νεοπλασματικά πλασματοκύτταρα. Ο μυελός των οστών είναι ο τόπος προέλευσης σχεδόν όλων των παθολογικών πλασματοκυττάρων και στις περισσότερες περιπτώσεις υπάρχει διάχυτη διήθηση του μυελού των οστών. Άλλα όργανα μπορεί να εμπλέκονται δευτερευόντως. Η ασθένεια εκτείνεται σε ένα κλινικό φάσμα από ασυμπτωματικό έως εξαιρετικά επιθετικό. (Swerdlow SH, et al. 2017)

Κλινικά εκδηλώνεται συνήθως με αναιμία, νεφρική ανεπάρκεια, οστεολύσεις ή παθολογικά κατάγματα και υπερασβεστιαμία (γνωστά με το ακρωνύμιο CRAB). Η ανάπτυξη της νόσου αποτελεί μια πολυπαραγοντική διαδικασία και περιλαμβάνει γενετικές αλλαγές τόσο στο ίδιο το πλασματοκύτταρο όσο και στο μικροπεριβάλλον και το στρώμα του μυελού των οστών. (Kumar et al.2017)

Παλαιότερα στους συμπτωματικούς ασθενείς η έναρξη θεραπευτικής αγωγής καθοριζόταν κυρίως από τις κλινικές εκδηλώσεις του CRAB. (Rajkumar et al. 2014) Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται εντυπωσιακή πρόοδος στην θεραπεία του πολλαπλού μυελώματος. Η 10ετής ή και μεγαλύτερης διάρκειας επιβίωση είναι πλέον πραγματικότητα για σημαντικό αριθμό ασθενών. (Kumar et al. 2017) Στο πλαίσιο αυτής της θεραπευτικής προόδου, η αύξηση των θεραπευτικών γραμμών δυσχεραίνει την επιλογή της κατάλληλης θεραπείας σε κάθε υποτροπή της νόσου κάνοντας επιτακτική ανάγκη την παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας των νέων παραγόντων και τη διερεύνηση προγνωστικών δεικτών που να συνδράμουν στην επιλογή «προσωποποιημένης» αγωγής, προβλέποντας τόσο την συνολική επιβίωση

και τον χρόνο έως την επόμενη γραμμή θεραπείας όσο και τη διάρκεια της ύφεσης των ασθενών ή την ανθεκτικότητα στη θεραπεία. (Kyrtsolis MC et al. 2012)

Διαχρονικά αναπτύχθηκαν συστήματα σταδιοποίησης της νόσου, όπως το σύστημα σταδιοποίησης κατά Durie και Salmon, το διεθνές σύστημα σταδιοποίησης (ISS) και το αντίστοιχο αναθεωρημένο (R-ISS) με στόχο το διαχωρισμό των ασθενών σε ομάδες χαμηλότερου, ενδιάμεσου ή υψηλού κινδύνου και την επιλογή της καταλληλότερης θεραπείας. Παράλληλα, διερευνήθηκε η προγνωστική αξία πολυάριθμων κλινικών και εργαστηριακών μεταβλητών.

Παρατηρήθηκε όμως, σε μικρό αριθμό ασθενών, ότι:

Υπάρχουν ασθενείς με δυσμενή χαρακτηριστικά που ανταποκρίνονται μακροχρόνια και αντίθετα ασθενείς χαμηλού κινδύνου που παρουσιάζουν επιθετική πορεία.

Πολλές νέες θεραπείες έχουν την ικανότητα να υπερνικούν τη δυσμενή επίδραση πολλών κατοχυρωμένων προγνωστικών δεικτών. Για παράδειγμα η αντιμετάθεση t(4;14), δεν θεωρείται πλέον τόσο επιβαρυντική αν λάβει ο ασθενής αναστολείς πρωτεασώματος. Ο μυελωματικός κλώνος μπορεί όμως να διαφύγει αναπτύσσοντας έναν υποκλώνο με άλλα χαρακτηριστικά.

Παρά την αδιαμφισβήτητη σημασία της επίτευξης πολύ ποιοτικής ύφεσης, υπάρχουν ασθενείς που σταθεροποιούνται μακροχρόνια χωρίς να είναι σε πλήρη ύφεση και αντίθετα ασθενείς MRD που υποτροπιάζουν σύντομα.

Αναδεικνύοντας την μεγάλη ετερογένεια της νόσου, την ανάγκη επαναξιολόγησης των προγνωστικών παραγόντων με τα νέα φάρμακα και ανεύρεσης νέων βιοδεικτών που να προβλέπουν την ανάπτυξη πιθανής αντοχής σε συγκεκριμένη θεραπεία για να γίνει έγκαιρα αλλαγή σε εναλλακτική αγωγή. Με γνώμονα τις παραπάνω παρατηρήσεις

Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν:

- Η εκτίμηση της προγνωστικής αξίας μοριακών, μικροδιαλυτών και κυτταρογενετικών δεικτών στο ΠΜ (π.χ CRBN), υπό το πρίσμα των νέων φαρμακευτικών παραγόντων καθώς και η εκτίμηση εντός κλινικής πρακτικής της αποτελεσματικότητας συγκεκριμένων νέων θεραπειών στο

ΠΜ όσον αφορά την γραμμή θεραπείας (πρωτοδιάγνωση, υποτροπή/ανθεκτικό μύλωμα), την ποιότητα και τη διάρκεια της ύφεσης.

- Η μέτρηση της έκφρασης των αλληλουχιών miRNAs σε ασθενείς με ΠΜ, η συσχέτιση τους με κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών και η διερεύνηση της προγνωστικής τους σημασίας.

A2. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Ο Samuel Solley ανέφερε την πρώτη καλά τεκμηριωμένη περίπτωση ΠΜ το 1844. (Kyle et al. 2000) Αρκετά χρόνια αργότερα, ο William Mac Intyre περιέγραψε και κατέγραψε τις ιδιότητες της ασθένειας που τώρα ονομάζουμε ΠΜ. Τόσο ο Δρ. MacIntyre όσο και ο Bence Jones σημείωσαν και περιέγραψαν μερικές από τις ιδιόμορφες ιδιότητες των ούρων αυτού του ίδιου ασθενούς. Ο όρος «πολλαπλό μυέλωμα» επινοήθηκε το 1873 από τον von Rustizky, ο οποίος περιέγραψε έναν παρόμοιο ασθενή τονίζοντας τους πολλαπλούς όγκους των οστών που υπήρχαν. Το 1889, ο καθηγητής Otto O Kahler περιέγραψε μια περίπτωση και δημοσίευσε μια σημαντική κριτική στην οποία περιέγραψε τον σκελετικό πόνο, την λευκωματουρία, την ωχρότητα, την αναιμία, μια κατακρημνιζόμενη πρωτεΐνη ούρων και ευρήματα στην νεκροψία που συνέδεαν αυτά τα ευρήματα ως μέρος ενός κλινικού συνδρόμου, το οποίο περιφεαφόταν τότε ως νόσος Kahler, που αποτελεί ένα άλλο όνομα για το ΠΜ.

Οι Blokhin et al. 1958 ανέφεραν οφέλη σε τρεις από τους έξι ασθενείς με ΠΜ που ελαβαν σαρκολυσίνη (ένα μίγμα των D- και L-ισομερών). Στη συνέχεια, δοκιμάστηκαν τα D- και L-ισομερή χωριστά, και η αντιμυελωματική δραστηριότητα βρέθηκε να βρίσκεται στο L-ισομερές, μελφαλάνη. Οι Bergsagel et al. 1967 ανέφεραν σημαντική βελτίωση σε 14 από τους 24 ασθενείς με ΠΜ με τη χρήση μελφαλάνης. Αυτή η δραστηριότητα τεκμηριώθηκε γρήγορα και από άλλες ομάδες. Παρόμοια αποτελεσματικότητα σημειώθηκαν με την κυκλοφωσφαμίδη. (Korst et al. 1964) Στη συνέχεια, η ιντερφερόνη (IFN)-α, η ανθρακυκλίνη, η ετοποσίδη, και σισπλατίνη αποτελούσαν τη βάση της θεραπείας για πολλά χρόνια. (Mellstedt et al. 1979, Alberts et al. 1975)

A3. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ –ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

1. Επιδημιολογία

Το ΠΜ είναι η 14^η πιο συχνή κακοήθεια, με επίπτωση 0,9% μεταξύ όλων των κακοηθειών. Αποτελεί νόσημα των ηλικιωμένων με διάμεση ηλικία εμφάνισης τα 69 έτη. Παρατηρείται υπεροχή εμφάνισης στους άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες, με επίπτωση 2.1/100.000 και 1.4/100,000, αντίστοιχα. Η θνητότητα αφορά στο 1.1 % μεταξύ όλων των κακοηθειών. Είναι πιο συχνό νόσημα στην Αφροαμερικανική φυλή σε σχέση την Καυκάσια φυλή. Εμφάνιση ΠΜ στα πλαίσια οικογενούς μορφής έχει περιγραφεί, ως περίπτωση αναφοράς. (SA Padala et al. 2021). Η επιβίωση των ασθενών έχει βελτιωθεί σημαντικά τις τελευταίες δύο δεκαετίες με την εισαγωγή των νεότερων παραγόντων από μερικούς μήνες που ήταν παλαιότερα έωςάνω των 10 ετών τη σημερινή εποχή.

2. Προδιαθεσικοί Παράγοντες

Η χρόνια περιβαλλοντική έκθεση σε χημικούς παράγοντες (π.χ βενζόλιο, μέταλλα, εντομοκτόνα) και η ιονίζουσα ακτινοβολία έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΠΜ. Πολλές ανασκοπήσεις και μεταanalύσεις δεν βρήκαν συσχέτιση μεταξύ της έκθεσης στο βενζόλιο και στην ανάπτυξη ΠΜ. Ασαφή δεδομένα υπάρχουν για την επίδραση της διατροφής, τη παχυσαρκία, το κάπνισμα, τη κατανάλωση αλκοόλ και την φυσική δραστηριότητα. Συγγενείς 1^{ου} βαθμού ασθενών με ΠΜ έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΠΜ, ωστόσο, αυτό δεν συμβαίνει με συγγενείς 2^{ου}, 3^{ου} βαθμού. (Becker et al. 2011).

A4. ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΠΟΛΛΑΠΛΟΥ ΜΥΕΛΩΜΑΤΟΣ

1. Η δημιουργία του κακοήθους κλώνου.

Ένα ώρο Β λεμφοκύτταρο διαφοροποιείται στον μυελό των οστών μετά από αναδιάταξη των γονιδίων της βαριάς και ελαφριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών. Μετά από την έκφραση στην επιφάνεια του της IgM ανοσοσφαιρίνης και την περαιτέρω ωρίμανση του, το κύτταρο μεταναστεύει ως πρόδρομο κύτταρο στα δευτερογενή λεμφικά όργανα όπου η διέγερση με αντιγόνα οδηγεί είτε στη διαφοροποίηση του σε πλασματοκύτταρα είτε σε ενεργοποιημένα Β λεμφοκύτταρα τα οποία εισέρχονται στο λεφοζιδιακό κέντρο των λεμφαδένων όπου εκεί υποβάλλονται σε υπερμεθυλίωση των γονιδίων της βαριάς και της ελαφριάς αλυσίδας . (Seidl et al. 2002)

Η τελευταία διαδικασία οδηγεί στην δημιουργία ενός πρόδρομου Β λεμφοκυτταρικού κλώνου όπου θα έχει γίνει αλλαγή της IgM ανοσοσφαιρίνης σε IgG, IgA και πιο σπάνια IgD, και IgE. Κάποια από τα πρόδρομα Β λεμφοκύτταρα, IgM θετικά, που έχουν υποστεί σωματικές μεταλλάξεις θα ξεφύγουν στην κυκλοφορία του αίματος ως Β λεμφοκύτταρα μνήμης. Με τον παραπάνω μηχανισμό θα έχουμε τη δημιουργία, ενός κλώνου Β λεμφοκυττάρων τα οποία θα επιστρέψουν στον μυελό των οστών. Ο κλωνικός αυτός πληθυσμός θα διαφοροποιηθεί περαιτέρω σε κλωνικά πλασματοκύτταρα και θα διηθήσει τον μυελό των οστών και θα προκαλέσει συμπτωματικό ΠΜ ή πρόδρομες μορφές ΠΜ , τη μονοκλωνική γαμμαπάθεια αδιευκρίνηστης σημασίας (MGUS) και το έρπον ΠΜ (SMM). Επομένως, τα μεταλλαξιογόνα γεγονότα που αφορούν το συμπτωματικό ΠΜ αφορούν τη δημιουργία περαιτέρω επιγενετικών και βιολογικών αλλαγών, οι οποίες συμβαίνουν στον μυελό των οστών. (Seidl et al. 2002)

Τα κλωνικά πλασματοκύτταρα έχουν πολλές φορές εκτεταμένες υπερμεταλλάξεις των γονιδίων αναδιάταξης ανοσοσφαιρινών, εκκρίνουν ανοσοσφαιρίνη διαφορετική από την IgM και παρουσιάζουν μεταλλάξεις στο γονίδιο IgH. Τα παραπάνω γεγονότα υποδηλώνουν ότι το κύτταρο έχει εξέλθει από το βλαστικό κέντρο του λεμφαδένα, δηλαδή πρόκειται για μια μεταλεμφοζιδιακή διαδικασία προέλευσης του κλώνου

πλασματοκυττάρων εφόσον δεν βρίσκεται υπό την επίδραση του μηχανισμού σωματικών υπερμεταλλάξεων. (Seidl et al. 2002)

Στην σπάνια περίπτωση όπου έχουμε IgM ΠΜ η διαδικασία δημιουργίας του κλώνου έχει ξεκινήσει πριν αμέσως γίνει αλλαγή των ισοτύπων ανοσοσφαιρινών (προ εξαλλαγής του Β λεμφοκύτταρο) και άρα η δημιουργία του κλώνου έχει γίνει προ - λεμφοζιδιακά. (Seidl et al. 2002)

2. Το μικροπεριβάλλον στο Πολλαπλούν Μυέλωμα

Οι ιδιότητες του μικροπεριβάλλοντος στο ΠΜ επιτρέπουν τη διεύθυνση, ανάπτυξη, πολλαπλασιασμό, προσκόλληση και μετανάστευση των κυττάρων του ΠΜ, ενώ παρέχουν δομικά και θρεπτικά συστατικά για την επικράτηση των κλωνικών πλασματοκυττάρων. Εκτός από την παροχή ενός βέλτιστου υποστρώματος στο ΠΜ, το μικροπεριβάλλον μπορεί να παρέχει ενεργοποιημένους φλεγμονώδεις παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων και των κυτταροκινών, χημειοκινών, λιποκινών (π.χ. λιπονεκτίνη και λεπτίνη) και αυξητικούς παράγοντες όπως: (π.χ. IL-6, IGF-1, VEGF, TNF- και SDF-1) οι οποίοι εκκρίνονται από τα μακροφάγα, ουδετερόφιλα και άλλα κύτταρα στον μυελό. Αυτοί οι παράγοντες στη συνέχεια υποστηρίζουν την ανάπτυξη του κακοήθους κυττάρου, την αντοχή σε φαρμακευτικούς παράγοντες και την κυτταροτοξικότητα των υγιών κυττάρων του μυελού. (Fairfield et al. 2016)

Οι ασθενείς με ΠΜ έχουν διαταραχή της ισορροπίας οστεοβλαστών – οστεοκλαστών με εξάντληση των οστεοβλαστών προς όφελος του πολλαπλασιασμού και της ενεργοποίησης των οστεοκλαστών που απορροφούν τα οστά (Terpos et al. 2018)

Τα κλωνικά πλασματοκύτταρα ακολουθούν διαφορετικές οδούς μέσα στον μυελό όπως και στην εξωμυελική νόσο. (Redondo –Munoz et al. 2019) Αν και δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητό, τα πλασματοκύτταρα χρησιμοποιούν τα κολλοειδή του μυελού των οστών για να εισέλθουν και να διηθήσουν τον μυελό. (Chu et al. 2013) Μεταξύ άλλων ανοσολογικών αποκρίσεων, η αλληλεπίδραση του υποδοχέα χημειοκίνης CXCR4 και του υποδοχέα CXCL12 είναι απαραίτητη για την προσκόλληση και εγκατάσταση των κακοήθων κυττάρων στον μυελό των οστών όπως περιγράφεται στην **Εικόνα 1**. (Nie et al. 2004)

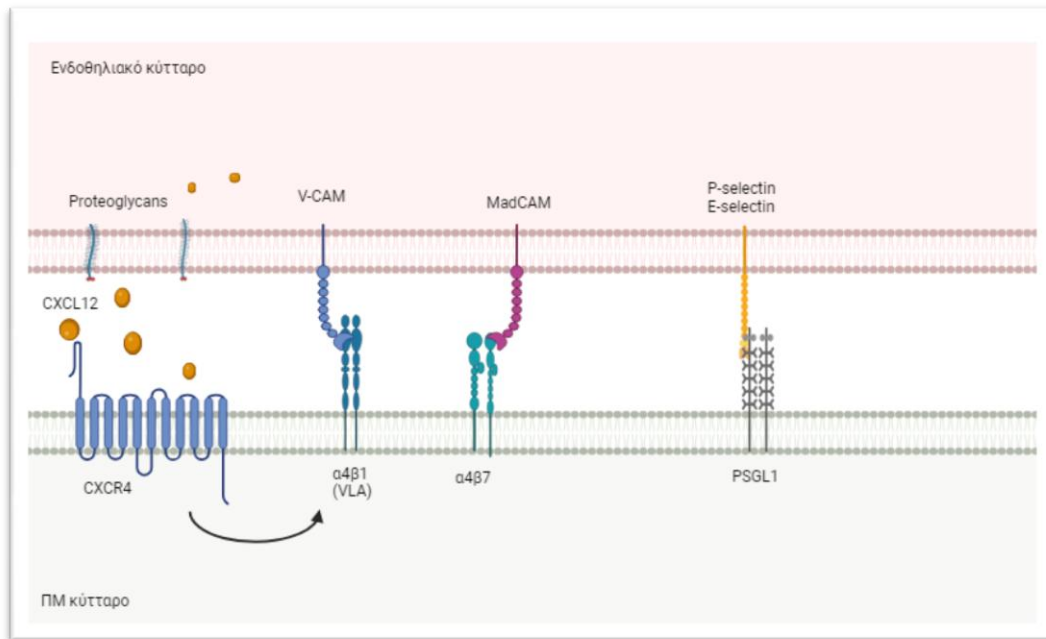
Δύο άλλα σημαντικά μόρια προσκόλλησης είναι η ιντεγκρίνη $\alpha 4\beta 7$ (υποδοχέας της πρωτεϊνης MAdCAM-1 και της ινωδονεκτίνης), και το CD44 (γλυκοπρωτεΐνη προσκόλλησης στον μυελο). (Neri et al. 2011, Hurt et al. 2004, Asosingh et al. 2001) Επιπλέον, στην προσκόλληση κυττάρων ΠΜ στο μικροαγγειακό σύστημα του ΜΟ συμβάλλουν οι P και E- σελεκτίνες και οι συνδέτες τους. Έτσι, ο συνδέτης της γλυκοπρωτεΐνης P-σελεκτίνης 1 (PSGL-1) εκφράζεται στην επιφάνεια των ΠΜ κυττάρων, παίζοντας βασικό ρόλο στις πολύ αρχικές αλληλεπιδράσεις των κυττάρων του ΠΜ με τα ενδοθηλιακά κύτταρα του ΜΟ, διευκολύνοντας την κύλιση κακοήθων πλασματοκυττάρων στην P-σελεκτίνη που εκφράζεται από το μικροαγγειακό σύστημα. Η εμπλοκή της E-σελεκτίνης κατά τη διάρκεια της εγκατάστασης των ΠΜ κυττάρων στον ΜΟ, έχει αποδειχθεί χρησιμοποιώντας αναστολείς της σιαλυλοτρανσφεράσης ST3Gal-6, ενός ενζύμου που απαιτείται για τη δημιουργία των προσδετών της E-σελεκτίνης, και από αντισώματα που μπλοκάρουν την E-σελεκτίνη. (Snapp et al. 1998, Azab et al. 2012, Natoni et al. 2020, Martinez-Moreno et al. 2016)

Μέσα στο περιβάλλον του μυελού, η $\alpha 4\beta 1$ ιντεγκρίνη είναι επίσης σημαντική καθώς αλληλεπιδρά με την VCAM -1 και την ινωδονεκτίνη. (Martinez-Moreno et al. 2016) Η αλληλεπίδραση αυτή με τη συνοδό συμμετοχή της IL 6, πυροδοτεί τα μυελωματικά κύτταρα στην διέγερση, την ανάπτυξη τους, την αντίσταση σε φαρμακευτικούς παράγοντες (Lokhorst et al. 1994, Damiano et al. 1999). Σε αυτό το στάδιο, η προσκόλληση των κυττάρων του ΠΜ στο μικροπεριβάλλον του μυελού διευκολύνεται επίσης από την εξαρτώμενη προσκόλληση των $\alpha 4\beta 7$ - και CD44-, συμβάλλοντας συνολικά στη διατήρηση των ΠΜ κυττάρων στον μυελό. (Neri et al. 2011, Hurt et al. 2004)

Στην εξωμυελική νόσο του ΠΜ, περιλαμβάνεται η έξοδος των μυελωματικών κυττάρων από το μυελό στην κυκλοφορία του αίματος για να αποικίσουν διάφορα όργανα, μόλις ανεξαρτητοποιηθούν από τα αυξητικά σήματα που παρέχονται από το περιβάλλον του μυελού, οδηγώντας σε εξωμυελική νόσο. (Ghobrial et al. 2012) Ελαττωμένη έκφραση και λειτουργία του CXCR4 αποτελεί ένα πιθανό υποψήφιο γεγονός που προκαλεί μείωση στη συγκράτηση των ΠΜ κυττάρων που σχετίζεται με την έξοδο από τον μυελό. Επιπλέον, ο ανασταλτικός παράγοντας της μετανάστευσης των μακροφάγων παράγοντας (MIF) είναι επίσης ικανός να δεσμεύει τον CXCR4 (Tarnowski et al. 2010) και η καταστολή του προκαλεί μειωμένη προσκόλληση των

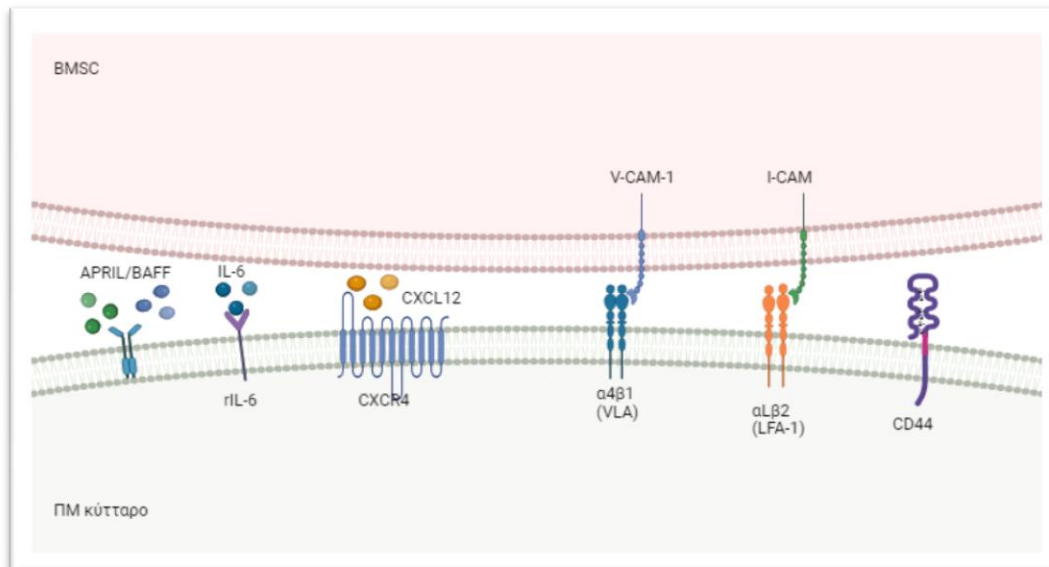
κυττάρων του MM στο στρώμα του μυελού με αποτέλεσμα την εξωμυελική νόσο (Zheng et al. 2016).

Ο υποδοχέας της χημειοκίνης CCR1 εκφράζεται επίσης στα ΠΜ κύτταρα (Moller et. al. 2003) και η έκφρασή του σχετίζεται με αυξημένα κυκλοφορούντα μυελωματικά κύτταρα. Είναι ενδιαφέρον ότι ο προσδέτης του CCR1, ο CCL3 ανέστειλε τη μετανάστευση των ΠΜ κυττάρων, γεγονός που εγείρει την πιθανότητα ότι ο άξονας CCL3-CCR1 μπορεί ενεργά να προκαλούν την έξοδο των κυττάρων από τον μυελό, πιθανά αν ανταγωνίζονται τα σήματα προσκόλλησης από την αλληλεπίδραση CXCR4-α4β1. (Vandyke et al. 2017)

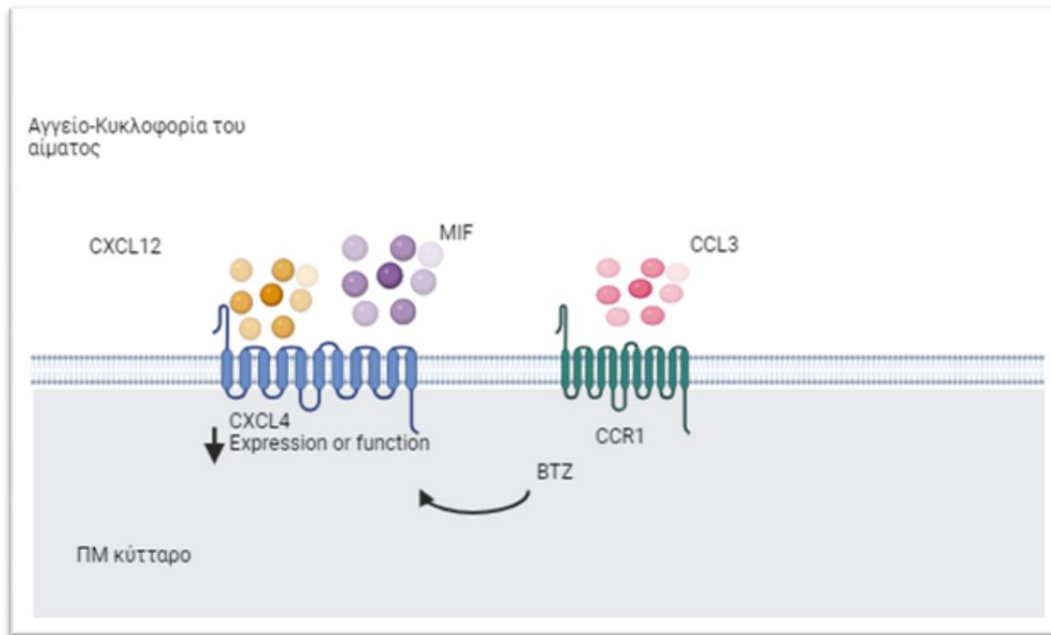


Εικόνα 1. Συμβάντα διακίνησης κακοήθων πλασματοκυττάρων στην ανάπτυξη του ΠΜ:

Η αλληλεπίδραση της χημειοκίνης CXCL12 με το CXCR4 υποδοχέα, μεσολαβεί στην υποδοχή, την εναπόθεση και την διατήρηση τόσο των φυσιολογικών όσο και των κακοήθων πλασματοκυττάρων στον μυελό. Η CXCL12–CXCR4 αλληλεπίδραση ενισχύει τη δραστηριότητα της ιντεγκρίνης $\alpha 4\beta 1$, επιτρέποντας την υψηλή δέσμευση στον συνδέτη της VCAM-1 που εκφράζεται στο μικροαγγειακό περιβάλλον του μυελού. Άλλα σημαντικά μόρια προσκόλλησης είναι η ιντεγκρίνη $\alpha 4\beta 7$, ένας υποδοχέας για την μόριο MAdCAM-1 και την ινωδονεκτίνη, και ο PSGL-1 που αλληλεπιδρά με P- και E-σελεκτίνη που εκφράζονται στο ενδοθήλιο.



Εικ. 2 Επιβίωση και πολλαπλασιασμός κυττάρων MM: Μέσα στο περιβάλλον του ΜΟ, μεσεγχυματικά -στρωματικά κύτταρα ΜΟ (BMSC) εκκρίνουν υψηλά επίπεδα CXCL12 που, μαζί με τις ιντεγκρίνες $\alpha 4\beta 1$, $\alpha 4\beta 7$ και $\alpha L\beta 2$, καθώς και το CD44, είναι σημαντικά για την αγκύρωση και διατήρηση των κυττάρων MM στις «φωλιές» του μυελού. Κατά τη διάρκεια αυτού του σταδίου, η επιβίωση και ο πολλαπλασιασμός των κακοήθων πλασματοκυττάρων καθορίζεται από δύο κύριους διαλυτούς μεσολαβητές, έναν συνδέτη που επάγει τον πολλαπλασιασμό (APRIL) και τον παράγοντα ενεργοποίησης Β-κυττάρων (BAFF), που δεσμεύουν το αντιγόνο ωρίμανσης Β-κυττάρων (BCMA) στην επιφάνεια του καρκινικού κυττάρου και την IL-6, της οποίας ο υποδοχέας εκφράζεται επίσης στα κλωνικά πλασματοκύτταρα.



Εικ.3 Εξωμυελική νόσος: Σε αυτό το πλαίσιο, τα καρκινικά κύτταρα γίνονται ανεξάρτητα από το μικροπεριβάλλον και η λειτουργία ή έκφραση του CXCR4 μειώνεται, ένα συμβάν που εμφανίζεται επίσης μετά τη θεραπεία με βορτεζομίμη. Ο ανασταλτικός παράγοντας μετανάστευσης μακροφάγων (MIF) μπορεί επίσης να συνδεθεί με το CXCR4, προκαλώντας την έκφραση μορίων προσκόλλησης. Η έκφραση του υποδοχέα χημειοκίνης CCR1 σχετίζεται με τα κυκλοφορούντα πλασματοκύτταρα στο αίμα.

3. Οι Μυελικές «Φωλιές» στο Πολλαπλούν Μυέλωμα

Τα πλασματοκύτταρα απαιτούν εξωγενείς παράγοντες για τη μετανάστευση και την επιβίωσή τους στο μυελό. (Chu et al. 2013) Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, τα μεσεγγυματικάστρωματικά κύτταρα στον μυελό εκκρίνουν υψηλά επίπεδα CXCL12, σημαντικός υποδοχέας για την προσέλκυση και την εναπόθεση πλασματοκυττάρων CXCR4+ Έτσι, τα πλασματοκύτταρα από χιμαιρικά ποντίκια που ανασυστάθηκαν με εμβρυϊκά ηπατικά κύτταρα με έλλειψη CXCR4 απέτυχαν να συσσωρευτούν στον μυελό των οστών (Hargreaves et al. 2001) και η έλλειψη του CXCR4 στα ώριμα B κύτταρα οδήγησε σε σοβαρή μείωση των πλασματοκυττάρων στον μυελό. (Tokoyoda et al. 2004)

Οι υποδοχείς προσκόλλησης παρέχουν προσκόλληση των πλασματοκυττάρων στο μικροαγγειακό σύστημα του μυελού, καθώς και τη συγκράτηση τους σε κατάλληλες θέσεις. Η φωσφατάση Shp ενεργοποιεί την ιντεγκρίνη $\alpha 4\beta 1$ στα πλασματοκύτταρα, διεγείροντας την επιστροφή τους στον μυελό μέσω της κυτταρικής προσκόλλησης στην πρωτεΐνη VCAM-1 (Li et al. 2014) Ο αποκλεισμός των ιντεγκρινών $\alpha 4\beta 1$ και $\alpha L\beta 2$ (ονομάζονται επίσης LFA-1) οδηγεί σε εξάντληση των μονοκλωνικών πλασματοκυττάρων από τον μυελό (Minges et al. 2002, DiLillo et al. 2008). Η ινωδονεκτίνη φιλοξενεί ένα μοτίβο δέσμευσης $\alpha 4\beta 1$ που ονομάζεται CS-1 (Pulido et al. 1991), και έχει επίσης αποδειχθεί ότι παρέχει προσκόλληση των πλασματοκυττάρων και επιβίωση στον μυελό (Nguyen et al. 2018).

Ακόμη, απαιτούνται αρκετοί διαλυτοί μεσολαβητές για την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των πλασματοκυττάρων σε κατάλληλες «φωλιές» μυελού συμπεριλαμβανομένης της IL-6, καθώς και των συνδετών του αντιγόνου ωρίμανσης B-κυττάρων (BCMA): ένας συνδέτης που επάγει τον πολλαπλασιασμό (APRIL) και ένας παράγοντας ενεργοποίησης κυττάρων B (BAFF) (Chu et al. 2013, Nutt et al. 2015). Διαφορετικά είδη κυττάρων παρέχουν τους παραπάνω παράγοντες στα πλασματοκύτταρα.

Πρόσφατα, βρέθηκε ότι είναι η IL-6 που παράγεται κυρίως από περιαγγειακά κύτταρα στον ΜΟ αλλά από άλλα μεσεγγυματικά στρωματικά κύτταρα μπορεί επίσης

να συμβάλει στην έκφραση της IL-6, ειδικά κατά την επαφή με πλασματοκύτταρα. Τόσο η IL-6 όσο και η APRIL παράγονται επίσης από ηωσινόφιλα, το οποίο προτάθηκε ότι είναι που απαιτούνται για τη διατήρηση των πλασματοκυττάρων στη θέση BM. Ωστόσο, άλλες δύο αναφορές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα ηωσινόφιλα δεν χρειάζονται για την επιβίωση των πλασματοκυττάρων στο MO. Τα μεγακαρυοκύτταρα είναι επίσης πηγή IL-6 και APRIL στον μυελό, και συγκεκριμένα, τα ποντίκια με ανεπάρκεια *cmpl* (ρυθμιστής της παραγωγής μεγακαριοποίησης) μεγακαρυοκυττάρων εμφανίζουν μείωση του αριθμού των πλασματοκυττάρων, (Winte et al. 2010) υποδεικνύοντας ότι τα μεγακαρυοκύτταρα είναι κρίσιμα συστατικά της «φωλιάς» των πλασματοκυττάρων στον μυελό.

Τα στρωματικά κύτταρα του μυελού και η εξωκυττάρια συστατικά είναι απαραίτητα για τη δημιουργία προ-μεταστατικών «φωλεών», οι οποίες προσελκύουν και διατηρούν τα εισερχόμενα καρκινικά κύτταρα. Κατά την εναπόθεση, τα κακοήθη κύτταρα μετασχηματίζουν τοπικά τον φαινότυπο της «φωλιάς» μέσω τροποποίησης στην απελευθέρωση κυτοκινών και αυξητικών παραγόντων μέσω αναδιαμόρφωσης τις αλληλεπιδράσεις κυττάρου-κυττάρου που προκαλούνται από υποδοχείς προσκόλλησης, εκπαιδεύοντας τελικά τη δική τους ανάπτυξη και επιβίωση σε βάρος της υπόλοιπης κυτταρικής κοινότητας του μικροπεριβάλλοντος. (Hoggat et al. 2016) Η παρουσία γενετικών μεταλλάξεων στα στρωματικά κύτταρα του μυελού έχει προταθεί για τη δημιουργία μιας τοπικής περιοχής μυελού με επιλεκτική πίεση ανάπτυξης υπέρ των καρκινικών κυττάρων. (Hoggat et al. 2016) Επιπλέον, δεδομένα αποκαλύπτουν ότι η επαγωγή από τα στρωματικά κύτταρα του μυελού, ενός φλεγμονώδους μικροπεριβάλλοντος συμβάλλει στην ανάπτυξη κακοήθων κυττάρων (Mendez-Ferrer et al. 2020, Ghobrial et al. 2018)

Πειραματικά στοιχεία υποδηλώνουν ότι τα καρκινικά κύτταρα ανταγωνίζονται με τα φυσιολογικά αιμοποιητικά κύτταρα για την κατάληψη των «φωλεών» (Colmone et al. 2008, Boyd et al. 2014, Akinduro et al. 2018) αν και φαίνεται να γίνονται ανεξάρτητα από τον έλεγχο της «φωλιάς» που έχει επιλεγθεί κατά την εξέλιξη της νόσου. Τα ΠΜ κύτταρα πιθανότατα χρησιμοποιούν πανομοιότυπα κυτταρικά και εξωκυτταρικά συστατικά στο μικροπεριβάλλον MO όπως τα φυσιολογικά πλασματοκύτταρα για να αναζητήσουν και να αναπτύξουν μια ευνοϊκή θέση. Ένα περιβάλλον πλούσιο σε CXCL12 είναι μια πιθανή θέση για την έλξη και τη διατήρηση των ΠΜ κυττάρων CXCR4+. Συγκεκριμένα, ο αποκλεισμός της

αλληλεπίδρασης CXCL12-CXCR4 προκαλεί απελευθέρωση κυττάρων ΠΜ στην κυκλοφορία. (Alsayed et al. 2007, Azab et al. 2009) Επομένως, τα μεσεγχυματικά στρωματικά κύτταρα που εκφράζουν το CXCL12, θα πρέπει να θεωρούνται συστατικά των «φωλεών» των ΠΜ κυττάρων. Επιπλέον, παρόμοια με τα φυσιολογικά πλασματοκύτταρα, τα κύτταρα του ΠΜ αγκυροβολούνται σε «φωλεές» μυελού όπου εκφράζονται συνδέτες για τις ιντεγκρίνες $\alpha 4\beta 1$ και $\alpha 5\beta 1$, καθώς και για το CD44. (Anderson et al. 2011, Bianchi et al. 2015)

Κατά τη σταθεροποίηση των κακόηθων κυττάρων σε μία «φωλιά» στο μυελό, τα κλωνικά πλασματοκύτταρα επαναπρογραμματίζουν το τοπικό μικροπεριβάλλον, είτε με άμεση επαφή με στρωματικά, ενδοθηλιακά ή οστεογενή κύτταρα, είτε με διέγερση υποστηρικτικών κυτοκινών για τα ΠΜ κύτταρα και ακόμη διευκολύνοντας την ανοσολογική διαφυγή. (Mendez-Ferrer et al. 2020, Ghobrial et al. 2018) Αυτές οι αποκρίσεις παρέχουν περαιτέρω σήματα επέκτασης στα κακόηθη κύτταρα, τα οποία σταδιακά γίνονται ανεξάρτητα από την αρχική κανονική υποστήριξη της «φωλιάς» τους, οδηγώντας στη δημιουργία ενός ευνοϊκού μικροπεριβάλλοντος. Τα κύτταρα του ΠΜ μπορούν με αυτόν τον τρόπο να δράσουν σε απόσταση για να προετοιμάσουν περαιτέρω προμεταστατικές θέσεις για τη επέκταση του όγκου σε άλλες περιοχές των οστών, απελευθερώνοντας κυτοκίνες, αυξητικούς παράγοντες και εξωσώματα που αναδιαμορφώνουν την εξωκυττάρια ουσία σε αυτές τις νέες θέσεις (Bianchi et al. 2015, Wortzel et al. 2019, Roccaro et al. 2013, Kawano et al. 2015).

Οι άμεσες επαφές μεταξύ των ΠΜ κυττάρων και του περιβάλλοντος στρώματος διεγείρουν διάφορες οδούς σηματοδότησης όπως PI3K/Akt, MAPK, Wnt και Notch και την επαγωγή της σηματοδότησης NF- κ B, οδηγώντας σε ενίσχυση έκφρασης των IL-6, VEGF, IGF-1 και GDF15, καθώς και αυξημένη έκφραση αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών (Lokhorst et al. 1994, Anderson et al. 2011, Bianchi et al. 2015, Kuehl et al. 2012, Gupta et al. 2001, Tanno et al. 2014).

Εκτός από τα μη αιμοποιητικά κυτταρικά συστατικά, το μικροπεριβάλλον του μυελού περιλαμβάνει αιμοποιητικά κύτταρα που μπορεί να έχουν αντικαρκινικές λειτουργίες όπως T κύτταρα και κύτταρα NK ή δραστηριότητα που προάγει τον όγκο συμπεριλαμβανομένων μακροφάγων, κατασταλτικών κυττάρων που προέρχονται της μυελικής σειράς (MDSCs) και ρυθμιστικών T κυττάρων (Bianchi et al. 2015, Kawano et al. 2015, Nakamura et al. 2020, Hoyos et al. 2016, Cohen et al. 2020). Οι

πολύπλοκες σχέσεις μεταξύ των κυττάρων του ΠΜ και των κυτταρικών συστατικών, των εξωσωμάτων, του ECM και των διαλυτών παραγόντων του μικροπεριβάλλοντος, δημιουργούν συνολικά ένα επιτρεπτό περιβάλλον που ευνοεί την ανάπτυξη των ΠΜ κυττάρων και την εξέλιξη της νόσου.

4. Ανοσολογικοί Μηχανισμοί στο ΠΜ

Το ανοσοκατασταλτικό μικροπεριβάλλον που δημιουργείται από ελλιπή παρουσίαση αντιγόνων, δυσλειτουργία κυττάρων του ανοσοποιητικού (π.χ. μακροφάγα, NK κύτταρα), πολλαπλασιασμό ανοσοκατασταλτικών κυτταρικών πληθυσμών και υψηλά επίπεδα ανοσοκατασταλτικών διαλυτών παραγόντων επιτρέπει στο κακοήθες πλασματοκύτταρο να διαφύγει από τους μηχανισμούς ανοσοεπιτήρησης. (**Garcia-Ortizetal. 2021**) (**Εικόνα 2**)

Τα μακροφάγα M1 δρουν ως παράγοντας έναντι κατά του όγκου και παράγουν προφλεγμονώδεις κυτοκίνες, μονοξειδίο του αζώτου (NO) και δραστικά είδη οξυγόνου (ROS) και ενεργούν ως αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APC) που ενεργοποιούν την ανοσολογική απόκριση. Τα ΠΜ κύτταρα και τα μεσεγχυματικά στρωματικά κύτταρα του ΜΟ (BMSCs) παράγουν τις χημειοκίνες CXCL12, CCL2, CCL3 και CCL14, οι οποίες προάγουν την πόλωση και τη μετανάστευση των μακροφάγων M2 στη θέση όγκου, διαταράσσουν με αυτό τον τρόπο την αναλογία M1/M2 προς τον πληθυσμό M2. Τα μακροφάγα M2 διαδραματίζουν προ-ογκικό ρόλο στην έκκριση ανοσοκατασταλτικών παραγόντων όπως η IL-10, ο TGF-β1 και η αργινάση-1 και παράγοντες νεοαγγείωσης όπως ο VEGF και ο FGF-2. Τα M2 μακροφάγα δρουν ως προστατευτικά των ΠΜ κυττάρων μέσω της έκφρασης σελεκτινών και LFA-1 στην επιφάνεια των μακροφάγων, η οποία δεσμεύεται στο PSGL-1 και στο ICAM-1 στο πλασματοκύτταρο, αντίστοιχα. Τα μαστοκύτταρα, αν και έχουν αρχικά ογκοκτόνο δράστη, εκκρίνουν IL-6 που προάγει την ανάπτυξη των κυττάρων του ΠΜ. Τα μυελοειδή δενδριτικά κύτταρα (mDCs) προάγουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του ΠΜ και την επιβίωση μέσω αλληλεπιδράσεων κυττάρου-κυττάρου με κύτταρα όγκου μέσω CD80/CD86-CD28 και έκκριση της IL-3. Επιπλέον, τα μυελοειδή κατασταλτικά κύτταρα (MDSCs) επάγουν την έκκριση κυτοκινών όπως CCL5, MIP-1α και IL-6 από τα κακοήθη πλασματοκύτταρα και ρυθμίζουν τις αποκρίσεις των κυτταροτοξικών Τ κυττάρων. Τα τελευταία με τη σειρά

τους αναστέλλουν τις λειτουργίες των ενεργοποιημένων T κυττάρων και ενεργοποιούν τα ρυθμιστικά T κύτταρα (Treg). Άλλα σήματα που προάγουν την επέκταση των κυττάρων Treg είναι η IFN-I, που παράγεται από ΠΜ κύτταρα και η δραστηριότητα της ινδολεαμίνης 2, 3-διοξυγενάσης (IDO) που ταυτόχρονα αναστέλλει τα ενεργοποιημένα T κύτταρα. Κυτταροκίνες που παράγονται από τα Tregs, όπως IL-10 και TGF-β, μαζί με άλλα σήματα από τα κύτταρα του ΠΜ, εξασθενούν τη λειτουργία των ενεργοποιημένων T κυττάρων. Τα λεμφοκύτταρα Th17 είναι επίσης παρόντα στο μυελό σε ασθενείς με ΠΜ και προάγουν την ανάπτυξη όγκου μέσω έκκρισης IL-17. Η κυτταροτοξική δραστηριότητα των NK κυττάρων ρυθμίζεται κατά την εξέλιξη της νόσου από τις κυτταροκίνες και διαλυτούς παράγοντες (π.χ. το σύμπλεγμα ιστοσυμβατού κλάσης 1 που σχετίζεται με την αλυσίδα A-sMICA) που εκκρίνονται από ΠΜ κύτταρα που προκαλούν μείωση στους υποδοχείς ενεργοποίησης και αύξηση των ανασταλτικών υποδοχέων (KIR-killer immunoglobulin-like receptors).

A5. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΠΜ

Η διάγνωση του ΠΜ έχει εξελιχθεί κατά τη διάρκεια των ετών. Το 1973, τέθηκαν οι κατευθυντήριες οδηγίες για τη διάγνωση του ΠΜ από την Ομάδα Εργασίας Λευχαιμίας Μυελώματος. Τα κριτήρια αυτά αντικαταστάθηκαν από τα διαγνωστικά κριτήρια το 2003 τα οποία αναθεωρήθηκαν περαιτέρω το 2015. Οι διαφορές αυτών αφορούν κυρίως τους ορισμούς του MGUS, SMM και συμπτωματικού ΠΜ. (Rajkumar et al. 2014).

Ο Πίνακας 1 συνοψίζει τα κριτήρια για την διάγνωση του ΠΜ.

Πίν 1. Διαγνωστικά Κριτήρια ΠΜ

Οι ασθενείς με ΠΜ θα πρέπει να πληρούν και τα 2 κριτήρια ^a

1. Κλωνικά πλασματοκύτταρα μυελού των οστών $\geq 10\%$ ή βιοπτικό υλικό οστικού ή εξωμυελικού πλασματοκυττάρματος.

Οποιοδήποτε ή περισσότερα από ένα από τα ακόλουθα συμβάντα που καθορίζουν το μυέλωμα:

2. CRAB: Στοιχεία βλάβης του τελικού οργάνου που μπορεί να αποδοθεί στα υποκείμενα πλασματοκύτταρα, συγκεκριμένα

- Υπερασβεστιαιμία: ασβέστιο ορού $>0,25$ mmol/L (>1 mg/dL) υψηλότερο από το ανώτερο φυσιολογικό όριο ή $>2,75$ mmol/L (>11 mg/dL)
- Νεφρική ανεπάρκεια: κάθαρση κρεατινίνης <40 mL/min ή κρεατινίνη ορού >177 μ mol/L (>2 mg/dL)
- Αναιμία: τιμή αιμοσφαιρίνης >2 g/dL κάτω από το κατώτερο φυσιολογικό όριο ή τιμή αιμοσφαιρίνης <10 g/dL
- Οστικές βλάβες: μία ή περισσότερες οστεολυτικές βλάβες στην απλή ακτινογραφία, αξονική τομογραφία ή Τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων-CT

Άλλο συμβάν που καθορίζει το ΠΜ (προσθήκη το 2014):

- ✓ Ποσοστό διήθησης του μυελού των οστών από κλωνικά πλασματοκύτταρα $\geq 60\%$
 - ✓ Η αναλογία εμπλεκόμενης: μη εμπλεκόμενης ελαφριάς αλυσίδας (FLC) ≥ 100 (το επίπεδο εμπλεκόμενου FLC πρέπει να είναι ≥ 100 mg/l)
 - ✓ >1 εστιακές αλλοιώσεις σε μελέτες μαγνητικής τομογραφίας (μεγέθους τουλάχιστον 5 mm)
-

a: αν και τα 2 κριτήρια δεν πληρούνται τότε πιθανή διάγνωση είναι MGUS, SMM ή αμυλοείδωση ελαφρών αλύσεων. (Rajkumar SV et al. 2014)

A6. ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΜ

Αναιμία

Το πιο κοινό κλινικό χαρακτηριστικό της MM είναι η αναιμία και η οποία ορίζεται ως Hb < 10 g/dl και τιμή χαμηλότερη κατά 2 g/dl της του κατώτατου φυσιολογικού ορίου του εκάστοτε εργαστηρίου. Τιμή Hb < 12g/dl παρατηρείται στο 40-73% και αδυναμία στο 82% των ασθενών. (Riccardi et al. 1991, Kyle et al. 2003) Η αναιμία είναι ορθόχρωμη ορθοκυτταρική στους περισσότερους ασθενείς, αλλά μπορεί επίσης να παρατηρηθεί μακροκυττάρωση.

Σχετίζεται εν μέρει με την άμεση διήθηση του μυελού των οστών από τα κλωνικά πλασματοκύτταρα. Η συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης συσχετίζεται άμεσα με το ποσοστό των ΠΜ κυττάρων στη φάση S, υποδηλώνοντας ότι το μικροπεριβάλλον των κυτταροκινών του μυελού, δεν ευνοεί την αποτελεσματική ερυθροποίηση. (Fossa et al. 1999) Ακόμη, κυτταροκίνες όπως ο παράγοντας νέκρωσης όγκου-α (TNF-α) και η ιντερλευκίνη (IL)-1, μπορούν να αναστείλουν την ερυθροποίηση. (Musto et al. 1997) Ο συνδέτης -Fas, που σχετίζεται με την απόπτωση των ερυθρών ως μεσολαβητής, είναι αυξημένος σε ασθενείς με ΠΜ. (Silvestris et al. 2002) Τέλος, σχετική ανεπάρκεια ερυθροποιητίνης παρατηρείται λόγω της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας από το ΠΜ η οποία συμβάλλει στην ανάπτυξη αναιμίας.

Υπερασβεστιαμία

Υπερασβεστιαμία εμφανίζεται στο 18% έως 30% των ασθενών. Περίπου το 13% έχει συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 11 mg/dL. Ποσοστά υπερασβεστιαμίας κατά την διάγνωση έχουν μειωθεί τις τελευταίες δεκαετίες, ίσως λόγω της πρόωμης διάγνωσης στα πλαίσια ελέγχου ρουτίνας. (Riccardi et al. 1991, Kyle et al. 2003) Οι ασθενείς με υπερασβεστιαμία μπορεί να παραπονούνται για κόπωση δυσκοιλιότητα, ναυτία ή σύγχυση. Το ασβέστιο λόγω απέκκρισης από τα ούρα μπορεί να επιδεινώσει τη νεφρική λειτουργία. Επιθετική ενυδάτωση, όσο η καρδιακή λειτουργία το επιτρέπει, μαζί με διφωσφονικά με βάση τη νεφρική λειτουργία και την οδοντιατρική υγιεινή του ασθενούς, είναι επαρκή για την αποκατάσταση της τιμής του ασβεστίου.

Νεφρική Ανεπάρκεια

Περίπου το 25% των ασθενών με ΠΜ έχουν τιμή κρεατινίνης ορού μεγαλύτερη από 2mg/dL κατά τη διάγνωση. Ένα άλλο 25% έχει ήπια αυξημένες τιμές κρεατινίνης. (Riccardi et al. 1991, Kyle et al. 2003) Ασθενείς με ΠΜ ελαφρών αλύσεων και πιο συχνά λ-ελεύθερες αλυσίδες ή IgD ΠΜ έχουν τα υψηλότερα ποσοστά νεφρικής ανεπάρκειας. Παράγοντες που συμβάλλουν στη νεφρική ανεπάρκεια που σχετίζεται με το ΠΜ περιλαμβάνουν την υπερασβεστιαμία, αφυδάτωση, υπερουριχαιμία και τη χρήση νεφροτοξικών φαρμάκων.

Εάν η νεφρική ανεπάρκεια αντιστραφεί με τη θεραπεία όπως συμβαίνει στην πλειονότητα των περιπτώσεων η επιβίωση είναι 4 έως 7 φορές υψηλότερη σε σχέση με εκείνους που δεν βελτιώνουν την νεφρική λειτουργία. (Blade et al. 1998) Οι παράγοντες που προβλέπουν την αποκατάσταση της νεφρικής λειτουργίας περιλαμβάνουν λιγότερη κρεατινίνη ορού από 4 mg/dL, τιμή ασβεστίου ορού μεγαλύτερη από 11,5 mg/dL, πρωτεϊνουρία μικρότερη από 1 g/24ωρο, επαρκής ενυδάτωση, (Blade et al. 1998). Η εναπόθεση στα νεφρικά σωληνάκια της μονοκλωνικής ελαφριάς αλυσίδας ανοσοσφαιρίνης δημιουργεί κύλινδρους (casts). Οι κύλινδροι (casts) περιέχουν αλβουμίνη και πρωτεΐνη Tamm-Horsfall. Σε μελέτες αυτοψιών, έχει ακόμη βρεθεί διήθηση από πλασματοκύτταρα και αμυλοειδές σε ποσοστό 5-10% των περιπτώσεων. (Kyle et al. 2003)

Ένα σημαντικό χαρακτηριστικό της νεφρικής δυσλειτουργίας στο ΠΜ είναι ότι αφορά κυρίως βλάβη σωληναριακή, παρά σπειραματική. (DeFronzo et al. 1978) Η λειτουργία των σπειραμάτων διατηρείται αρχικά, και υπάρχει υπεροχή ελαφρών αλύσεων στα ούρα σε σχέση με την μη ειδική πρωτεϊνουρία στις σπειραματοπάθειες. Μη ειδική απώλεια πρωτεΐνης (π.χ κυρίως αλβουμίνη) είναι περισσότερο συμβατή με αμυλοειδωση ή νόσο εναπόθεσης ελαφρών αλύσεων (Light Chain Deposition Disease-LCDD) του νεφρού, ή πρωτεΐνη μη σχετιζόμενη με πλασματοκυτταρική δυσκρασία ενώ υπεροχή απώλειας ελαφρών αλύσεων είναι πιο συμβατή με βλάβη του νεφρού οφειλόμενη στο ΠΜ. (Hill et al 1983)

Οστική Νόσος

Η οστική νόσος στο ΠΜ αφορά το 1/3 έως και 2/3 (Riccardi et al. 1991, Kyle et al. 2003) των ασθενών οι οποίοι μπορεί να αναφέρουν οστικό άλγος, αρθραλγίες ενώ κάποιοι ασθενείς παρουσιάζουν αυτόματα κατάγματα γεγονός που καθιστά την οστική νόσο σοβαρή αιτία νοσηρότητας. Η ανάπτυξη της οστικής νόσου βασίζεται στη διαταραχή οστεοβλαστών και οστεοκλαστών. Φαίνεται ότι υπάρχει αύξηση του αριθμού των οστεοκλαστών στο ΠΜ ήδη πριν αυτό διαγνωστεί, σε περιπτώσεις MGUS. (Silvestris et al. 2007)

Η αξονική τομογραφία χαμηλής δόσης (Low Dose CT) και η Μαγνητική Τομογραφία μπορούν να διακρίνουν συγκεκριμένες οστεολύσεις στο 40% των ασθενών με ΠΜ σταδίου I. (Laroche et al. 1996) Η Low Dose CT φαίνεται να μπορεί να διακρίνει τη διαταραχή της δοκιδώδους αρχιτεκτονικής του οστού, το οποίο είναι σημαντικό για τις συχνές περιπτώσεις όπου πρέπει να διαφοροποιηθεί η οστεοπόρωση και τα συμπιεστικά κατάγματα από την μυελωματική προσβολή του οστού. (Lecouvet et al. 2001) Η MRI χρησιμοποιείται στα διαγνωστικά κριτήρια, με την ανεύρεση έστω και μιας λυτικής εστίας > 5mm, γεγονός που την καθιστά ιδανική για διερεύνηση μικρών λυτικών εστιών ενώ είναι ιδανική για την ανεύρεση πλασματοκυττωμάτων. (Moulopoulos et al. 1993). Ακόμη, η MRI μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως προγνωστικό δείκτης για την εκτίμηση της ελάχιστης υπολλειματικής νόσου (MRD). (Kumar et al. 2016)

Το PET-CT μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί σε ασθενείς με ΠΜ κατά τη διάγνωση και την υποτροπή, ανιχνεύοντας εκτός από την οστική νόσο και την εξωμυελική νόσο ενώ αποτελεί σημαντικό προγνωστικό εργαλείο. (Bredella et al. 2004) Το FDG-PET/CT έχει ευαισθησία και ειδικότητα σε ποσοστά αντίστοιχα 84-92% και 83-100 %, αντίστοιχα. Ένα μειονέκτημα του PET scan είναι η μη ικανότητα να ανιχνεύει μικρές λυτικές εστίες (<1cm). (Bredella et al. 2004, Schirrmeister et al. 2002, Cavo et al. 2017)

Μονοκλωνική Ανοσοσφαιρίνη (M- πρωτεΐνη)

Η μονοκλωνική ανοσοσφαιρίνη ή M πρωτεΐνη ή αλλιώς παραπρωτεΐνη είναι χαρακτηριστικό γνώρισμα της νόσου. Ανίχνευση αυτής γίνεται με ηλεκτροφόρηση

πρωτεϊνών ορού ή ανοσοκαθήλωση του ορού ή των ούρων. Μη απέκκριση της μονοκλωνικής ανοσοσφαιρίνης από τον ορό ή τα ούρα χαρακτηρίζεται ως μη εκκριτικό ΠΜ και αντιπροσωπεύει το 1-3 % των ασθενών. Ο τύπος ανοσοσφαιρίνης μπορεί να είναι IgG, IgA, IgD και ελεύθερη ελαφριά αλυσίδα (Bence Jones ΠΜ) στο 52%, 20%, 2% και 16% των περιπτώσεων, αντίστοιχα. (Kyle et al. 2003) Λιγότερο από 1% των ΠΜ είναι IgM. Μελέτες σε ασιατικούς πληθυσμούς (Κινέζοι) φαίνεται να έχουν τα μεγαλύτερα ποσοστά IgD ΠΜ. Περίπου το 90% των ασθενών με MM έχουν μείωση τουλάχιστον μίας από τις μη εμπλεκόμενες ανοσοσφαιρίνες τους.

Λοιμώξεις

Ασθενείς με ΠΜ έχουν αυξημένο κίνδυνο για λοιμώξεις ενώ αποτελεί σημαντική αιτία θανάτου των ασθενών. (Jacobson et al. 1986, Paradisi et al. 2001) Πνευμονίες από *streptococcus pneumoniae* and *haemophilus influenzae* και λοιμώξεις ουροποιητικού από *E.Coli* είναι οι πιο συχνές. (Shaikh et al. 1982). Η ευπάθεια σχετίζεται με τη φάση της νόσου με τους περισσότερους ασθενείς να τις εμφανίζουν τέσσερις φορές πιο συχνά όταν η νόσος είναι ενεργή. (Hargreaves et al. 1995) Ασθενείς υπό θεραπεία κατά κανόνα λαμβάνουν αντική , αντιμυκητιασική και αντιβακτηριδιακή προφυλακτική αγωγή.

Με την εισαγωγή των νέων θεραπειών (μονοκλωνικά αντισώματα, αμφιδικά, CAR-T) φαίνεται να υπάρχει μια τάση αύξησης πιο σπάνιων και άτυπων λοιμώξεων σε σχέση με το σύνθητες στην κλινική πρακτική. Η χορήγηση αντιμικροβιακών παραγόντων είναι αμφιλεγόμενη στην Ευρώπη ενώ προτείνεται η χορήγηση αντιβιομικροβιακών φαρμάκων από τη διάγνωση ή κατά τη χορήγηση αμφιδικών αντισωμάτων ή θεραπεία με CAR-T κύτταρα από τις οδηγίες της Αμερικής (NCCN).

Κατόπιν μελέτων η χορήγηση γ-σφαιρινών (IVIG) προτείνεται σε ασθενείς με ιστορικό σοβαρών λοιμώξεων ή κατά τη χορήγηση αμφιδικών αντισωμάτων ή θεραπεία με CAR-T. Τέλος, η πρόληψη των λοιμώξεων με εμβολιασμό αποτελεί μια

ελκυστική μέθοδο αντιμετώπισης ωστόσο, λόγω της ανοσοπάρεσης, η ανοσιακή απάντηση μπορεί να είναι πτωχή. Συστήνεται στους ασθενείς εμβολιασμός σύμφωνα με το πρόγραμμα εμβολιασμού από τις διοικούσες αρχές της εκάστοτε χώρας.

Άλλες Επιπλοκές

Σημαντική επιπλοκή του ΠΜ είναι η συμπίεση νωτιαίου μυελού η οποία συμβαίνει πιο σπάνια από παλαιότερα, πιθανά λόγω των νεότερων φαρμακευτικών παραγόντων και των νεότερων απεικονιστικών μεθόδων. Άλλες επιπλοκές περιλαμβάνουν την ανάπτυξη Μυελοδυσπλαστικού Συνδρόμου/Οξεία Μυελογενή Λευχαιμία (MDS/AML) με τους ασθενείς που ελάμβαναν μελφαλάνη να έχουν πιθανότητα 3% ανάπτυξης στα 5 χρόνια. Φυσικά, σήμερα η επίπτωση ανάπτυξης MDS/AML είναι σημαντικά μειωμένη.

A7. ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗΣ

Διαχρονικά τα κριτήρια ανταπόκρισης του ΠΜ έχουν αλλάξει με βάση την εισαγωγή νέων τεχνικών αξιολόγησης της νόσου. Η πρώτη χρησιμοποίηση ενός διεθνούς συναινετικού ορισμού της ανταπόκρισης του ΠΜ ήταν τα κριτήρια της IBMTR/ABMTR. (Blade et al. 1998) Μετά από σχεδόν 8 χρόνια χρήσης, σημειώθηκαν ελλείψεις και ανάγκη νέων κριτηρίων. Οπότε η IMWG εξέδωσε νέους ορισμούς όπου εισήγαγαν την πολύ καλή μερική ανταπόκριση (VGPR) (Durie et al. 2006) τη δυνατότητα μέτρησης της ανταπόκρισης χρησιμοποιώντας το ελαφριά αλυσίδα χωρίς ανοσοσφαιρίνη ορού και μια νέα κατηγορία «αυστηρής πλήρης ανταπόκρισης», η οποία απαιτούσε τεκμηρίωση της απουσίας κλωνικότητας του μυελού των οστών και μια φυσιολογική αναλογία μεταξύ των ελαφρών αλυσίδων. Πιο πρόσφατα, μοριακές και υψηλής ευαισθησίας τεχνικές κυτταρομετρίας ροής έχουν έχει ενσωματωθεί στις κατηγορίες ανταπόκρισης μαζί με την απεικονιστική ανταπόκριση. Τα κριτήρια ανταπόκρισης στο ΠΜ συνοψίζονται στον **Πίνακα 2.** (Kumar et al. 2016)

Πιν. 2. Κριτήρια Ανταπόκρισης MRD στο ΠΜ.

Κριτήρια MRD (όλες οι καταστάσεις MRD απαιτούν επίσης ελάχιστο κριτήριο την ανταπόκριση CR)

Παρατεταμένη αρνητική MRD

Αρνητικότητα MRD στον μυελό (NGF ή NGS ή και τα δύο) και με απεικόνιση όπως ορίζεται παρακάτω, επιβεβαιωμένη ελάχιστη απόσταση 1 έτους μεταξύ τους

Ροή MRD αρνητική με Κυτταρομετρία ροής (Flow)

Απουσία φαινοτυπικά ανώμαλου κλωνικού πληθυσμού πλασματοκυττάρων με ανάλυση NGF με ελάχιστη ευαισθησία 1 στα 10^5 κύτταρα ή υψηλότερη (EuroFlow ή επικυρωμένη ισοδύναμη μέθοδος)

Αρνητική MRD αλληλούχισης

Απουσία κλωνικού πληθυσμού πλασματοκυττάρων από το NGS χρησιμοποιώντας την πλατφόρμα LymphoSIGHT (ή επικυρωμένη ισοδύναμη μέθοδος) με ελάχιστη ευαισθησία 1 στα 10^5 κύτταρα ή μεγαλύτερη

Απεικόνιση και MRD-αρνητικότητα

Αρνητικότητα MRD όπως ορίζεται από NGF ή NGS συν αρνητικό PET/CT (ή μείωση σε λιγότερο SUV του μεσοθωρακίου)

Τυπικά κριτήρια IMWG

Αυστηρό CR

CR όπως ορίζεται παρακάτω και αναλογία ελευθέρων ελαφρών αλύσεων (FLC) και απουσία διήθησης μυελού από κλωνικά BMPC και στην ανοσοϊστοχημεία (αναλογία κ/λ $\leq 4:1$ ή $\geq 1:2$ για κ και λ ασθενείς, αντίστοιχα, μετρώντας ≥ 100 πλασματοκύτταρα)

Πλήρης ανταπόκριση

Αρνητική ανοσοκαθίλωση στον ορό και τα ούρα και εξαφάνιση οποιουδήποτε πλασματοκυττώματος ιστών και $< 5\%$ πλασματοκύτταρα στον μυελού των οστών

Πολύ Καλή Μερική Ύφεση

M-πρωτεΐνη ορού και ούρων ανιχνεύσιμη με ανοσοκαθίλωση αλλά όχι με ηλεκτροφόρηση ή $\geq 90\%$ μείωση του επιπέδου M-πρωτεΐνης ορού και του επιπέδου M-πρωτεΐνης ούρων < 100 mg/24 h

Μερική Ύφεση

- $\geq 50\%$ μείωση της πρωτεΐνης M ορού και μείωση της πρωτεΐνης M των ούρων κατά $\geq 90\%$ ή σε < 200 mg/24 h.
- Εάν η πρωτεΐνη M του ορού και των ούρων δεν δύναται να μετρηθούν, μια μείωση $\geq 50\%$ μεταξύ εμπλεκόμενων και μη επιπέδων FLC
- Κριτήρια M-πρωτεΐνης;
Εάν η M-πρωτεΐνη ορού και ούρων δεν δύναται να μετρηθεί, και οι FLC είναι επίσης αφύνατο να μετρηθεί, απαιτείται μείωση $\geq 50\%$ στα πλασματοκύτταρα αντί της M-πρωτεΐνης, με την προϋπόθεση ότι το βασικό ποσοστό BMPC ήταν $\geq 30\%$. Εκτός από αυτά τα κριτήρια, εάν υπάρχει κατά την έναρξη, μια μείωση $\geq 50\%$ στη διαμετρο των πλασματοκυττωμάτων μαλακών ιστών είναι επίσης απαραίτητο.

Ελάχιστη ανταπόκριση

- $\geq 25\%$ αλλά $\leq 49\%$ μείωση της πρωτεΐνης M ορού και μείωση της πρωτεΐνης ούρων 24 ώρου κατά 50%-89%. Επιπλέον, εάν υπάρχει κατά την έναρξη, $\geq 50\%$ μείωση του της διαμέτρου πλασματοκυτταρωμάτων μαλακών ιστών

Σταθερή Νόσος

Δεν πληρεί κριτήρια για πλήρη απόκριση, πολύ καλή μερική απόκριση, μερική ανταπόκριση, ελάχιστη ανταπόκριση ή προοδευτική νόσο

Προοδευτική νόσος

Οποιοδήποτε ή περισσότερα από τα ακόλουθα κριτήρια:

-
- Αύξηση κατά 25% από τη χαμηλότερη επιβεβαιωμένη τιμή απόκρισης σε ένα ή περισσότερα από τα ακόλουθα κριτήρια:
 - Μ-πρωτεΐνη ορού (η απόλυτη αύξηση πρέπει να είναι $\geq 0,5$ g/dL).
 - Αύξηση της πρωτεΐνης Μ ορού ≥ 1 g/dL, εάν το χαμηλότερο συστατικό Μ ήταν ≥ 5 g/dL.
 - Πρωτεΐνη Μ ούρων (η απόλυτη αύξηση πρέπει να είναι ≥ 200 mg/24 h).
 - Σε ασθενείς χωρίς μετρήσιμα επίπεδα πρωτεΐνης Μ ορού και ούρων, η διαφορά μεταξύ εμπλεκόμενων και μη επιπέδων FLC (η απόλυτη αύξηση πρέπει να είναι >10 mg/dL);
 - Σε ασθενείς χωρίς μετρήσιμα επίπεδα πρωτεΐνης Μ ορού και ούρων και χωρίς μετρήσιμα εμπλεκόμενα επίπεδα FLC, ποσοστό BMPC ανεξάρτητα από τη βασική γραμμή κατάσταση (η απόλυτη αύξηση πρέπει να είναι $\geq 10\%$).
 - Εμφάνιση μιας νέας βλάβης(ων), $\geq 50\%$ αύξηση από το ναδίρ σε SPD >1 βλάβη, ή
 - $\geq 50\%$ αύξηση στη μεγαλύτερη διάμετρο προηγούμενης βλάβης >1 cm σε βραχύ άξονα.
 - $\geq 50\%$ αύξηση στα κυκλοφορούντα πλασματοκύτταρα (τουλάχιστον 200 κύτταρα/ μ L) εάν αυτό είναι μόνο μέτρο της ασθένειας

Κλινική Υποτροπή

Ένα ή περισσότερα από τα ακόλουθα κριτήρια:

Άμεσοι δείκτες αυξανόμενης νόσου ή/και δυσλειτουργίας των τελικών οργάνων (CRAB χαρακτηριστικά) που σχετίζονται με το ΠΜ.

Ανάπτυξη νέων πλασματοκυτταρωμάτων μαλακών ιστών ή οστικών βλαβών (οστεοπορωτικές τα κατάγματα δεν αποτελούν εξέλιξη).

Σίγουρη αύξηση του μεγέθους των υπαρχόντων πλασματοκυτταρωμάτων ή οστικών βλαβών. Μια σίγουρη αύξηση ορίζεται ως αύξηση 50% (και ≥ 1 cm) όπως μετράται σειριακά από το SPD της μετρήσιμης βλάβης.

- Υπερασβεστιαμία (>11 mg/dL);
- Μείωση της αιμοσφαιρίνης ≥ 2 g/dL που δεν σχετίζεται με τη θεραπεία ή άλλες μη σχετιζόμενες
- συνθήκες;
- Αύξηση της κρεατινίνης ορού κατά 2 mg/dL ή περισσότερο από την έναρξη της θεραπείας και που αποδίδεται στο μυέλωμα.
- Υπεργλυκόζη που σχετίζεται με την παραπρωτεΐνη ορού

Υποτροπή από CR

Οποιοδήποτε ή περισσότερα από τα ακόλουθα κριτήρια:

- Επανεμφάνιση Μ-πρωτεΐνης ορού ή ούρων με ανοσοκαθίλωση ή ηλεκτροφόρηση.
 - Ανάπτυξη $\geq 5\%$ πλασματοκυττάρων στο μυελό των οστών.
-

-
- Εμφάνιση οποιουδήποτε άλλου σημείου εξέλιξης (δηλαδή, νέο πλασματοκύττωμα, λυτικό οστό βλάβη ή υπερασβεστιαμία, βλέπε παραπάνω)
 - Υποτροπή από MRD αρνητικότητα
-

Υποτροπή από MRD Αρνητική

Πληρεί τα κριτήρια για υποτροπή από CR ή απώλεια αρνητικής κατάστασης MRD

(Kumar et al. 2016)

Όλες οι κατηγορίες απαντήσεων απαιτούν δύο διαδοχικές αξιολογήσεις που γίνονται ανά πάσα στιγμή πριν ξεκινήσετε οποιαδήποτε νέα θεραπεία; για την MRD, δεν χρειάζονται δύο διαδοχικές αξιολογήσεις, αλλά πληροφορίες για την MRD μετά από κάθε μία λαμβάνεται υπόψιν το στάδιο της θεραπείας (π.χ. μετά την εισαγωγή, θεραπεία υψηλής δόσης/ASCT, συντήρηση). Οι δοκιμές MRD θα πρέπει να διενεργούνται μόνο τη στιγμή της υποψίας πλήρους ανταπόκρισης. Ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να δοθεί στην εμφάνιση διαφορετικής μονοκλωνικής πρωτεΐνης μετά τη θεραπεία, ειδικά σε περιπτώσεις ασθενών που έχουν επιτύχει πλήρη ανταπόκριση, που συχνά σχετίζεται με εμφάνιση μονοκλωνικής IgGκ σε ασθενείς που λαμβάνουν μονοκλωνικά αντισώματα θα πρέπει να διαφοροποιούνται από το θεραπευτικό αντίσωμα. (Kumar et al. 2016)

A8. ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η θεραπεία του ΠΜ βασίζεται σε κατηγορίες φαρμακευτικών παραγόντων και πιο συγκεκριμένα αυτές περιλαμβάνουν

➤ *Αναστολείς Πρωτεασώματος (PIs)*

Οι αναστολείς πρωτεασώματος αποτελούν βασική θεραπεία στο ΠΜ τις τελευταίες δεκαετίες. Η βορτεζομίμη είναι ένας αναστολέας πρωτεασώματος πρώτης γενιάς που χρησιμοποιείται κατά τη διάγνωση και στην υποτροπή στο ΠΜ. ΡΙ νεότερης γενιάς αποτελεί η καρφιλοζομίμη και από του στόματος χορηγούμενο φάρμακο, η ιξαζομίμη.

Το 90% του πρωτεϊνικού κύκλου πραγματοποιείται μέσω του συστήματος ουβικουιτίνης του πρωτεασώματος (Lecker et al. 2006). Δεδομένου ότι τα κακοήθη πλασματοκύτταρα κύτταρα είναι εξαιρετικά εκκριτικά, εξαρτάται από αυτά η ικανότητα απόρριψης μη αναδιπλωμένων και συσσωματωμένων πρωτεϊνών μέσω πρωτεασωμικής αποδόμησης. Στην αποδόμηση πρωτεϊνών από το πρωτεάσωμα, τα φυσιολογικά και τα κακοήθη κύτταρα εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από την πρωτεϊνική απόκριση αναδίπλωσης (UPR) για τη διασφάλιση της σωστής αναδίπλωσης και ανανέωσης της πρωτεΐνης (Lecker et al. 2006) Πρωτεασώματα είναι πρωτεολυτικά σύμπλοκα που αποικοδομούν ουβικιτυλιωμένες πρωτεΐνες και αποτελούνται από ένα 20S καταλυτικό σωματίδιο και ένα ρυθμιστικό σωματίδιο 19S. Υπάρχουν τρεις διακριτές καταλυτικές θέσεις εντός του σωματιδίου 20S: Μία θέση παρόμοια με χυμοθρυψίνη στην υπομονάδα β5, μία θέση παρόμοια με θρυψίνη στη β2 υπομονάδα και μια θέση παρόμοια με κασπάση στην υπομονάδα β1 (Kubiczkova et al. 2014)

Οι ΡΙ είναι βραχεία δομικά πεπτίδια που συνδέονται με μία από τις καταλυτικές θέσεις. Η βορτεζομίμη και η ιξαζομίμη συνδέονται αναστρέψιμα στη θέση που μοιάζει με χυμοθρυψίνη. Αντίθετα, η καρφιλοζομίμη δεσμεύεται μη αναστρέψιμα και με πολύ υψηλότερη συγγένεια με τη β5 ενεργή θέση και επίσης συνδέεται με χαμηλότερη συγγένεια με την θρυψίνη όπως επίσης με τις ενεργές θέσεις που μοιάζουν με κασπάση (Kubiczkova et al. 2014, Besse et al. 2019). Η αναστολή του πρωτεασώματος οδηγεί σε υπερβολική συσσώρευση πρωτεϊνών εντός των ΠΜ

κυττάρων, με αποτέλεσμα παρατεταμένο, μη επιλύσιμο στρες στο ενδοπλασματικό δίκτυο λόγω συσσώρευσης των μη αποδομημένων πρωτεϊνών και την απόπτωση τελικά των κυττάρων. (Lee et al 2003, Obeng et al. 2006).

➤ *Ανοσοτροποποιητικά Φαρμακα (IMiDs)*

Η εισαγωγή των IMiD είναι εξίσου σημαντική με αυτή των PIs στη θεραπεία του ΠΜ τα τελευταία 20 χρόνια. Το πρώτο IMiD, η θαλιδομίδη, χρησιμοποιήθηκε αρχικά ως αντιεμετικό για εγκύους, αλλά δυστυχώς είχε τερατογόνες επιδράσεις. Αργότερα ανακαλύφθηκε ότι είναι κυτταροτοξικό για τα μυελωματικά κύτταρα και επαναχρησιμοποιήθηκε για τη θεραπεία στο ΠΜ. Λόγω ορισμένων ανεπιθύμητων παρενεργειών, η θαλιδομίδη έχει σε μεγάλο βαθμό αντικατασταθεί από πιο αποτελεσματικά και ανεκτά παράγωγα της θαλιδομίδης. Μια χημική τροποποίηση οδήγησε στη παραγωγή της λεναλιδομίδης, δεύτερης γενιάς ανοσοτροποποιητικό φάρμακο. Συνδυασμός δομικών στοιχείων τόσο της θαλιδομίδης όσο και της λεναλιδομίδης σχημάτισαν την πομαλιδομίδη (Sehgal et al. 2015). Η λεναλιδομίδη αποτελεί βασικό παράγοντα στη θεραπεία του ΠΜ σήμερα καθώς είναι μέρος των πολλών συνδυασμών θεραπειών κατά τη διάγνωση, στην υποτροπή διάγνωσης και ως συντήρηση.

➤ *Ανοσοθεραπείες*

Οι ανοσοθεραπείες έχουν γίνει πρόσφατα ο βασικός άξονας της θεραπείας στο ΠΜ. Το 2015, ο FDA ενέκρινε τη μονοθεραπεία με δαρατουμουμάμπη και συνδυαστική θεραπεία με βάση την ελοτουζουμάμπη για το υποτροπιάζον/ ανθεκτικό ΠΜ (RRMM). Η δαρατουμουμάμπη έχει από τότε εγκριθεί σε αρκετά συνδυαστικά σχήματα στην πρωτοδιάγνωση και στην υποτροπή. Ένα άλλο μονοκλωνικό αντίσωμα αντι-CD38, το isatuximab, έχει επίσης εγκριθεί για θεραπεία RRMM σε συνδυασμό με πομαλιδομίδη και δεξαμεθαζόνη. Τα προϊόντα T-κυττάρικών υποδοχέων (CAR), διειδικά αντισώματα (bispecifics) και συζεύξεις φαρμάκων αντισωμάτων (ADCs) φαίνονται πολλά υποσχόμενα και δίνονται είτε σε κλινικές δοκιμές είτε σε πολυανθεκτικούς ασθενείς, όπως αναλύουμε.

Η δαρατουμουμάμπη είναι ένα ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα που δεσμεύεται στην επιφάνεια των πλασματοκυττάρων μέσω του δείκτη CD38 (Lokhorst et al. 2015). Δρα μέσω πολλαπλών κυτταροτοξικών μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένης της εξαρτώμενης από αντίσωμα κυτταροτοξικότητας (ADCC), εξαρτώμενης από το συμπλήρωμα κυτταροτοξικότητα (CDC), εξαρτώμενη από αντισώματα κυτταρική φαγοκυττάρωση (ADCP) και άμεση επαγωγή κυτταρικού θανάτου (De Weers et al. 2010, Overdijk et al. 2015). Το Isatuximab στοχεύει σε ένα σαφώς διαφορετικό επίτοπο του CD38 (Overdijk et al. 2016). Η ελοτουζουμάμπη στοχεύει τον αντι-σηματοδοτικό δείκτη ενεργοποίησης λεμφοκυττάρων F7(SLAMF7), ο οποίος εκφράζεται σε περισσότερο από το 95% των MM κυττάρων (Lonial et al. 2015) Σηματοδότηση του SLAMF7 ενεργοποιεί επίσης τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων NK, έτσι η επίδραση του elotuzumab τονίζεται μέσω ενεργοποίησης των NK κυττάρων. Η δαρατουμουμάμπη είναι διαθέσιμη για ενδοφλέβια και υποδόρια χορήγηση ενώ η ισατουξιμάμπη μόνο για ενδοφλέβια χορήγηση.

Θεραπεία ΠΜ κατά τη διάγνωση (NDMM)

- **Κατάλληλοι για ASCT**

Οι ασθενείς που παρουσιάζουν συμπτωματικό μύελωμα λαμβάνουν θεραπεία 1^{ης} γραμμής και στην συνέχεια αφού επιτύχουν ικανοποιητική ύφεση και είναι κατάλληλοι για μεταμόσχευση, ακολουθεί αυτόλογη μεταμόσχευση (ASCT). Ένα από τα πρώτα βήματα στην αξιολόγηση των ασθενών με ΠΜ κατά τη διάγνωση είναι να καθοριστεί εάν είναι υποψήφιοι για ASCT, με βάση την ηλικία και τις συννοσηρότητες τους.

Συστήνεται από τις Ευρωπαϊκές κατευθυντήριες οδηγίες (ESMO), για fit ασθενείς με NDMM, ηλικίας <70 ετών, χωρίς συννοσηρότητες, θεραπεία 1^η γραμμής ακολουθούμενη από θεραπεία υψηλής δόσης με ASCT και στη συνέχεια συντήρηση με λεναλιδομίδη. Ωστόσο, πρέπει να σημειωθεί ότι η προχωρημένη ηλικία δεν είναι απόλυτη αντένδειξη για μεταμόσχευση. (Dimopoulos et al. 2021)

Συνδυασμός τριών φαρμάκων, συμπεριλαμβανομένης τουλάχιστον βορτεζομίμπης και δεξαμεθαζόνης, υπήρχε ως πρότυπο λογικής για πολλά χρόνια. Ο

συνδυασμός βορτεζομίμπης, θαλιδομίδης, δεξαμεθαζόνης (VTD) στην 1^η γραμμή έδειξε καλύτερα ποσοστά ανταπόκρισης έναντι του σχήματος βορτεζομίμπης , κυκλοφωσφαμίδης και δεξαμεθαζόνης (VCD) με κόστος υψηλότερου ποσοστού περιφερικής νευροπάθειας. Οι συνδυασμοί του VCD και ο συνδυασμός βορτεζομίμπης, δοξορουβικίνης και δεξαμεθαζόνης (PAd) ήταν εξίσου αποτελεσματικοί όσον αφορά την ανταπόκριση ωστόσο, το σχήμα VCD ήταν λιγότερο τοξικό. Σε μελέτες με ένα σκέλος, ο συνδυασμός βορτεζομίμπης, λεναλιδομίδης και δεξαμεθαζόνης (VRd) παράγαγε υψηλά ποσοστά VGPR, CR και MRD αρνητικότητας καθώς και παρατεταμένο PFS. Ωστόσο, δεν υπάρχει σύγκριση μεταξύ VTD και VRd στην 1^η γραμμή. Υπάρχει μόνο μια ολοκληρωμένη ανάλυση τριών τυχαιοποιημένων κλινικών μελετών που παρουσιάστηκαν σε περίληψη μόνο, οι οποίες έδειξαν ότι το VRd παράγει υψηλότερα ποσοστά VGPR και αυξημένα ποσοστά αρνητικής MRD σε σύγκριση με το VTD. (Dimopoulos et al. 2021)

Η εισαγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων και ειδικά της Δαρατουμουμάμπης (Dara) , στην πρώτη γραμμή θεραπείας έχει αλλάξει το τοπίο αντιμετώπισης του ΠΜ. Στη μελέτη φάσης III CASSIOPEIA, δόθηκαν 4 κύκλοι με VTD (n ¼ 542) σε σύγκριση με 4 κύκλους VTD και Dara (DaraVTD) (n ¼543); Οι ασθενείς στη συνέχεια έλαβαν ASCT ακολουθούμενη από συντήρηση. Το PFS στους 18 μήνες έδειξε υπεροχή του DaraVTD έναντι του VTD (93% έναντι 85%, P <0.0001). Ο συνδυασμός Dara με VRd (DaraVRd) είχε καλύτερα αποτελέσματα. Στην τυχαιοποιημένη μελέτη φάσης II GRIFFIN, 207 ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν για να λάβουν VRdDara (4 κύκλοι), ASCT στη συνέχεια VrdDara (2 κύκλοι) και συντήρηση με λεναλιδομίδη και Dara (26 κύκλοι). Τα ποσοστά PFS 24 μηνών ήταν 95,8% για το DaraVRd και 89,8%για VRd. (Dimopoulos et al. 2021)

Η αντικατάσταση της βορτεζομίμπης με τον αναστολέα πρωτεασώματος δεύτερης γενιάς (PI) καρφιλζομίμπη (K) οδήγησε σε υψηλό παρατεταμένο ποσοστό αρνητικότητας MRD στην καρφιλζομίμπη,λεναλιδομίδη και δεξαμεθαζόνη (KRd) σε σύγκριση με το VRd, ειδικά σε ασθενείς με υψηλό R-ISS. Δεν υπάρχει άμεση σύγκριση μεταξύ VRd και KRd στους NDMM ασθενείς που είναι κατάλληλοι για ASCT· ωστόσο, στην κλινική δοκιμή ENDURANCE, η οποία περιελάμβανε ποσοστό <30% που έλαβαν ASCT, δεν υπήρχε καμία διαφορά PFS μεταξύ των δύο σχημάτων. Με βάση τα παραπάνω δεδομένα, το VRd κατέληξαν ότι είναι πιθανό να προσφέρει το καλύτερο προφίλ κινδύνου-οφέλους μέχρι σήμερα μεταξύ συνδυασμών τριπλέτας.

Ο συνδυασμός τεσσάρων φαρμάκων DaraVTD είναι πιο αποτελεσματικός από το VTD αλλά λείπουν οι συγκρίσεις έναντι του DaraVRd ή VRd [αυτά τα σχήματα δεν έχουν εγκριθεί από τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (EMA)]. Η έγκριση του EMA του DaraVTD το καθιστά μία νέα προσοδοφόρα επιλογή για νέους ασθενείς πριν από ASCT. Συγκρίνονται νέες μελέτες που βρίσκονται σε εξέλιξη DaraVRd έναντι VRd, DaraVCD έναντι VTD ή συνδυασμοί με νέα mAb όπως τα IsaVRd, IsaKRd ή EloVRd που θα αποκαλύψουν το καλύτερο θεραπευτικό σχήμα επαγωγής στο μέλλον. (Dimopoulos et al. 2021)

- **Μη κατάλληλοι για ASCT**

Πριν από το 2019, το σχήμα βορτεζομίμης, μελφαλάνης και πεδνιζολόνης (VMP) και το σχήμα Λεναλιδομίδης –δεξαμεθαζόνης (Rd) ήταν σχήματα που χρησιμοποιούνταν σε ασθενείς με διάγνωση ΠΜ που δεν ήταν κατάλληλοι για ASCT στην Ευρώπη. Μια δοκιμή φάσης III που συγκρίνει το VRd με το Rd σε 525 ασθενείς με NDMM (43% ήταν νεότεροι των 65 ετών ηλικία) έδειξε την υπεροχή του VRd (mPFS: 41 έναντι 29 μηνών, $P=0,003$) και OS [δεν επιτεύχθηκε το διάμεσο OS (mOS) έναντι 69μήνες, $P=0,0114$]. Με βάση αυτά τα αποτελέσματα, εγκρίθηκε από τον EMA το VRd τον Απρίλιο του 2019 για χρήση σε ασθενείς με NDMM που δεν είναι επιλέξιμοι για ASCT. Η αντικατάσταση της βορτεζομίμης με Καρφιλιζομίμη στον συνδυασμό Rd φαίνεται να μην προσφέρει καλύτερα αποτελέσματα. Η δοκιμή ENDURANCE, η οποία συνέκρινε το KRd έναντι VRd σε ασθενείς με NDMM χωρίς άμεση πρόθεση για ASCT, απέτυχε να δείξει ανωτερότητα του KRd σε σχέση με το PFS στον πληθυσμό της μελέτης ($n = 1087$), το οποίο περιελάμβανε χαμηλό αριθμό ασθενών υψηλού κινδύνου. (Dimopoulos et al. 2021)

Η προσθήκη του Dara στο VMP και στο Rd δημιούργησε δύο νέους θεραπευτικούς συνδυασμούς. Το DaraVMP και το DaraRd εγκρίθηκαν από τον EMA τον Οκτώβριο του 2019, με βάση τα αποτελέσματα δύο μεγάλων μελετών φάσης III. Στη μελέτη ALCYONE, 706 ασθενείς με NDMM που δεν ήταν κατάλληλοι για ASCT τυχαιοποιήθηκαν και έλαβαν 9 κύκλους VMP με ή χωρίς Dara(DaraVMP). Στη συνέχεια χορηγήθηκε Dara μέχρι την εξέλιξη της νόσου. Σε μια μέση παρακολούθηση 40 μηνών, το mPFS ήταν 36,4 έναντι 19,3 μηνών για το σκέλος

DaraVMP και VMP, αντίστοιχα, ενώ η OS στους 36 μήνες ήταν 78% και 68% για τις δύο ομάδες (HR 0,60, P = 0,0003). (Dimopoulos et al. 2021)

Το ένα τρίτο των ασθενών είναι ηλικίας άνω των 75 ετών κατά τη διάγνωση και τουλάχιστον το 30% είναι εύθραστοι. Άλλα εγκεκριμένα σχήματα σε αυτή την ομάδα ασθενών περιλαμβάνουν πενταμουστίνη και πρεδνιζόνη και μελφαλάνη, πρεδνιζόνη, λεναλιδομίδη (MPR) αλλά δεν χρησιμοποιούνται συνήθως και γι' αυτό δεν ανήκουν στα πρότυπα σχήματα θεραπείας. Αν και η συντήρηση δεν χρησιμοποιείται τυπικά για ασθενείς που δεν είναι επιλέξιμοι για ASCT (σχεδόν όλα τα εγκεκριμένα σχήματα χρησιμοποιούνται ανελλιπώς μέχρι πρόοδο νόσου ή μη αποδεκτή τοξικότητα), η συντήρηση της ιξαζομίμης δοκιμάστηκε σε φάση III μελέτη που περιελάμβανε 706 ασθενείς που έλαβαν 6-12μήνες αφού τυχαιοποιηθούν να λάβουν είτε ιξαζομίμη είτε εικονικό φάρμακο. Η συντήρηση με ιξαζομίμη πρόσφερε ένα όφελος στο PFS έναντι του εικονικού φαρμάκου (17,4 έναντι 9,4 μηνών, HR 0,65, P=0,00003). (Dimopoulos et al. 2021)

Θεραπεία Σταθεροποίησης

Σταθεροποίηση μετά την ASCT δεν έχει καθιερωθεί μέχρι σήμερα ως τυπική θεραπεία. 2 κύκλοι VRd θα μπορούσαν να δοθούν σε ασθενείς που έλαβαν 1^η γραμμή θεραπείας με VCD, ενώ συνιστάται 2^η ASCT “tandem” για ασθενείς με γενετικά καθορισμένη νόσο υψηλού κινδύνου ή σε όλους τους ασθενείς που έλαβαν επαγωγή VCD.

Θεραπεία Συντήρησης

Η συντήρηση με λεναλιδομίδη χρησιμοποιείται στην κλινική πρακτική για όλους τους ασθενείς με ΠΜ μετά από ASCT. Η βορτεζομίμη θα μπορούσε να δοθεί σε ασθενείς υψηλού κινδύνου. Η συντήρηση του Ixazomib προσφέρει όφελος στο PFS έναντι εικονικού φαρμάκου, ωστόσο δεν έχει εγκριθεί από τον EMA ή τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA).

Θεραπεία Υποτροπής στο ΠΜ

Στην 2^η γραμμή θεραπείας, ασθενείς που είχαν λάβει θεραπεία με βάση τη βορτεζομίμη χωρίς λεναλιδομίδη ή Dara θα πρέπει να λάβουν ένα σχήμα που

βασίζεται σε Rd, δηλ. KRd, DaraRd, IRd ή EloRd .Το Dara Rd παρέχει το καλύτερο PFS για αυτούς τους ασθενείς, ενώ μόνο το KRd και το EloRd πλεονέκτημα στην συνολική επιβίωση έναντι του Rd μέχρι σήμερα.

Ασθενείς που είναι ανθεκτικοί στη λεναλιδομίδη μπορούν να λάβουν PomVD, DaraKd, IsaKd ή DaraVd. Το PomVd είναι η εγκεκριμένη ένδειξη με το καλύτερο αποτέλεσμα , όσον αφορά το PFS, ως θεραπεία δεύτερης γραμμής σε ασθενείς ανθεκτικούς στη λεναλιδομίδη. Το DaraKd έχει δώσει την καλύτερη αναφορά PFS μέχρι σήμερα σε ασθενείς ανθεκτικούς στη λεναλιδομίδη, ωστόσο το DaraKd αναμένει έγκριση από τον EMA. Ομοίως, το IsaKd και SelinexorVd, τα οποία είναι επίσης κατάλληλα για ασθενείς με υποτροπιάζον /ανθεκτικό ΠΜ δεν έχουν ακόμη εγκριθεί από τον EMA. Το VenenetoclaVd είναι μια κατάλληλη επιλογή για ασθενείς με t(11;14) που έχουν αποτύχει στη λεναλιδομίδη και είναι ευαίσθητοι στους αναστολείς πρωτεασώματος.

Δεύτερη ASCT αποτελεί επιλογή για ασθενείς που έλαβαν 1^η γραμμή θεραπείας που περιελάμβανε ASCT ακολουθούμενη από συντήρηση λεναλιδομίδης και είχε αρχική διάρκεια ύφεσης 36 μήνες.

Η 3^η γραμμή θεραπείας και οι επομένες γραμμές αποτελούν πρόκληση. Γενικά, για ασθενείς που έχουν εκτεθεί ή είναι ανθεκτικοί τόσο στη βορτεζομίμη όσο και λεναλιδομίδη, τα σχήματα που έχουν εγκριθεί για θεραπεία είναι το DaraKd, IsaPd, IsaKd, και EloPd. Ασθενείς με t(11;14), οι οποίοι είναι ανθεκτικοί στη λεναλιδομίδη και είναι ευαίσθητοι στους αναστολείς πρωτεασώματος μπορούν να λάβουν το σχήμα VenVd. Για ανθεκτικούς ασθενείς και στις τρεις κατηγορίες φαρμάκων (αναστολείς πρωτεασώματος, ανοσοτροποποιητικά και μονοκλωνικό anti CD38) μπορούν να λάβουν Selinexor -dexa (Sd) (Dimopoulos et al. 2021) ή SVd με προσθήκη βορτεζομίμης. Η μονοθεραπεία με belantamab mafodotin είχε λάβει έγκριση το 2022, η οποία δεν ανανεώθηκε. Από το 2022, το melflufen μπορεί επίσης να δοθεί σε πολύ θεραπευμένους ασθενείς. Όσον αφορά τα αμφιδικά αντισώματα, έλαβαν έγκριση το 2023 το teclistamab και το elranatamab για θεραπεία σε αυτή την κατηγορία ασθενών. Αναμένονται μελέτες φάσης III για CAR-T σε ανθεκτικούς ασθενείς τριπλής κατηγορίας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Β

ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΠΟΛΛΑΠΛΟΥ ΜΥΕΛΩΜΑΤΟΣ

Β1. ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗΣ

Η επιβίωση των ασθενών με MM ποικίλλει από μήνες έως περισσότερο από μια δεκαετία. Η διάμεση επιβίωση σήμερα με την εισαγωγή των νέων φαρμακευτικών παραγόντων είναι πάνω από 10 έτη. (Landgren et al. 2016)

Από τα πρώτα, πιο διαδεδομένα προγνωστικά συστήματα στο ΠΜ, είναι αυτό των Durie και Salmon. Το προγνωστικό αυτό σύστημα περιλαμβάνει κλινικά χαρακτηριστικά της νόσου (ανααιμία, νεφρική δυσλειτουργία, οστική νόσος). (Durie & Salmon et al. 1975) Άλλα χαρακτηριστικά σημαντικά της νόσου όπως η ηλικία, η γενική φυσική κατάσταση του ασθενούς (performance status), η εμπλεκόμενη ανοσοσφαιρίνη, η β2 μικροσφαιρίνη, η αλβουμίνη φάνηκε ότι είναι σημαντικά για την πρόγνωση της νόσου. Έτσι, οι ερευνητές προσπάθησαν να τα εντάξουν σε μεταγενέστερα μοντέλα και εντάχθηκε στην κλινική πρακτική το Διεθνές Σύστημα Σταδιοποίησης (ISS) και στη συνέχεια η αναθεωρημένη έκδοση αυτού (R-ISS) με την προσθήκη της LDH ορού και των κυτταρογενετικών αλλαγών (t(4;14), t(14;16), del17p). (Greipp et al. 2005, Palumbo et al. 2015) Τα παραπάνω προγνωστικά μοντέλα συνοψίζονται στους **Πίνακες 3 και 4**.

Πιν. 3. Προγνωστικό μοντέλο κατά Durie & Salmon

Κριτήριο	Μάζα κυττάρων, κύτταρα $\times 10^{12}/m^2$	Μυελωματικών Συνολική Επιβίωση, μήνες
Στάδιο I	<0.6 (μειωμένο)	61
Όλα τα παρακάτω		
<ul style="list-style-type: none"> • Αιμοσφαιρίνη > 100 g/L • Ασβέστιο ορού < 12 mg/dL • Στην ακτινογραφία, φυσιολογική δομή οστού (κλίμακα O)^a ή μόνο μονήρες οστικό πλασματοκύττωμα • Χαμηλή M πρωτεΐνη ορού IgG < 50 g/L, IgA < 30 g/L, ή ούρων, M πρωτεΐνη στην ηλεκτροφόρηση < 4 g/24 h 		
Στάδιο II	0.6-1.2 (ενδιάμεσο)	54 ^β
Δεν ταιριάζει ούτε στο στάδιο I ούτε στο στάδιο III		
Στάδιο III	>1.2	30/15 ^γ
Ένα ή περισσότερα από τα παρακάτω		
<ul style="list-style-type: none"> • Αιμοσφαιρίνη < 8.5 g/dL • Ασβέστιο ορού > 12 mg/dL • Πολλαπλές λυτικές βλάβες των οστών • Υψηλή M πρωτεΐνη IgG > 70 g/L, IgA > 50 g/L, ή ούρων ελαφριάς αλυσίδας M πρωτεΐνη > 12 g/24 h 		
Υποκατηγοριοποίηση		
A: Κρεατινίνη ορού < 2 mg/dL		
B: Κρεατινίνη ορού ≥ 2 mg/dL		

α) Κλίμακα οστικών βλαβών: 0, φυσιολογικά οστά. 1: οστεοπόρωση 2: λυτικές βλάβες των οστών και 3: εκτεταμένη σκελετική καταστροφή και σημαντικά κατάγματα. β) Περιλαμβάνει τα στάδια Durie–Salmon IB και IIB. γ) Περιλαμβάνει το στάδιο Durie–Salmon IIA/IIIB.

Πιν. 4. Προγνωστικό μοντέλο κατά ISS, R-ISS.

Στάδιο	Κριτήριο	Συνολική Επιβίωση
ISS	Στάδιο I $\beta 2M < 3,5 \text{ mg/L}$ και alb $\geq 3,5 \text{ g/dL}$	Διάμεσος, μήνες 62
	Στάδιο II Όχι το στάδιο I ή III	45
	Στάδιο III $\beta 2M \geq 5,5 \text{ mg/L}$	29
R-ISS	R-ISS I ISS I και φυσιολογική LDH και όχι FISH υψηλού κινδύνου	5-ετή, % 81
	R-ISS II Όχι R-ISS I ή R-ISS III	60
	R-ISS III ISS III και είτε υψηλή LDH είτε FISH υψηλού κινδύνου	40

B2. ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ ΚΑΙ ΠΡΟΓΝΩΣΗ

Οι πιο σημαντικές γενετικές ανωμαλίες που ανευρίσκονται συνήθως με FISH είναι οι del17p, t(4;14), t(14;16), t(14;20), προσθήκες του χρωμοσώματος 1q, και διαγραφές του χρωμοσώματος 1p. (Boyd et al. 2012) Οι t(6;14) και t(11;14) είναι προγνωστικά ουδέτερες μετατοπίσεις. Το R-ISS ενσωματώνει τις μετατοπίσεις που εντοπίζονται με FISH οι οποίες χαρακτηρίζονται ως υψηλού κινδύνου (t[4;14], t[14;16] ή διαγραφή 17p) μαζί με το ISS και την LDH. Το R-ISS I είναι το ISS I, με φυσιολογική LDH και καμία FISH υψηλού κινδύνου. Το R-ISS III υπάρχει εάν έχουμε ISS III και είτε υψηλού κινδύνου FISH ή μη φυσιολογική LDH. Το R-ISS II περιλαμβάνει τους υπόλοιπους ασθενείς. (Palumbo et al. 2015)

Η Πενταετής συνολική επιβίωση (OS) ήταν 82% στο R-ISS I, 62% στο R-ISS II και 40% στις ομάδες R-ISS III. Τα ποσοστά επιβίωσης χωρίς εξέλιξη της νόσου (PFS) 5 ετών ήταν 55%, 36% και 24%, αντίστοιχα. Η υποδιπλοειδία στο ΠΜ έχει χειρότερη πρόγνωση από τη διπλοειδία ή υπερδιπλοειδία. (Smadja et al. 2001, Shaughnessy et al. 2003)

Η παρουσία υποδιπλοειδίας σε ασθενείς με ΠΜ έχει χειρότερη πρόγνωση από την διπλοειδία ή υπερδιπλοειδία. Αυτό έχει αποδειχθεί με μεθόδους κυτταρομετρίας ροής (Smagja et al. 2001) και μελέτη καρυοτύπου. (Chng et al 2006) Η παρουσία τρισωμίας είναι συχνή και πιο συχνά περιλαμβάνει τα χρωμοσώματα 3, 6, 9, 11, και 15. (Perez et al 1998) Σε μια μελέτη, η τρισωμία των χρωμοσωμάτων 3, 7 και 11 υπολογίστηκε για πάνω από το 50% των υπερδιπλοειδών περιπτώσεων. (Drach et al. 2001) Τρισωμίες των χρωμοσωμάτων 6, 9 και 17 συσχετίστηκαν με βελτιωμένη επιβίωση. (Perez-Simon et al. 1998) Η παρουσία τρισωμιών σχετίζεται με καλύτερα αποτελέσματα ακόμη και σε ασθενείς με κυτταρογενετική υψηλού κινδύνου δείκτες, όπως t(4;14), t(14;16) και διαγραφή του 17p. (Kumar et al. 2012)

Έλλειψη ενός αλληλίου του χρωμοσώματος 13 (del 13) ή του μακριού βραχίονα του (del 13q), έχει μελετηθεί σε ασθενείς που έλαβαν συμβατική χημειοθεραπεία (Konigsberg et al. 2000, Chng et al. 2006) ή αυτόλογη μεταμόσχευση μυελού των οστών (Tricot et al. 1995) και φάνηκε ότι αποτελεί δυσμενή προγνωστικός παράγοντας. Περίπου το 50% των ασθενών κατά τη διάγνωση θα έχουν del 13 ή del

13q , (Fonseca et al. 2000, Facon et al. 2001) με την ισχύ ως παράγοντα κινδύνου πολύ μικρότερη όταν ανιχνεύεται με FISH.

Πολλά συστήματα διαστρωμάτωσης κινδύνου έχουν προταθεί με βάση το προφίλ έκφρασης γονιδίων (GEP) από ομάδες της Αμερικής (Αρκάνσας) όπως και Ευρωπαϊκές από τους Γάλλους και τους Ολλανδούς.(Decaux et al. 2008) Αυτές οι μελέτες βοήθησαν στην διερεύνηση της βιολογίας της νόσου. Ωστόσο, η αλληλοεπικάλυψη μεταξύ διαφορετικών γενετικών υπογραφών εγείρει ερωτήματα ως προς την ανεξαρτησία τους, ως προς τον τύπο της θεραπείας που χρησιμοποιείται, όσο και από την επίδραση της προετοιμασίας του δείγματος στα αποτελέσματα και επομένως στην ικανότητα ομοιόμορφης εφαρμογής της μεθόδου σε πραγματικό κλινικό περιβάλλον.

Ο ρυθμός πολλαπλασιασμού των κλωνικών πλασματοκύτταρων εκφράζεται μέσω του δείκτη επισήμανσης των πλασματοκύτταρων (PCLI) ο οποίος βασίζεται στο ποσοστό των κλωνικών κυττάρων του μυελού, που βρίσκονται στη φάση S του κυτταρικού κύκλου. (Greipp et al. 1985) Ο συγκεκριμένος δείκτης έχει αποδειχθεί ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας επιβίωσης σε ασθενείς που έλαβαν συμβατική χημειοθεραπεία ή ASCT. (Rajkumar et al. 1999) Στην διερεύνηση προγνωστικής αξίας σε μια μελέτη με νεότερους παράγοντες φαίνεται ότι διατηρεί την προγνωστική του αξία ως προς το PFS και OS για την θαλιδομίδη, ωστόσο το ίδιο δεν συμβαίνει με την λεναλιδομίδη. (Karoor et al. 2011) Αναμφίβολα, απαιτείται μεγαλύτερη παρακολούθηση των ασθενών για να προσδιορίζουν την πραγματική επίδραση του PCLI σε ασθενείς που αυτή τη στιγμή λαμβάνουν νεότερους θεραπευτικούς παράγοντες.

Β3. ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΥΠΟΤΡΟΠΗ ΣΤΟ ΠΟΛΛΑΠΛΟΥΝ ΜΥΕΛΩΜΑ

Πολλοί από τους προγνωστικούς παράγοντες που είναι προγνωστικοί κατά τη στιγμή της αρχικής διάγνωσης εξακολουθούν να είναι σημαντικοί κατά τη στιγμή της υποτροπής. Σε αυτούς περιλαμβάνονται το ISS, LDH ορού, η ανταπόκριση στη θεραπεία, κατάσταση ανθεκτικότητας σε σχέση με διάφορα φάρμακα ή φάρμακοκατηγορίες, οι κυτταρογενετικές αλλαγές και τα ευρήματα FISH και ειδικότερα ανάπτυξη νέων ανωμαλίες.

Δεδομένης της ετερογένειας και της διαφοράς στην έκβαση της νόσου, είναι σημαντικό να κατανοήσουμε τους προγνωστικούς παράγοντες και να αναπτύξουμε επαρκή συστήματα διαστρωμάτωσης κινδύνου, προκειμένου να συγκριθούν διαφορετικές ομάδες ασθενείς από διαφορετικές μελέτες ή κλινικές δοκιμές. Ωστόσο, η πρόγνωση είναι μια δυναμική διαδικασία κατά την πορεία της νόσου και καθορίζεται από την ανταπόκριση στη θεραπεία και κυρίως με την ενσωμάτωση νέων θεραπειών όπως και με την απόκτηση νέων γενετικών αλλαγών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Γ

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΟΥ ΠΜ

Γ1. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Παρά τις πρόσφατες εξελίξεις στη θεραπεία κατά του μυελώματος, η απόκτηση αντοχής στα αντιμυελωματικά φάρμακα είναι ένας σημαντικός περιορισμός της θεραπείας στο ΠΜ. Ένας από τους μηχανισμούς που κρύβονται πίσω από την αντοχή των φαρμακευτικών παραγόντων φάρμακο σχετίζεται με ανωμαλίες όσον αφορά τις συγκολλητικές ιδιότητες προσκόλλησης των κυττάρων του μυελώματος στην εξωκυτταρική ουσία ή στα στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών. Επιπλέον, γενετικές ανωμαλίες και επιγενετικές μεταβολές που επηρεάζουν το πρότυπο της μεθυλίωσης του DNA και τις τροποποιήσεις των γονιδίων των ιστονών. Οι μηχανισμοί ανάπτυξης αντίστασης που έχουν περιγραφεί στη βιβλιογραφία συνοψίζονται στον Πίνακα 1. (Robak et al.2018)

Πιν. 5. Μηχανισμοί αντοχής στα φάρμακα στο ΠΜ πλασματοκυτταρικό μύελωμα. (Robak et al. 2018)

Παράγοντες	Μηχανισμός δράσης	Μηχανισμοί αντίστασης
Κορτικοστεροειδή (πρεδνιζόνη, δεξαμεθαζόνη μεθυλπρεδνιζολόνη)	Επαγωγή απόπτωσης των κακοήθων πλασματοκυττάρων : μείωση του μιτοχονδριακών διαμεμβρανικού δυναμικού, αποκοπή (cleavage) κασπάσης 3 και πολυμεράσης poly (ADP ριβόζης).	Λειτουργικό ελάττωμα του υποδοχέα γλυκοκορτικοειδών, αυξημένη έκκριση κυτοκινών του μικροπεριβάλλοντος του μυελού, υπερέκφραση των ογκογονιδίων FGFR3 και MYC, επιγενετική αδρανοποίηση του RASD1, ενός μέλους GTPase της υπεροικογένειας Ras RASD1
Χημειοθεραπευτικοί παράγοντες (αλκυλιωτικοί-	Βλάβη DNA, ανοσοδιεγερτική δραστηριότητα μέσω αναστολής ιντερλευκίνη-6, αλληλεπίδραση	Υπερέκφραση της P-gp; αυξημένη έκφραση ABCG2; Υπερέκφραση RECQ1; υπερέκφραση του Bcl-xL

μελφαλάνη, κυκλοφωσφαμίδη), ανθρακυκλίνες (δοξορουβικίνη)	με δενδριτικά κύτταρα, ανοσογονική επιδράση στο μικροπεριβάλλον του όγκου. αναστολή τοποϊσομεράσης II (ανθρακυκλίνες)	
Αναστολείς πρωτεασώματος (βορτεζομίμη, καρφιλζομίμη και ιξαζομίμη)	Αναστολή της δραστηριότητας του πρωτεασώματος 26S. Αναστολή της δραστηριότητας του μονοπατιού του NF-κΒ: επαγωγή απόπτωσης με ενεργοποίηση κασπάσης-8 και κασπάση-9, Μειωμένη έκφραση των μορίων προσκόλλησης στα πλασματοκύτταρα	Υπερέκφραση του πρωτεασωμικού συστήματος; Σημείο μεταλλάξεις του γονιδίου PSMB5 και υπερέκφραση του υπομονάδα β5 πρωτεασώματος; τροποποίηση και απώλεια δp21 ; μεταλλάξεις και έκφραση Iο στο γονίδιο XBP1. Καταστολή; αυξημένη έκφραση της πρωτεΐνης MARCKS; Υπερέκφραση ABCB1; υπερέκφραση CXCR4 γονίδιο; υπερέκφραση πρωτεϊνών που εμπλέκονται στην προστασία από το οξειδωτικό στρες (TXN, TXNDC5); υπερέκφραση του MAF; Καταστολή XBP1
Ανοσοτροποποιητικά φάρμακα (θαλιδομίδη, λεναλιδομίδη, πομαλιδομίδη)	Στόχευση κυττάρων PCM στο μικροπεριβάλλον του ΜΟ. Τροποποίηση στο μηχανισμό δράσης του CRBN, πυροδότηση απόπτωσης που προκαλείται από την κασπάση-8 και ενίσχυση απόπτωση πλασματοκυττάρων που προκαλείται από την κασπάση-8, καταστροφή πλασματοκυττάρων μεσω ενεργοποίηση της κασπάσης-9, . αντι-αγγειογενετική δράση	Μείωση της έκφρασης CRBN; απορρύθμιση της έκφρασης IRF4
Μονοκλωνικά αντισώματα, (δαρατουμουμάμη,	Κυτταρική κυτταροτοξικότητα εξαρτώμενη από αντισώματα	Μείωση της έκφρασης CD38; Υπερέκφραση του

ελοτουζουμάμπη)	(ADCC), κυτταροτοξικότητα εξαρτώμενη από το συμπλήρωμα (CDC), μεσολαβούμενη από μακροφάγα φαγοκυττάρωση και απόπτωση μέσω Fc διασταυρούμενης σύνδεσης, διεγερτικές επιδράσεις στα κύτταρα του ανοσοποιητικού, ιδιαίτερα στα κύτταρα NK	CD55 και CD59 στα κακοήθη πλασματοκύτταρα.
-----------------	--	--

CRBN – Cereblon; IRF4 – παράγοντας ρύθμισης της Ιντερφερόνης 4, NF κB – πυρηνικός παράγοντας - κB; MARCKS – υπόστρωμα κινάσης –με μυριστοϋλιομένη αλανίνη- πλούσιο σε C (myristoylated alanine-rich C-kinase substrate), IMiDs –Ανοσοτροποποιητικά φάρμακα , P-gp – P-γλυκοπρωτεΐνη, XBP1 – X-box-συνδετική πρωτεΐνη 1.

Νεότεροι μηχανισμοί ανοχής στους φαρμακευτικούς παράγοντες περιλαμβάνουν την μελέτη μοριακών μηχανισμών ρύθμισης γονιδίων. Τα microRNA (miRNAs) τείνουν να προσελκύουν όλο και περισσότερο την προσοχή ως τα σημαντικά μόρια στη ρύθμιση των γονιδίων στη μελέτη της παθοφυσιολογίας πολλών καρκίνων συμπεριλαμβανομένου του ΠΜ. (Abdi et.al 2016)

Από του ανωτέρω μηχανισμούς ανοχής η μελέτη της παρούσας διατριβής επικεντρώθηκε κυρίως στους νεότερους φαρμακευτικούς παράγοντες και συγκεκριμένα στα ανοτροποιητικά φάρμακα με βάση τον μηχανισμό δράσης τους και την ρύθμιση των γονιδίων που υφίστανται τα πλασματοκύτταρα από τα miRNAs

Γ2. CEREBLON (CRBN): Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΣΤΟΧΟΣ ΤΩΝ ΑΝΟΣΟΤΡΟΠΟΙΗΤΙΚΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ (IMiDs).

Μόλις πρόσφατα έχει περιγραφεί ο μοναδικός αντιμυελωματικός μηχανισμός των IMiDs που περιλαμβάνει την πρωτεΐνη Cereblon (CRBN). Το Cereblon περιγράφηκε αρχικά από τους Higgins et al το 2004 ως πρωτεΐνη 442 αμινοξέων, βάρους 51 kDa, έχοντας μία εξαρτώμενη από ATP λειτουργία Lon πρωτεάσης που κωδικοποιείται από ένα γονιδιακό επίτοπο στο χρωμόσωμα 3p. Μετάλλαξη σε αυτό το γονίδιο συσχετίστηκε με ήπια νοητική υστέρηση (Higgins et al.2004, Jo et al. 2005). Το CRBN εκφράζεται σε πολλά όργανα και μέσα στο κύτταρο (στον πυρήνα και το κυτταρόπλασμα) ενώ η αλληλεπίδραση της πρωτεΐνης αυτής με την πλασματική μεμβράνη του κυττάρου ανέδειξε ότι αντιπροσωπεύει μία πολυλειτουργική πρωτεΐνη όπου εμπλέκεται σε πολλές βιολογικές διεργασίες σχετικά με το CRBN. Συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι το CRBN αλληλεπιδρά με μεγάλες πρωτεΐνες αγωγιμότητας ασβεστίου (Ca⁺⁺), ενεργοποιημένων διαύλων καλίου (BKCa) και διαύλων χλωρίου (Cl⁻), πρωτεΐνες υπεύθυνες για τη ρύθμιση της διεγερσιμότητας των κυττάρων στους νευρώνες. Επιπλέον, η σημασία του έχει εντοπιστεί στον κυτταρικό μεταβολισμό (ρύθμιση πρωτεΐνης AMPK) και στα αυτοάνοσα νοσήματα (ρύθμιση CD4). (Shi et al. 2017)

Καθοριστική ήταν η μελέτη από τους Ito et al όπου το 2010 περιέγραψε το CRBN ως τον κύριο στόχο της θαλιδομίδης για την τερατογόνο επίδραση της. Το CRBN ταυτοποιήθηκε ως μέρος ενός συμπλόκου λιγάσης της ουβικιτίνης E3 το οποίο περιλαμβάνει την πρωτεΐνη δέσμευσης βλαβών του DNA -1 (DDB1), την Cullin 4 (Cul 4A ή Cul 4B) και το ρυθμιστή των Κουλινών (Cullins 1 –RoC 1) με δραστηριότητα πρωτεόλυσης. (Ito et al. 2011).

Η αναστολή της αυτο-ουβικιτίνωσης του CRBN και της δραστηριότητας λιγάσης ουβικιτίνης E3 του συμπλόκου στο οποίο συμμετέχει το CRBN, οδηγεί σε μείωση του αυξητικού παράγοντα των ινοβλαστών 8 που είναι σημαντικός για την ανάπτυξη των άκρων (Ito et al. 2010). Περαιτέρω έρευνα σχετικά με την αντι-ΠΙΜ δραστηριότητα των IMiDs αποκάλυψε δύο διαφορετικούς μηχανισμούς, ένα μονοπάτι εξαρτώμενο από την ουβικιτίνη με πολλούς παράγοντες να παίζουν καθοριστικό ρόλο όπως η πρωτεΐνη Ίκαρος (IKZF1) και η πρωτεΐνη Αίολος (IKZF3), ο ρυθμιστικός παράγοντας ιντερφερόνης 40 (IRF4) και η ιντερλευκίνη-2 (IL2), (Kronke et al.2014) καθώς και μια ανεξάρτητη οδός ουβικιτίνης στην οποία τα IMiD συνδέονται με το σύμπλεγμα CD147-MCT1 αντί για το CRBN, δημιουργώντας εμπόδιο στην ανάπτυξη της νόσου. (Eichner R et al 2016) Αποκαλύπτοντας μηχανισμούς δράσης του CRBN στο ΠΙΜ, οι ερευνητές υποστήριξαν τη χρήση του στην κλινική πράξη ως βιοδείκτη στη θεραπεία IMiDs.

Γ3. ΤΑ microRNAs ΣΤΟ ΠΟΛΛΑΠΛΟΥΝ ΜΥΕΛΩΜΑ

Τα miRNAs (ή miRs) είναι μικρά μόρια RNA με μήκος μόνο 19 έως 25 βάσεων που δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες. Τα miRNAs ανακαλύφθηκαν το 1993, όταν διαπιστώθηκε ότι μικρά RNA που κωδικοποιούνται από τον επίτοπο *lin-4* ελέγχουν την ανάπτυξη του *Caenorhabditis elegans* ρυθμίζοντας την έκφραση των πρωτεϊνών *lin-14*. Η σημασία αυτού του μικρού μορίου RNA αναγνωρίστηκε το 2000, με την ανακάλυψη ενός μικρού μορίου RNA που ονομάζεται *let-7*, το οποίο έχει μήκος 21 νουκλεοτίδια και είναι εξαιρετικά διατηρημένο μεταξύ των ειδών, από τα σκουλήκια μέχρι τους ανθρώπους. Σχηματίζοντας ένα ρυθμιστικό σύμπλεγμα (σύμπλεγμα σιγής που αποτελείται από RNA, RISC) με πρωτεΐνες Argonaute, τα miRNA εμπλέκονται σε μια ποικιλία βιολογικών διεργασιών, συμπεριλαμβανομένου του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, του κυτταρικού θανάτου, της συντήρησης των προγονικών κυττάρων και της χρονικής ρύθμισης των αναπτυξιακών σταδίων με την ενεργοποίηση της αποδόμησης και της μεταφραστικής καταστολής των αγγελιαφόρων RNA-στόχων (mRNAs) με συμπληρωματικές αλληλουχίες. Λιγότερο από 30 χρόνια μετά την ανακάλυψή του, περισσότερα από 3000 miRNAs έχουν εντοπιστεί σε ανθρώπους. Πολλά miRNA διατηρούνται σε μεγάλο βαθμό στην εξέλιξη, αν και η ποικιλομορφία και ο αριθμός τους συσχετίζονται με την πολυπλοκότητα του οργανισμού. (Hiroshi Handa et al. 2019)

Τα miRNA είναι συχνά παρόντα σε ασταθείς περιοχές χρωμοσωμάτων που είναι επιρρεπείς σε διαγραφή και ενίσχυση στα καρκινικά κύτταρα και έχει προταθεί ότι οι ανωμαλίες στα miRNA δεν περιορίζονται σε ορισμένες νεοπλασίες αλλά σχετίζονται άμεσα με τον ίδιο τον ογκογόνο μηχανισμό. Το πρώτο εύρημα που έδειξε τη σχέση μεταξύ νεοπλασίας και miRNA ήταν στη χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία (ΧΛΛ). Στη ΧΛΛ, οι διαγραφές εντοπίζονται συχνά στη χρωμοσωμική περιοχή 13q14, αλλά δεν έχει βρεθεί γονίδιο κωδικοποίησης πρωτεΐνης σε αυτό το σημείο διαγραφής και η παθολογική σημασία της διαγραφής ήταν από καιρό ασαφής.

Οι Calin et al. έδειξαν ότι υπάρχουν δύο miRNAs σε αυτή την περιοχή, τα miR-15a και miR-16-1, και η έκφρασή τους μειώθηκε σε κύτταρα ΧΛΛ με διαγραφή του 13q14. Αρκετές άλλες μελέτες αποκάλυψαν επίσης ότι το miR-15a/16-1 στοχεύει πολλαπλά γονίδια που σχετίζονται με τον κυτταρικό κύκλο, την απόπτωση και την αγγειογένεση όπως τα BCL-2, MCL-1, CCND1, WNT3A και VEGF. Εκτός από το miR-15a/16-1, πολλά miRNA έχουν πλέον επιβεβαιωθεί ότι εμπλέκονται στην καρκινογένεση, την εξέλιξη του καρκίνου και την πρόγνωση είτε ως ογκοκατασταλτικά γονίδια είτε ως ογκογονίδια. (Handa et al. 2019)

Τα πρώτα στοιχεία για τη συμμετοχή του miRNA στην παθογένεση του ΠΜ παρουσιάστηκαν από τους Masri et al., οι οποίοι απέδειξαν ότι κυτταρικές σειρές ΠΜ και δείγματα ασθενών με ΠΜ εμφάνιζαν χαμηλότερη έκφραση των miR-125b, miR-133a, miR-1, miR-124a, miR-15 και miR-16 από τα κανονικά αντίστοιχα. Συγκεκριμένα μοτίβα έκφρασης αρκετών miRNAs μεταξύ φυσιολογικών πλασματοκυττάρων, κυττάρων MGUS και ΠΜ κυττάρων υποδηλώνουν επίσης έναν ρόλο των miRNAs στην εξέλιξη του MM.

Δεδομένου ότι τα miRNAs έχουν βρεθεί στο πλάσμα, στον ορό, το σάλιο, τα ούρα και το σπέρμα, τα κυκλοφορούντα miRNAs έχουν προταθεί ως νέοι βιοδείκτες νόσου που μπορούν να βοηθήσουν στη διάγνωση, την πρόγνωση και την παρακολούθηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία του ΠΜ. Τα miRNA που κυκλοφορούσαν ήταν σταθερά όταν ψύχονταν ή καταψύχονταν και σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες, καθιστώντας τα κατάλληλους βιοδείκτες. (Soliman et al. 2020)

Σε ανάλυση δειγμάτων ορού βρέθηκε ότι ο συνδυασμός της ενίσχυσης της έκφρασης του miR-34a και μειωμένης έκφρασης του let-7e, μπορούσε να διακρίνει τα κακοήθη πλασματοκύτταρα με ΠΜ από το δείγμα έλεγχου (control), με ευαισθησία και ειδικότητα 80% και το MGUS με ευαισθησία και ειδικότητα άνω του 90%. Άλλοι προτεινόμενοι δείκτες περιλαμβάνουν αυξημένα επίπεδα miR-125b-5p, miR-29a ορού, miR-4449 ορού και μειωμένα επίπεδα miR-30d και miR-203 στο πλάσμα. Επιπλέον, τα επίπεδα έκφρασης του miR-125b-5p συσχετίστηκαν με εξωμυελική διήθηση και ήταν σημαντικά υψηλότερα σε ασθενείς σταδίου III σε σύγκριση με ασθενείς σταδίου I/II. Ομοίως, τα επίπεδα έκφρασης miR-483-5p στο πλάσμα σε ασθενείς με ΠΜ βρέθηκε επίσης να συσχετίζονται με το στάδιο της νόσου κατά ISS. (Soliman et al. 2020)

- ***To miR -16 στο ΠΜ***

Στο ΠΜ η έκφραση των επιπέδων miR-15a και miR-16-1 φαίνεται ότι είναι κατεσταλμένη. Επιπλέον, κακοήθη πλασματοκύτταρα που επιμολύνθηκαν με miR-15a/16-1 εμφάνισαν κυτταρική απόπτωση και καταστολή της ανάπτυξης όγκου. Τόσο το miR-15a όσο και το miR-16-1 βρέθηκαν να αναστέλλουν τις οδούς επιβίωσης του όγκου, συμπεριλαμβανομένων των ενεργοποιημένων από μιτογόνο πρωτεϊνικών κινασών, της σερίνης/θρεονίνης-πρωτεΐνης AKT, του ενεργοποιητή NF-κB MAP3KIP3 και της ριβοσωμικής πρωτεΐνης-S6. Παράλληλα, το miR 15a/16 συμμετέχει στη ρύθμιση του πολλαπλασιασμού των ενδοθηλιακών κυττάρων και στο σχηματισμό νέων αιμοφόρων αγγείων. Πιο συγκεκριμένα, η αντικατάσταση του miR-15a/16 ανέστειλε την έκφραση του

αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF), καταστέλλοντας έτσι τον σχηματισμό τριχοειδών και την ανάπτυξη του όγκου.

- ***To miR-21 στο ΠΜ***

Το miR-21 έχει μελετηθεί πριν την ανάπτυξη ΠΜ, σε ασθενείς με MGUS, όπου η έκφραση του βρέθηκε αυξημένη. Επιπλέον, σε άλλη μελέτη τα miR-181a/b, miR-32, miR-17-92, miR-21 και miR-106b/25 είχαν αυξημένη έκφραση, τόσο σε ασθενείς με ΠΜ όσο και σε ασθενείς με MGUS. Όσον αφορά τη συμμετοχή του miR-21 στο μικροπεριβάλλον του μυελού, εξαιρετικό ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η αναστολή του miR-21 σε παρθένα T κύτταρα κατέστειλε τη διαφοροποίηση των Th17 (κύτταρα που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη του ΠΜ και την δραστηριότητα των οστεοκλαστών) in vitro, μειώνοντας έτσι την ανάπτυξη του όγκου. Το miR-21 βρέθηκε ότι είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη του ΠΜ μέσω της ενεργοποίησης των σηματοδοτήσεων υπέρ της επιβίωσης και της στόχευσης ογκοκατασταλτικών γονιδίων όπως το ομόλογο Ras (Rho)-B και το PTEN. Ακόμη, σε μελέτη η μεταγραφή του miR-21 στα κύτταρα ασθενών με ΠΜ, φαίνεται ότι δε ρυθμίζεται από την IL-6. Ως αποτέλεσμα, το miR-21 ανεξάρτητα από την έκφραση της κυτταροκίνης, ενίσχυσε τον κακοήγη μετασχηματισμό των πλασματοκυττάρων.

II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Δ

ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Δ1. ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Στην παρούσα διατριβή μελετήθηκαν τετρακόσιοι τριάντα-οκτώ (N=438) ασθενείς με ΠΜ από τους οποίους μικρότερη ομάδα ασθενών αναλύθηκε για ένα συγκεκριμένο είδος θεραπείας και την προγνωστική αξία των προς εξέταση βιοδεικτών.

Πραγματοποιήθηκε συλλογή κλινικών και εργαστηριακών δεδομένων από τους ιατρικούς φακέλους των ασθενών με ΠΜ. Έγινε καταγραφή όλων των γραμμών θεραπείας και η ανταπόκριση των ασθενών σε κάθε γραμμή θεραπείας. Ακόμη, καταγράφηκαν εργαστηριακά ευρήματα σχετικά με κάθε υποτροπή όπως η παρουσία αναιμίας, υπερασβεστιαμίας, νεφρικής και οστικής νόσου, ο ποσοτικός προσδιορισμός ανοσοσφαιρινών και ελεύθερων ελαφρών αλύσεων.

Τα ιατρικά αρχεία εξετάστηκαν, αφού ελήφθη η ενυπόγραφη συγκατάθεση των ασθενών. Κλινικά χαρακτηριστικά και εργαστηριακές τιμές της αιμοσφαιρίνης (Hb), κρεατινίνης (Cr), ασβεστίου (Ca), επιπέδων παραπρωτεΐνης (Ig), επίπεδα ελεύθερης ελαφριάς αλυσίδας (FLCs), ο λόγος των ελευθέρων ελαφρών αλύσεων (FLCR), η τιμή της γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH), η διήθηση μυελού (BMINF), η β2-μικροσφαιρίνη (B2M), η λευκωματίνη (alb) συλλέχθηκαν αναδρομικά για την μετέπειτα στατιστική ανάλυση.

Οι ασθενείς σταδιοποιήθηκαν σύμφωνα με τη διεθνή σταδιοποίηση International Staging System (ISS) και Revised-International Staging System (R-ISS) (Greip et al. 2005) και η αξιολόγηση της κλινικής ανταπόκρισης βασίστηκε στα κριτήρια της Διεθνούς Ομάδας Εργασίας για το Μυέλωμα (IMWG). (Durie et al. 2006, Kumar et al. 2016)

Για κάθε ασθενή υπολογίστηκε ο χρόνος από τη διάγνωση έως την καλύτερη ανταπόκριση (TTR), από την διάγνωση έως την υποτροπή στην εκάστοτε θεραπεία (TTNT) και η συνολική επιβίωση των ασθενών (OS).

Δ2. ΜΕΘΟΔΟΙ

- ***Προσδιορισμός CRBN με τη Μέθοδο Elisa***

Το CRBN μετρήθηκε με κιτ ELISA που διατίθενται στο εμπόριο (Cloud-Clone Corp), σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Ο ορός ασθενών και υγιών μαρτύρων προστέθηκε στα κατάλληλα δοχεία μιας προ-επικαλυμμένης μικροπλάκας 96 κυττάρων με ένα αντίσωμα ειδικό για το CRBN.

Στη συνέχεια, σε κάθε δοχείο μικροπλάκας προστέθηκε αβιδίνη συζευγμένη με υπεροξειδάση χρένου (HRP) και επώαστηκε. Αφού προστέθηκε διάλυμα υποστρώματος TMB, μια αντίδραση ενζύμου-υποστρώματος οδήγησε σε αλλαγή του χρώματος των δοχείων που περιείχαν CRBN, συζευγμένο με βιοτίνη αντίσωμα και συζευγμένη με ένζυμο αβιδίνη. Η αντίδραση τερματίστηκε με την προσθήκη διαλύματος θειικού οξέος και η αλλαγή χρώματος μετρήθηκε φασματοφωτομετρικά σε μήκος κύματος 450 nm ± 10 nm. Σχεδιάστηκε καμπύλη (Plot) για την κατασκευή γραφήματος log-log (τυπική καμπύλη) με συγκέντρωση CRBN στον άξονα y και απορρόφηση στον άξονα x. Στη συνέχεια προσδιορίστηκε η συγκέντρωση του CRBN στα δείγματα συγκρίνοντας το O.D. των δειγμάτων στην τυπική καμπύλη.

- ***Μεθοδολογία για τη ποσοτικοποίηση MicroRNAs***

Απομόνωση RNA

Ολικό RNA εμπλουτισμένο για miRNAs απομονώθηκε από 100 μl ορού αίματος χρησιμοποιώντας κιτ απομόνωσης MagMAX™ mirVana™ TotalRNA (ThermoFisherScientificInc.) σύμφωνα με το πρωτόκολλο του κατασκευαστή. Η τεχνολογία μαγνητικών σφαιριδίων χρησιμοποιήθηκε για την ανάκτηση RNA υψηλής ποιότητας με ομοιόμορφο τρόπο. Το νανοφωτόμετρο ImplenP330 (ImplenGmbH)

χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση της συγκέντρωσης και της καθαρότητας του εξαγόμενου ολικού RNA.

Σύνθεση cDNA

Πραγματοποιήθηκε ποσοτικοποίηση MicroRNA για miR-16-5p και miR21-5p. Το TaqMan® AdvancedmiRNACDNASynthesisKit (ThermoFisherScientificInc.) χρησιμοποιήθηκε για τη δημιουργία cDNA, το οποίο χρησιμοποιεί καθολικούς εκκινητές για να ενισχύει σταθερά όλους τους στόχους, συμπεριλαμβανομένου του miRNA χαμηλής έκφρασης στόχους, αυξάνοντας την ευαισθησία της ανάλυσης.

Ποσοτικοποίηση έκφρασης microRNA με Real-Time PCR

Για την ποσοτικοποίηση έκφρασης microRNA ορού με ποσοτική PCR σε πραγματικό χρόνο (qRT-PCR), η TaqMan® AdvancedmiRNAAssays hsa-miR-16-5p (αναγνωριστικό προσδιορισμού #477860_mir), hsa-miR-21-5p (αναγνωριστικό προσδιορισμού #477975_mir) και για cel-miR-39-3p (αναγνωριστικό προσδιορισμού #478293_mir) χρησιμοποιήθηκε μετά τη σύνθεση cDNA για την εκτέλεση qRT-PCRTaqMan® FastAdvancedMasterMix παρέχοντας υψηλή ειδικότητα και το σύστημα PCR σε πραγματικό χρόνο StepOnePlus™ v.1.3 (ThermoFisherScientificInc.).

Κάθε δείγμα πραγματοποιήθηκε εις διπλούν σε qPCR. Το λογισμικό ExpressionSuite™, εφαρμόστηκε για την ανάλυση και τον υπολογισμό της σχετικής γονιδιακής έκφρασης χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της συγκριτικής Ct ($\Delta\Delta Ct$) και την κανονικοποίηση της παραλλαγής από δείγμα σε δείγμα σε εξωγενή έλεγχο. Για ακριβή ποσοτικό προσδιορισμό των επιπέδων miRNA που κυκλοφορούν, το *Caenorhabditis elegans* miRNACel-miR-39-3p επιλέχθηκε ως εξωγενής έλεγχος. Τέλος, τα σχετικά επίπεδα του miRNA σε δείγματα ασθενών συγκρίθηκαν με τη χαμηλότερη τιμή του miRNA υγιών ατόμων (λόγω εξαιρετικά αυξημένων τιμών έκφρασης miRNA σε HI σε σύγκριση με ασθενείς με ΠΜ), η οποία χρησιμοποιήθηκε ως δείγμα αναφοράς και παρουσιάστηκαν τα τελικά αποτελέσματα ως αλλαγή στην έκφραση, χρησιμοποιώντας τον τύπο $2\Delta\Delta Ct$.

Δ3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Για τις συνεχείς μεταβλητές της μελέτης εφαρμόζονται περιγραφικά στατιστικά στοιχεία ενώ οι κατηγορικές μεταβλητές εκφράζονται ως συχνότητες. Οι μη παραμετρικές μεταβλητές συγκρίθηκαν με τη δοκιμή Mann-Whitney U. Οι συσχετίσεις μεταξύ κλινικών παραμέτρων ασθενών με ΠΜ και τον εκάστοτε βιοδείκτη που εξεταζόταν, υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας τη μέθοδο συσχέτισης Spearman (r). Οι καμπύλες Kaplan-Meier σχεδιάστηκαν για τον TTR, TTNT και OS και στη συνέχεια συγκρίθηκαν με τη δοκιμή log-rank. Όλες οι προαναφερθείσες στατιστικές δοκιμές πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση λογισμικού SPSS v.28.0. Τιμές χαμηλότερες από 0.05 θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ε.

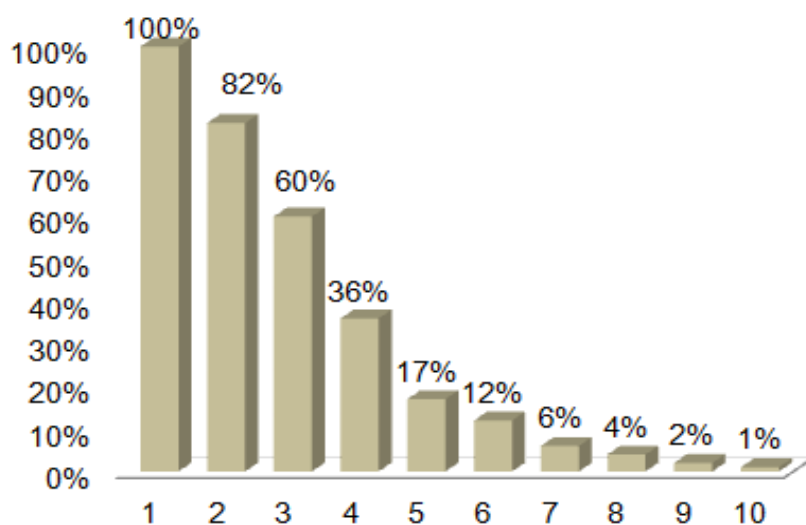
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ε1. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΓΡΑΜΜΕΣ ΣΤΟ ΠΜ

Νεότερες θεραπείες είναι διαθέσιμες στο ΠΜ από το 2000. Οι αναστολείς πρωτεασώματος (PIs) και τα ανοσοτροποποιητικά φάρμακα (IMiDs) αποτελούν θεραπείες κορμού αντικαθιστώντας τα συμβατικά σχήματα θεραπείας με χημειοθεραπεία (VAD containing regimens), με αποτέλεσμα την αύξηση της συνολικής επιβίωσης των ασθενών. Λόγω της ραγδαίας αυτής ανάπτυξης των παραγόντων που έλαβαν έγκριση στο ΠΜ, είναι απαραίτητη η παρατήρηση αυτών των ασθενών όσον αφορά τις γραμμές θεραπείας που έλαβαν διαχρονικά ώστε να αξιοποιηθούν κλινικά δεδομένα που ενδεχομένως να έχουν προγνωστική αξία.

Έτσι, πραγματοποιήθηκε καταγραφή των συνολικών γραμμών θεραπείας ασθενών με ΠΜ από το 2000- 2023. Η ανάλυση των δεδομένων ανέδειξε ότι η διάμεση επιβίωση του συνόλου των ασθενών ήταν 71 μήνες ενώ έχει αποβιώσει το 62% των ασθενών. Όλοι οι ασθενείς έλαβαν θεραπεία πρώτης γραμμής και το 82%, 60%, 36%, 17%, 12%, 6%, 4%, 2% και το 1% έλαβε 2η, 3η, 4η, 5η, 6η 7η 8η 9η και 10η γραμμή θεραπείας αντίστοιχα. (Εικόνα.1).

Εικ. 1. Ποσοστά αριθμού θεραπευτικών γραμμών σε ασθενείς με ΠΜ (2000-2023)



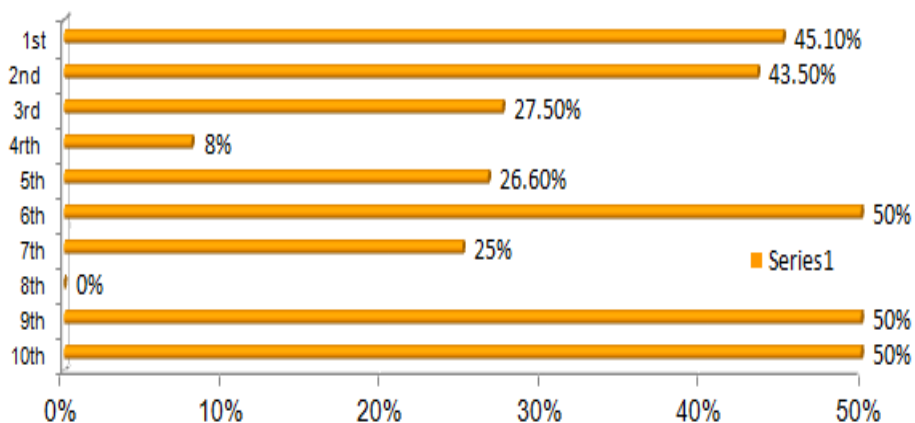
Ο TTNT στην 1η γραμμή ήταν 10 μήνες, στη 2η ήταν 12 μήνες, στην 3η γραμμή 7 μήνες, στην 4η γραμμή 8 μήνες, στην 5η γραμμή 5,5 μήνες και 6η γραμμή 5 μήνες. Ο TTNT ήταν 7 και 14 μήνες σε υποτροπιάζοντες/ανθεκτικούς ασθενείς που έλαβαν σχήματα με VD και RD, ανεξάρτητα από τη γραμμή θεραπείας, ενώ ο TTNT στη θαλιδομίδη-δεξαμεθαζόνη ήταν 16 μήνες και σημαντικά υψηλότερο στις πρώιμες γραμμές (2η - 3ος 20 μήνες έναντι 12 στον 4ο-5ο, $p=0.001$).

Τα θεραπευτικά σχήματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 62% VD, 58% RD, 20% MP, 16% VCD, 12% MPT 13% PAD, 7% PD, 7% Δαρατουμουμάμπη και 6% σχήματα που περιείχαν Ιξαζομίμπη, 6% VRD, 5% KD, 3 % Μπενταμουστίνη.

Το 25% των ασθενών υποβλήθηκαν σε Αυτόλογη Μεταμόσχευση Μυελού των Οστών (ASCT) μετά από θεραπεία με VAD ή VD και ο TTNT αυξήθηκε όπως αναμενόταν, σε σύγκριση με ασθενείς που πήραν το 1^ο ή το 2^ο σχήμα χωρίς ASCT. ($p<0.001$). Η επαναχορήγηση των IMiDs σε ασθενείς που είχαν ήδη λάβει θεραπεία με PIs και IMiDs, σχετιζόνταν με καλύτερο TTNT ($p = 0,01$) σε σύγκριση με τα PI αλλά όχι με OS ($p = 0,229$), πιθανώς λόγω της συνεχούς θεραπείας. Από τους ασθενείς 2ης γραμμής το 43,5% είναι εν ζωή και σε ύφεση. Οι ασθενείς που

βρίσκονται στην 5η γραμμή και άνω το 27% είναι ακόμα ζωντανοί με διάμεση επιβίωση τους 91 μήνες. (Εικ. 2).

Εικ. 2 Ποσοστά ασθενών με ΠΜ ανάλογα με τον αύξοντα αριθμό γραμμής θεραπείας



Το βάθος της ανταπόκρισης μειωνόταν με κάθε πρόσθετη γραμμή με το 35% των ασθενών να φθάνει σε απόκριση \geq VgPR στην θεραπεία 1ης γραμμής ενώ μόνο το 22% στη θεραπεία 5ης γραμμής.

Η OS του συνόλου των ασθενών ήταν 56 μήνες (εύρος: 0-376) και 50 μήνες (0-376) των ασθενών που έχουν καταλήξει ενώ στους ασθενείς που βρίσκονται υπό παρακολούθηση η διάμεση OS είναι 69,5 μήνες (1-285).

E2. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΙ ΣΤΗΝ ΛΕΝΑΛΙΔΟΜΙΔΗ

Η ανθεκτικότητα στην λεναλιδομίδη αποτελεί δυσμενή προγνωστικό παράγοντα. Η λεναλιδομίδη χορηγείται ευρέως σε συνδυασμό με δεξαμεθαζόνη, σε τριπλά ή τετραπλά σχήματα ως 1η γραμμή θεραπείας ή στην υποτροπή ενώ επί του παρόντος αποτελεί το μόνο εγκεκριμένο φάρμακο για θεραπεία συντήρησης στο ΠΜ. Σχεδόν όλοι οι ασθενείς με ΠΜ θα αποκτήσουν κάποια στιγμή ανθεκτικότητα στην Λεναλιδομίδη. Ωστόσο, οι ορισμοί της ανθεκτικότητας σε αυτήν και η προσεκτική αξιολόγηση είναι ανεπαρκείς.

Έτσι, μελετήθηκαν 186 ασθενείς εκ των οποίων 158 έλαβαν θεραπεία με LD σε οποιαδήποτε γραμμή και 18 έλαβαν θεραπεία συντήρησης με Λεναλιδομίδη.

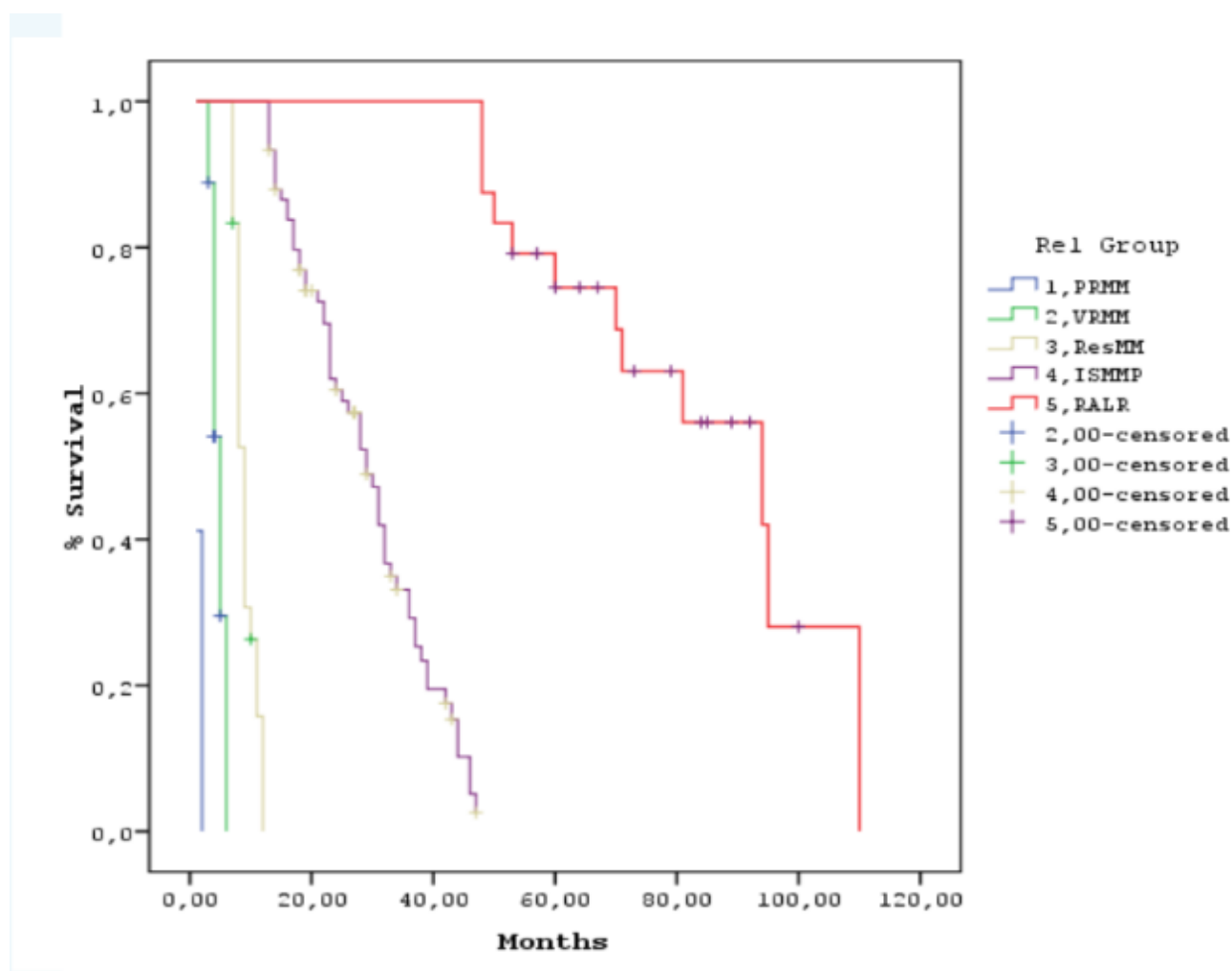
Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε 5 ομάδες ανάλογα με τον χρόνο ανάπτυξης ανθεκτικότητας στη Λεναλιδομίδη όπως φαίνονται στον **Πίνακα 1**. Ασθενείς με καμία αντίκριση μετά από 2 μήνες θεραπείας εντάχθηκαν στην 1^η ομάδα – Πρωτοπαθώς ανθεκτικό ΠΜ (PRMM). Υποτροπή μετά από 6 μήνες θεραπείας με Len στην 2η ομάδα - Πολύ ανθεκτικό ΠΜ (VRMM). Πρόοδος νόσου μεταξύ 7-12 μηνών από την έναρξη θεραπείας με Len , 3η ομάδα –Ανθεκτικό ΠΜ (ResMM). Αρχικά ευαίσθητοι ασθενείς με υποτροπή στην Len μετά από 12 μήνες και λιγότερο από 4 χρόνια (ISMM) αποτελούσαν την 4η ομάδα. Ασθενείς με μακρά ανταπόκριση στην θεραπεία με Len και υποτροπή τελικά μετά από 4 χρόνια (RALR) εντάχθηκαν στην 5^η ομάδα.

Πιν. 1 Κατηγοριοποίηση ασθενών που έλαβαν θεραπεία με Λεναλιδομίνη ανάλογα με το χρόνο ανάπτυξης ανθεκτικότητας στην Λεναλιδομίνη.

N	Κατηγορία	Περιγραφή
1.	Ασθενείς Πρωτοπαθώς Ανθεκτικοί (PRMM)	Καμία Ανταπόκριση μετά από 2 μήνες θεραπείας
2.	Ασθενείς Πολύ Ανθεκτικοί (VRMM)	Υποτροπή \leq 6 μήνες από την έναρξη της Len
3.	Ασθενείς με Ανθεκτικό ΠΜ (ResMM)	Πρόοδος νόσου 7-12 μήνες από την έναρξη θεραπείας με Len
4.	Αρχικά ευαίσθητοι στην Len ασθενείς (ISMM)	Υποτροπή μετά από 12 μήνες θεραπείας με Len
5.	Ασθενείς με Μακρά Ανταπόκριση στην Len (RALR)	Υποτροπή μετά από 4 χρόνια θεραπείας με Len

Από τους 158 ασθενείς, 16 ήταν PRMM, 23 VRMM, 25 ResMM, 70 ISMMP, 24 RALR. Η διάμεση συνολική επιβίωση μετά την Λεναλιδομίδη (LenOS) ήταν 3 μήνες στους ασθενείς με PRMM με 2, 4, 4, 3, 1, 2 να βρίσκονται σε θεραπεία 1ης, 2ης, 3ης και > 4ης γραμμής. Μόνο 5 ασθενείς με PRMM έλαβαν επόμενη γραμμή θεραπείας μετά από len και κατόρθωσαν έναν επιπλέον χρόνο έως στην επόμενη θεραπεία (TNT) 9 μηνών. Οι VRMM ασθενείς είχαν 7 μήνες LenOS. Η διάμεση LenOS στους ISMMP ασθενείς ήταν 39 μήνες. Οι ασθενείς με RALR είχαν διάμεση LenOS τους σε 87 μήνες. Η διάμεση LenOS ήταν σημαντικά διαφορετική μεταξύ όλων των ομάδων ($p < 0.0001$). **Διαγρ. 1.**

Διαγρ. 1 LenOS ανάλογα με τον χρόνο υποτροπής στην Λεναλιδομίδη.



Ο διάμεσος χρόνος από τη θεραπεία συντήρησης με λεναλιδομίδη έως την υποτροπή ήταν 28 μήνες. Τρεις ασθενείς κατά τη διάρκεια της συντήρησης έγιναν ανθεκτικοί στους 4 μήνες (2 ασθενείς) και στους 6 μήνες (1 ασθενής) αντίστοιχα

Υποτροπή μέσα σε 12 μήνες μετά από έναρξη LD ανεξαρτήτως αμ υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση ή του βάθους ανταπόκρισης σχετίζεται με μειωμένη επιβίωση. Οι ασθενείς με πρόιμη υποτροπή μετά την έναρξη με LD αποτελούν έναν υπό πληθυσμό υψηλού κινδύνου. Τα αποτελέσματα είναι πολύ πτωχά για τους ασθενείς με πρωτοπαθή ανθεκτικότητα (PRMM) και σε ασθενείς με πολύ ανθεκτικό ΠΜ (VRMM) οι οποίοι αποτελούν τη μειοψηφία. Η παρατεταμένη επιβίωση των ασθενών με υποτροπή μετά την πενταετία είναι ενθαρρυντική στην εποχή των νέων παραγόντων και στην διαθεσιμότητα μονοκλωνικών και αμφιειδικών αντισωμάτων.

Ε3. ΕΠΙΠΕΔΑ CEREBLON ΣΤΟΝ ΟΡΟ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΠΜ ΠΟΥ ΕΛΑΒΑΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΛΕΝΑΛΙΔΟΜΙΔΗ

Ο προσδιορισμός της πρωτεΐνης στόχου των IMiDs, Cereblon (CRBN) πραγματοποιήθηκε σε ενενήντα δύο (N=92) ασθενείς που διαγνώστηκαν με ΠΜ και είχαν διαθέσιμους ορούς κατά την έναρξη του σχήματος Λεναλιδομίδης – Δεξαμεθαζόνης (LD), στην Καλύτερη Απόκριση της θεραπείας με LD (BR) και κατά την υποτροπή/ανθεκτικότητα στο σχήμα LD.

Οι οροί ασθενών που λήφθηκαν διατηρήθηκαν κατεψυγμένοι και αναλύθηκαν αναδρομικά. Ορίστηκαν τρία χρονικά σημεία για τη μέτρηση CRBN.

1. Η έναρξη θεραπείας με LD (N= 68 ασθενείς),
2. Κατά την καλύτερη ανταπόκριση (N= 59 ασθενείς) και
3. Κατά την υποτροπή/ανθεκτικότητα στο σχήμα LD (N=54 ασθενείς).

Είκοσι δείγματα ορού υγιών ατόμων (HI) συμπεριλήφθηκαν επίσης στη μελέτη ως μάρτυρες.

Επίπεδα ορού Cereblon σε ασθενείς με ΠΜ υπό θεραπεία με Len

Τα βασικά χαρακτηριστικά των ασθενών συνοψίζονται στον **Πίνακα 1**. Η διάμεση ηλικία των ασθενών ήταν τα 70 έτη (εύρος, 43-90) με 52 (56 %) ασθενείς άνδρες και 40 (44 %) γυναίκες. Ο τύπος Ig ήταν IgG σε 58 (64%) ασθενείς, IgA σε 20 (22%) ασθενείς, ελαφριά αλυσίδα σε 10 (11%) ασθενείς και άλλος τύπος σε 3 (3%) ασθενείς, αντίστοιχα. Ως ISS1 σταδιοποιήθηκαν 25 ασθενείς (26 %), ISS2 17 (18,4 %) και ISS3 41 (45,6 %). Το σχήμα LD χορηγήθηκε ως θεραπεία πρώτης γραμμής σε 8 (8,4%) ασθενείς, δεύτερης γραμμής σε 35 (36,8 %), τρίτης γραμμής σε 25 (26,3%), τέταρτης γραμμής σε 15 (15,8 %) και θεραπεία 5ης-9ης γραμμής σε 12 (12,7%) ασθενείς. Η πορεία του ΠΜ στους ανωτέρω ασθενείς συνοψίζεται στον **Πίνακα 2**.

Πίν. 1 Χαρακτηριστικά των ασθενών με ΠΜ

Μεταβλητή	Ασθενείς N=92	Ποσοστό (%)
Ηλικία	70 (εύρος, 43-90)	
Φύλο		
Ανδρες	52	56%
Γυναίκες	40	44%
Τύπος Ig		
IgG	58	64%
IgA	20	22%
Ελαφριά Αλύσιδα	10	11%
Δίκλωνικη Ig	3	2 %
IgD	1	1 %
ISS		
ISS 1	29	32 %
ISS 2	19	20 %
ISS 3	44	48 %
Κλινικές εκδηλώσεις		
Υπερασβεστιαμία	3	3.2 %
Νεφρική Ανεπάρκεια (Cr \geq 2g/dl)	15	16,3 %
Αναμία (Hb \leq 10g/dl)	35	38 %
Οστεολύσεις (\geq 1)	39	42,4%
Πλασματοκυττώματα (\geq 1)	3	3.2 %
Θρομβοπενία	8	8.7 %
Μη φυσιολογική LDH	12	13 %
BMINF \geq 60%	37	40,2 %
Βιοχημική Υποτροπή	22	23,9 %
Γραμμή Θεραπείας		
1 st	8	9 %
2 nd	36	39 %
3 rd	23	25 %
4 th	14	15 %
5 th -9 th	11	12 %

Ig: Ανοσοσφαιρίνη, ISS: Διεθνές Σύστημα Σταδιοποίησης, LDH: γαλακτική αφυδρογονάση ,
BMINF: διήθηση μυελού των οστών

Πιν. 2 Πορεία ασθενών με ΠΜ

Μεταβλητή	Ασθενείς N=92 (range)	Ποσοστό (%)
Γραμμή θεραπείας πριν το LD		
IMiD εκθεση	37	40,2 %
IMiD χωρίς έκθεση	55	59,8 %
Γραμμή θεραπείας μετά το LD		
Με βάση PI	30	56 %
Συμβατική Χημειοθεραπεία	10	19 %
Με βάση IMiD	2	3 %
ASCT	5	9 %
Θεραπεία Διάσωσης	2	4 %
IMiD and PI	5	9 %
<i>7 year Overall Survival</i>	76 months (range, 6-84)	
<i>TTNT</i>	13 months (range, 2-120)	
Χρόνος έως την υποτροπή στο LD		
Ανθεκτικοί στο LD	5	5,4%
Υποτροπή < 6 μήνες στο LD	13	14,1 %
Υποτροπή 6-12 μήνες στο LD	19	20,6 %
Υποτροπή από 12 -24 μήνες στο LD	25	27,2 %
Υποτροπή από 24-60 μήνες στο LD	18	19,5 %
Υποτροπή ≥ 5 χρόνια στο LD	12	13,2 %
Ανταπόκριση στο LD		
sCR	9	9.8 %
CR	9	9.8 %
VgPR	21	22.8 %
PR	22	23.9 %
MR	11	14,7 %
PD	15	19 %
Ανταπόκριση ≥ PR	66	49.5 %
Ανταπόκριση στην 2^η θεραπεία μετά το LD.		
Scr	2	2,17 %
CR	5	5,4 %
VgPR	1	1,07 %
PR	12	13,04 %
MR	9	9,8 %
PD	7	7,6 %

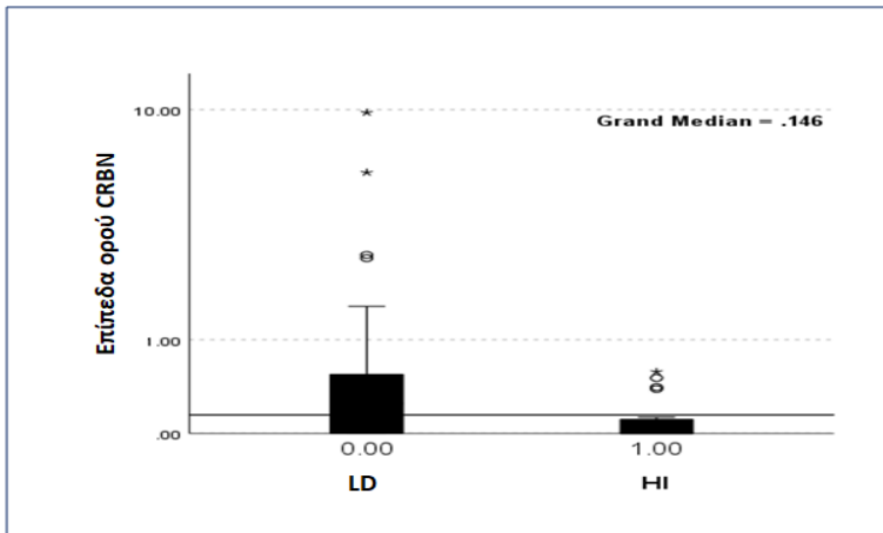
LDH: γαλακτική αφυδρογονάση, PI:αναστολέας πρωτεασώματος, IMiDs: Ανοσοτροποποιητικά φάρμακα, ASCT: Μεταμόσχευση αυτόλογων βλαστοκυττάρων, sCR: αυστηρή πλήρης απόκριση, CR: πλήρης απόκριση, VgPR: πολύ καλή μερική απόκριση, PR: μερική απόκριση, PR: μερική απόκριση, PD.: πρόοδος νόσου.

Η διάμεση τιμή των επιπέδων CRBN κατά τη θεραπεία έναρξης με λεναλιδομίδη-δεξαμεθαζόνη (LD) ήταν 247 pg/ml (εύρος, 0-9760 pg/ml), τη στιγμή της καλύτερης απόκρισης 142,5 pg/ml (εύρος, 0-9940 pg/ml) και σε ασθενείς με υποτροπή/ανθεκτικό ΠΜ στο LD 298 pg/ml (εύρος, 0-9840 pg/ml), ενώ σε φυσιολογικούς μάρτυρες τα επίπεδα CRBN ήταν σχεδόν μη ανιχνεύσιμα με διάμεση τιμή 0 pg/ml (εύρος: 0 έως 580 pg/ml). Οκτώ από τους 20 φυσιολογικούς ελέγχους είχαν μετρήσιμο CRBN που κυμαινόταν από (30-580) pg/ml.

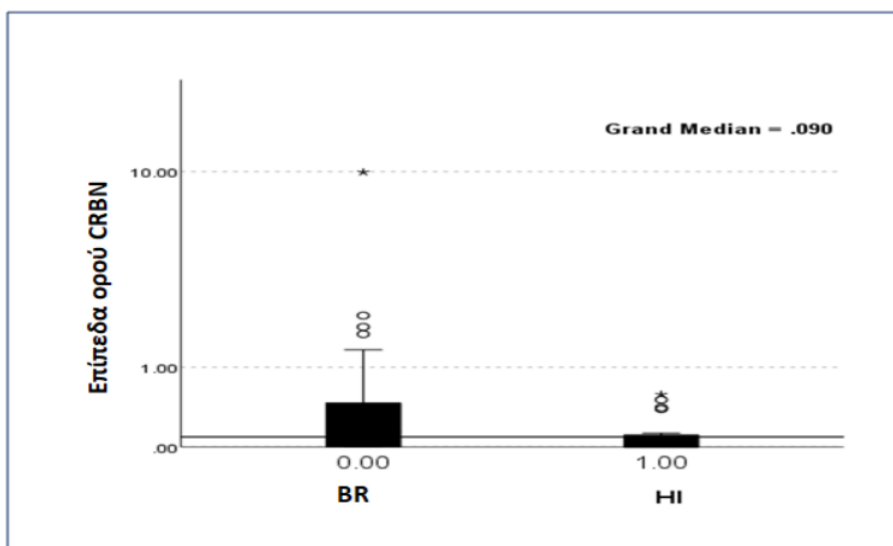
Τα επίπεδα CRBN των υγιών ατόμων ήταν σημαντικά χαμηλότερα σε σύγκριση με τα επίπεδα του CRBN στον ορό κατά την έναρξη της LD ($p=0,003$), στην BR ($p=0,012$) και στην υποτροπή σε LD ($p=0,002$). **(Εικ. 1)** Τα επίπεδα CRBN ήταν σημαντικά υψηλότερα κατά την έναρξη του LD σε σύγκριση με τα επίπεδα CRBN στην BR ($N=48$, $p=0,04$). Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των επιπέδων CRBN μεταξύ BR και Υποτροπής στο σχήμα LD ($N=39$, $p=0,258$) και μεταξύ έναρξης LD και Υποτροπής στην LD ($N=35$, $p=0,811$). **(Εικ. 2)**

Εικ 1. Επίπεδα CRBN στην Α) Έναρξη Λεναλιδομίδης-Δεξαμεθαζόνης (LD), Β) Καλύτερη Ανταπόκριση (BR) και Γ) Υποτροπή στο LD σε σύγκριση με τους φυσιολογικούς μάρτυρες (HI).

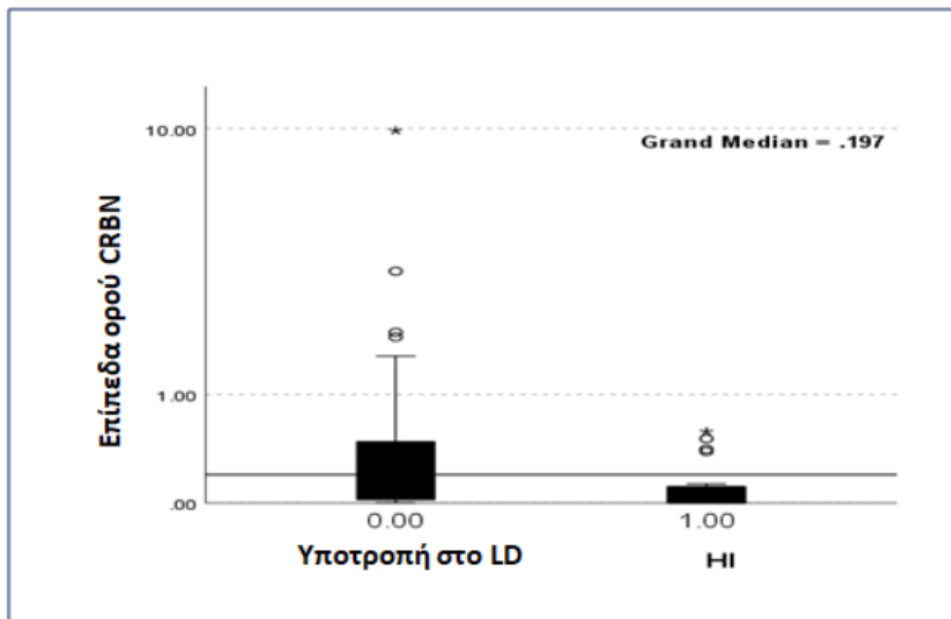
A.



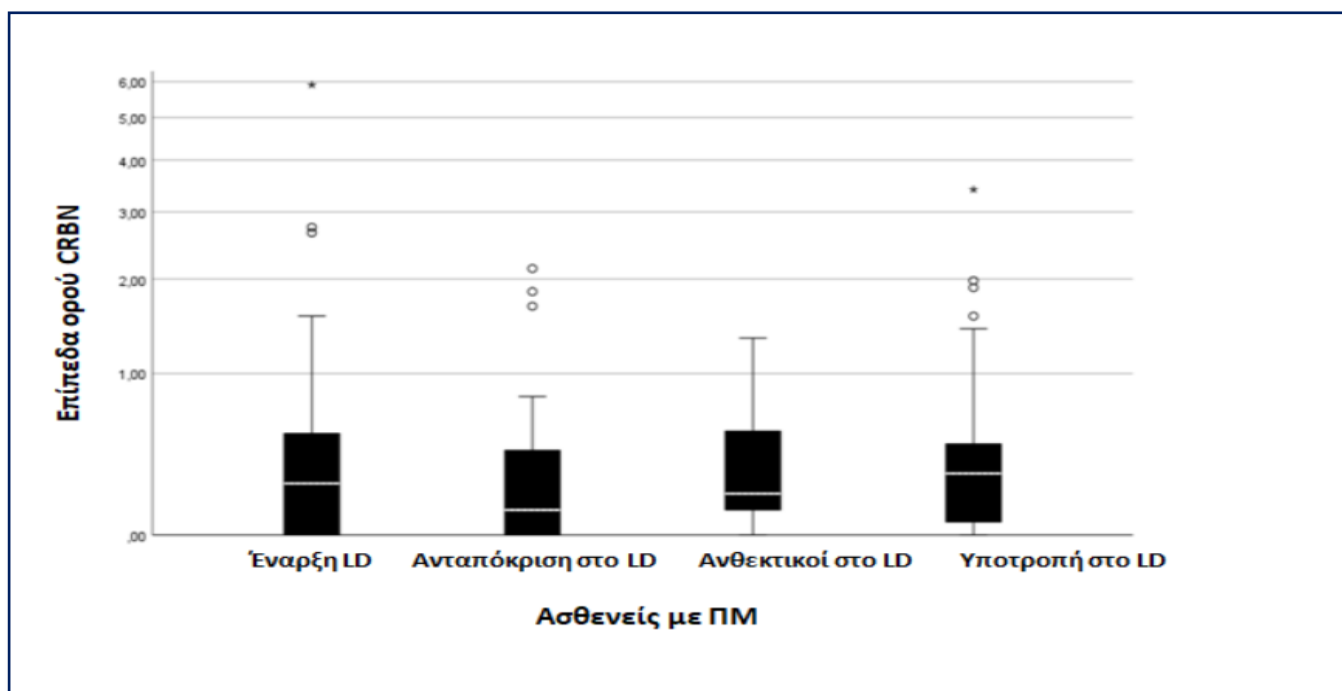
B.



Γ.



Εικ 2. Επίπεδα CRBN κατά την έναρξη της LD σε σύγκριση με την Καλύτερη Ανταπόκριση στο LD.



Συσχέτιση CRBN με Χαρακτηριστικά σχετιζόμενα με το ΠΜ.

Οι συσχετίσεις του CRBN ορού με τα χαρακτηριστικά της νόσου συνοψίζονται στον Πίνακα 2. Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση με την αναιμία, τη νεφρική ανεπάρκεια, την υπερασβεστιαμία, τη νόσο των οστών, τα πλασματοκυττώματα, τη θρομβοπενία και τη βιοχημική υποτροπή κατά την έναρξη του LD. Τα χαμηλότερα επίπεδα CRBN κατά την έναρξη της LD συσχετίστηκαν με αυξημένη BMINF ≥ 60 ($p=0,05$, $r=-0,268$). Επιπλέον, τα υψηλά επίπεδα CRBN στον ορό κατά την έναρξη του LD συσχετίστηκαν με ασθενείς που εμφάνισαν πρόωμη υποτροπή (≤ 12 μήνες). Μάλιστα, οι συγκεκριμένοι ασθενείς ανταποκρίθηκαν στην LD ($\geq PR$) μάλλον καλά. ($p=0,03$). **(Πίνακας 3)**

Πιν. 3 Συσχετίσεις επιπέδων CRBN με τα χαρακτηριστικά ασθενών με ΠΜ.

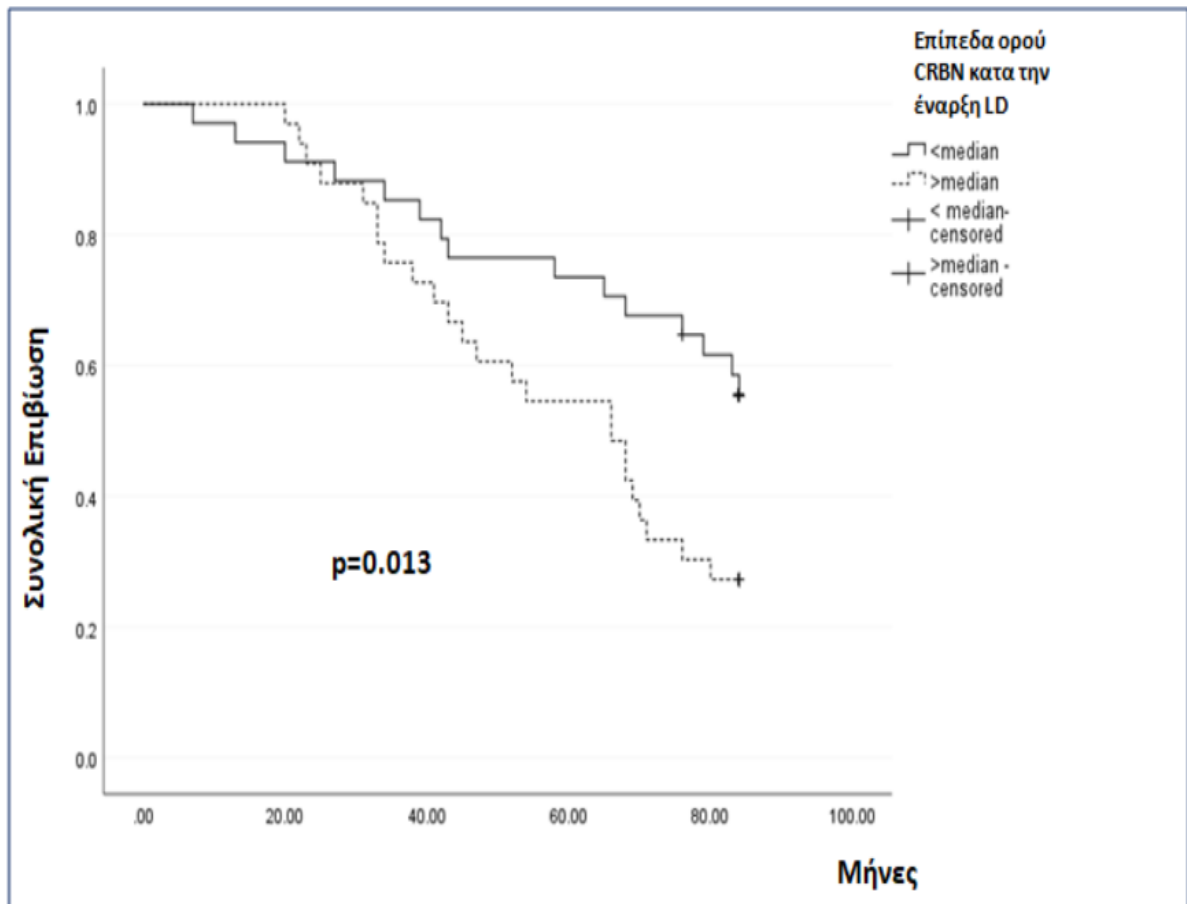
<i>Επίπεδα ορού CRBN στην έναρξη θεραπείας με LD</i>	<i>Συντελεστής συσχέτισης (r)</i>	<i>Τιμή -P</i>
<i>BMINF $\geq 60\%$</i>	<i>0.265</i>	<i>0.05</i>
<i>Μη φυσιολογική LDH στην έναρξη θεραπείας με LD</i>	<i>-0.486</i>	<i>0.001</i>
<i>Ανταπόκριση $\geq PR$ στην LD αλλά υποτροπή ≤ 12 μήνες</i>	<i>-0.258</i>	<i>0.032</i>
<i>Επίπεδα ορού CRBN στην καλύτερη ανταπόκριση στο σχήμα LD</i>		
<i>Ανταπόκριση στην 2nd θεραπεία μετά το LD</i>	<i>-0.456</i>	<i>0.025</i>
<i>Μη φυσιολογική LDH στην καλύτερη ανταπόκριση</i>	<i>-0.411</i>	<i>0.004</i>
<i>Επίπεδα ορού CRBN στην υποτροπή στο LD</i>		
<i>Αναιμία (Hb ≤ 10 g/dl)</i>	<i>-0,330</i>	<i>0.046</i>
<i>Ο λόγος των επιπέδων ορού CRBN (στην έναρξη με /στην καλύτερη ανταπόκριση με LD ≥ 1)</i>	<i>-0.338</i>	<i>0,041</i>
<i>Ανταπόκριση στην 2nd θεραπεία μετά το LD Response</i>	<i>-0,344</i>	<i>0,063</i>

Ανάλυση επιβίωσης ασθενών με ΠΜ με βάση τα επίπεδα CRBN ορού

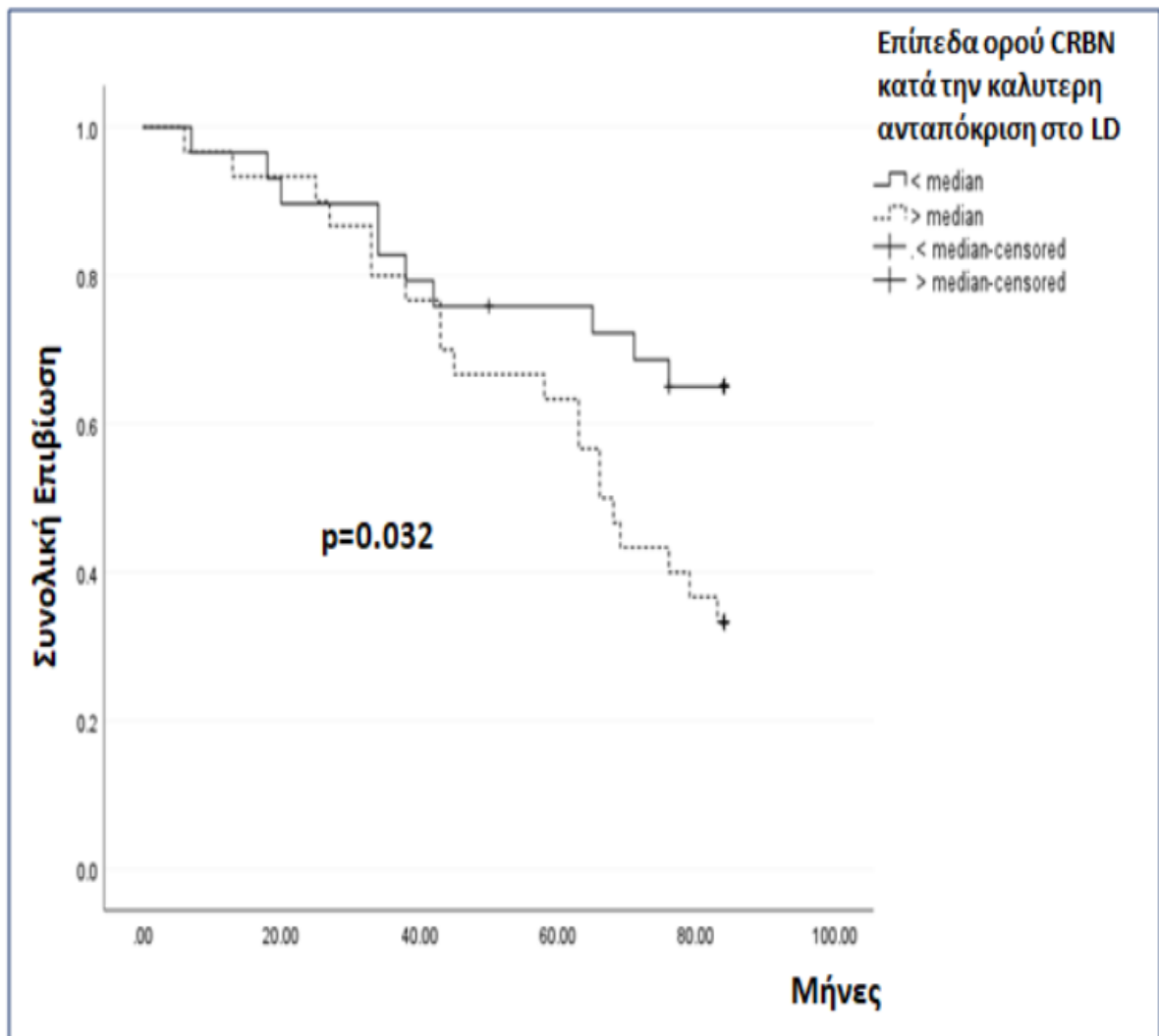
Η διάμεση OS των ασθενών που έγινε προσδιορισμός του CRBN ήταν 76 μήνες (6-376) και η διάμεση TTNT ήταν 14 μήνες (1-110). Η διάμεση τιμή του CRBN του ορού των ασθενών σε κάθε χρονικό σημείο (έναρξη LD, BR και υποτροπή σε LD), χρησιμοποιήθηκε ως σημείο αποκοπής (cut off) στην ανάλυση επιβίωσης. Η επταετής επιβίωση βελτιώθηκε σε ασθενείς με επίπεδα CRBN κάτω από το μέσο όρο κατά την έναρξη του LD ($p=0,013$), κατά τη διάρκεια της καλύτερης ανταπόκρισης ($p=0,032$), αλλά όχι σε υποτροπιάζοντες/ανθεκτικούς ασθενείς στο LD ($p= 0,357$). **(Εικ. 3)** Ο χρόνος TTNT δεν διέφερε μεταξύ των επιπέδων CRBN κατά την έναρξη του LD ($p=0,121$) και της BR στο LD ($p=0,074$). **(Εικ. 4)**

Εικ. 3. Επταετής OS με βάση τα επίπεδα CRBN ορού A) κατά την έναρξη της LD, B) BR και Γ) Υποτροπή στο LD.

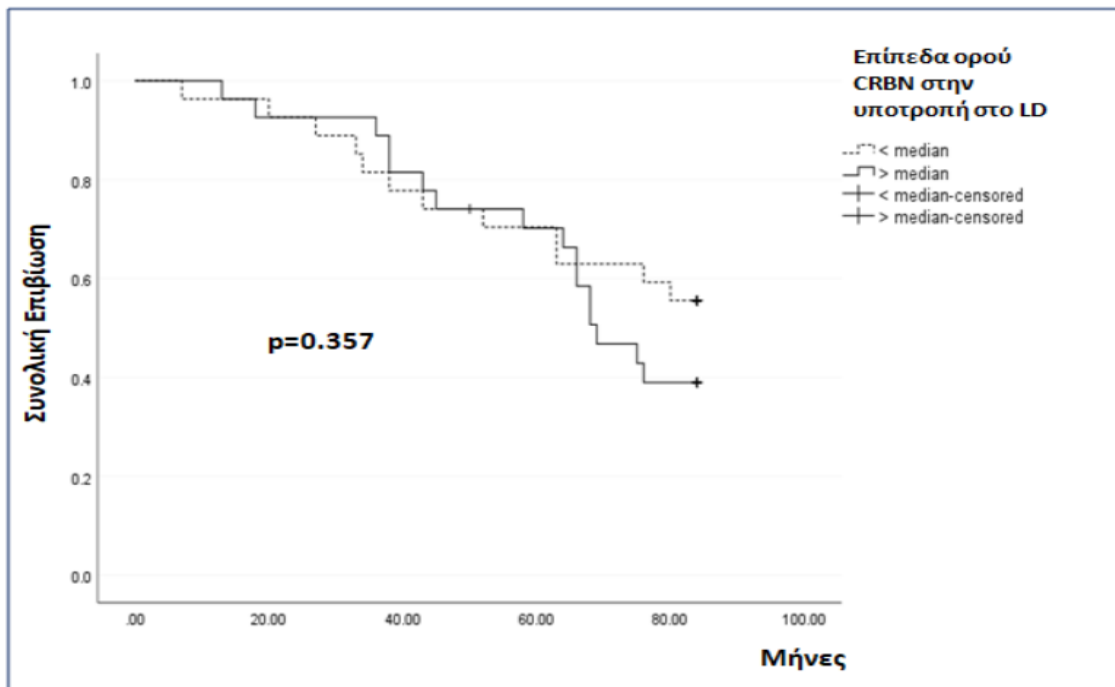
A.



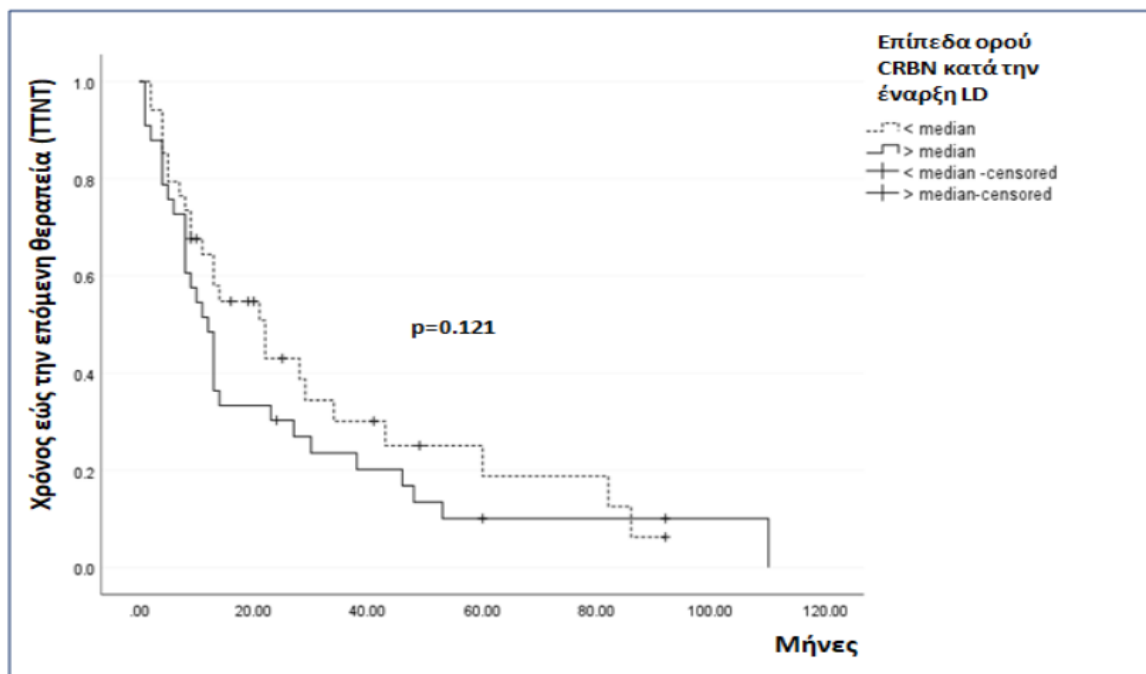
B.



Γ.



Εικ. 4. Χρόνος μέχρι την επόμενη Θεραπεία με βάση τα επίπεδα CRBN κατά την έναρξη του LD του LD



Ε4. ΕΠΙΠΕΔΑ ΕΚΦΡΑΣΗΣ miRNAs ΣΤΟΝ ΟΡΟ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΠΜ

Η προγνωστική σημασία των miR-16 και miR-21 εξετάστηκε σε ασθενείς ΠΜ. Στην ανάλυση συμπεριλήφθηκαν σαράντα οκτώ (48) ασθενείς με ΠΜ κατά τη διάγνωση, που έλαβαν θεραπεία στο τμήμα μας. Τα ιατρικά αρχεία επανεξετάστηκαν αφού ελήφθη η ενυπόγραφη συγκατάθεση των ασθενών. Συλλέχθηκαν κατεψυγμένοι οροί από ασθενείς και δεκαπέντε υγιή άτομα. Πριν από τη θεραπεία με LD, συλλέχθηκαν επίσης δείγματα ορού από 35 από τους 48 ασθενείς για τον προσδιορισμό επίσης των miRNAs προς αξιολόγηση και συσχέτιση με τα επίπεδα των miRNAs στην διάγνωση με ΠΜ. Το GFR υπολογίστηκε με βάση την εξίσωση Cockcroft. Η διάμεση τιμή των miRNA χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση επιβίωσης.

Πίν. 1. Χαρακτηριστικά των ασθενών με ΠΜ με μέτρηση miRNAs.

Μεταβλητή (N=48)	Αριθμός (%) / Διάμεση τιμή (Εύρος)
Ηλικία	67 (40-85)
Φύλο	
Ανδρες	28 (58%)
Γυναίκες	20 (42%)
Τύπος Ig	
IgG	22 (46%)
IgA	16 (33%)
Ελαφριά Αλυσσος	8 (17%)
Δικλωνικό	2 (4%)
Τύπος Ελαφριάς Αλυσίδας	
Κάππα (κ)	31 (64 %)
Λάμδα (λ)	17 (36 %)
ISS	
I	15 (33%)
II	13 (28%)
III	18 (39%)

Ig (Immunoglobulin)=Ανοσοσφαιρίνη, ISS (International Staging System)=Διεθνές Σύστημα Σταδιοποίησης,

Πίν.2. Εργαστηριακά των ασθενών με ΠΜ με μέτρηση miRNAs.

Variable (N=48)	Median (Range)
Hb g/dl	11.1 (6.7-15)
PLTs 10 ⁹ /μL	212 (52-375)
Cr mg/dl	1 (0.5-4.6)
Hypercalcemia	10 (22 %)
Alb	4.08 (2.5-5)
Bone Disease (determined by Imaging)	36 (80 %)
IgG mg/L	3360 (1850-8730)
IgA mg/L	3255 (944-6450)
IgM mg/L	17.3 (16.8-99.8)
FLCκ mg/L	1398 (1.98-1510)
FLCλ mg/L	3.36 (0.08-2690)
FLCR	42 (0.9-52750)
B2M mg/L	3.8 (2-16)
BMiNF⁹ %	50 (10-95)
LDH UNL	3 (7 %)
Neu 10⁹/μL	3455 (500-17880)
Lymph 10⁹/μL	1610 (780-4340)
Neu/Lymph	2 (0.52-17.5)
CRP mg/L	3.45 (0.470-86.5)

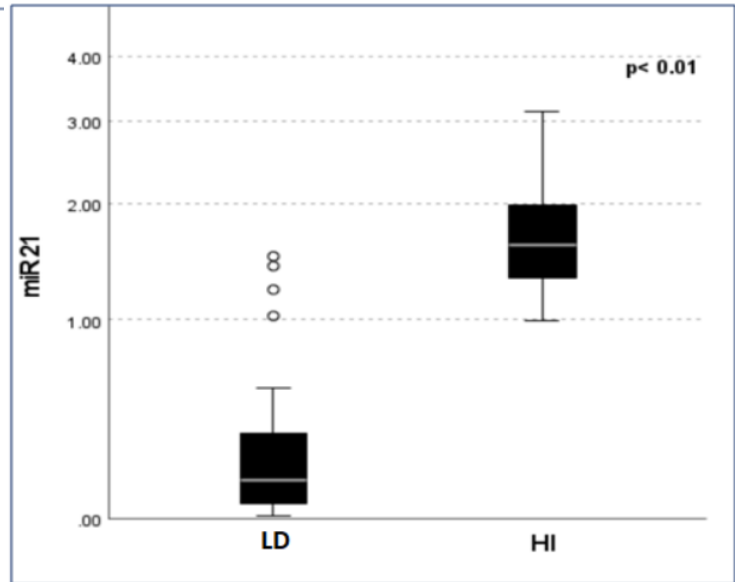
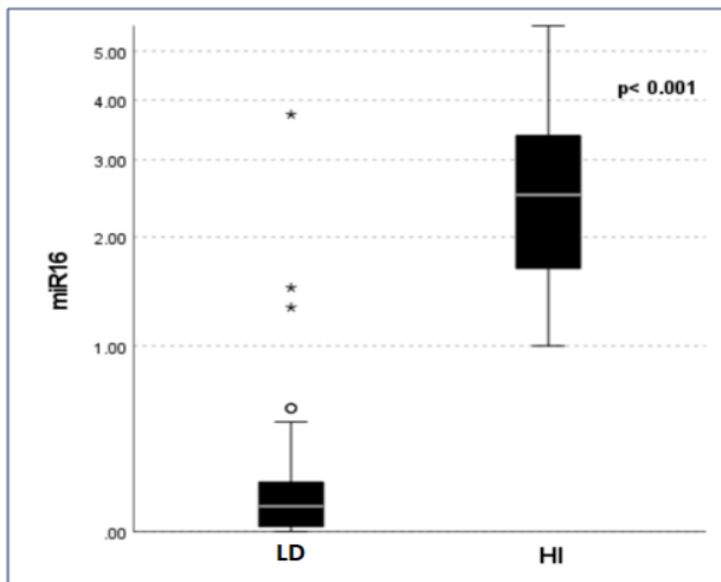
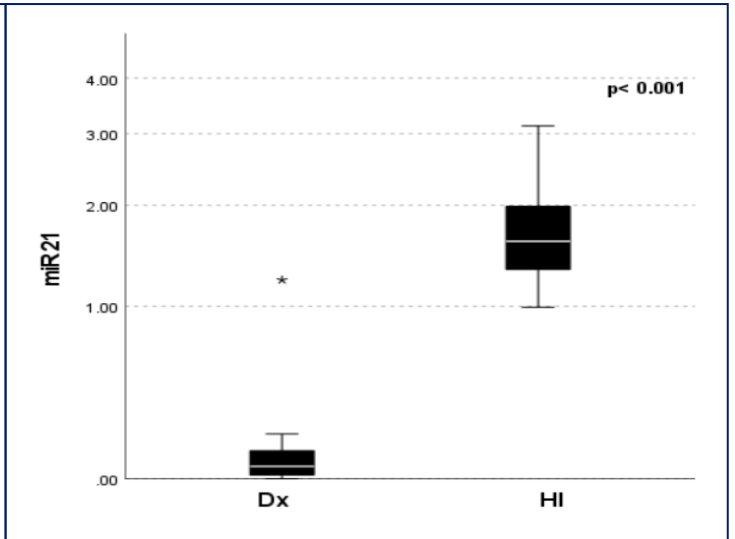
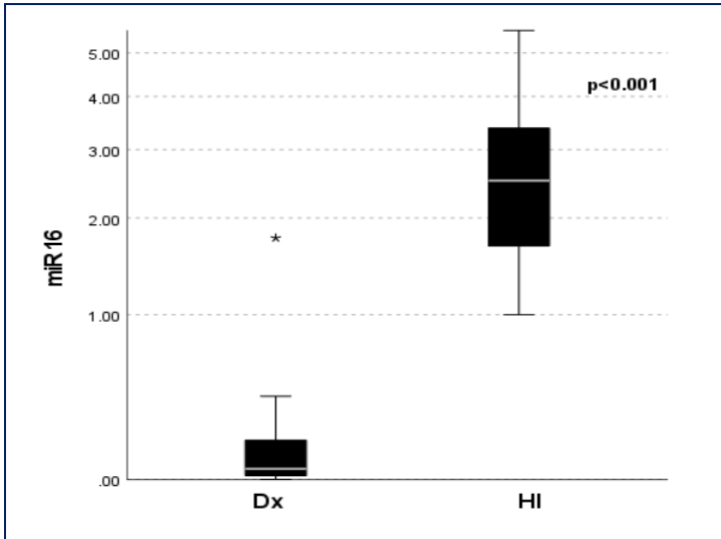
BMiNF: Διήθηση μυελού των οστών, Hb: αιμοσφαιρίνη, Cr: κρεατινίνη, OS: Συνολική επιβίωση, TTNT: Χρόνος στην επόμενη θεραπεία, Alb: Λευκοματίνη, CRP: C αντιδραστική πρωτεΐνη, LDH: γαλακτική αφυδρογονάση, B2M: B2 μικροσφαιρίνη Ελεύθερο, FLCR: Φως: FLCR: Αναλογία αλυσίδων, FLC: Ελεύθερη ελαφριά αλυσίδα, Neu: ουδετερόφιλα, λέμφοι: λεμφοκύτταρα, PLTs: αιμοπετάλια, ISS: Διεθνές σύστημα σταδιοποίησης

Επίπεδα miR-16 και miR-21 στον ορό ασθενών με ΠΜ.

Η έκφραση των miR-16 και miR-21 στον ορό ήταν σημαντικά μειωμένη σε ασθενείς με ΠΜ κατά τη διάγνωση σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες (HI) (διάμεσος miR-16 0,047 έναντι 1,89 και διάμεσος miR-21 0,051 έναντι 1,59, $p < 0,001$). Τα επίπεδα έκφρασης της έκφρασης miR-16 και 21 πριν από τη θεραπεία έναρξης του LD ήταν επίσης σημαντικά μειωμένα σε σύγκριση με τα υγιή άτομα (διάμεσος miR-16 0,100 έναντι 1,89 και διάμεσος miR-21 0,143 έναντι 1,59, $p < 0,001$). Τα επίπεδα έκφρασης των miR-16 και miR-21 μεταξύ των ασθενών με ΠΜ αυξήθηκαν στην υποτροπή σε σύγκριση με τα επίπεδα κατά τη διάγνωση. (Εικ. 5)

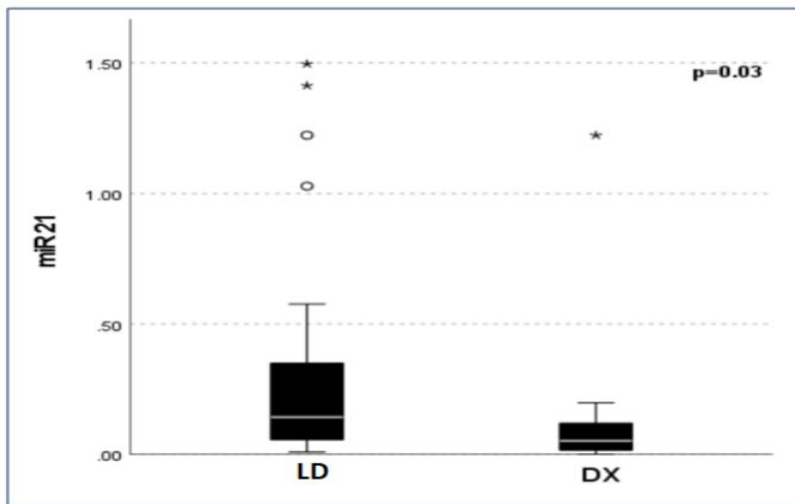
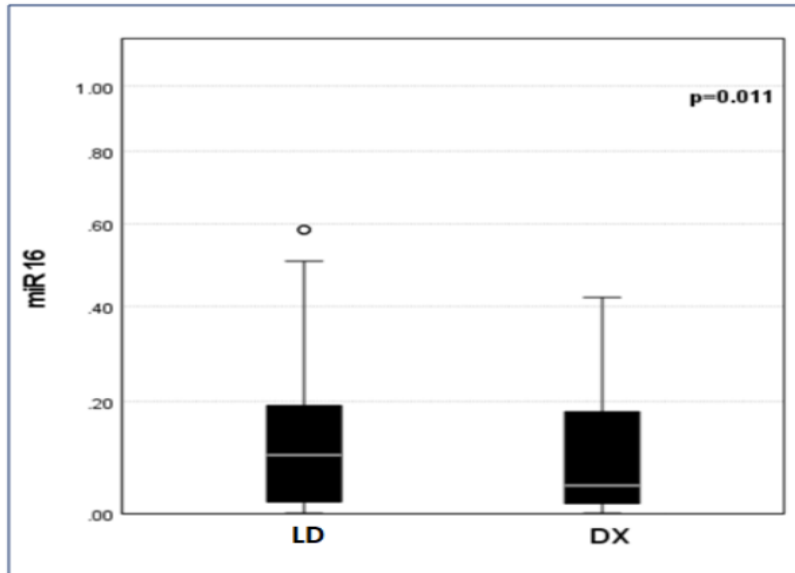
Εικ.5. Κατανομή της έκφρασης miR-16 και miR-21 στη διάγνωση (Dx), πριν από τη θεραπείας με Λεναλιδομίδη-Δεξαμεθαζόνη (LD) και σε υγιή άτομα (HI). **A, B.** Η έκφραση διαφοράς miR -16 και miR-21 μεταξύ ασθενών με HI και MM κατα την DX και πριν το LD. **Γ.** Διαφορά έκφρασης miR-16 και miR-21 μεταξύ Dx και LD.

A. B.



LD: Λεναλιδομίδα- Δεξαμεθαζόνη, HI: Φυσιολογικοί Μαρτυρες, DX:Διάγνωση

Γ.



LD: Λεναλιδομίδη- Δεξαμεθαζόνη, HI: Φυσιολογικοί Μαρτυρες, DX:Διάγνωση

Συσχέτιση miRNAs με κλινικά χαρακτηριστικά στο ΠΜ

Τα κλινικά χαρακτηριστικά του ΠΜ συσχετίστηκαν με την έκφραση miR-16 και 21 κατά τη διάγνωση. Τα επίπεδα έκφρασης miR-16 στον ορό συσχετίστηκαν με Cr ($r = -0,473$, $p = 0,002$), GFR ($r = -0,466$, $p = 0,001$ και $Cr \geq 2$ ($r = -0,562$, $p = 0,002$), υπερασβεστιαμία ($r = -0,460$, $p = 0,003$), B2M ($r = -0,370$, $p = 0,021$), CRP ($r = -0,356$, $p = 0,022$), επίπεδα IgM ορού ($r = -0,329$, $p = 0,034$) miR-21 ορού σημαντικά συσχετίστηκε με $B2 \leq 3,5$ ($r = 0,372$, $p = 0,017$), $Cr \geq 2$ ($r = -0,301$, $p = 0,05$), CRP ($r = -0,330$, $p = 0,033$) και αναλογία ουδετερόφιλων/λεμφοκυττάρων ($r = -0,332$, $p = 0,045$).

Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ έκφρασης miR-16, miR-21 κατά τη διάγνωση και ηλικίας ($r = 0,151$, $p = 0,338$ & $r = 0,285$, $p = 0,161$), Hb ($r = 0,068$, $p = 0,670$ & $r = -0,091$, $p = 0,564$), PLTs ($r = 0,017$, $p = 0,917$ & $r = -0,103$, $p = 0,510$), alb ($r = 0,172$, $p = 0,276$ & $r = 0,252$, $p = 0,099$), ISS ($r = -0,221$, $p = 0,170$ & $r = -0,251$, $p = 0,110$), IgG ($r = 0,047$, $p = 0,766$ & $r = 0,163$, $p = 0,291$), IgM ($r = -0,247$, $p = 0,115$ & $r = -0,124$, $p = 0,422$), IgA ($r = -0,006$, $p = 0,970$ & $r = -0,145$, $p = 0,346$), FLCR ($r = -0,023$, $p = 0,888$ & $r = -0,061$, $p = 0,704$), BMINF ($r = 0,028$, $p = 0,860$ & $r = 0,016$, $p = 0,918$), οστικές βλάβες ($r = 0,031$, $p = 0,848$ & $r = 0,070$, $p = 0,659$), αντίστοιχα.

Στην έναρξη της LD, τα επίπεδα έκφρασης του miR-21 στον ορό συσχετίστηκαν με ISS ($r = 0,468$, $p = 0,018$), μη εμπλεκόμενα επίπεδα ορού FLC ($r = -0,525$, $p = 0,012$), ανταπόκριση στη θεραπεία ($\geq VgPR$) ($r = 0,453$, $p = 0,034$) και οριακά με Hb ($r = 0,377$, $p = 0,06$). Το miR-16 κατά την έναρξη της LD δεν συσχετίστηκε με τα χαρακτηριστικά της νόσου, αλλά η διπλάσια έκφραση της διάμεσης τιμής miR-16 ($\times 2$) συσχετίστηκε με την ανταπόκριση στη θεραπεία ($\geq PR$) ($r = 0,427$, $p = 0,05$).

Πίνακας 3

Πίν 3. Συσχετίσεις των miR-16 και miR-21 ορού με τα χαρακτηριστικά της νόσου των ασθενών κατα την διάγνωση του ΠΜ.

Μεταβλητή	miR-16 Dx		miR-21 Dx	
	r	P value	r	P value
B2M	-0.370*	0.021	-0.276	0.174
B2M < 3.5	-0.225	0.169	-0.372*	0.017
CRP	-0.356*	0.022	-0.285	0.068
NEU/LYMPH	-0.307	0.069	-0.332*	0.045
Νεφρική Ανεπάρκεια	-0.410*	0.008	-0.301*	0.05
GFR	0.419*	0.012	0.216	0.214
Υπερασβεστιαμία	-0.460*	0.003	-0.212	0.177

CRP: C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, LDH: γαλακτική αφυδρογονάση, B2M: B2-μικροσφαιρίνη, FLCR: Ελεύθερη αναλογία ελαφριάς αλυσίδας, FLC: Ελεύθερη ελαφριά αλυσίδα, Neu: ουδετερόφιλα, λέμφοι: λεμφοκύτταρα, PLTs: αιμοπετάλια, ISS: Διεθνές σύστημα σταδιοποίησης, Dx: Κατά τη διάγνωση

Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ miR-16, miR-21 κατά την έναρξη της LD και υπερασβεστιαμίας ($r=0,122$, $p=0,491$ & $r=0,361$, $p=0,070$), Νεφρικής ανεπάρκειας ($r=-0,239$, $p=0,166$ & $r=0,204$, $p=0,309$), Αναιμία ($r=0,086$, $p=0,632$ & $r=0,282$, $p=0,172$), Βλάβες οστών ($r=-0,234$, $p=0,251$ & $r=0,169$, $p=0,490$), BMINF ($r=0,223$, $p=0,234$ & $r=-0,189$, $p=0,400$) πριν από την έναρξη της LD, αντίστοιχα.

Για να εκφραστεί η διαφορά μεταξύ των επιπέδων miRNA 16 και 21 στον ορό κατά τη διάγνωση (DX) και την έναρξη της LD, δημιουργήθηκε μια αναλογία αυτών των δύο μεταβλητών (miR-LD/DX). Το miR-16 LD/DX συσχετίστηκε με Ig που εμπλέκεται στην καλύτερη ανταπόκριση ($r=0,591$, $p=0,013$), FLCR ($r=0,495$, $p=0,031$), ανταπόκριση στη θεραπεία (\geq PR) ($r=0,413$, $p=0,05$) και όψιμη υποτροπή σε LD \geq 24 μήνες ($r=0,701$, $p=0,0001$).

Το miR-21 LD/DX συσχετίστηκε με βιοχημική υποτροπή ($r=0,547$, $p=0,015$), εμπλέκονται επίπεδα IgA στην καλύτερη απόκριση ($r=0,619$, $p=0,006$), μη φυσιολογική LDH στην καλύτερη ανταπόκριση ($r=0,546$, $p=0,046$) και όψιμη υποτροπή σε LD \geq 24 μήνες ($r=0,461$, $p=0,035$). Οι συσχετίσεις των miR-16 και 21 ορού παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.

Πίν 4. Συσχετίσεις των miR-16 και miR-21 που προσδιορίστηκαν πριν από την έναρξη LD με χαρακτηριστικά της νόσου.

Μεταβλητή	miR-16 LD		miR-21 LD		miR-16 LD /DX		miR-21 LD /DX	
	R	P-value	r	P-value	R	P-value	r	P-value
Βιοχημική Υποτροπή	NS	NS	-0.371	0.068	NS	NS	0.547	0.015
ISS^I πριν από την έναρξη LD	NS	NS	0.468	0.018	NS	NS	NS	NS
Υποτροπή > 24 μήνες	NS	NS	NS	NS	0.709	0.0001	0.461	0.035
Ανταπόκριση \geq VGPR	NS	NS	0.453	0.034	NS	NS	NS	NS
Ανταπόκριση \geqPR	NS	NS	NS	NS	-0.413	0.05	NS	NS

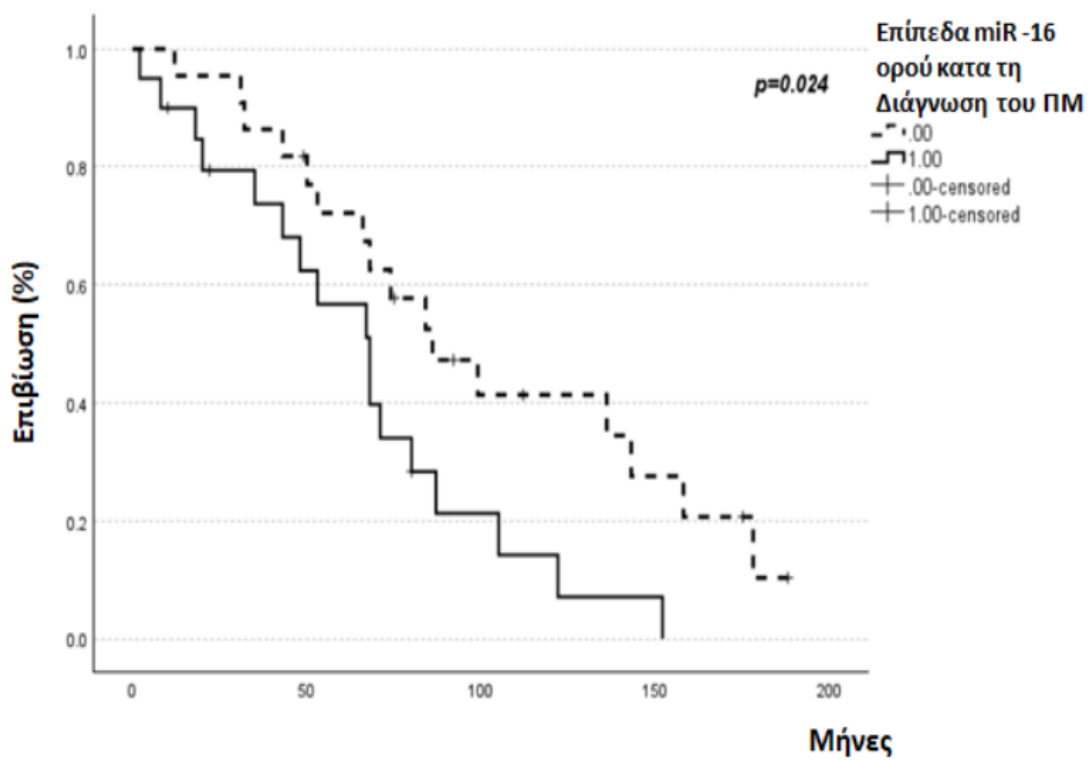
ISS : International Staging System. VgPR: Πολύ καλή μερική απόκριση, PR: μερική απόκριση, LD: Πριν από την έναρξη της Λεναλιδομίδης –Δεξαμεθαζόνης, Dx Κατά τη διάγνωση.

Ανάλυση επιβίωσης ασθενων με βάση τα επίπεδα miR-16 και miR-21.

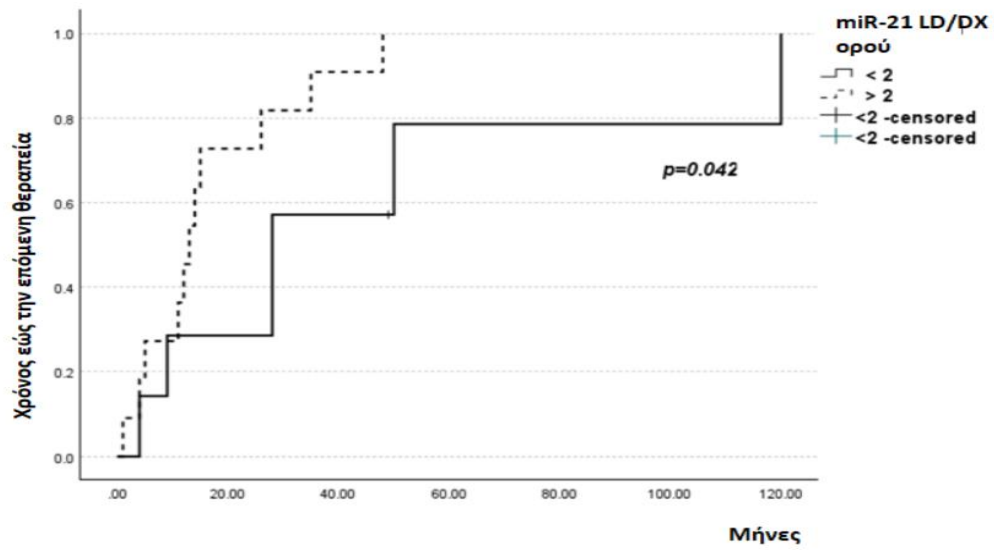
Τα επίπεδα έκφρασης miR-16 και 21 κατά τη διάγνωση αξιολογήθηκαν περαιτέρω ως προς τον αντίκτυπό τους στην επιβίωση των ασθενών με MM. Σημαντικά βελτιωμένη συνολική επιβίωση παρατηρήθηκε σε ασθενείς με χαμηλότερα από τα μέσα επίπεδα έκφρασης miR-16 ($p=0,024$). (Εικ. 2, A) Το Mir-21 δεν συσχετίστηκε με τη συνολική επιβίωση ($p=0,346$). Στη θεραπεία έναρξης της LD, η αναλογία miR-16 LD/DX ≥ 2 συσχετίστηκε με το χρόνο προς την απόκριση ($p=0,027$) και το miR-21 LD/DX ≥ 2 με το χρόνο στην επόμενη θεραπεία ($p=0,042$). (Εικ. 6; B, C)

Εικ. 6. Α. Συνολική επιβίωση με βάση τα επίπεδα MiR-16 στον ορό Β. Χρόνος στην επόμενη θεραπεία (TTNT) με βάση την αναλογία MiR-21 LD/DX ορού. Μικρότερο TTNT για ασθενείς με αναλογία > 2 C. Χρόνος απόκρισης (TTR) με βάση την αναλογία MiR-16 LD/DX ορού. Μικρότερος TTR για ασθενείς με αναλογία < 2.

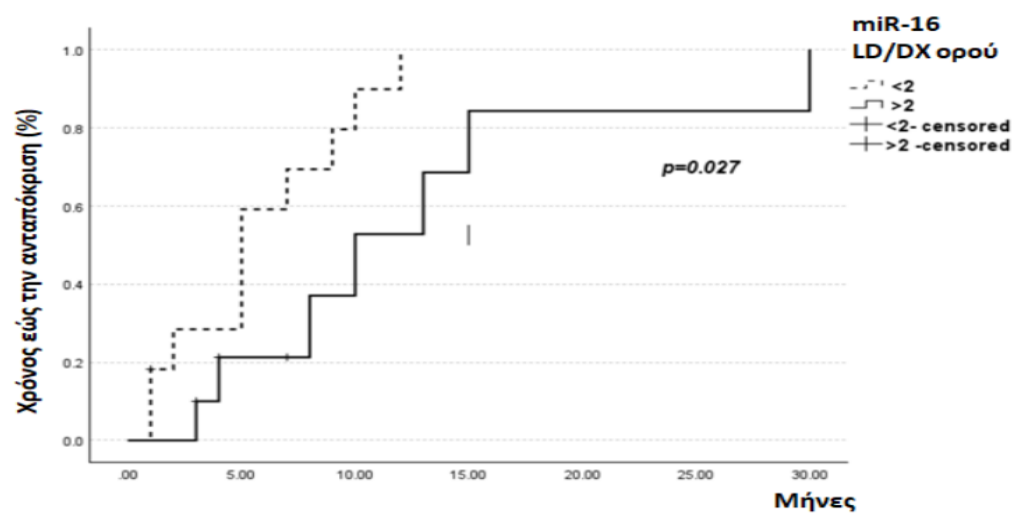
Α.



Β.



Γ.



ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ζ

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

1. Η Πρωτεΐνη Cereblon στον ορό ασθενών με ΠΜ.

Η παρούσα μελέτη αποτελεί την πρώτη αναφορά που ερευνά τα επίπεδα CRBN στον ορό ασθενών με ΠΜ. Η αξιολόγηση των επιπέδων CRBN ορού σε ασθενείς με ΠΜ που έλαβαν θεραπεία με IMiDs σε τρία διαφορετικά σημεία, καθώς και η προγνωστική σημασία των επιπέδων ορού CRBN στη συνολική επιβίωση, αποτελεί κύριο εύρημα της παρούσας διατριβής. Εντοπίστηκαν επίσης σημαντικές συσχετίσεις με τα χαρακτηριστικά της νόσου και την ανταπόκριση στη θεραπεία, υποδηλώνοντας ότι αυτό θα μπορούσε να είναι ένα πολύτιμο εργαλείο για την επιλογή θεραπείας τα επόμενα χρόνια, καθώς θα γίνουν διαθέσιμες νέες θεραπείες.

Παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των επιπέδων CRBN στον ορό, μεταβαίνοντας από την έναρξη της θεραπείας με LD προς την καλύτερη απόκριση στο LD. Αντιθέτως, κατά την υποτροπή στην Λεναλιδομίδη παρατηρήθηκε αύξηση στα επίπεδα ορού CRBN. Ως αποτέλεσμα, φαίνεται να υπάρχει ένα μοτίβο υψηλότερων επιπέδων CRBN στον ορό πριν από την έναρξη θεραπείας με Λεναλιδομίδη και στην υποτροπή και μείωσης των επιπέδων υπό την επίδραση του ανοσοτροποποιητικού φαρμάκου.

Συσχέτιση των επιπέδων CRBN στον ορό κατά την έναρξη της LD με το φύλο, την ηλικία ή τον τύπο Ig, δεν ανευρέθηκε και επομένως μπορεί να θεωρηθεί ένας πιθανός ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας. Δεν υπήρχε επίσης συσχέτιση με τα κριτήρια CRAB, με την σταδιοποίηση κατά ISS και την θρομβοπενία, την παρουσία πλασματοκυτταρωμάτων (τόσο των οστών όσο και εξωμυελικών), τα επίπεδα παραπρωτεΐνης και τον λόγο FLCR. Τα υψηλότερα επίπεδα CRBN στον ορό, από την άλλη, σχετίστηκαν με την BMiNF ($\geq 60\%$) ($r=0,205$, $p=0,05$) ενώ αυξημένα επίπεδα CRBN σχετίζονται με υψηλή LDH ορού ($r=0,411$, $p=0,004$). Επιπλέον, αυξημένα επίπεδα CRBN στον ορό συσχετίστηκαν με πρόωμη υποτροπή σε LD. Μια

αξιοσημείωτη ανταπόκριση (\geq PR) παρατηρήθηκε σε αυτά τα άτομα. ($r=0,258$, $p=0,032$).

Η επταετής επιβίωση μετά από θεραπεία με LD βελτιώθηκε σε ασθενείς με μειωμένα επίπεδα CRBN κατά την έναρξη της LD ($p=0,013$) και κατά τη διάρκεια της καλύτερης ανταπόκρισης ($p=0,032$) (Εικ. 3), αλλά όχι σε υποτροπιάζοντες/ανθεκτικούς ασθενείς σε LD ($p=0,357$) (Εικ. 4). Μόλις πρόσφατα έχουν προταθεί οι μηχανισμοί της δράσης των IMiDs στο ΠΜ, συμπεριλαμβανομένων των αντι-αγγειογενετικών, αντι-πολλαπλασιαστικών και ανοσοτροποποιητικών επιδράσεων μαζί με τους ακριβείς κυτταρικούς στόχους και τους μοριακούς μηχανισμούς τους. (Quach et al. 2010) Ο προσδιορισμός του CRBN ως κύριας πρωτεΐνης υπεύθυνη για την τερατογένεση της θαλιδομίδης (Ito et al. 2010) πυροδότησε περισσότερη ανάλυση σχετικά με τον φυσιολογικό του ρόλο καθώς και τη μελλοντική του χρήση ως προγνωστικό εργαλείο.

Προηγούμενες μελέτες περιελάμβαναν μέτρηση του CRBN με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο (RT-PCR), μέσω προσδιορισμού προφίλ γονιδιακής έκφρασης (GEP) και ανοσοϊστοχημείας (IHC) που προσπαθούσαν να ποσοτικοποιήσουν το CRBN σε οστεμυελικές βιοψίες (BM), δίνοντας αντιφατικά αποτελέσματα. Στις μελέτες αυτές το CRBN προσδιορίστηκε σε ασθενείς με ΠΜ κατά τη διάγνωση που έλαβαν έναν παράγοντα IMiD ή από ασθενείς με RRMM που έλαβαν IMiD.

Το CRBN έχει μελετηθεί ως πιθανός θεραπευτικός στόχος στο ΠΜ, αρχικά, σε κυτταρικές σειρές ΠΜ ανθεκτικές στην λεναλιδομίδη όπου ανέδειξε μείωση της έκφρασης του mRNA του CRBN (Bedewy et al. 2014). Αντίθετα, σε μελέτες IHC, η έκφραση CRBN στον μυελό των οστών ασθενών με ΠΜ έχει επίσης παρατηρηθεί σημαντικά υψηλότερη από ό,τι στους μάρτυρες ($P < 0,001$). (Franseen et al. 2016) ενώ δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των επιπέδων έκφρασης CRBN πριν από τη θεραπεία ή σε υποτροπιάζον/ανθεκτικό ΠΜ και των επιπέδων πρωτεΐνης κατά την καλύτερη ανταπόκριση με λεναλιδομίδη ή μετά από τη θεραπεία πρώτης γραμμής (lenalidomide naïve) ή δεύτερης γραμμής. Ωστόσο, παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη μείωση στην έκφραση CRBN του μυελού των οστών σε ασθενείς που ανέπτυξαν υποτροπιάζον /ανθεκτικό ΠΜ. (Heintel et al 2014, Bila et al. 2016)

Οι Broyl et al. το 2013 παρατήρησαν χαμηλότερη έκφραση CRBN σε ασθενείς που είχαν σταδιοποιηθεί ως ISS 3 σε σύγκριση με τους ασθενείς με ISS 1 ή 2. Ακόμη, σε δείγματα μυελού των οστών, η έκφραση CRBN συσχετίστηκε αντίστροφα με το ISS, τη B2M και την λευκωματίνη ορού. (Bedewy et al. 2014). Αντίθετα, μια άλλη μελέτη παρατήρησε ότι τα αυξημένα επίπεδα έκφρασης CRBN συσχετίστηκαν με υψηλότερο B2M ($r = 0,66$, $p = 0,001$) σε δείγματα μυελού των οστών ασθενών με ΠΜ κατά τη διάγνωση. (Heint el et al. 2014). Σύμφωνα με τρεις ερευνητικές ομάδες, τα υψηλά επίπεδα έκφρασης BM CRBN σχετίζονταν με την ευνοϊκή ανταπόκριση στη θεραπεία με IMiD. (Huang et al. 2014, Heintel et al 2014, Bila et al. 2016). Σε μια άλλη μελέτη, 55 ασθενείς με υποτροπιάζον/ανθεκτικό ΠΜ και αυξημένα επίπεδα έκφρασης CRBN που έλαβαν θεραπεία με πομαλιδομίδη-δεξαμεθαζόνη έδειξαν βελτιωμένο ποσοστό ανταπόκρισης, ωστόσο αυτή η τάση να είναι στατιστικά σημαντική ($p=0,0857$) (Schuster et al. 2014).

Έχει αναφερθεί σημαντική συσχέτιση μεταξύ των υψηλών επιπέδων έκφρασης CRBN στον μυελό των οστών και του βελτιωμένου PFS. (Bila et al 2016, Schuster et al, Broyl et al. 2013, Klimowitz et al. 2012) Ωστόσο, υπάρχουν διχογνωμικές αναφορές σχετικά με την πρόγνωση του CRBN στην συνολική επιβίωση σε ασθενείς με νεοδιαγνωσθέν ή υποτροπιάζον/ανθεκτικό ΠΜ που έλαβαν θεραπεία με IMiDs, όταν προσδιορίστηκαν τα επίπεδα της έκφρασης του στον μυελό των οστών. (Schuster et al, Broyl et al. 2013, Klimowitz et al. 2012) Η έκφραση CRBN παρέμεινε ένας ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας του PFS αλλά όχι του OS όταν το ISS και η κυτταρογενετική λήφθηκαν υπόψη στην ανάλυση παλινδρόμησης με πολλαπλές μεταβλητές. (Broyl et al. 2013, Klimowitz et al. 2012). Επιπλέον, σε μια πρόσφατη μελέτη, η θεραπεία με βάση το IMiD βελτίωσε το PFS και το OS σε ασθενείς με ΠΜ με υψηλή έκφραση CRBN στο μυελό των οστών, αλλά όχι σε αυτούς με χαμηλή έκφραση CRBN. (Lee BH et al.2021) Ο Πίνακας 1 συνοψίζει τα δεδομένα από τις παραπάνω μελέτες.

Από την παρούσα μελέτη προκύπτει ότι τα υψηλά επίπεδα CRBN συσχετίζονται με δυσμενή πρόγνωση σε ασθενείς με ΠΜ που έλαβαν θεραπεία με LD. Αν και

απρόβλεπτο, ίσως εξηγείται από τους μηχανισμούς απελευθέρωσης των πρωτεϊνών στον ορό. Για να γίνει αυτό κατανοητό, χρησιμοποιείται ένα παράδειγμα μιας πρωτεΐνης σημαντικής στο ΠΜ, της πρωτεΐνης syndecan-1. Υψηλά επίπεδα syndecan-1 στον ορό ασθενών κατά τη διάγνωση του ΠΜ σχετίζονται με δυσμενή πρόγνωση (Kyrtsolis MC et al. 2005) ενώ η ανίχνευση της ίδιας πρωτεΐνης χάνεται πρώιμα σε αποπτωτικά κύτταρα σε κυτταρικές σειρές μυελώματος με αποτέλεσμα η χαμηλή έκφραση ενδοκυτταρικά να σχετίζεται με δυσμενή πρόγνωση. (Jordan et al. 1998)

Πράγματι, οι πρωτεΐνες ακολουθούν διάφορους τρόπους αποδέσμευσης πρωτεϊνών από το κύτταρο. Αυτό μπορεί να συμβεί μέσω της κλασικής εκκριτικής οδού όπως και άλλων μη συμβατικών οδών (διάσπαση πρωτεΐνης) ή μέσω εξωκυττάρωσης. (Rabouille et al. 2017) Παρά το γεγονός ότι το CRBN έχει βρεθεί στον πυρήνα, το κυτταρόπλασμα και την πλασματική μεμβράνη πολλών κυττάρων ιστού, η διαδικασία αποδέσμευσης από το κύτταρο, δεν έχει ακόμη προσδιοριστεί. Επίσης, το εναλλακτικό μάτισμα του mRNA του CRBN στο ΠΜ παράγει αρκετές ισομορφές, μερικές από τις οποίες μπορεί να μην μεταφραστούν, υποδεικνύοντας έναν ουσιαστικό περιορισμό στις ποσοτικές μελέτες PCR αντίστροφης μεταγραφής (Lode et al. 2013, Gandhi et al. 2014) Επιπλέον, περιπτώσεις υψηλής έκφρασης του CRBN σε ασθενείς με επίκτητη ανοχή στα IMiDs έχουν τεκμηριωθεί, υποστηρίζοντας την υπόθεση της αντίστασης στα φάρμακα με γεγονότα που συμβαίνουν σε περισσότερα από ένα βήματα. Σε αυτήν την περίπτωση, η μείωση του CRBN μπορεί να αντιπροσωπεύει ένα δευτερεύον φαινόμενο. (Dimopoulos K et al. 2019)

Συνοψίζοντας, η παρούσα ανάλυση αναδεικνύει την σημαντικότητα των επιπέδων CRBN στον ορό ασθενών με ΠΜ για πρώτη φορά, που έλαβαν θεραπεία με Λεναλιδομίδη. Η κατανόηση του μηχανισμού αποδέσμευσης της πρωτεΐνης από το κύτταρο και της απελευθέρωσης της στον εξωκυττάριο χώρο, θα μπορούσε να εξηγήσει αυτήν την πρωτεϊνική διακύμανση ως απόκριση στη θεραπεία με IMiD και μπορεί να ανοίξει το δρόμο για μελλοντικές αποφάσεις θεραπείας.

Πιν. 1 Προγνωστική σημασία έκφρασης του CRBN στον ΜΟ σε διάφορες μελέτες.

<i>N</i>	<i>Συγγραφείς</i>	<i>Ασθενείς</i>	<i>Μέθοδος</i>	<i>Φάση της νόσου</i>	<i>Σχήμα Θεραπείας</i>	<i>Διάρκεια Παρακολούθησης (FU)</i>	<i>Πρόγνωση Ανταπόκρισης</i>	<i>PFS</i>	<i>OS</i>
1	Heintel et al. 2013	49	RT-PCR	NDMM	LD	4 (εύρος: 3–37) κύκλοι	r=0.48, p< 0.001	NS	NS
2	Bila et al. 2016	77	RT-PCR	NDMM	TD	27 μήνες (εύρος, 4-42 μήνες)	p=0.028	p=0.017	NS
3	Huang et al. 2014	85	IHC	NDMM/RRMM	LD, TD	LD 28 μήνες TD	LD p=0.005 TD p=0.005	LD NS TD NS	LD NS TD NS
4	Schuster et al. 2014	55	GEP	RRMM	PD	PFS 3.0 vs. 8.9 μήνες OS 9.1 vs. 27.2 μήνες	Καμία συσχέτιση	p =0.0006 (lowest quantile)	p = 0.01 (lowest quantile)
5	Klimowitz et al. 2012	42	IHC	NDMM/RRMM	LD	22.4 μήνες (εύρος: 0.72–65.6)	NT	p=0.012	p=0.044
6	Broyl et al. 2013	96	GEP	NDMM	HOVON65/ GMMGHD 4 μελέτη Συντήρηση με Θαλιδομίδη	24 μήνες	NT	p=0.005	p=0.04
8	Lee BH et al. 2021	130	IHC	NDMM	IMiD	PFS 29μήνες OS NR	NT	p=0.03	p=0.01

NS: μη στατιστικά σημαντικό, NM: δεν αναφέρεται, NT: δεν εξετάστηκε, NR: Not Reached, IHC : Ανοσοιστοχημεία , GEP: Gene Expression Profile, RT-PCR:Real-Time Polymerase Chain Reaction, NDMM: Πρωτοδιαγνώση ΠΜ, RRMM: Υποτροπιάζον-Ανθεκτικό ΠΜ, TD: Θαλιδομίδη-Δεξαμεθαζόνη, PD: Πομαλιδομίδη- Δεξαμεθαζόνη

2. Έκφραση επιπέδων ορού των miRNAs στο ΠΜ

Το miR-16 ανακαλύφθηκε αρχικά ότι στοχεύει την αντι-αποπτωτική πρωτεΐνη BCL-2 και αναγνωρίστηκε ότι καταστέλλεται στη Χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία. (Cimmino et al 2005). Το miR-16 ρυθμίζει τον κυτταρικό κύκλο και εμπλέκεται στην αντοχή στα φάρμακα μέσω της επαγωγής της IL-6 και της εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου. (Abdi et al.2016) Επίσης, έχει βρεθεί ότι η καταστολή του miR-16 προάγει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και τη νεοαγγειογένεση στον μυελό των οστών, η οποία συμβάλλει στην παθογένεση του ΠΜ. (Roccaro et al. 2009).

Πρόσφατη έρευνα έδειξε ότι τα επίπεδα έκφρασης miR-16 στον ορό διέφεραν μεταξύ των κακοηθειών. Το miR-16 είχε χαμηλότερα επίπεδα έκφρασης στους καρκίνους του οισοφάγου και του στομάχου σε σύγκριση με τους φυσιολογικούς μάρτυρες, υποδεικνύοντας ότι το miR-16 μπορεί να λειτουργεί ογκοκατασταλτικά. (Jiang et al. 2018) Στο ΠΜ, υπάρχουν ελάχιστα δεδομένα σχετικά με τα επίπεδα miR 16 στον ορό ασθενών με ΠΜ. Έχει αναδειχθεί ότι η έκφραση miR-16 στα κακοήθη πλάσματοκύτταρα σε ασθενείς με ΠΜ και MGUS, βρέθηκε να είναι μειωμένη σε σύγκριση με τους φυσιολογικούς μάρτυρες (Li et al 2015, Handa et al. 2012) και να συσχετίζεται αντιστρόφως με την έκφραση BCL-2 και της κυκλίνης E .

Το miR-21 εμπλέκεται σε διάφορα μονοπάτια μεταγωγής σήματος, σημαντικά για την παθοφυσιολογία του ΠΜ, όπως το JAK/STAT-3 (μονοπάτι τυροσυνικής κινάσης JAK/STAT) και το NF-KB (πυρηνικού παράγοντας-κΒ). Η υπερέκφραση του miR-21 στα κύτταρα του ΠΜ που παρατηρήθηκε στις περισσότερες μελέτες υποδηλώνει τη χρήση του ως πιθανή θεραπευτική στρατηγική. Στη παρούσα μελέτη , παρουσιάσαμε ότι τα επίπεδα του miR-16 και του miR-21 στον ορό είναι σημαντικά μειωμένα σε ασθενείς που διαγνώστηκαν πρόσφατα με ΠΜ σε σύγκριση με τους φυσιολογικούς μάρτυρες. Τα επίπεδα έκφρασης των miRNA-16 και 21 στον ορό που μετρήθηκαν ακριβώς πριν από τη θεραπεία με LD στους ίδιους ασθενείς, παρέμειναν σημαντικά

κατασταλμένα σε σύγκριση με τα υγιή άτομα, αλλά παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση σε σύγκριση με τα επίπεδα κατά τη διάγνωση.

Παρόμοια με τα ευρήματά μας, τα κυκλοφορούντα επίπεδα miR-16 βρέθηκαν να είναι κατεσταλμένα τόσο ως ελεύθερο miR-16 (Wang et al 2015, Navarro et al, Yushnita et al), όσο και με τη μορφή εξωσωμάτων σε σύγκριση με την έκφραση σε miR-16 σε φυσιολογικούς μάρτυρες. Αν και το miR-21 έχει βρεθεί ότι δρα ως ογκογονίδιο και τα επίπεδα έκφρασης είναι αυξημένα στο ΠΜ, υπάρχουν αντικρουόμενα και εξαιρετικά περιορισμένα αποτελέσματα σχετικά με τα επίπεδα έκφρασής του στον ορό, με μια ομάδα να υποστηρίζει αύξηση (Wang et al 2016) και μια άλλη να υποστηρίζει μείωση σε σύγκριση με τα υγιή άτομα.

Από την ανάλυση συσχετίσεων με σημαντικά χαρακτηριστικά της νόσου προέκυψε ότι τα επίπεδα έκφρασης του miR-16 ορού των ασθενών της παρούσας μελέτης, συσχετίστηκαν σημαντικά με τη νεφρική δυσλειτουργία, την υπερασβεστιαμία, την B2M και την CRP. Τα επίπεδα του miR-21 στην διάγνωση ασθενώ με ΠΜ, συσχετίστηκαν με την B2M, την νεφρική δυσλειτουργία, την CRP και την αναλογία Ουδετεροφίλων/Λεμφοκύτταρων. Τα επίπεδα miR-21 στον ορό κατά την υποτροπή συσχετίστηκαν με το στάδιο της νόσου κατά ISS. Από προηγούμενες μελέτες, τα επίπεδα του miR-16 σχετίζονται με την B2M (Moura et al. 2021), το στάδιο της νόσου κατά ISS και το PFS στο μύελωμα. (Jiang et al 2018). Επίσης, το miR-21 ορού που ήταν σημαντικά διαφορετικό ανάλογα με τα στάδια Durie και Salmon, και φαίνεται ότι σχετίζεται με τα επίπεδα B2M, και αλβουμίνης. (Wang et al. 2016)

Έχει παρατηρηθεί αυξημένο ενδιαφέρον σχετικά με την αξία των miRNAs στην ανθεκτικότητα του ΠΜ σε συγκεκριμένους φαρμακευτικούς παράγοντες. Σε αυτό το πλαίσιο, οι Robak et al. ανέδειξαν ότι τα επίπεδα ορού διαφορετικών miRNAs εκφράζονται διαφορετικά σε ασθενείς με ΠΜ με βάση την ευαισθησία στη βορτεζομίμη. Πρόσθετη έρευνα έδειξε ότι τα επίπεδα miR-16 αυξάνονται μετά τη θεραπεία με μελφαλάνη και βορτεζομίμη και μειώνονται μετά την επίδραση της IL-6, σηματοδοτώντας τη δυνητική τους αξία ως βιοδείκτη ανταπόκρισης στις θεραπείες. (Hao et al. 2011) Ομοίως, η αυξημένη έκφραση του miR-21 σε στρωματικά κύτταρα

μυελού των οστών στο ΠΜ, αποτέλεσε επαγωγέα της αντοχής στη δεξαμεθαζόνη, τη δοξορουβικίνη ή την βορτεζομίμη μέσω της ενίσχυσης του NF-κB. (Wang et al. 2011)

Αντίθετα, ο ρόλος των miRNAs στη ρύθμιση της δραστηριότητας των IMiDs έχει διερευνηθεί ελάχιστα. Πρόσφατα, η πρωτεΐνη αργοναύτη 2 (AGO2), η οποία παίζει κεντρικό ρόλο στην ωρίμανση και τη λειτουργία των miRNAs, βρέθηκε ότι συνδέεται με το CRBN και τα σταθερά επίπεδα της AGO2 ρυθμίζονται από το CRBN. (Xu et al. 2016).

Αυτό οδήγησε στην ιδέα ότι τα miRNA είχαν συνεργιστική επίδραση με αντιμυελωματικούς παράγοντες και θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την ενίσχυση της θεραπείας κατά του ΠΜ ή να χρησιμοποιηθούν ως προγνωστικοί παράγοντες. Σε μια προσπάθεια να προσδιορίσουν την πιθανή συσχέτιση της έκφρασης miRNA με τη λεναλιδομίδη, οι ερευνητές παρουσίασαν ότι τα επίπεδα έκφρασης miRNA ορού, miR-26a-5p, miR-29c-3p, miR-30b-5p, miR-30c-5p και miR-331-3p ήταν σημαντικά μειωμένα σε άτομα που ανταποκρίθηκαν πτωχά στη θεραπεία με λεναλιδομίδη. (Jungetal 2017). Στην παρούσα διατριβή, αναδεικνύεται ότι υψηλότερα επίπεδα miR-16 (χ^2 - διπλάσια έκφραση της διάμεσης τιμής miR-16) συσχετίστηκαν με \geq PR απόκριση στη θεραπεία και υψηλότερα επίπεδα miR-21 με \geq VgPR. Επιπλέον, μια αυξημένη αναλογία μεταξύ του ορού κατά τη διάγνωση και πριν από τη θεραπεία LD (DX/LD) τόσο του miR-16 όσο και του miR-21 έδειξε σημαντική συσχέτιση με την όψιμη υποτροπή στη θεραπεία με LD (>24 μήνες). Πράγματι, αυτό είναι ένα πολύ ενδιαφέρον εύρημα, λαμβάνοντας υπόψη ότι η κακή έκβαση επιβίωσης έχει συνδεθεί με πρόιμη υποτροπή, ανεξάρτητα από το βάθος της ανταπόκρισης στη θεραπεία πρώτης γραμμής. (Majithia et al. 2016).

Επιπλέον, βρέθηκε μια διαφορά στα επίπεδα ορού μεταξύ διάγνωσης και υποτροπής του ΠΜ η οποία γίνεται φανερή από την αναλογία των επιπέδων miR-16 Υποτροπής/Διάγνωσης (LD/DX), η οποία σε τιμή διπλάσια (χ^2) του λόγου αυτού συνδέεται με μικρότερο TTR ενώ η αναλογία miR-21 LD/DX σχετίζεται με μικρότερο TTNT. Η χαμηλότερη έκφραση άλλων miRNAs (miR-30b5p, miR-30c-5p, miR-193a-5p, miR-331-3p) έχει συσχετιστεί με μικρότερη συνολική επιβίωση ή σημαντικά μικρότερη TTNT μετά τη θεραπεία με λεναλιδομίδη. (Jung et al. 2017).

Επιπλέον, τα miRNA σε μορφή εξωσωμάτων στον ορό έχουν διερευνηθεί ως πιθανοί νέοι προγνωστικοί δείκτες επιβίωσης. Οι Botta et al. 2017 μελέτησαν τα κυκλοφορούντα εξωσώματα miR-16 ασθενών που είχαν πρόσφατα διαγνωσθεί και αποκάλυψαν ότι είναι ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες για το OS. Είναι ενδιαφέρον ότι όταν συγκρίθηκαν τα ενδοκυτταρικά miRNA (από ΠΜ κύτταρα) και τα miRNA ορού από τους ίδιους ασθενείς, δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση, υποδηλώνοντας έτσι διαφορετική προέλευση για τα κυκλοφορούντα miRNA, για παράδειγμα φυσιολογικά ανοσο/φλεγμονώδη ή στρωματικά κύτταρα.

Συνοπτικά, στην παρούσα μελέτη αναδεικνύεται για πρώτη φορά ότι τα επίπεδα miR-16 και miR-21 ορού σε ασθενείς με ΠΜ που έλαβαν θεραπεία με Λεναλιδομίδη παρουσίασαν σημαντική μείωση στην έκφραση τους. Το miR-16 ορού έδειξε προγνωστική σημασία της συνολικής επιβίωσης σε ασθενείς με ΠΜ που είχαν πρόσφατα διαγνωσθεί. Τόσο το miR-16 όσο και το miR-21 συσχετίστηκαν με σημαντικά χαρακτηριστικά της νόσου και θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως πιθανός προγνωστικός παράγοντας απόκρισης στη θεραπεία της LD. Απαιτείται περισσότερη έρευνα και επικύρωση των αποτελεσμάτων μας σε μελέτη μεγαλύτερου πληθυσμού.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Η παρούσα διατριβή αναλύει το σύνολο των θεραπευτικών γραμμών ασθενών με ΠΜ σε βάθος είκοσι-τριών ετών (2000-2023).
- Οι ασθενείς που έλαβαν Λεναλιδομίδη-Δεξαμεθαζόνη, αναλύθηκαν ξεχωριστά και κατηγοριοποιήθηκαν σε 5 ομάδες ανάλογα με τον χρόνο έως την υποτροπή στην Λεναλιδομίδη-Δεξαμεθαζόνη. Η παρούσα μελέτη αναδεικνύει ότι μικρότερος χρόνος έως την υποτροπή στην Λεναλιδομίδη, σχετίζεται με μικρότερη συνολική επιβίωση των ασθενών μετά την Λεναλιδομίδη.
- Προσδιορίζονται για πρώτη φορά τα επίπεδα CRBN ορού σε ασθενείς με ΠΜ που έλαβαν θεραπεία με Λεναλιδομίδη. Τα επίπεδα ορού CRBN στο ΠΜ παρουσιάζουν διακύμανση ανάλογα με την φάση της νόσου (μείωση κατά την ανταπόκριση και αύξηση στην υποτροπή), σχετίζονται με χαρακτηριστικά της νόσου και με τη συνολική επιβίωση των ασθενών.
- Επιπλέον, προσδιορίζονται τα επίπεδα έκφρασης των miR-16 και miR-21 σε ασθενείς με ΠΜ που έλαβαν θεραπεία με Λεναλιδομίδη. Η έκφραση του miR-16 στο ορό, έχει προγνωστική σημασία στη συνολική επιβίωση σε ασθενείς με πρόσφατη διάγνωση ΠΜ.. Τόσο το miR-16 όσο και το miR-21 συσχετίστηκαν με την ανταπόκριση στη θεραπεία με Λεναλιδομίδη.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Παρά τη σημαντική πρόοδο στις θεραπευτικές επιλογές στο Πολλαπλούν Μυέλωμα (ΠΜ), η πρόγνωση, εξακολουθεί να είναι δυσμενής, για ορισμένους ασθενείς, που δεν δύνανται να κατηγοριοποιηθούν στα υπάρχοντα μοντέλα διαστρωμάτωσης κινδύνου. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση προγνωστικών παραγόντων ανταπόκρισης στην εποχή των νεότερων φαρμάκων στο ΠΜ. Τετρακόσιοι τριάντα-οκτώ (N=438) ασθενείς με ΠΜ καταγράφηκαν και αναλύθηκαν ως προς τα κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά και τον αριθμό των γραμμών θεραπείας που έχουν λάβει διαχρονικά. Περαιτέρω μελέτη σχετικά με την ανθεκτικότητα στην Λεναλιδομίδη-Δεξαμεθαζόνη (LD) ανέδειξε 5 διακριτές ομάδες ασθενών, οι οποίες ορίστηκαν ανάλογα με τον χρόνο έως την υποτροπή, και οι οποίες σχετίζονται με την συνολική επιβίωση των ασθενών. Παρατεταμένος χρόνος έως την υποτροπή στο LD, σχετίζεται με βελτιωμένη συνολική επιβίωση μετά το LD ($p < 0.0001$)

Το Cereblon (CRBN), ως πρωτεΐνη στόχος των ανοσοτροποποιητικών φαρμάκων (IMiDs), μετρήθηκε στον ορό 92 ασθενών που έλαβαν θεραπεία με Λεναλιδομίδη. Υποτροπή στην Λεναλιδομίδη σχετίστηκε με αυξημένα επίπεδα CRBN. Επίσης, αναδείχθηκε ότι τα αυξημένα επίπεδα σε σχέση με τη διάμεση τιμή στον ορό των ασθενών σχετίζονται με την πρόωμη υποτροπή σε LD (≤ 12 μήνες) ($p=0,03$) και χαμηλότερα επίπεδα από τη διάμεση τιμή με την επταετή συνολική LenOS ($p=0.013$).

Επιπλέον, μετρήθηκαν τα επίπεδα miR-16 και miR-21 στον ορό 48 ασθενών με ΠΜ κατά τη διάγνωση, σε 35 ασθενείς με υποτροπιάζον/ανθεκτικό ΠΜ πριν από τη θεραπεία με LD και σε 15 υγιή άτομα (HI). Η έκφραση των miR-16 και miR-21 στον ορό ήταν σημαντικά μειωμένη στους ασθενείς με ΠΜ κατά τη διάγνωση σε σύγκριση με HI (διάμεση τιμή miR-16 0,047 έναντι 1,89 και διάμεσος miR-21 0,051 έναντι 1,59, $p < 0,001$). Βελτιωμένη συνολική επιβίωση παρατηρήθηκε σε ασθενείς με χαμηλότερα επίπεδα miR-16 ($p=0,024$). Τα επίπεδα miR-21 στον ορό συσχετίστηκαν με το ISS ($r=0,468$, $p=0,018$) και την ανταπόκριση στη θεραπεία ($\geq VgPR$) ($r=0,453$, $p=0,034$). Διπλάσια έκφραση των επιπέδων miR-16 ορού ($\times 2$) άνωθεν της διάμεσης τιμής σε ασθενείς με υποτροπιάζον/ανθεκτικό ΠΜ συσχετίστηκε με ανταπόκριση στη θεραπεία ($\geq PR$) ($r=0,427$, $p=0,05$). Η αναλογία miR-16 LD/DX πάνω από 2 (≥ 2)

συσχετίστηκε σημαντικά με τον χρόνο μέχρι την ανταπόκριση ($p=0,027$), ενώ ο λόγος miR-21 LD/DX πάνω από 2 (≥ 2) συσχετίστηκε με τον χρόνο έως την επόμενη θεραπεία. Απομακρυσμένη υποτροπή στην LD μετά από 24 μήνες συσχετίστηκε σημαντικά τόσο με τον λόγο miR-16 LD/DX ($p=0,001$) όσο και με τον λόγο miR-21 LD/DX ($p=0,038$).

Συνοψίζοντας, στην παρούσα διατριβή αναλύθηκαν τα δεδομένα γραμμών θεραπείας ασθενών με ΠΜ από το 2000 και δόθηκε ιδιαίτερη έμφαση στους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με Λεναλιδομίδη-Δεξαμεθαζόνη. Μετρήθηκαν τα επίπεδα ορού του CRBN σε ασθενείς με ΠΜ που έλαβαν θεραπεία με Λεναλιδομίδη για πρώτη φορά και αναδείχθηκε η προγνωστική σημασία τους σε αυτούς τους ασθενείς. Ανερχόμενοι προγνωστικοί παράγοντες αποτελούν τα miR-16 και miR-21 στο ΠΜ όπως ανέδειξε η παρούσα μελέτη με σημαντική προγνωστική σημασία για την συνολική επιβίωση των ασθενών όσο και την ανταπόκριση τους στα IMiDs.

ABSTRACT

Despite the significant progress in treatment options in Multiple Myeloma (MM), the prognosis is still poor for patients with special characteristics, not accounted for in existing risk stratification models. The purpose of the present study was to evaluate the efficacy of novel treatments in MM in a real world setting cohort and to investigate the possible prognostic value of biologic factors in this novel era. For this purpose, four hundred and thirty-eight (N=438) MM patients were recorded and studied in terms of clinical and laboratory characteristics as well as the number of treatment line registration. The study was focused on resistance to lenalidomide treatment therapy in MM. Relapse to lenalidomide revealed 5 distinct groups of patients, according to time to relapse that were associated to overall survival after Lenalidomide (LenOS). Relapse after 5 years of Lenalidomide-Dexamethasone (LD) was associated with the best overall survival following LD.

Cereblon (CRBN), as a target protein of IMiDs, was measured in the serum of 92 patients treated with Lenalidomide. Lenalidomide relapse was associated with elevated CRBN levels. Also, elevated levels relative to median in patients' serum were shown to be associated with early relapse in LD (≤ 12 months) ($p=0.03$) and lower than median levels with seven-year overall LenOS ($p=0.013$).

miRNAs, or small non-coding RNA molecules, are another emerging key component that has shown potential predictive efficacy in MM. miR-16 and miR-21 levels were measured in the serum of 48 patients with PM at diagnosis and in 35 patients with relapsed/refractory MM before LD treatment and in 15 healthy individuals. Serum miR-16 and miR-21 expression was significantly decreased in patients with MM serum at diagnosis compared to HI (median miR-16 0.047 vs 1.89 and median miR-21 0.051 vs 1.59, $p < 0.001$). Improved overall survival was observed in patients with lower miR-16 levels ($p=0.024$). Serum miR-21 levels correlated with ISS ($r=0.468$, $p=0.018$) and treatment response ($\geq VgPR$) ($r=0.453$, $p=0.034$). Two fold expression of serum miR-16 levels ($\times 2$) above the median value in relapsed/refractory MM patients was associated with treatment response ($\geq PR$) ($r=0.427$, $p=0.05$). miR-16 LD/DX ratio above 2 (≥ 2) was significantly associated

with time to response ($p=0.027$), while miR-21 LD/DX ratio above 2 (≥ 2) was associated with time to next treatment ($p=0.042$). Distant relapse in LD after 24 months was significantly associated with both miR-16 LD/DX ratio ($p=0.001$) and miR-21 LD/DX ratio ($p=0.038$).

In summary, in this thesis, real-world data from the treatment lines of 438 MM patients were demonstrated with a particular focus on Lenalidomide refractoriness. Serum levels of CRBN were measured in MM patients treated with lenalidomide and their prognostic significance in these patients was demonstrated. Rising prognostic factors are miR-16 and miR-21 in MM as demonstrated by this study with significant prognostic significance for the overall survival of patients as well as their response to IMiDs

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Abdi, J., Jian, H., & Chang, H. (2016). Role of micro-RNAs in drug resistance of multiple myeloma. *Oncotarget*, 7(37), 60723.
2. Akinduro, O., Weber, T. S., Ang, H., Haltalli, M. L. R., Ruivo, N., Duarte, D., ... & Lo Celso, C. (2018). Proliferation dynamics of acute myeloid leukaemia and haematopoietic progenitors competing for bone marrow space. *Nature communications*, 9(1), 519.
3. Al Masri, A., Price-Troska, T., Chesi, M., Chung, T. H., Kim, S., Carpten, J. ... & Fonseca, R. (2005). MicroRNA Expression Analysis in Multiple Myeloma. *Blood*, 106(11), 1554.
4. Alberts, D. S., & Salmon, S. E. (1975). Adriamycin (NSC-123127) in the treatment of alkylator-resistant multiple myeloma: a pilot study. *Cancer Chemother Rep*, 59(2 Pt 1), 345-350.
5. Anderson, K. C., & Carrasco, R. D. (2011). Pathogenesis of myeloma. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 6, 249-274.
6. Attal, M., Lauwers-Cances, V., Hulin, C., Leleu, X., Caillot, D., Escoffre, M., ... & Moreau, P. (2017). Lenalidomide, bortezomib, and dexamethasone with transplantation for myeloma. *New England Journal of Medicine*, 376(14), 1311-1320.
7. Bayrd, E. D. (1948). The bone marrow on sternal aspiration in multiple myeloma. *Blood*, 3(9), 987-1018.
8. Bedewy, A. M., & EL-Maghraby, S. M. (2014). Do baseline C ereblon gene expression and IL-6 receptor expression determine the response to thalidomide–dexamethasone treatment in M ultiple myeloma patients?. *European journal of haematology*, 92(1), 13-18.
9. BladÉ, J., Samson, D., Reece, D., Apperley, J., BJÖrkstrand, B., Gahrton, G., ... & Vesole, D. (1998). Criteria for evaluating disease response and progression in patients with multiple myeloma treated by high-dose therapy and haemopoietic stem cell transplantation. Myeloma Subcommittee of the EBMT. European Group for Blood and Marrow Transplant. *British journal of haematology*, 102(5), 1115-1123.
10. Cavo, M., Gay, F., Beksac, M., Pantani, L., Petrucci, M. T., Dimopoulos, M. A., ... & Sonneveld, P. (2020). Autologous haematopoietic stem-cell transplantation versus bortezomib–melphalan–prednisone, with or without bortezomib–lenalidomide–dexamethasone consolidation therapy, and lenalidomide maintenance for newly diagnosed multiple myeloma (EMN02/HO95): A multicentre, randomised, open-label, phase 3 study. *The Lancet Haematology*, 7(6), e456-e468.
11. Bergsagel, D. E., Griffith, K. M., Haut, A., & Stuckey Jr, W. J. (1967). The treatment of plasma cell myeloma. *Advances in Cancer Research*, 10, 311-359.
12. Bergsagel, D. E., Sprague, C. C., Austin, C., & Griffith, K. M. (1962). Evaluation of new chemotherapeutic agents in the treatment of multiple myeloma. IV. L-Phenylalanine mustard (NSC-8806). *Cancer Chemother Rep*, 21(Aug), 87-99.

13. Besse, A., Besse, L., Kraus, M., Mendez-Lopez, M., Bader, J., Xin, B. T., & Driessen, C. (2019). Proteasome inhibition in multiple myeloma: head-to-head comparison of currently available proteasome inhibitors. *Cell chemical biology*, 26(3), 340-351.
14. Bettgowda, C., Sausen, M., Leary, R. J., Kinde, I., Wang, Y., Agrawal, N., & Diaz Jr, L. A. (2014). Detection of circulating tumor DNA in early-and late-stage human malignancies. *Science translational medicine*, 6(224), 224ra24-224ra24.
15. Bianchi, G., & Munshi, N. C. (2015). Pathogenesis beyond the cancer clone (s) in multiple myeloma. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 125(20), 3049-3058.
16. Bila, J., Sretenovic, A., Jelacic, J., Tomic, N., Glumac, I., Fekete, M. D. & Mihaljevic, B. (2016). Prognostic significance of cereblon expression in patients with multiple myeloma. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*, 16(11), 610-615.
17. Bladé, J., Fernández-Llama, P., Bosch, F., Montolíu, J., Lens, X. M., Montoto, S. & Montserrat, E. (1998). Renal failure in multiple myeloma: presenting features and predictors of outcome in 94 patients from a single institution. *Archives of internal medicine*, 158(17), 1889-1893.
18. Blokhin, N., Larionov, L., Perevodchikova, N., Chebotareva, L., & Merkulova, N. (1958). Clinical experiences with sarcolysin in neoplastic diseases. *Annals of the New York academy of sciences*, 68(3), 1128-1132.
19. Botta, C., Cuce, M., Caracciolo, D., Fiorillo, L., Tagliaferri, P., & Tassone, P. (2017). Immunomodulatory activity of microRNAs: potential implications for multiple myeloma treatment. *Current cancer drug targets*, 17(9), 819-838.
20. Boyd, K. D., Ross, F. M., Chiecchio, L., Dagrada, G., Konn, Z. J., Tapper, W. J., ... & Morgan, G. J. (2012). A novel prognostic model in myeloma based on co-segregating adverse FISH lesions and the ISS: analysis of patients treated in the MRC Myeloma IX trial. *Leukemia*, 26(2), 349-355.
21. Boyd, A. L., Campbell, C. J., Hopkins, C. I., Fiebig-Comyn, A., Russell, J., Ulemek, J., & Bhatia, M. (2014). Niche displacement of human leukemic stem cells uniquely allows their competitive replacement with healthy HSPCs. *Journal of Experimental Medicine*, 211(10), 1925-1935.
22. Bredella, M. A., Steinbach, L., Caputo, G., Segall, G., & Hawkins, R. (2005). Value of FDG PET in the assessment of patients with multiple myeloma. *American Journal of Roentgenology*, 184(4), 1199-1204.
23. Broyl, A., Kuiper, R., van Duin, M., van der Holt, B., el Jarari, L., Bertsch, U., & Sonneveld, P. (2013). High cereblon expression is associated with better survival in patients with newly diagnosed multiple myeloma treated with thalidomide maintenance. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 121(4), 624-627.
24. Casabonne, D., Benavente, Y., Seifert, J., Costas, L., Armesto, M., Arestin, M., & de Sanjosé, S. (2020). Serum levels of hsa-miR-16-5p, hsa-miR-29a-3p, hsa-miR-150-5p, hsa-miR-155-5p and hsa-miR-223-3p and subsequent risk of chronic lymphocytic leukemia in the EPIC study. *International journal of cancer*, 147(5), 1315-1324.

25. Cavo, M., Terpos, E., Nanni, C., Moreau, P., Lentzsch, S., Zweegman, S., & Zamagni, E. (2017). Role of 18F-FDG PET/CT in the diagnosis and management of multiple myeloma and other plasma cell disorders: a consensus statement by the International Myeloma Working Group. *The lancet oncology*, *18*(4), e206-e217.
26. Chng, W. J., Santana-Davila, R., Van Wier, S. A., Ahmann, G. J., Jalal, S. M., Bergsagel, P. L., ... & Fonseca, R. (2006). Prognostic factors for hyperdiploid-myeloma: effects of chromosome 13 deletions and IgH translocations. *Leukemia*, *20*(5), 807-813.
27. Cimmino, A., Calin, G. A., Fabbri, M., Iorio, M. V., Ferracin, M., Shimizu, M., ... & Croce, C. M. (2005). miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *102*(39), 13944-13949.
28. Cohen, A. D., Raje, N., Fowler, J. A., Mezzi, K., Scott, E. C., & Dhodapkar, M. V. (2020). How to train your T cells: overcoming immune dysfunction in multiple myeloma. *Clinical Cancer Research*, *26*(7), 1541-1554.
29. Colmone, A., Amorim, M., Pontier, A. L., Wang, S., Jablonski, E., & Sipkins, D. A. (2008). Leukemic cells create bone marrow niches that disrupt the behavior of normal hematopoietic progenitor cells. *Science*, *322*(5909), 1861-1865.
30. Cortez, M. A., Bueso-Ramos, C., Ferdin, J., Lopez-Berestein, G., Sood, A. K., & Calin, G. A. (2011). MicroRNAs in body fluids—the mix of hormones and biomarkers. *Nature reviews Clinical oncology*, *8*(8), 467-477.
31. Cowan, A. J., Green, D. J., Kwok, M., Lee, S., Coffey, D. G., Holmberg, L. A., & Libby, E. N. (2022). Diagnosis and management of multiple myeloma: a review. *Jama*, *327*(5), 464-477.
32. Damiano, J. S., Cress, A. E., Hazlehurst, L. A., Shtil, A. A., & Dalton, W. S. (1999). Cell adhesion mediated drug resistance (CAM-DR): role of integrins and resistance to apoptosis in human myeloma cell lines. *Blood, the Journal of the American Society of Hematology*, *93*(5), 1658-1667.
33. De Weers, M., Tai, Y. T., Van Der Veer, M. S., Bakker, J. M., Vink, T., Jacobs, D. C., ... & Parren, P. W. (2011). Daratumumab, a novel therapeutic human CD38 monoclonal antibody, induces killing of multiple myeloma and other hematological tumors. *The Journal of Immunology*, *186*(3), 1840-1848.
34. Decaux, O., Lodé, L., Magrangeas, F., Charbonnel, C., Gouraud, W., Jézéquel, P., ... & Minvielle, S. (2008). Prediction of survival in multiple myeloma based on gene expression profiles reveals cell cycle and chromosomal instability signatures in high-risk patients and hyperdiploid signatures in low-risk patients: a study of the Intergroupe Francophone du Myelome. *Journal of clinical oncology*, *26*(29), 4798-4805.
35. DeFronzo, R. A., Cooke, C. R., Wright, J. R., & Humphrey, R. L. (1978). Renal function in patients with multiple myeloma. *Medicine*, *57*(2), 151-166.
36. DiLillo, D. J., Hamaguchi, Y., Ueda, Y., Yang, K., Uchida, J., Haas, K. M., ... & Tedder, T. F. (2008). Maintenance of long-lived plasma cells and serological memory despite mature and memory B cell depletion during CD20 immunotherapy in mice. *The Journal of Immunology*, *180*(1), 361-371.

37. Dimopoulos, K., Fibiger Munch-Petersen, H., Winther Eskelund, C., Dissing Sjö, L., Ralfkiaer, E., Gimsing, P., & Grønbaek, K. (2019). Expression of CRBN, IKZF1, and IKZF3 does not predict lenalidomide sensitivity and mutations in the cereblon pathway are infrequent in multiple myeloma. *Leukemia & lymphoma*, *60*(1), 180-188.
38. Dimopoulos, M. A., Goldschmidt, H., Niesvizky, R., Joshua, D., Chng, W. J., Oriol, A., ... & Moreau, P. (2017). Carfilzomib or bortezomib in relapsed or refractory multiple myeloma (ENDEAVOR): an interim overall survival analysis of an open-label, randomised, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*, *18*(10), 1327-1337.
39. Dimopoulos, M. A., Moreau, P., Terpos, E., Mateos, M. V., Zweegman, S., Cook, G., ... & Mey, U. (2021). Multiple myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*, *32*(3), 309-322.
40. Durie, B. G., Harousseau, J. L., Miguel, J. S., Blade, J., Barlogie, B., Anderson, K., ... & Rajkumar, S. V. (2006). International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*, *20*(9), 1467-1473.
41. Durie, B. G., & Salmon, S. E. (1975). A clinical staging system for multiple myeloma correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival. *Cancer*, *36*(3), 842-854.
42. Eichner, R., Heider, M., Fernández-Sáiz, V., van Bebbber, F., Garz, A. K., Lemeer, S., ... & Bassermann, F. (2016). Immunomodulatory drugs disrupt the cereblon-CD147-MCT1 axis to exert antitumor activity and teratogenicity. *Nature medicine*, *22*(7), 735-743.
43. Facon, T., Avet-Loiseau, H., Guillermin, G., Moreau, P., Genevieve, F., Zandecki, M., ... & Mary, J. Y. (2001). Chromosome 13 abnormalities identified by FISH analysis and serum β 2-microglobulin produce a powerful myeloma staging system for patients receiving high-dose therapy. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, *97*(6), 1566-1571.
44. Fonseca, R., Debes-Marun, C. S., Picken, E. B., Dewald, G. W., Bryant, S. C., Winkler, J. M., ... & Greipp, P. R. (2003). The recurrent IgH translocations are highly associated with nonhyperdiploid variant multiple myeloma. *Blood*, *102*(7), 2562-2567.
45. Fonseca, R., Oken, M. M., Harrington, D., Bailey, R. J., Van Wier, S. A., Henderson, K. J., ... & Dewald, G. W. (2001). Deletions of chromosome 13 in multiple myeloma identified by interphase FISH usually denote large deletions of the q arm or monosomy. *Leukemia*, *15*(6), 981-986.
46. Fosså, A., Brandhorst, D., Myklebust, J. H., Seeber, S., & Nowrousian, M. R. (1999). Relation between S-phase fraction of myeloma cells and anemia in patients with multiple myeloma. *Experimental hematology*, *27*(11), 1621-1626.
47. Franssen, L. E., Nijhof, I. S., Couto, S., Levin, M. D., Bos, G. M., Broijl, A., ... & van de Donk, N. W. (2018). Cereblon loss and up-regulation of c-Myc are associated with lenalidomide resistance in multiple myeloma patients. *Haematologica*, *103*(8), e368.
48. Gandhi, A. K., Mendy, D., Waldman, M., Chen, G., Rychak, E., Miller, K., ... & Chopra, R. (2014). Measuring cereblon as a biomarker of response or resistance to lenalidomide and

- pomalidomide requires use of standardized reagents and understanding of gene complexity. *British journal of haematology*, 164(2), 233-244.
49. García-Ortiz, A., Rodríguez-García, Y., Encinas, J., Maroto-Martín, E., Castellano, E., Teixidó, J., & Martínez-López, J. (2021). The role of tumor microenvironment in multiple myeloma development and progression. *Cancers*, 13(2), 217.
 50. Greipp, P. R., Miguel, J. S., Durie, B. G., Crowley, J. J., Barlogie, B., Bladé, J., ... & Westin, J. (2005). International staging system for multiple myeloma. *Journal of clinical oncology*, 23(15), 3412-3420.
 51. Handa, H., Hattori, H., Takahashi, N., Sasaki, Y., Saitoh, T., Osaki, Y., ... & Murakami, H. (2012). Association between micro-RNA and epigenetic modifiers DNA methyltransferases (DNMTs), histone deacetylases (HDACs) in multiple myeloma (MM) and monoclonal gammopathy with undetermined significance (MGUS). *Blood*, 120(21), 3942.
 52. Hao, M., Zhang, L., An, G., Sui, W., Yu, Z., Zou, D., ... & Qiu, L. (2011). Suppressing miRNA-15a/-16 expression by interleukin-6 enhances drug-resistance in myeloma cells. *Journal of hematology & oncology*, 4(1), 1-3.
 53. Hargreaves, R. M., Lea, J. R., Griffiths, H., Faux, J. A., Holt, J. M., Reid, C., ... & Chapel, H. M. (1995). Immunological factors and risk of infection in plateau phase myeloma. *Journal of clinical pathology*, 48(3), 260.
 54. Heintel, D., Rocci, A., Ludwig, H., Bolomsky, A., Caltagirone, S., Schreder, M., ... & Palumbo, A. (2013). High expression of cereblon (CRBN) is associated with improved clinical response in patients with multiple myeloma treated with lenalidomide and dexamethasone. *British journal of haematology*, 161(5), 695-700.
 55. Higgins, J. J., Pucilowska, J., Lombardi, R. Q., & Rooney, J. P. (2004). A mutation in a novel ATP-dependent Lon protease gene in a kindred with mild mental retardation. *Neurology*, 63(10), 1927-1931.
 56. Hill, G. S., Morel-Maroger, L., Wry, J. P., Brouet, J. C., & Mignon, F. (1983). Renal lesions in multiple myeloma: their relationship to associated protein abnormalities. *American Journal of Kidney Diseases*, 2(4), 423-428.
 57. Hillengass, J., Ayyaz, S., Kilk, K., Weber, M. A., Hielscher, T., Shah, R., ... & Neben, K. (2012). Changes in magnetic resonance imaging before and after autologous stem cell transplantation correlate with response and survival in multiple myeloma. *Haematologica*, 97(11), 1757.
 58. Hoggatt, J., Kfoury, Y., & Scadden, D. T. (2016). Hematopoietic stem cell niche in health and disease. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 11, 555-581.
 59. Holstein, S. A., & McCarthy, P. L. (2017). Immunomodulatory drugs in multiple myeloma: mechanisms of action and clinical experience. *Drugs*, 77, 505-520.
 60. Hoyos, V., & Borrello, I. (2016). The immunotherapy era of myeloma: monoclonal antibodies, vaccines, and adoptive T-cell therapies. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 128(13), 1679-1687.

61. Huang, S. Y., Lin, C. W., Lin, H. H., Yao, M., Tang, J. L., Wu, S. J., ... & Tien, H. F. (2014). Expression of cereblon protein assessed by immunohistochemical staining in myeloma cells is associated with superior response of thalidomide-and lenalidomide-based treatment, but not bortezomib-based treatment, in patients with multiple myeloma. *Annals of hematology*, *93*, 1371-1380.
62. Ito, T., Ando, H., Suzuki, T., Ogura, T., Hotta, K., Imamura, Y., ... & Handa, H. (2010). Identification of a primary target of thalidomide teratogenicity. *science*, *327*(5971), 1345-1350.
63. Jacobson, D. R., & Zolla-Pazner, S. (1986, September). Immunosuppression and infection in multiple myeloma. In *Seminars in oncology* (Vol. 13, No. 3, pp. 282-290).
64. Jiang, Y., Luan, Y., Chang, H., & Chen, G. (2018). The diagnostic and prognostic value of plasma microRNA-125b-5p in patients with multiple myeloma. *Oncology letters*, *16*(3), 4001-4007.
65. Jo, S., Lee, K. H., Song, S., Jung, Y. K., & Park, C. S. (2005). Identification and functional characterization of cereblon as a binding protein for large-conductance calcium-activated potassium channel in rat brain. *Journal of neurochemistry*, *94*(5), 1212-1224.
66. Joseph, N. S., Kaufman, J. L., Dhodapkar, M. V., Hofmeister, C. C., Almaula, D. K., Heffner, L. T., ... & Nooka, A. K. (2020). Long-term follow-up results of lenalidomide, bortezomib, and dexamethasone induction therapy and risk-adapted maintenance approach in newly diagnosed multiple myeloma. *Journal of Clinical Oncology*, *38*(17), 1928.
67. Jourdan, M., Ferlin, M., Legouffe, E., Horvathova, M., Liautard, J., Rossi, J. F., ... & Klein, B. (1998). The myeloma cell antigen syndecan-1 is lost by apoptotic myeloma cells. *British journal of haematology*, *100*(4), 637-646.
68. Jung, S. H., Lee, S. E., Lee, M., Kim, S. H., Yim, S. H., Kim, T. W., ... & Chung, Y. J. (2017). Circulating microRNA expressions can predict the outcome of lenalidomide plus low-dose dexamethasone treatment in patients with refractory/relapsed multiple myeloma. *Haematologica*, *102*(11), e456.
69. Kawano, Y., Moschetta, M., Manier, S., Glavey, S., Görgün, G. T., Roccaro, A. M., ... & Ghobrial, I. M. (2015). Targeting the bone marrow microenvironment in multiple myeloma. *Immunological reviews*, *263*(1), 160-172.
70. Klimowicz, A., Neri, P., Belch, A., Dean, M., Ren, L., Gratton, K., ... & Bahlis, N. J. (2012). High cereblon protein expression correlates with improved response and survival in myeloma patients treated with lenalidomide. *Blood*, *120*(21), 931.
71. Königsberg, R., Zojer, N., Ackermann, J., Krömer, E., Kittler, H., Fritz, E., ... & Drach, J. (2000). Predictive role of interphase cytogenetics for survival of patients with multiple myeloma. *Journal of Clinical Oncology*, *18*(4), 804-804.
72. Korst, D. R., Clifford, G. O., Fowler, W. M., Louis, J., Will, J., & Wilson, H. E. (1964). Multiple myeloma: II. Analysis of cyclophosphamide therapy in 165 patients. *Jama*, *189*(10), 758-762.

73. Krönke, J., Udeshi, N. D., Narla, A., Grauman, P., Hurst, S. N., McConkey, M., ... & Ebert, B. L. (2014). Lenalidomide causes selective degradation of IKZF1 and IKZF3 in multiple myeloma cells. *Science*, *343*(6168), 301-305.
74. Kubiczikova, L., Pour, L., Sedlarikova, L., Hajek, R., & Sevcikova, S. (2014). Proteasome inhibitors—molecular basis and current perspectives in multiple myeloma. *Journal of cellular and molecular medicine*, *18*(6), 947-961.
75. Kuehl, W. M., & Bergsagel, P. L. (2012). Molecular pathogenesis of multiple myeloma and its premalignant precursor. *The Journal of clinical investigation*, *122*(10), 3456-3463.
76. Kuiper, R., Broyl, A., de Knecht, Y. A., Van Vliet, M. H., Van Beers, E. H., van der Holt, B. & Sonneveld, P. (2012). A gene expression signature for high-risk multiple myeloma. *Leukemia*, *26*(11), 2406-2413.
77. Kumar, S., Paiva, B., Anderson, K. C., Durie, B., Landgren, O., Moreau, P., ... & Avet-Loiseau, H. (2016). International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *The lancet oncology*, *17*(8), e328-e346.
78. Kumar, S., Paiva, B., Anderson, K. C., Durie, B., Landgren, O., Moreau, P., ... & Avet-Loiseau, H. (2016). International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *The lancet oncology*, *17*(8), e328-e346.
79. Kumar S., Rajkumar V, Kyle R., Duin M., Sonneveld P., Mateos M-V., Gay F., Anderson K. Multiple myeloma (2017). *Nature Reviews Disease Primers* (3)17046.
80. Kyle, R. A., Gertz, M. A., Witzig, T. E., Lust, J. A., Lacy, M. Q., Dispenzieri, A., ... & Greipp, P. R. (2003, January). Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. In *Mayo Clinic Proceedings* (Vol. 78, No. 1, pp. 21-33).
81. Kyle, R. A. (2000). Multiple myeloma: an odyssey of discovery. *British journal of haematology*, *111*(4), 1035-1044.
82. Kyrtsolis, M. C., Vassilakopoulos, T. P., Siakantaris, M. P., Kokoris, S. I., Gribabis, D. A., Dimopoulou, M. N., ... & Pangalis, G. A. (2004). Serum syndecan-1, basic fibroblast growth factor and osteoprotegerin in myeloma patients at diagnosis and during the course of the disease. *European journal of haematology*, *72*(4), 252-258.
83. Kyrtsolis, M. C., Maltezas, D., Koulteris, E., Bitsani, K., Pessach, I., Efthymiou, A., & Panayiotidis, P. (2012). Chapter 8- The contribution of prognostic factors to the better management of multiple myeloma patients. *Multiple Myeloma-An Overview*. In Tech.
84. Lahuerta, J. J., Paiva, B., Vidriales, M. B., Cerdón, L., Cedena, M. T., Puig, N., ... & San-Miguel, J. F. (2017). Depth of response in multiple myeloma: a pooled analysis of three PETHEMA/GEM clinical trials. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, *35*(25), 2900.

85. Landgren, O., & Rajkumar, S. V. (2016). New developments in diagnosis, prognosis, and assessment of response in multiple myeloma. *Clinical Cancer Research*, 22(22), 5428-5433.
86. Landgren, O., Sonneveld, P., Jakubowiak, A., Mohty, M., Iskander, K. S., Mezzi, K., & Siegel, D. S. (2019). Carfilzomib with immunomodulatory drugs for the treatment of newly diagnosed multiple myeloma. *Leukemia*, 33(9), 2127-2143.
87. Laroche, M., Assoun, J., Sixou, L., & Attal, M. (1996). Comparison of MRI and computed tomography in the various stages of plasma cell disorders: correlations with biological and histological findings. Myélome-Midi-Pyrénées Group. *Clinical and experimental rheumatology*, 14(2), 171-176.
88. Lecker, S. H., Goldberg, A. L., & Mitch, W. E. (2006). Protein degradation by the ubiquitin–proteasome pathway in normal and disease states. *Journal of the American society of nephrology*, 17(7), 1807-1819.
89. Lecouvet, F. E., Berg, B. C. V., Malghem, J., & Maldague, B. E. (2001). Magnetic resonance and computed tomography imaging in multiple myeloma. In *Seminars in musculoskeletal radiology* (Vol. 5, No. 01, pp. 043-056). Copyright© 2001 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA. Tel.:+ 1 (212) 584-4662.
90. Lee, B. H., Kang, K. W., Jeon, M. J., Yu, E. S., Kim, D. S., Lee, S. R., ... & Kim, B. S. (2021). Prediction Model for Cereblon Expression in Bone Marrow Plasma Cells Based on Blood Markers in Multiple Myeloma Patients. *Frontiers in Oncology*, 11, 687361.
91. Lee, A. H., Iwakoshi, N. N., Anderson, K. C., & Glimcher, L. H. (2003). Proteasome inhibitors disrupt the unfolded protein response in myeloma cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(17), 9946-9951.
92. Li, F., Xu, Y., Deng, S., Li, Z., Zou, D., Yi, S., ... & Qiu, L. (2015). MicroRNA-15a/16-1 cluster located at chromosome 13q14 is down-regulated but displays different expression pattern and prognostic significance in multiple myeloma. *Oncotarget*, 6(35), 38270.
93. Li, Y. F., Xu, S., Ou, X., & Lam, K. P. (2014). Shp1 signalling is required to establish the long-lived bone marrow plasma cell pool. *Nature Communications*, 5(1), 4273.
94. Lodé, L., Amiot, M., Maiga, S., Touzeau, C., Menard, A., Magrangeas, F., ... & Moreau, P. (2013). Cereblon expression in multiple myeloma: not ready for prime time. *British journal of haematology*, 163(2), 282-284.
95. Lokhorst, H. M., Plesner, T., Laubach, J. P., Nahi, H., Gimsing, P., Hansson, M., ... & Richardson, P. G. (2015). Targeting CD38 with daratumumab monotherapy in multiple myeloma. *New England Journal of Medicine*, 373(13), 1207-1219.
96. Lonial, S., Dimopoulos, M., Palumbo, A., White, D., Grosicki, S., Spicka, I., ... & Richardson, P. (2015). Elotuzumab therapy for relapsed or refractory multiple myeloma. *New England Journal of Medicine*, 373(7), 621-631.
97. Lopez-Girona, A. E. A., Mendy, D., Ito, T., Miller, K., Gandhi, A. K., Kang, J., ... & Chopra, R. (2012). Cereblon is a direct protein target for immunomodulatory and antiproliferative activities of lenalidomide and pomalidomide. *Leukemia*, 26(11), 2326-2335.

98. Ma, J., Liu, S., & Wang, Y. (2014). MicroRNA-21 and multiple myeloma: Small molecule and big function. *Medical Oncology*, *31*, 1-6.
99. Majithia, N., Rajkumar, S. V., Lacy, M. Q., Buadi, F. K., Dispenzieri, A., Gertz, M. A., ... & Kumar, S. K. (2016). Early relapse following initial therapy for multiple myeloma predicts poor outcomes in the era of novel agents. *Leukemia*, *30*(11), 2208-2213.
100. Manier, S., Liu, C. J., Avet-Loiseau, H., Park, J., Shi, J., Campigotto, F., ... & Ghobrial, I. M. (2017). Prognostic role of circulating exosomal miRNAs in multiple myeloma. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, *129*(17), 2429-2436.
101. Martinez-Lopez, J., Lahuerta, J. J., Pepin, F., González, M., Barrio, S., Ayala, R., ... & García-Sanz, R. (2014). Prognostic value of deep sequencing method for minimal residual disease detection in multiple myeloma. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, *123*(20), 3073-3079.
102. McCarthy, P. L., Holstein, S. A., Petrucci, M. T., Richardson, P. G., Hulin, C., Tosi, P., ... & Attal, M. (2017). Lenalidomide maintenance after autologous stem-cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma: a meta-analysis. *Journal of Clinical Oncology*, *35*(29), 3279.
103. Aahre, A., Cantell, K., Johansson, B., Mellstedt, H., Björkholm, M., Holm, G., & Strander, H. (1979). Interferon therapy in myelomatosis. *The Lancet*, *314*(8144), 697.
104. Mellstedt, H. A. M. G. B. H., Björkholm, M., Johansson, B., Ahre, A., Holm, G., & Strander, H. (1979). Interferon therapy in myelomatosis. *The Lancet*, *313*(8110), 245-247.
105. Aahre, A., Cantell, K., Johansson, B., Mellstedt, H., Björkholm, M., Holm, G., & Strander, H. (1979). INTERFERON THERAPY IN MYELOMATOSIS. *The Lancet*, *314*(8144), 697.
106. Wols, H. A. M., Underhill, G. H., Kansas, G. S., & Witte, P. L. (2002). The role of bone marrow-derived stromal cells in the maintenance of plasma cell longevity. *The Journal of Immunology*, *169*(8), 4213-4221.
107. Mithraprabhu, S., Khong, T., Ramachandran, M., Chow, A., Klarica, D., Mai, L., ... & Spencer, A. (2017). Circulating tumour DNA analysis demonstrates spatial mutational heterogeneity that coincides with disease relapse in myeloma. *Leukemia*, *31*(8), 1695-1705.
108. Moreau, P., Attal, M., Hulin, C., Arnulf, B., Belhadj, K., Benboubker, L., ... & Sonneveld, P. (2019). Bortezomib, thalidomide, and dexamethasone with or without daratumumab before and after autologous stem-cell transplantation for newly diagnosed multiple myeloma (CASSIOPEIA): a randomised, open-label, phase 3 study. *The Lancet*, *394*(10192), 29-38.
109. Moreau, P., San Miguel, J., Sonneveld, P., Mateos, M. V., Zamagni, E., Avet-Loiseau, H., ... & Buske, C. (2017). Multiple myeloma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of oncology*, *28*, iv52-iv61.
110. Moulopoulos, L. A., Dimopoulos, M. A., Weber, D., Fuller, L., Libshitz, H. I., & Alexanian, R. (1993). Magnetic resonance imaging in the staging of solitary plasmacytoma of bone. *Journal of Clinical Oncology*, *11*(7), 1311-1315.

111. Moura, S. R., Abreu, H., Cunha, C., Ribeiro-Machado, C., Oliveira, C., Barbosa, M. A., ... & Almeida, M. I. (2021). Circulating microRNAs correlate with multiple myeloma and skeletal osteolytic lesions. *Cancers*, *13*(21), 5258.
112. Musto, P., Falcone, A., D'Arena, G., Scalzulli, P. R., Matera, R., Minervini, M. M., ... & Carotenuto, M. (1997). Clinical results of recombinant erythropoietin in transfusion-dependent patients with refractory multiple myeloma: role of cytokines and monitoring of erythropoiesis. *European journal of haematology*, *58*(5), 314-319.
113. Nakamura, K., Smyth, M. J., & Martinet, L. (2020). Cancer immunoediting and immune dysregulation in multiple myeloma. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, *136*(24), 2731-2740.
114. Navarro, A., Diaz, T., Gallardo, E., Viñolas, N., Marrades, R. M., Gel, B., ... & Monzo, M. (2011). Prognostic implications of miR-16 expression levels in resected non-small-cell lung cancer. *Journal of surgical oncology*, *103*(5), 411-415.
115. Nguyen, D. C., Garimalla, S., Xiao, H., Kyu, S., Albizua, I., Galipeau, J., ... & Lee, F. E. H. (2018). Factors of the bone marrow microniche that support human plasma cell survival and immunoglobulin secretion. *Nature communications*, *9*(1), 3698.
116. Obeng, E. A., Carlson, L. M., Gutman, D. M., Harrington Jr, W. J., Lee, K. P., & Boise, L. H. (2006). Proteasome inhibitors induce a terminal unfolded protein response in multiple myeloma cells. *Blood*, *107*(12), 4907-4916.
117. Overdijk, M. B., Jansen, J. H., Nederend, M., Lammerts van Bueren, J. J., Groen, R. W., Parren, P. W., ... & Boross, P. (2016). The therapeutic CD38 monoclonal antibody daratumumab induces programmed cell death via Fcγ receptor–mediated cross-linking. *The Journal of Immunology*, *197*(3), 807-813.
118. Overdijk, M. B., Verploegen, S., Bögels, M., van Egmond, M., van Bueren, J. J. L., Mutis, T., ... & Parren, P. W. (2015, March). Antibody-mediated phagocytosis contributes to the anti-tumor activity of the therapeutic antibody daratumumab in lymphoma and multiple myeloma. In *MABs* (Vol. 7, No. 2, pp. 311-320). Taylor & Francis.
119. Palumbo, A., Avet-Loiseau, H., Oliva, S., Lokhorst, H. M., Goldschmidt, H., Rosinol, L., ... & Moreau, P. (2015). Revised international staging system for multiple myeloma: a report from International Myeloma Working Group. *Journal of clinical oncology*, *33*(26), 2863.
120. Palumbo, A., Brinchen, S., Mateos, M. V., Larocca, A., Facon, T., Kumar, S. K., ... & Rajkumar, S. V. (2015). Geriatric assessment predicts survival and toxicities in elderly myeloma patients: an International Myeloma Working Group report. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, *125*(13), 2068-2074.
121. Paradisi, F., Corti, G., & Cinelli, R. (2001). Infections in multiple myeloma. *Infectious Disease Clinics*, *15*(2), 373-384.
122. Paiva, B., van Dongen, J. J., & Orfao, A. (2015). New criteria for response assessment: role of minimal residual disease in multiple myeloma. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, *125*(20), 3059-3068.

123. Pour, L., Sevcikova, S., Greslikova, H., Kupska, R., Majkova, P., Zahradova, L., ... & Hajek, R. (2014). Soft-tissue extramedullary multiple myeloma prognosis is significantly worse in comparison to bone-related extramedullary relapse. *Haematologica*, 99(2), 360.
124. Perez-Simon, J. A., Garcia-Sanz, R., Taberero, M. D., Almeida, J., Gonzalez, M., Fernandez-Calvo, J., ... & Orfao, A. (1998). Prognostic value of numerical chromosome aberrations in multiple myeloma: a FISH analysis of 15 different chromosomes. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 91(9), 3366-3371.
125. Chng, W. J., Santana-Davila, R., Van Wier, S. A., Ahmann, G. J., Jalal, S. M., Bergsagel, P. L., ... & Fonseca, R. (2006). Prognostic factors for hyperdiploid-myeloma: effects of chromosome 13 deletions and IgH translocations. *Leukemia*, 20(5), 807-813.
126. Smadja, N. V., Bastard, C., Brigaudeau, C., Leroux, D., & Fruchart, C. (2001). Hypodiploidy is a major prognostic factor in multiple myeloma. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 98(7), 2229-2238.
127. Drach, J., Schuster, J., Nowotny, H., Angerler, J., Rosenthal, F., Fiegl, M., ... & Huber, H. (1995). Multiple myeloma: high incidence of chromosomal aneuploidy as detected by interphase fluorescence in situ hybridization. *Cancer research*, 55(17), 3854-3859.
128. Robak, P., Drozd, I., Szemraj, J., & Robak, T. (2018). Drug resistance in multiple myeloma. *Cancer treatment reviews*, 70, 199-208.
129. Abdi, J., Jian, H., & Chang, H. (2016). Role of micro-RNAs in drug resistance of multiple myeloma. *Oncotarget*, 7(37), 60723.
130. Pulido, R.; Elices, M.J.; Campanero, M.R.; Osborn, L.; Schiffer, S.; García-Pardo, A.; Lobb, R.; Hemler, M.E.; Sánchez-Madrid, F. Functional evidence for three distinct and independently inhibitable adhesion activities mediated by the human integrin VLA-4. Correlation with distinct alpha 4 epitopes. *J. Biol. Chem.* 1991, 266, 10241–10245. [CrossRef]
131. Quach H, Ritchie D, Stewart AK, Neeson P, Harrison S, Smyth MJ, Prince HM (2010) Mechanism of action of immunomodulatory drugs (IMiDS) in multiple myeloma. *Leukemia*. 24(1):22.
132. Rabouille C (2017) Pathways of unconventional protein secretion. *Trends in cell biology*. 27(3):230-40.
133. Rajkumar SV (2016) Multiple myeloma: 2016 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *American journal of hematology* 91(7):719-34.
134. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *The Lancet Oncology*. 2014;15(12):e538-e548.
135. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, et al. International Myeloma Working Group Updated Criteria for the Diagnosis of Multiple Myeloma. *Lancet Oncol* 2014;15:e538–48. [PubMed: 25439696]
136. Rajkumar SV, Greipp PR. Prognostic factors in multiple myeloma. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1999;13(6):1295-1314.

137. Riccardi A, Gobbi PG, Ucci G, et al. Changing clinical presentation of multiple myeloma. *Eur J Cancer*. 1991;27(11):1401-1405.
138. Robak P, Drózdź I, Jarych D, Mikulski D, Węglowska E, Siemieniuk-Ryś M, et al. The Value of Serum MicroRNA Expression Signature in Predicting Refractoriness to Bortezomib-Based Therapy in Multiple Myeloma Patients. *Cancers (Basel)*. 2020;12:2569.
139. Roccaro AM, Sacco A, Thompson B, Leleu X, Azab AK, Azab F, et al. MicroRNAs 15a and 16 regulate tumor proliferation in multiple myeloma. *Blood* 2009;113:6669–6680
140. Roccaro, A.M.; Sacco, A.; Maiso, P.; Azab, A.K.; Tai, Y.T.; Reagan, M.; Azab, F.; Flores, L.M.; Campigotto, F.; Weller, E.; et al. BM mesenchymal stromal cell-derived exosomes facilitate multiple myeloma progression. *J. Clin. Investig.* 2013, 123, 1542–1555.
141. Rocci A, Hofmeister CC, Geyer S, Stiff A, Gambella M, Cascione L, et al. Circulating miRNA markers show promise as new prognosticators for multiple myeloma. *Leukemia*. 2014;28:1922-6.
142. Schirrmeister H, Bommer M, Buck K, et al. Initial results in the assessment of multiple myeloma using (18)F-FDG PET. *Eur J Nucl Med*. 2002;29(3):361-366.
143. Schuster SR, Kortuem KM, Zhu YX, Braggio E, Shi CX, Bruins LA, Schmidt JE, Ahmann G, Kumar S, Rajkumar SV, Mikhael J (2014) The clinical significance of cereblon expression in multiple myeloma. *Leukemia research*. 38(1):23-8.
144. Sehgal, K.; Das, R.; Zhang, L.; Verma, R.; Deng, Y.; Kocoglu, M.; Vasquez, J.; Koduru, S.; Ren, Y.; Wang, M.; et al. Clinical and pharmacodynamic analysis of pomalidomide dosing strategies in myeloma: Impact of immune activation and cereblon targets. *Blood* 2015, 125, 4042–4051.
145. Shah V, Sherborne AL, Walker BA, et al. Prediction of outcome in newly diagnosed myeloma: a meta-analysis of the molecular profiles of 1905 trial patients. *Leukemia* 2018; 32: 102–10.
146. Shaikh BS, Lombard RM, Appelbaum PC, Bentz MS. Changing patterns of infections in patients with multiple myeloma. *Oncology*. 1982;39(2):78-82.
147. Shaughnessy J Jr, Tian E, Sawyer J, et al. Prognostic impact of cytogenetic and interphase fluorescence in situ hybridization-defined chromosome 13 deletion in multiple myeloma: early results of total therapy II. *Br J Haematol*. 2003;120(1):44-52.
148. Shi Q, Chen L (2017) Cereblon: A Protein Crucial to the Multiple Functions of Immunomodulatory Drugs as well as Cell Metabolism and Disease Generation. *Journal of immunology research*.
149. Siegel DS, Dimopoulos MA, Ludwig H, et al. Improvement in overall survival with carfilzomib, lenalidomide, and dexamethasone in patients with relapsed or refractory multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2018; 36: 728–34.
150. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer Statistics, 2021. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 2021;71:7–33. [PubMed: 33433946]

151. Silvestris F, Cafforio P, Tucci M, Dammacco F. Negative regulation of erythroblast maturation by Fas- L(+)/TRAIL(+) highly malignant plasma cells: a major pathogenetic mechanism of anemia in multiple myeloma. *Blood*. 2002;99(4):1305-1313.
152. Silvestris F, Lombardi L, De Matteo M, Bruno A, Dammacco F. Myeloma bone disease: pathogenetic mechanisms and clinical assessment. *Leuk Res*. 2007;31(2):129–138.
153. Smadja NV, Bastard C, Brigaudeau C, Leroux D, Fruchart C, Groupe Français de Cytogénétique H. Hypodiploidy is a major prognostic factor in multiple myeloma. *Blood*. 2001;98(7):2229-2238.
154. Soliman, Amro M., Teoh Seong Lin, PasukMahakkanukrauh, and Srijit Das. 2020. "Role of microRNAs in Diagnosis, Prognosis and Management of Multiple Myeloma" *International Journal of Molecular Sciences* 21,
155. Sonneveld P, Avet-Loiseau H, Lonial S, et al. Treatment of multiple myeloma with high-risk cytogenetics: a consensus of the International Myeloma Working Group. *Blood* 2016; 127: 2955–62.
156. Stadtmauer EA, Pasquini MC, Blackwell B, et al. Autologous transplantation, consolidation, and maintenance therapy in multiple myeloma: results of the BMT CTN 0702 trial. *J Clin Oncol* 2019; 37: 589–97. 69 Jackson GH, Davies FE, Pawlyn C, et al. Lenalidomide maintenance versus observation for patients with newly diagnosed multiple myeloma (Myeloma XI): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2019; 20: 57–73.
157. Tarnowski, M.; Grymula, K.; Liu, R.; Tarnowska, J.; Drukala, J.; Ratajczak, J.; Mitchell, R.A.; Ratajczak, M.Z.; Kucia, M. Macrophage migration inhibitory factor is secreted by rhabdomyosarcoma cells, modulates tumor metastasis by binding to CXCR4 and CXCR7 receptors and inhibits recruitment of cancer-associated fibroblasts. *Mol. Cancer Res*. 2010, 8, 1328–1343.
158. Tricot G, Barlogie B, Jagannath S, et al. Poor prognosis in multiple myeloma is associated only with partial or complete deletions of chromosome 13 or abnormalities involving 11q and not with other karyotype abnormalities. *Blood*. 1995;86(11):4250-4256.
159. Usmani SZ, Heuck C, Mitchell A, et al. Extramedullary disease portends poor prognosis in multiple myeloma and is over-represented in high-risk disease even in the era of novel agents. *Haematologica*. 2012 Nov;97:1761-7.
160. Vandyke, K.; Zeissig, M.N.; Hewett, D.R.; Martin, S.K.; Mrozik, K.M.; Cheong, C.M.; Diamond, P.; To, L.B.; Gronthos, S.; Peet, D.J.; et al. HIF-2alpha Promotes Dissemination of Plasma Cells in Multiple Myeloma by Regulating CXCL12/CXCR4 and CCR1. *Cancer Res*. 2017, 77, 5452–5463.
161. Voorhees PM, Kaufman JL, laubach J, et al. Depth of response to daratumumab (DARA), lenalidomide, bortezomib, and dexamethasone (RVd) improves over time in patients (pts) with transplant-eligible newly diagnosed multiple myeloma (NDMM): Griffin study update. *Blood* 2019; 134 (suppl 1).

162. Walker BA, Leone PE, Chiecchio L, et al. A compendium of myeloma-associated chromosomal copy number abnormalities and their prognostic value. *Blood* 2010; 116: e56–65.
163. Wang JH, Zhou WW, Liu BX, Man DL, Yang ZD, Liu FR, et al. Expression and significance of miR-21 in multiple myeloma patients. *Genet Mol Res.* 2016;22:15.
164. Wang W, Corrigan-Cummins M, Barber EA, Saleh LM, Zingone A, Ghafoor A, et al. Aberrant Levels of miRNAs in Bone Marrow Microenvironment and Peripheral Blood of Myeloma Patients and Disease Progression. *J Mol Diagn.* 2015;17:669-78.
165. Wang W, Corrigan-Cummins M, Barber EA, Saleh LM, Zingone A, Ghafoor A, et al. Aberrant levels of miRNAs in bone marrow microenvironment and peripheral blood of myeloma patients and disease progression. *The Journal of Molecular Diagnostics,* 2015;17:669-678.
166. Wang X, Li C, Ju S, Wang Y, Wang H, Zhong R. Myeloma cell adhesion to bone marrow stromal cells confers drug resistance by microRNA-21 up-regulation. *Leuk Lymphoma.* 2011;52:1991-8.
167. Winter, O.; Moser, K.; Mohr, E.; Zotos, D.; Kaminski, H.; Szyska, M.; Roth, K.; Wong, D.M.; Dame, C.; Tarlinton, D.M.; et al. Megakaryocytes constitute a functional component of a plasma cell niche in the bone marrow. *Blood* 2010, 116, 1867–1875.
168. Xu Q, Hou YX, Langlais P, Erickson P, Zhu J, Shi C, et al. Expression of the cereblon binding protein argonaute 2 plays an important role for multiple myeloma cell growth and survival. *BMC Cancer,* 2016;16:297
169. Yyusnita, Norsiah, Zakiah I, Chang KM, Purushotaman VS, Zubaidah Z, et al. MicroRNA (miRNA) expression profiling of peripheral blood samples in multiple myeloma patients using microarray. *Malays J Pathol.* 2012;34:133-43.
170. Zhang S, Kulkarni AA, Xu B, et al. Bortezomib-based consolidation or maintenance therapy for multiple myeloma: a meta-analysis. *Blood Cancer J* 2020; 10: 33.
171. Zheng, Y.; Wang, Q.; Li, T.; Qian, J.; Lu, Y.; Li, Y.; Bi, E.; Reu, F.; Qin, Y.; Drazba, J.; et al. Role of Myeloma-Derived MIF in Myeloma Cell Adhesion to Bone Marrow and Chemotherapy Response. *J. Natl. Cancer Inst.* 2016, 108.

