Daiga Auziņa

**Mielomas pacientu
bioķīmisko marķieru un
morfoloģisko rādītāju
prognostiskās nozīmes analīze
kaulu slimības attīstībā**

Promocijas darba kopsavilkums zinātniskā doktora grāda
“zinātnes doktors (*Ph.D.*)” iegūšanai

Nozare – klīniskā medicīna
Apakšnozare – onkoloģija un hematoloģija

Rīga, 2021

RĪGAS STRADIŅA
UNIVERSITĀTE

Daiga Auziņa

ORCID 0000-0001-7710-8333

Mielomas pacientu bioķīmisko marķieru un
morfoloģisko rādītāju prognostiskās nozīmes
analīze kaulu slimības attīstībā

Promocijas darba kopsavilkums zinātniskā doktora grāda
“zinātnes doktors” (*Ph.D.*) iegūšanai

Nozare – klīniskā medicīna

Apakšnozare – onkoloģija un hematoloģija

Rīga, 2021

Promocijas darbs izstrādāts Rīgas Stradiņa universitātē, Latvijā

Promocijas darba vadītāja:

Dr. med. profesore, LZA īstenā locekle **Sandra Lejniece**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Oficiālie recenzenti:

Dr. med., asociētā profesore **Iveta Kudaba**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Dr. med., profesors **Sergejs Isajevs**,
Latvijas Universitāte

Ph.D., profesors **Rolandas Gerbutavičius**,
Lietuvas veselības zinātņu universitāte, Lietuva

Promocijas darbs tiks aizstāvēts Klīniskās medicīnas promocijas padomes
atklātā sēdē 2021. gada 20. oktobrī plkst. 15.00, tiešsaistes platformā *Zoom*.

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU tīmekļa vietnē:
<https://www.rsu.lv/promocijas-darbi>

Promocijas padomes sekretāre:

Dr. med., profesore **Regīna Kleina**

Saturs

Saturs	3
Darbā lietotie saīsinājumi	4
Ievads	8
1. Materiāls un metodes	14
1.1. Pētījuma un kontroles grupu raksturojums	14
1.2. Pētījuma shēma	16
1.3. Pētījuma personu iekļaušanas un izslēgšanas kritēriji	16
1.4. Radioloģisko datu analīze	17
1.5. Laboratorisko rādītāju analīze	17
1.6. Kaulu metabolisma bioķīmisko marķieru analīze	18
1.7. Pacientu funkcionālā stāvokļa noteikšana	20
1.8. Slimības stadijas noteikšana	22
1.9. Trepānbiopsiju gaismas mikroskopija un imūnhistoķīmija	22
1.10. Datu statistiskā analīze	26
2. Rezultāti	28
2.1. Pētījuma pacientu un kontroles grupas indivīdu raksturojums	28
2.1.1. Pacientu slimības stadijas novērtējums	29
2.1.2. Pacientu funkcionālā stāvokļa novērtējums	29
2.2. Radioloģisko datu analīze	31
2.3. Laboratorisko rādītāju analīze	34
2.4. Kaulu metabolisma bioķīmisko marķieru analīze	37
2.4.1. β -CTX līmeņa analīze	37
2.4.2. bALP analīze	40
2.4.3. β -CTX korelāciju analīze ar bioķīmiskajiem rādītājiem, slimības stadiju un pacientu funkcionālo stāvokli	43
2.4.4. Diagnostisko testu izvērtējums	45
2.4.5. β -CTX un bALP salīdzinājums ar kontroles grupu	47
2.5. Plazmas šūnu uzbūves analīze	48
2.6. DKK-1 ekspresijas mielomas šūnās analīze	52
3. Diskusija	63
Secinājumi	78
Praktiskās rekomendācijas	79
Publikācijas un ziņojumi par darba tēmu	80
Literatūras saraksts	84
Pielikumi	109
RSU Ētikas komitejas lēmums	110
Pacienta informācijas un piekrišanas veidlapa	111

Darbā lietotie saīsinājumi

Saīsinājums	Nosaukums angļu val.	Skaidrojums latviešu val.
ALP	<i>alkaline phosphatase</i>	sārmainā fosfatāze
ASCT	<i>autologous stem-cell transplantation</i>	autoloģiska cilmes šūnu transplantācija
bALP	<i>bone-specific Alkaline phosphatase</i>	sārmainā fosfatāzes kaulu frakcija
CRAB	<i>hypercalcemia, renal failure, anemia, bone lesions</i>	hiperkalciēmija, nieru bojājums, anēmija, kaulu bojājumi
CrCl	<i>creatinine clearance</i>	kreatinīna klīrenss
CT	<i>computed tomography</i>	kompjūtertomogrāfija
DEXA	<i>dual-energy X-ray absorptiometry</i>	osteodensitometrija
DKK-1	<i>Dickkopf-1</i>	Dikkof-1
DSS	<i>Durie and Salmon System</i>	Djūrija un Salmona klasifikācija
ECOG	<i>the Eastern Cooperative Oncology Group</i>	Austrumu kooperatīvās onkoloģijas grupa
ESMO	<i>the European Society for Medical Oncology</i>	Eiropas Onkologu biedrība
FISH	<i>fluorescence in situ hybridization</i>	fluorescenta <i>in situ</i> hibridizācija
GFĀ	<i>glomerular filtration rate</i>	glomeruļu filtrācijas ātrums

IL-1	<i>interleukin-1</i>	interleikīns 1
IL-6	<i>interleukin- 6</i>	interleikīns 6
IMWG	<i>the International Myeloma Working Group</i>	Starptautiskā mielomas darba grupa
ISS	<i>International Staging System</i>	Starptautiskā stadiju sistēma
KMBM	<i>bone turnover biochemical markers</i>	kaulu metabolisma bioķīmiskie marķieri
ĶMI	<i>body mass index</i>	ķermeņa masas indekss
LDH	<i>lactate dehydrogenase</i>	laktātdehidrogenāze
MGUS	<i>monoclonal gammopathy of undetermined significance</i>	nezināmas nozīmes monoklonāla gammopātija
MIP-1 α	<i>macrophage inflammatory protein -1 α</i>	makrofāgu iekaisuma proteīns - 1 α
MM	<i>multiple myeloma</i>	mielomas slimība
MRI	<i>magnetic resonance imaging</i>	magnētiskās rezonanses izmeklēšana
MRONJ	<i>medication- related osteonecrosis of the jaw</i>	medikamentu izraisīta žokļu osteonekroze
NCCN	<i>National Comprehensive Cancer Network</i>	Nacionālā visaptverošā vēža organizācija
NCI	<i>National Cancer Institute</i>	Nacionālais vēža institūts
NTX	<i>amino- terminal cross-linking telopeptide</i>	amino-termināla šķērssaites telopeptīds

OB	<i>osteoblast</i>	osteoblasts
OC	<i>osteoclast</i>	osteoklasts
ONJ	<i>osteonecrosis of the jaw</i>	žokļu osteonekroze
OPG	<i>osteoprotegerin</i>	osteoproteģerīns
P1CP	<i>total procollagen type I C-terminal propeptide</i>	I tipa prokolagēna C termināla propeptīds
P1NP	<i>total procollagen type I N-terminal propeptide</i>	I tipa prokolagēna N termināla propeptīds
PC	plasma cell	plazmas šūna
PET/CT	<i>positron emission tomography/computed tomography</i>	pozitrona emisijas tomogrāfija/kompjūtertomoģrāfija
PTHrP	<i>parathyroid hormone-related peptide</i>	parathormonatkarīgais peptīds
RAKUS	–	Rīgas Austrumu klīniskā universitātes slimnīca
RANK	<i>receptor activator of nuclear factor kappa B</i>	kodola faktora kapa B receptora aktivators
RANKL	<i>receptor activator of nuclear factor kappa B ligand</i>	kodola faktora kapa B liganda receptora aktivators
R-ISS	<i>Revised International Staging System</i>	Pilnģgotā starptautiskā stadiju sistģma
rtg	<i>x-ray</i>	rentģens
SMM	<i>smoldering myeloma</i>	snaudoša mieloma

SREs	<i>skeletal-related events</i>	ar skeletu saistīti notikumi
SSK-10	—	Starptautiskā statistiskā slimību un veselības problēmu klasifikācija
TNF	<i>tumor necrosis factor</i>	audzēja nekrozes faktors
VEGF	<i>vascular endothelial growth factor</i>	vaskulārais endotēlija augšanas faktors
VTE	<i>venous thromboembolism</i>	venoza trombembolija
WBLDCT	<i>whole- body low dose CT</i>	visa ķermeņa zemu devu CT
WBXR	<i>whole- body X-rays</i>	visa ķermeņa rtg
Wnt signālceļš	<i>wingless- type signaling</i>	Wnt tipa signālceļš
β 2-M	<i>β2-microglobulin</i>	β 2 mikroglobulīns
β -CTX	<i>carboxy-terminal cross-linking telopeptide</i>	β karboksi-termināla šķērssaites telopeptīds

Ievads

Darba aktualitāte

Multiplā mieloma (MM) ir primāra ļaundabīga kaulu smadzeņu slimība, ko raksturo nekontrolēta nobriedušu un nenobriedušu plazmas šūnu augšana un vairošanās, kas sekretē monoklonālus imunoglobulīnus asinīs un/vai urīnā (Roodman, 2009; Terpos, 2018; Rajkumar, 2014; Kyle, 2003; Morgan, 2012; Swerdlow, 2016; Лыговская, 2014). Tā kā plazmātiskās šūnas veidojas no B limfocītiem, tad reizēm MM dēvē arī par B šūnu malignitāti.

Slimības attīstības gaitā attīstās kaulu bojājums ar patoloģiskiem kaulu lūzumiem, neiroloģiskais sindroms muguras smadzeņu bojājuma dēļ, anēmija, nogurums, nespēks, nieru bojājums un sekundāras infekcijas (McKenna et al., 2008; van Rhee et al., 2010; Rajkumar et al., 2014).

Latvijā ik gadu tiek reģistrēti ap 100 pacientu ar MM (5 gadījumi uz 100 000 iedzīvotāju). Ņemot vērā pašreizējās pasaules iedzīvotāju demogrāfiskās tendences, tiek paredzēts, ka līdz 2035. gadam saslimstība ar mielomas slimību pieaugs līdz 12 gadījumiem uz 100 000 iedzīvotāju. Apvienotajā Karalistē (Smittenaar et al., 2016).

MM ir vienīgā no onkoloģisko hematoloģisko slimību nozoloģijām ar sekundāru skeleta bojājumu, ko bieži atrod jau diagnosticēšanas brīdī. Kaulu slimība, sevišķi kaulu lītiskas destruktijas, ir ļoti izplatīta MM klīniskā izpausme, kas būtiski ietekmē pacienta dzīves kvalitāti (Kiely et al., 2017; Mateos et al., 2020).

Osteolītiskus kaulu bojājumus novēro 70–80 % pacientu slimības diagnosticēšanas brīdī, bet līdz 90 % pacientu kaulu lītiskie bojājumi attīstās slimības gaitā (Terpos et al., 2013; Sezer, 2009; Melton et al., 2005).

Kaulu slimība var izraisīt ar skeletu saistītus notikumus (SREs) ar patoloģiskiem lūzumiem, muguras smadzeņu kompresiju, hiperkalciēmiju, kā rezultātā ir nepieciešama staru un ķirurģiska ārstēšana (O'Donnell et al., 2017).

Diemžēl nav izmeklējumu, kas identificētu pacientus ar kaulu bojājumu attīstības paaugstinātu risku (Gupta et al., 2020). Parasti, lai noteiktu kaulu bojājumus, izmanto konvencionālās radioloģiskās izmeklēšanas metodes. Taču tās nesniedz informāciju par kaulu veidošanos un rezorbciju. Pašreizējās vadlīnijas pacientu novērošanā nosaka, ka rtg, CT, MRI izmeklējumus izdara tikai tad, ja pacientam ir sūdzības. Bet, protams, izmaiņas kaulos parādās jau pirms pacienta sūdzībām un pirms rentgenoloģiski apstiprinātām kaulu pārmaiņām. Agrīnu kaulu bojājumu atklāšanai var lietot PET/CT, bet to plašo izmantošanu ierobežo izmeklējuma dārgās izmaksas. Turklāt bieži radioloģisko izmeklējumu laikā slimniekam tiek ievadīta radioaktīva kontrastviela, daudzo izmeklējumu dēļ pacients saņem paaugstināta starojuma devu, kā arī slimniekam var būt problēmas nogulēt izmeklējumu laikā sāpju un iespējamās klaustrofobijas dēļ. Cukura diabēta slimniekiem ir nepieciešama īpaša sagatavošana.

Tā kā terapija ar bisfosfonātiem samazina jaunu kaulu bojājumu veidošanos sakarā ar osteoklastu aktivitātes inhibēšanu, tā ir ietverta mielomas slimnieku standartterapijā (Terpos et al., 2013; Morgan et al., 2010).

Tomēr, palielinoties komplikācijām pēc ilgtermiņa bisfosfonātu lietošanas (nieru bojājums, žokļa osteonekroze, gūžas kakliņa lūzums), pieaug arī pētījumu skaits par kaulu bojājumu diagnostikas un ārstēšanas metodēm.

Domājot par iespējami agrīnu kaulu bojājumu atklāšanu vai potenciālo kaulu bojājuma riska izvērtēšanu, jāatceras MM patoģenēze un kaulu sistēmas vielmaiņa. Ir zināms, ka mielomas šūnas producē vairākus faktorus, kas stimulē osteoklastu veidošanos un aktivitāti, tādēļ paaugstinās kaulu rezorbcija un pretēji tiek inhibēta osteoblastu funkcija, nomācot kaulu veidošanos. Tā rezultātā veidojas osteolītiski kaulu bojājumi (Sezer, 2009; Abe, 2011; Roodman, 2009, 2011; Terpos et al., 2005; Yaccoby, 2010).

Kaulu marķieri tiek iedalīti rezorbcijas un kaulu veidošanās marķieros. Kaulu rezorbcijas marķieri (β -CTX) ir osteoklastu vai kolagēna degradācijas produkti, bet kaulu veidošanās marķierus (piem., sārmainās fosfatāzes kaulu

frakcija bALP) producē osteoblasti. Tos var noteikt, lai izvērtētu kaulu bojājumu/lūzumu risku un terapijas efektivitāti pacientiem specifiskas terapijas laikā (Lund et al., 2010; Hlaing et al., 2014).

Praksē tos lieto osteoporozes terapijas efektivitātes novērtēšanā, bet MM gadījumā tie līdz šim netika lietoti.

Kā zināms, Wnt signālsistēmai ir svarīga osteoblastu augšanas un diferenciācijas loma un *Dickkopf-1* (DKK-1) ir šīs signālsistēmas inhibitors (Ray et al., 2016; Spaan et al., 2018).

DKK-1 spēj saistīt Wnt signālsistēmas receptorus, bloķēt osteoblastu diferenciāciju un proliferāciju, kas izraisa kaulu veidošanās samazināšanos un kaulu lītiskas izmaiņas (Terpos et al., 2018; Qiang et al., 2008; Heath et al., 2009; Menezes et al., 2012). DKK-1 ir iespējams noteikt ar imūnhistoķīmiskajām metodēm kaulu smadzenēs mielomas šūnās, un DKK-1 ekspresijas pakāpe ir saistīta ar kaulu bojājumu smaguma pakāpi MM pacientiem. Vairākos pētījumos ir apstiprināta DKK-1 palielināta ekspresija MM šūnās, īpaši pacientiem ar smagiem kaulu bojājumiem (Heath et al., 2009; Tian et al., 2003).

Turklāt, izmeklējot trepānbiopsijas materiālā mielomas šūnas morfoloģiski, var noteikt plazmas šūnu malignitātes smaguma pakāpes, kas ir saistītas ar kaulu bojājumu attīstību (Bartl et al., 1987).

Kaut arī MM šobrīd vēl ir neizārstējama slimība, terapijas uzlabošanās, tai skaitā jaunas mērķterapijas, monoklonālo antivielu, cilmes šūnu transplantācijas augošais lietojums MM ārstēšanā, sekmē pacientu dzīves kvalitātes uzlabošanos un MM simptomu samazināšanos (Thorsteinsdottir et al., 2014; Turesson et al., 2018; Zhang et al., 2012; Anderson et al., 2011; Yi Q, 2009; Suzuki et al., 2020).

Tādēļ ir svarīgi pētīt, apkopot un analizēt datus par kaulu bojājumu attīstību, lai rastu agrīnas diagnostikas un terapijas efektivitātes, kā arī kaulu bojājuma rašanās riska izvērtēšanas iespējas. Kaulu metabolisma bioķīmiskie un imūnhistoķīmiskie marķieri var būt alternatīva, lai noteiktu skaitliskā izteiksmē

kaulu stāvokli pacientiem ar MM un atspoguļotu kaulu rezorbcijas un formācijas aktivitāti.

Pētījuma mērķis

Pierādīt mielomas pacientu bioķīmisko marķieru un morfoloģisko rādītāju prognostisko nozīmi kaulu slimības attīstībā.

Darba uzdevumi

1. Noteikt β -CTX MM diagnosticēšanas brīdī un dinamikā, kā arī veikt tā salīdzināšanu ar kontroles grupas indivīdiem un analizēt tā saistību ar kaulu bojājumu smaguma pakāpi.
2. Noteikt β -CTX līmeni pacientiem ar dažādu terapijas efektu.
3. Noteikt bALP MM diagnosticēšanas brīdī un dinamikā, kā arī veikt tā salīdzināšanu ar kontroles grupas indivīdiem un analizēt tā saistību ar kaulu bojājumu smaguma pakāpi.
4. Noteikt bALP līmeni pacientiem ar dažādu terapijas efektu.
5. Noteikt DKK-1 ekspresijas pakāpi mielomas šūnās un izvērtēt tās saistību ar kaulu osteolītisko bojājumu.
6. Noteikt plazmas šūnu morfoloģiskās pazīmes un analizēt to saistību ar kaulu osteolītisko bojājumu.

Zinātniskā darba hipotēzes

1. Pacientiem ar augstu plazmas šūnu malignitātes pakāpi un DKK-1 izteiktāku ekspresiju ir lielāks kaulu bojājumu attīstības risks, ko iespējams noteikt jau diagnozes apstiprināšanas brīdī.

2. Kaulu metabolisma bioķīmiskie marķieri ļauj noteikt kaulu slimību pacientiem mielomas slimības diagnostikas brīdī un dod iespēju prognozēt kaulu slimības attīstības dinamiku.

Pētniecības darba zinātniskā un praktiskā novitāte

1. Veikts padziļināts pētījums par plazmas šūnu morfoloģiskām īpatnībām un DKK-1 ekspresiju mielomas šūnās.
2. Pētījumā iegūti dati par kaulu metabolisma marķieriem mielomas slimniekiem gan MM diagnostikas brīdī, gan dinamikā ārstēšanas procesā. Tas ļauj diagnosticēt MM pacientus ar paaugstinātu kaulu bojājumu attīstības risku un dod iespēju pareizi izlemt jautājumu par bisfosfonātu uzsākšanu un lietošanas ilgumu, lai samazinātu terapijas komplikāciju attīstības risku.

Promocijas darba struktūra un autores personīgais ieguldījums

Promocijas darbs uzrakstīts latviešu valodā. Promocijas darba struktūra: ievads, darba mērķis, uzdevumi un hipotēzes, literatūras apskats, materiāls un metodes, rezultāti, diskusija, secinājumi, izmantotās literatūras saraksts. Darba apjoms ir 108 lappuses, ieskaitot 15 tabulas, 49 attēlus un 2 pielikumus. Literatūras saraksts ietver 331 nosaukumu.

Promocijas darba autore veikusi pētījuma plānošanu, literatūras analīzi, visu pētījumā iekļauto pacientu izmeklēšanu, kaulu smadzeņu aspirācijas un trepānbiopsijas pacientiem diagnozes apstiprināšanai, zina metodoloģiju par plazmas šūnu morfoloģiskām īpatnībām un DKK-1 ekspresiju mielomas šūnās. Autore iepazinusi un apguvusi laboratorijas metodes, kas izmantotas kaulu vielmaiņas bioķīmisko marķieru analīzei. Promocijas darba autore apkopojusi, sistematizējusi un analizējusi veikto izmeklējumu rezultātus. Autore ir sarakstījusi šo darbu un ar to saistītās publikācijas.

Darba ētiskie aspekti

Pētnieciskais darbs veikts, balstoties uz 1964. gada Helsinku deklarāciju un pētījuma veikšanai izsniegto Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komitejas atļauju 2014. gada 10. jūnijā (skat. 1. pielikumā). Visi pacienti pirms iesaistīšanās pētījumā mutiski tika iepazīstināti ar pētījuma norisi, viņiem tika iedots rakstisks materiāls, atbildēts uz jautājumiem, ja tādi radās, un viņi brīvprātīgi aizpildīja un parakstīja informētās piekrišanas veidlapu (2. pielikums). Visi pētījuma posmi tika veikti atbilstoši ētikas principiem, saglabājot respondentu konfidencialitāti un anonimitāti.

1. Materiāls un metodes

Klīniski analītiskais pētījums “Mielomas pacientu bioķīmisko marķieru un morfoloģisko rādītāju prognostiskās nozīmes analīze kaulu slimības attīstībā” ir retrospektīvs gadījuma kontroles pētījums. Pētījums veikts ar Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komitejas atļauju, Ētikas komitejas sēdes datums 10.06.2014.; skatīt 1. pielikumu.

Darba izpildes vieta

1. Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas (RAKUS) Latvijas Onkoloģijas centrs (LOC), Ķīmijterapijas un hematoloģijas klīnika.
2. Rīgas Stradiņa universitāte, Anatomijas un antropoloģijas institūts.
3. SIA “E. Gulbja laboratorija”.

Materiāli tehniskais nodrošinājums

Pētījumam tika lietoti materiāli tehniskie līdzekļi, izmantojot RAKUS Ķīmijterapijas un hematoloģijas klīnikas, Rīgas Stradiņa universitātes, Anatomijas un antropoloģijas institūta un SIA “E. Gulbja laboratorija” iespējas, kā arī ar Rīgas Stradiņa universitātes doktora studiju grantu, *Roche* akadēmijas un Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas Atbalsta fonda atbalstu.

1.1. Pētījuma un kontroles grupu raksturojums

MM pacientu pētījuma grupa

Pētījuma pacientu grupa bija 123 pirmreizēji MM pacienti, kuri ārstējušies RAKUS Ķīmijterapijas un hematoloģijas klīnikā no 2014. gada jūnija līdz 2016. gada jūnijam ar klīniski un histoloģiski apstiprinātu mielomas slimību.

Pētījumā bija pirmreizēji mielomas slimības pacienti, kuri vēl nebija saņēmuši ķīmijterapiju. MM diagnoze un slimības smaguma pakāpe tika noteikta pēc vispārpieņemtajiem definētajiem diagnostiskajiem kritērijiem. Pacientiem tika izdarīti izmeklējumi un analīzes diagnozes apstiprināšanai un slimības stadijas noteikšanai. Katram pacientam tika noteikts funkcionālais stāvoklis. Slimības diagnosticēšanas brīdī un izmeklēšanas gaitā tika noteikti pacienti ar kaulu sistēmas bojājumiem un pacienti, kuriem tos nekonstatēja.

Pacientu grupējums:

1. grupa – pacienti ar kaulu sistēmas bojājumu,
2. grupa – pacienti bez kaulu sistēmas bojājuma.

Visiem pacientiem tika noteikti kaulu metabolisma bioķīmiskie marķieri pirms terapijas un tad tika uzsākta specifiska ķīmijterapija, kā arī kaulu slimības ārstēšana. Dinamikā izmeklējumi tika veikti pēc 6 un 12 mēnešiem.

49 no pētījumā iekļautajiem slimniekiem, kuriem rutīnā veikta kaulu smadzeņu trepānbiosijas analīze slimības diagnosticēšanas brīdī, tika izvērtētas plazmas šūnu morfoloģiskās īpatnības un noteikta DKK-1 ekspresija mielomas šūnās. Arī šie pacienti tika dalīti divās grupās:

1. grupa – pacienti ar kaulu bojājumiem,
2. grupa – pacienti bez kaulu bojājumiem.

Kontroles grupa

Pētījuma kontroles grupas pacientu atlasei tika izstrādāti izslēgšanas kritēriji, lai izslēgtu maksimāli daudz blakus faktoru un jaucējfaktoru, kas varētu ietekmēt pētījuma rezultātus. Kontrolei tika izmantoti 1128 vecumam un dzimumam atbilstoši ambulatori pacienti, kuriem nebija datu par osteoporozi un slimībām, kas varētu mainīt kaulu metabolismu (piem., reimatiskas slimības, primārs hiperparatireoīdisms, Pedžeta slimība) un, kuri nav saņēmuši un

nesaņem medikamentus, kas potenciāli var izraisīt osteoporozi. Visi pacienti bija nodevuši analīzes “Gulbja laboratorijā”.

1.2. Pētījuma shēma

Pētījuma shēma attēlota 1.1.attēlā.

1.1. attēls. Pētījuma shēma

* Tiek kontrolēti slimības diagnostikas brīdī, kā arī pēc 6 un 12 mēnešiem.

1.3. Pētījuma personu iekļaušanas un izslēgšanas kritēriji

Pētījuma pacientu atlasei tika izstrādāti iekļaušanas un izslēgšanas kritēriji, kas samazina iespējamo sistemātisko kļūdu ietekmi uz pētījuma rezultātiem.

Iekļaušanas kritēriji: pacienti, kuriem saskaņā ar SSK-10 (Starptautiskā statistiskā slimību un veselības problēmu klasifikācija, 10. redakcija) ir diagnozes kods C90.0 – mielomas slimība. Pacienti bija pirmreizēji, vēl bez specifiskas terapijas.

No visiem pacientiem tika saņemta piekrišana piedalīties pētījumā.

Izslēgšanas kritēriji:

1. Pacienti, kam anamnēzē apstiprināta osteoporoze, un pacienti, kuri ir saņēmuši specifisku osteoporozes terapiju;

2. Slimnieki ar onkoloģiskām slimībām anamnēzē, izņemot lokālus ne-melanomas ādas audzējus;
3. Slimnieki, kuri ir saņēmuši terapiju ar glikokortikoīdiem pēdējā gada laikā (reimatoģiskas slimības, bronhiālā astma, hroniskas obstruktīvas plaušu, neiroloģiskas slimības);
4. Pacienti ar $GFR < 30 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ tika izslēgti no pētījuma sakarā ar β CTX ekskrēciju caur nierēm, jo tas varētu dot kļūdainus rezultātus.

1.4. Radioloģisko datu analīze

Kaulu bojājumi tika noteikti ar rentgenizmeklējumiem, CT, MRI, PET/CT un iedalīti pēc *M. Alexandrakis* klasifikācijas smaguma pakāpēs 0–3.

Kaulu bojājumu smaguma pakāpes 0–3 (Alexandrakis, 2002):

- 0) – nav kaulu bojājumu,
- 1) – ≤ 3 kaulu bojājumi,
- 2) – ≥ 3 kaulu bojājumi,
- 3) – skriemeļu kompresijas lūzumi.

Slimības diagnosticēšanas brīdī tika noteikti pacienti ar kaulu sistēmas bojājumiem un pacienti, kuriem to nebija.

Slimības progresija tika noteikta kā viens vai vairāki jauni kaulu bojājumi.

1.5. Laboratorisko rādītāju analīze

Asins klīniskie izmeklējumi

Ar automātisko analizatoru tika veikta pilna asins analīze. Asinsainas dati tika analizēti slimības diagnostikas brīdī, pēc 6 un pēc 12 mēnešiem.

Asins bioķīmiskie izmeklējumi

Ar automātisko analizatoru noteikti bioķīmiskie raksturlielumi:

laktātdehidrogenāze (LDH) (N 200–480 U/L), kreatinīns (N 30–80 $\mu\text{mol/l}$), GFĀ (N > 90 ml/min/1,73m²), kop. olbaltums (N 65–85 g/l), albumīna līmenis (N 34–52 g/l), paraproteīns asinīs (N 0g/l) un urīnā (N 0g/l), CRO (N < 8 mg/l), β_2 mikroglobulīns (N < 2 mg/L), kalcija (Ca) līmenis (N 2,2–2,6 mmol/l).

Asins bioķīmiskie dati tika apkopoti slimības diagnostikas brīdī, pēc 6 un pēc 12 mēnešiem.

1.6. Kaulu metabolisma bioķīmisko marķieru analīze

Visiem pacientiem tika noteikti kaulu metabolisma bioķīmiskie marķieri pirms terapijas un tad uzsākta specifiska ķīmijterapija, iekļaujot kaulu slimības ārstēšanu. Katram pacientam pētījuma laikā tika ņemti 3 asins paraugi ar noteiktu laika secību (slimības diagnosticēšanas brīdī, pēc 6 un 12 mēnešiem).

Visas analīzes veiktas vienā laboratorijā (E. Gulbja laboratorija).

Asins paraugu ņemšana notika no rīta tukšā dūšā plkst. 7.00 pirms diagnostiskām procedūrām un medikamentu lietošanas. Asiņu kopējais daudzums bija 13 ml.

Ilgtermiņa izmeklējumiem paraugus ņēma tādos pašos apstākļos, kā sākotnējam paraugam, jo β -CTX koncentrācija serumā ir pakļauta diennakts ritmam.

Paraugi nekavējoties nogādāti E. Gulbja laboratorijā, kur ne vēlāk kā pēc 30 min. kopš asins parauga paņemšanas brīža centrifugēti ar 3000 apgriezieniem 10 minūtes.

Sakarā ar β -CTX ekskrēciju caur nierēm β -CTX līmeņa noteikšanai tika izslēgti pacienti ar GFR < 30ml/min/1,73m².

Kaulu metabolisma bioķīmiskos marķerus izmeklēja, izmantojot imunofermatatīvo metodi ar planšetes variantu un augstas specifitātes monoklonālām antivielām.

Sārmainās fosfatāzes kaulu frakcijas līmeņa noteikšanai tika izmantota imūnķīmiskās luminiscences metode LIAISON analizatorā (*DiaSorin*, Inc., ASV).

LIAISON BAP OSTASE imūnpārbaude ir tieša divu stadiju “sendviča” tipa analīze, kas izmanto divas afīni attīrītas peļu monoklonālās antivielas, lai piesaistītu un noteiktu bALP. Analīzē tiek izmantots 50µL cilvēku seruma paraugs:

- 1) tas inkubēts ar paramagnētiskām daļiņām, kuras pārklātas ar bALP monoklonālo antivielu;
- 2) pēc inkubācijas reakcijai uz īsu inkubācijas laiku tiek pievienota otra izoluminolā konjugēta monoklonāla antiViela;
- 3) pēc inkubācijas nepiesaistīto materiālu atdala mazgāšanas cikla laikā;
- 4) pēc tam tiek pievienoti sākuma posma reaģenti un tādējādi ierosināta spīdēšanas hemiluminiscences reakcija. Gaismas signālu mēra fotoelektronu pavairotājs kā relatīvas gaismas vienības, un tas ir proporcionāls bALP koncentrācijai kalibratoros, kontrolēs vai paraugos.

β–CTX līmeņa noteikšana tika veikta ar elektroķīmiskās luminiscences imunoloģisko testu “ECLIA cobas e 601” imunoloģisko testu analizatoros (*Roche Diagnostics*, Germany). Princips ir gandrīz identisks bALP, taču:

- 1) luminiscences detekcija ir nedaudz atšķirīga, jo tiek veikta 1. inkubācija, kuras laikā paraugā esošie antigēni saistās ar biotinilētām monoklonālajām antivielām (beta-CrossLaps);
- 2) 2. inkubācijas laikā ar streptavidīnu klātu mikrodaļiņu un monoklonālas beta-CrossLaps specifiskas antivielas pievienošanu

izveidojas “sviestmaizes komplekss”, kas tiek saistīts ar cieto fāzi, mijiedarbojoties biotīnam un streptavidīnam (ļoti cieša ķīmiska saite, ar kuras palīdzību dažādas biomolekulas parasti tiek piesaistītas citām vai pie cietas virsmas);

- 3) reakcijas maisījums tiek iesūkts mērīšanas kamerā, kur daļiņas magnētiski uztver elektroda virsmā;
- 4) pievadot elektrodam spriegumu, notiek ķīmiskās luminiscences emisija, ko uztver fotopavairotājs;
- 5) rezultāti tiek noteikti ar kalibrācijas līkni. Ar iepriekš zināmu vielas koncentrāciju veikta kalibrācija, pēc kuras līknes iespējams noteikt paraugā esošas vielas koncentrāciju.

1.7. Pacientu funkcionālā stāvokļa noteikšana

Onkoloģisko slimnieku funkcionālā stāvokļa novērtēšanai izmanto Austrumu apvienotās onkologu grupas (*Eastern Cooperative Oncology Group-ECOG*) un Karnovska veiktspējas skalas.

1.1. tabula

ECOG veiktspējas skala

Pakāpe	ECOG veiktspējas skala
0	Pilnīgi aktīvs, bez ierobežojumiem spēj veikt visu pirms slimības veikto darbību
1	Ierobežots fiziski smagai darbībai, bet ambulators un spējīgs veikt vieglu vai mazkustīgu darbu, piemēram, vieglu mājas darbu, biroja darbu
2	Ambulators un spējīgs patstāvīgi rūpēties, bet nespēj veikt nekādas darba aktivitātes; vairāk nekā 50 % no nomoda stundām aktīvs
3	Spējīgs veikt tikai ierobežotu pašaprūpi; vairāk nekā 50 % no nomoda pavadā gultā vai uz krēsla
4	Pilnībā invalīds; nevar veikt nekādu pašaprūpi; pilnībā ierobežots gultā vai uz krēsla
5	Miris

* Modificēts pēc: Oken et al., 1982.

Karnovska veiktspējas skala

Indekss	Karnovska veiktspējas skala
100	Sūdzību nav; nav slimības pazīmju
90	Spējīgs veikt normālu darbību; nelielas slimības pazīmes vai simptomi
80	Normāla aktivitāte ar piepūli, dažām slimības pazīmēm vai simptomiem
70	Rūpējas par sevi, bet nespēj veikt normālu darbību vai aktīvu darbu
60	Nepieciešama neregulāra palīdzība, bet spēj rūpēties par lielāko daļu personīgo vajadzību
50	Nepieciešama ievērojama palīdzība un bieža medicīniskā aprūpe
40	Invalīds; nepieciešama īpaša aprūpe un palīdzība
30	Smags invalīds; ir nepieciešama hospitalizācija, kaut arī nāve nav gaidāma
20	Ļoti slim; nepieciešama hospitalizācija un aktīva atbalstoša aprūpe
10	Mirstošs
0	Miris

* Modificēts pēc: Karnofsky, 1949.

ECOG un Karnovska veiktspējas skalu salīdzinājums attēlots 2.3. tabulā.

ECOG un Karnovska veiktspējas skalu salīdzinājums

ECOG veiktspējas statuss	Karnovska veiktspējas skala
0	100–90
1	80–70
2	60–50
3	40–30
4	20–10
5	0

* Modificēts pēc: Karnofsky, 1949; Oken et al., 1982.

1.8. Slimības stadijas noteikšana

MM slimības stadiju noteikšanā tika izmantotas Djūrija un Salmona un Starptautiskās stadiju sistēmas (ISS) klasifikācijas.

Mielomas slimības Djūrija un Salmona klasifikācijas un Pilnīgotās starptautiskās mielomas stadiju sistēmas (R-ISS) kritēriji parādīti 1.4. tabulā.

1.4. tabula

Djūrija un Salmona un Pilnīgotās starptautiskās mielomas stadiju sistēmas kritēriji

Stadija	Djūrija un Salmona klasifikācija	Pilnīgotā ISS
I	Hemoglobīns > 100 g/L Normāls kalcija līmenis Nav kaulu bojājumu Zems paraproteīna līmenis: IgA < 50 g/L vai IgG < 30 g/L Bensa Džonsa proteīns urīnā < 4 g/dnn	- ISS I stadija (β2 mikroglobulīna līmenis < 3,5 mg/L; seruma albumīns > 3,5 g/dl) - Nav augsta riska citoģenētiskas izmaiņas - Normāls LDH
II	Pazīmes starp I un III	Pazīmes starp I un III
III	Hemoglobīns < 85 g/L Hiperkalciēmija (> 3 mmol/L) > 3 lītiski kaulu bojājumi Augsts paraproteīna līmenis: IgA > 70 g/L vai IgG > 50 g/L Bensa-Džonsa proteīns urīnā > 12 g/dnn	- ISS III stadija (β2 mikroglobulīna līmenis > 5,5 mg/L) - Augsta riska citoģenētiskās izmaiņas [t(4;14), t(14;16) vai del (17p)] vai paaugstināts LDH

* Modificēts pēc: Palumbo et al. *J Clin Oncol* 2015; 33: 2863–2869.

1.9. Trepānbiopsiju gaismas mikroskopija un imūnhistoķīmija

Kaulu smadzeņu trepānbiopsijas paraugi tika iegūti no 49 pacientiem, kam pirmreizēji diagnosticēta MM. Procedūra veikta ar trepānbiopsijas adatu vai ar automātisku iekārtu biopsijas veikšanai, tās parādītas 1.2. attēlā.

1.2. attēls. a) automātiskā iekārta; b) trepānbiopsijas adata

Pirms procedūras tika veikta ādas dezinfekcija ar sekojošu lokālu anestēziju.

Procedūra veikta vietā, kur ir tehniski vieglāk pieejamas sarkanās kaulu smadzenes (kauls ir izvirzītāks), visbiežāk, *spina iliaca posterior superior* (skat. 1.3. attēlu). Procedūras ilgums 15–45 minūtes.

1.3. attēls. **Kaulu smadzeņu izmeklēšana***

* Modificēts pēc: *myeloma.org.uk*, 2017

Rutīnas histoloģiskās krāsošanas un imūnhistoķīmiskās metodes veikšanai pētāmais materiāls tika apstrādāts Rīgas Stradiņa universitātes Anatomijas un antropoloģijas institūtā.

Kaulu smadzeņu trepanbiopsijas audu paraugi tika fiksēti 10 % formalīnā, atūdeņoti augošas koncentrācijas etilspirtā un ieguldīti parafīnā tālākai histopatoloģiskajai un imūnhistoķīmiskajai izmeklēšanai. Pēc tam no sacietētā parafīna blokos ielietā audu materiāla ar mikrotomu pagavoti 4–6 mkm biezi histoloģiskie griezumī, kas novietoti uz *SuperFrost Plus* priekšmetstikliņiem (MenzelGmbH, Germany). Griezumī tika veikta deparafinizācija un rehidratācija, ievietojot tos ksilolā un dažādas koncentrācijas spirta šķīdumā (no stiprākas koncentrācijas uz vājāku) un destilētā ūdenī. Pēc deparafinizācijas un

rehidratācijas griezumī ievietoti metanola šķīdumā ar 0,3 % H₂O₂, lai neitralizētu endogēnās peroksidāzes aktivitāti. Antigēna epitopa demaskēšana un pastiprināšana veikta 10 mM nātrija citrātā buferī, pH 6.0, ievietojot uz 5 minūtēm 100 grādos mikroviļņu krāsnī. Imūnhistoķīmiskā reakcija tika veikta konvencionāli, izmantojot poliklonālu truša *anti-human* DKK-1 antivielu (Sigma Life Science, Inc., Sigma – Aldrich, St. Louis, USA, HPA018995, 1:20), kas saistās ar DKK-1 priekšteča rekombinanto proteīna antigēnu. Primārās antivielas amplifikācija tika veikta, izmantojot polimēru sistēmu (*HiDef Detection HRP Polymer system*), reakcijas vizualizācijai tika izmantota diaminobenzidīna – tetrahidrohlorīda reaģenta sagatave (Cell Marque, Rocklin, CA, USA). Tālāk griezumī tika krāsoti ar Meijera (*Mayer's*) hematoksilīnu, skaloti tekošā ūdenī un pārklāti ar segstikliņu. Sagatavotie un nokrāsotie mikropreparāti tika fotografēti ar *Leitz* DMRB gaismas mikroskopu, izmantojot DFC 450C digitālo kameru un *Glissando* slaidu (mikropreparātu) skeneri (Objective Imaging Ltd., Cambridge, UK; 0,5µm/pixel izšķirtspēja, izmantojot 20× palielinājuma objektīvu, un 0,2755 µm/pixel izšķirtspēja, izmantojot 40× palielinājuma objektīvu).

Histopatoloģiskie un imūnhistoķīmiskie izvērtēšanas kritēriji

Mikropreparātos, kas krāsoti rutīni ar hematoksilīnu un eozīnu, analizēta plazmas šūnu morfoloģija (skaits, izmērs, forma un uzbūve), izmantojot *Bartl* vērtēšanas sistēmu. Mielomas šūnas dalītas 6 tipos: 1) Maršalko (*Marschalko*), 2) sīko/mazo šūnu, 3) šķelto šūnu (*cleaved*), 4) polimorfo, 5) asinhrono, 6) plazmoblastisko šūnu tips. Šie tipi iedalīti 3 mielomas šūnu prognostiskās grupās: zemas malignitātes (Maršalko un sīko/mazo šūnu), vidējas malignitātes (šķelto šūnu, polimorfo un asinhrono) un augstas malignitātes pakāpes (plazmoblastiskais) (*Bartl et al., 1987*).

Imūnreaktīvo šūnu daudzums tika skaitīts, izmantojot puskvantitatīvo skaitīšanas metodi. Šūnas, kuru šūnas citoplazma imūnhistoķīmiskajā reakcijā iezīmēta brūnā krāsā, tika uzskatītas par imūnreaktīvām (imūnpozitīvām). DKK-1 imūnpozitivitāte tika vērtēta nejauši izvēlētos redzes laukos, puskvantitatīvi izdalot četras grupas: negatīva – neviena šūna nav iekrāsota (0 %); vāja ekspresija (1–10 %); vidēji izteikta ekspresija (11–50 %) un izteikta ekspresija (51–100 %).

Rezultātu veidoja divu neatkarīgu patologu, kas nezināja pacientu klīniskos un radioloģiskos datus, slēdzieni.

1.10. Datu statistiskā analīze

Pētījumā ietvertie grafiskie attēli, aprēķini un statistiskās analīzes tika veiktas, izmantojot R v.4.0.1 (*R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria*) un *Medcalc* v.14 versiju.

Datu normālsadalījums tika pārbaudīts ar Kolmogorova–Smirnova izlases testu. Ja datu izlases izkļiede atbilda normālsadalījumam, tie tika attēloti kā vidējā vērtība (M) un standartnovirze ($\pm$ SD). Pretējā gadījumā dati attēloti kā mediāna (Md) un starpkvartīļu diapazons (IQR).

Normālsadalījuma datu (parametriskie dati) statistiskā analīze: vidējās vērtības starp divām atsevišķām grupām tika salīdzinātas, izmantojot Stjūdenta testu jeb t-testu; vidējās vērtības starp 3 un vairāk atsevišķām grupām tika salīdzinātas, izmantojot vienfaktora dispersijas analīzi (ANOVA).

Datu, kuru vērtības neatbilda normālsadalījumam (neparametrisko datu), statistiskā analīze: vidējās vērtības starp divām atsevišķām grupām tika salīdzinātas, izmantojot Manna–Vitnija (*Mann-Whitney*) U-testu; vidējās vērtības starp 3 un vairāk atsevišķām grupām tika salīdzinātas, izmantojot Kraskela–Volesa (*Kruskal-Wallis*) H-testu. Atkarīgo izlašu analīzei izmantoja Vilkoksona (*Wilcoxon*) vai Frīdmena (*Friedman*) statistiskos testus.

Kvalitatīvo datu analīzei izmantoja Pīrsona hī kvadrāta (*Pearson chi square*) statistisko testu, ja sagaidāmo frekvenču daudzums bija > 5 , pretējā gadījumā izmantoja Fišera precīzo testu (*Fisher exact test*).

Kvantitatīvo mainīgo attiecību pētīšanai tika izmantota korelācijas analīzes metode. Atkarībā no datu sadalījuma tika izmantota parametrisko Pīrsona (*Pearson*, apzīmē r) vai neparametrisko Spīrmena (*Spearman*, apzīmē r_s) korelācijas analīze.

Diagnostisko marķieru raksturojumam tika lietoti šādi rādītāji: ROC līkne, laukums zem ROC līknes, no tām iegūtā robežvērtība, testa jutīgums (Se) un specifiskums (Sp), pozitīvā (PPV) un negatīvā prognostiskā vērtība (NPV), sasniedzot attiecīgās robežvērtības. Diagnostikas testa precizitāte tika novērtēta pēc laukuma zem ROC līknes vērtībām, atbilstoši šai klasifikācijai: 0,90–1 = izcila; 0,80–0,90 = laba; 0,70–0,80 = apmierinoša; 0,60–0,70 = slikta; $< 0,60$ = nav diagnostiskās nozīmes.

Divpusējā p vērtība, mazāka par 0,05 ($p < 0,05$), tika uzskatīta par statistiski nozīmīgu visiem lietotajiem statistikas testiem.

2. Rezultāti

2.1. Pētījuma pacientu un kontroles grupas indivīdu raksturojums

Pētījumā piedalījās 123 pacienti – 70 (56,91 %) sievietes un 53 (43,09 %) vīrieši; minimālais vecums bija 33 gadi, maksimālais 86 gadi; vecuma amplitūda 53 gadi; pacientu vidējais vecums bija $M = 67,70$; $SD = 10,40$ gadi; modālais jeb visbiežāk sastopamais vecums bija 71 gads; vecuma mediāna 69 gadi; pirmā vecuma kvartīle 60,5 gadi, trešā 75 gadi; vecuma starpkvartīļu izkliedes amplitūda 14,50 gadi (2.1. tabula). Pacientu vecuma histogramma un kastveida diagramma attēlota 2.1. a), b) attēlā.

2.1. attēls. **Pacientu vecuma a) histogramma, b) kastveida diagramma**

Statistiskā analīzē konstatēja, ka mediānais vecums pētījuma un kontroles grupām statistiski ticami neatšķiras ($p > 0,05$), tāpat arī vīriešu un sieviešu skaita proporcija statistiski ticami neatšķiras kontroles un pētījuma grupā ($p > 0,05$). Pamata demogrāfiskie dati ir attēloti 2.1. tabulā.

Pamata demogrāfiskie rādītāji

–	Kontroles (N = 1128)	Pētījuma (N = 123)
Vecums, gadi		
M (SD), min–max	65,0 (9,15); 51,0–91,0	67,7 (10,4); 33,0–86,0
Mediāna [Q1–Q3]	64,0 [57,0–72,0]	69,0 [60,5–75,0]
Dzimums		
Sieviete	706 (62,5 %)	70 (56,9 %)
Vīrietis	422 (37,5 %)	53 (43,1 %)

2.1.1. Pacientu slimības stadijas novērtējums

Pēc Djūrija un Salmona klasifikācijas: 1. stadiju novēroja 24 (19,51 %), 2. stadiju – 17 (13,82 %), bet 3. stadiju – 82 (66,67 %) pacientiem, bet pēc ISS klasifikācijas: 1. stadiju novēroja 57 (46,34 %), 2. stadiju – 31 (25,20 %), 3. stadiju – 35 (28,46 %) pacientiem (2.2. attēls).

2.2. attēls. Pacientu novērtējums pēc Djūrija un Salmona un ISS klasifikācijas**2.1.2. Pacientu funkcionālā stāvokļa novērtējums**

Izvērtējot pacientu funkcionālo stāvokli pēc Karnovska indeksa, ieguva, ka visbiežāk sastopamais Karnovska indekss pacientiem ir 70, tas ir konstatējams gandrīz pusei pacientu – 50 (40,65 %) (skat. 2.3. a) attēlu). Savukārt, iedalot

pacientus pēc Karnovska indeksa robežas zem un virs 80, konstatēja, ka virs 80 ir konstatējami 36 (29,30 %) gadījumos (skat. 2.3. b) attēlu).

2.3. attēls. Karnovska indeksa a) kopējais kvantitatīvais novērtējums, b) robeža zem un virs 80

Izvērtējot pacientu iedalījumu pēc ECOG indeksa (2.4. a) attēls), ieguva, ka visbiežāk sastopamais indekss ir 2, kas ir atrodams gandrīz pusei pacientu – 55 (44,72 %), bet vismazāk pacientu bija ar indeksu 4, kas bija sastopams 3 (2,44 %) pacientiem. Savukārt ECOG indekss virs 2 ir sastopams 107 (86,99 %) pacientiem (skat. 2.4. b) attēlu).

2.4. attēls. ECOG indeksa a) kopējais kvantitatīvais novērtējums, b) robeža zem un virs 2

2.2. Radioloģisko datu analīze

Visiem pacientiem tika veikts rtg un/vai CT, bet daļai pacientu arī MRI (13 pacientiem), PET/CT (2 pacientiem) un kaulu scintigrāfija (78 pacientiem). No pētījumā iekļautajiem pacientiem trešajai daļai – 37 (30,08 %) – nebija novērojami kaulu bojājumi slimības diagnostikas brīdī, bet vairāk nekā pusei pacientu – 69 (56,10 %) – bija kaulu bojājumu 3. smaguma pakāpe ar skriemeļu kompresijas lūzumiem. Kaulu bojājumu 1. un 2. smaguma pakāpe bija novērota 17 (13,82 %) pacientiem (skat. 2.5. attēlu).

2.5. attēls. Kaulu bojājumu pakāpes kvantitatīvais izvērtējums

Analizējot kaulu bojājumu lokalizācijas sadalījumu, ieguva, ka pārsvarā kaulu bojājumus konstatē skriemeļos (100 lokalizācijas), nākamā vietā pēc biežuma ir ribas (20 lokalizācijas) un iegurnis (16 lokalizācijas) (skat. 2.6. attēlu).

2.6. attēls. **Pacientu kaulu bojājumu lokalizācijas**

Analizējot pacientu mugurkaula skrīmeļu bojājumu sadalījumu, ieguva, ka 82 % skrīmeļu bojājumu bija Th8-L5 un no tiem 50 % tika konstatēti Th11- L1 (skat. 2.7. attēlu).

2.7. attēls. Pacientu mugurkaula skriemeļu bojājumu sadalījums

2.3. Laboratorisko rādītāju analīze

2.2. tabula

Pacientu laboratoriskie rādītāji slimības diagnosticēšanas brīdī

Pazīme	—
β2 mikrogl. (mg/l)	
M (SD), min–max	5,79 (6,01); 1,27–30,0
Mediāna [Q1–Q3]	3,36 [2,41–5,69]
Albumīns (g/l)	
M (SD), min–max	37,0 (6,38); 21,0–50,5
Mediāna [Q1–Q3]	37,4 [31,8–41,6]
Plazmas šūnas kaulu smadzenēs (%)	
M (SD), min–max	39,2 (18,3); 10,0–80,0
Mediāna [Q1–Q3]	40,0 [25,0–50,0]
LDH (U/L)	
M (SD), min–max	372 (128); 2,88–763
Mediāna [Q1–Q3]	363 [280–435]
Hb (g/dl)	
M (SD), min–max	106 (23,3); 12,1–157
Mediāna [Q1–Q3]	107 [89,5–124]
Ca (mmol/l)	
M (SD), min–max	2,35 (0,299); 1,78–4,07
Mediāna [Q1–Q3]	2,29 [2,17–2,45]
Kreatinīns (mkmol/l)	
M (SD), min–max	134 (172); 20,0–1140
Mediāna [Q1–Q3]	83,0 [62,0–121]
GFĀ (ml/min/1,73)	
M (SD), min–max	75,8 (48,2); 4,00–348
Mediāna [Q1–Q3]	69,0 [46,5–99,0]
Paraproteīns asinīs (g/l)	
M (SD), min–max	25,6 (17,8); 0–76,1
Mediāna [Q1–Q3]	23,4 [13,5–35,0]

Biežākā Ig klase pacientiem bija Ig G, kopskaitā 106, bet nesekretējošu mielomu novēroja 7 pacientiem (2.8. attēls).

2.8. attēls. **Paraproteīna imunoloģisko apakšklašu sadalījums**

Analizējot nieru mazspējas rādītājus, konstatēja, ka $GF\bar{A} < 60$ (ml/min/1,73) bija 81 (65,85 %) pacientam (skat. 2.9. attēlu).

2.9. attēls. **Pacientu skaits ar nieru slimību**

Vieglas pakāpes anēmiju ($Hb > 100$ g/l) novēroja 75 (60,98 %) pacientiem, vidējas pakāpes anēmiju 26 (21,14 %), bet smagas pakāpes anēmiju ($Hb < 85$ g/l) 22 (17,89 %) pacientiem (2.10. attēls).

2.10. attēls. Anēmijas smaguma pakāpju sadalījums pacientiem

Hiperkalciēmijai laboratoriski var būt 3 pakāpes: viegla jeb 1. pakāpes (Ca 2,6–2,9 mmol/l), vidēji smaga jeb 2. pakāpes (2,9–3,1 mmol/l) un smaga jeb 3. pakāpes (> 3,1 mmol/l). Hiperkalciēmiju slimības diagnosticēšanas brīdī novēroja sestajai daļai jeb 18 pacientiem (14,63 %) un, izvērtējot pacientus pēc hiperkalciēmijas smaguma pakāpes, konstatēja, ka 1. pakāpe novērojama pusei no hiperkalciēmijas pacientiem – 10 (55,56 %) (2.11. attēls).

a)

b)

2.11. attēls. Pacientu a) ar hiperkalciēmiju skaits, b) hiperkalciēmijas smaguma pakāpju sadalījums

2.4. Kaulu metabolisma bioķīmisko marķieru analīze

2.4.1. β -CTX līmeņa analīze

β -CTX līmeni noteica pacientiem slimības diagnosticēšanas brīdī (β -CTX1), pēc 6 mēnešiem (β -CTX2) un pēc 1 gada (β -CTX3).

MM pacientiem bez kaulu bojājuma slimības diagnosticēšanas brīdī mediānais β -CTX bija 0,62 [0,48–0,89] ng/mL, bet ar 1., 2. un 3. pakāpes kaulu bojājumu mediāna bija 0,80, 0,89 un 1,10 ng/mL. Detalizēta informācija atrodama 2.3. tabulā.

2.3. tabula

β -CTX vērtības dažādās kaulu bojājumu pakāpēs

Kaulu bojājumu pakāpe	Nav (N = 37)	1 (N = 6)	2 (N = 11)	3 (N = 69)
M (SD), min–max	0,837 (0,638); 0,114–3,11	1,02 (0,464); 0,534–1,90	0,990 (0,282); 0,670–1,71	1,29 (0,563); 0,550–3,22
Mediāna [Q1–Q3]	0,620 [0,488–0,890]	0,80 [0,76–0,985]	0,890 [0,865–0,976]	1,10 [0,920–1,42]

Kraskela–Volesa statistiskā testa analīze norādīja, ka mediānais β -CTX statistiski ticami atšķiras dažādās kaulu bojājumu pakāpēs ($p = 0,001$). Veicot sekundāro analīzi (*Post-hoc*), konstatēja, ka starp bez kaulu bojājumiem un kaulu bojājumu 1. pakāpi nebija statistiski nozīmīgas atšķirības ($p > 0,05$), bet starp pārējām kaulu bojājumu pakāpēm konstatēja statistiski nozīmīgu atšķirību ($p < 0,05$) (skat. 2.12. attēlu). Izvērtējot sakarības esamību starp kaulu bojājumu smaguma pakāpi un β -CTX līmeni, ieguva, ka tā ir vidēja, pozitīva un statistiski nozīmīga ($r_s = 0,51$; 95 % TI: 0,35–0,62; $p < 0,001$).

2.12. attēls. Kaulu bojājumu pakāpes un β -CTX izmaiņu
a) kastveida diagramma un b) vidējās vērtības

Frīdmena statistiskā testa analīzē konstatēja, ka β -CTX laikā statistiski nozīmīgi samazinās ($p < 0,001$) un pēc 6 mēnešu terapijas samazinājās par 58 % ($p < 0,05$), bet pēc 1 gada par 29,2 % ($p < 0,05$) (skat. 2.13. a), b) attēlu).

2.13. attēls. β -CTX izmaiņas laikā a) pēc 6 mēnešiem (β -CTX1- β -CTX2),
b) no 6 mēnešiem līdz gadam (β -CTX2- β -CTX3)

β -CTX rādītājs pēc 6 mēnešu terapijas samazinājās 65 (69,89 %), bet palielinājās 28 (30,11 %) pacientiem, savukārt no 6 mēnešiem līdz 1 gadam β -CTX samazinājās 47 (66,20 %) pacientiem un palielinājās 24 (33,80 %) pacientiem. Detalizētas β -CTX izmaiņu kastveida diagrammas attēlotas 2.14. a), b) attēlā.

2.14. attēls. β -CTX izmaiņas a) pēc 6 mēnešiem,
b) no 6 mēnešiem līdz 1 gadam

Pacientiem, kuri reaģēja uz terapiju, β -CTX statistiski nozīmīgi samazinājās ($p < 0,001$), salīdzinot ar sākuma vērtību ($Md = -0,77$). Pretstatā pacientiem, kuri nereaģēja uz terapiju, β -CTX pēc 6 mēnešu terapijas pieauga, salīdzinot ar sākuma vērtību ($Md = 0,28$) (skat. 2.4. tabulu un 2.15. attēlu).

2.4. tabula

β -CTX izmaiņu starpības analīze pēc 6 mēnešiem

–	Palielinās (N = 28)	Samazinās (N = 65)
β-CTX starpībapēc 6 mēnešiem		
M (SD), min–max	0,287 (0,240); 0,029–0,960	–0,772 (0,443); –2,06–0,045
Mediāna [Q1–Q3]	0,230 [0,109–0,386]	–0,756 [–0,907– –0,501]

2.15. attēls. β -CTX izmaiņu starpība pēc 6 mēnešiem pacientiem, kuriem β -CTX palielinās un samazinās

Vidējais β -CTX līmenis atkarībā no terapijas efekta ir parādīts 2.5. tabulā.

2.5. tabula

β -CTX dinamika atkarībā no terapijas efekta

Pacienti	β-CTX M(SD) min–max	Starpība (95 % CI)	p-vērtība
Reaģējošie uz terapiju			
Slimības diagnosticēšanas brīdī (N = 114)	1,12 (0,64) 0,11–4,09	–0,65 (0,41–0,66)	< 0,001
Pēc 6 mēnešiem (N = 84)	0,47 (0,36) 0,03–1,77		
Nereaģējošie uz terapiju			
Slimības diagnosticēšanas brīdī (N = 9)	1,38 (0,74) 0,86–3,22	0,42 (0,21–0,62)	< 0,001
Pēc 6 mēnešiem (N = 9)	1,80 (0,92) 1,10–3,98		

2.4.2. bALP analīze

bALP līmeni noteica pacientiem slimības diagnosticēšanas brīdī (bALP1), pēc 6 mēnešiem (bALP2) un pēc 1 gada (bALP3).

Analizējot bALP izmaiņas laikā, konstatēja, ka bALP1 un bALP2 statistiski nozīmīgi atšķiras ($p < 0,001$), tomēr no 6 mēnešiem līdz gadam bALP3 vairs statistiski nozīmīgi neatšķiras ($p = 0,06$) (skat. 2.6. tabulu un 2.16. attēlu).

2.16. attēls. **bALP izmaiņas laikā a) pēc 6 mēnešiem, b) no 6 mēnešiem līdz 1 gadam**

2.6. tabula

bALP vērtības izmaiņas laikā diagnostikas brīdī, pēc 6 mēnešiem un pēc 1 gada

—	Vērtības
bALP1 µg/L	
M (SD), min–max	13,0 (6,78); 4,20–45,0
Mediāna [Q1–Q3]	11,2 [8,73–16,0]
bALP2 µg/L	
M (SD), min–max	11,1 (8,20); 3,50–50,7
Mediāna [Q1–Q3]	8,70 [6,70–12,2]
bALP3 µg/L	
M (SD), min–max	9,97 (5,83); 3,10–39,1
Mediāna [Q1–Q3]	9,00 [6,38–11,5]

Kraskela–Volesa testa statistiskā analīze neparādīja statistiski nozīmīgu atšķirību bALP līmenī starp dažādām kaulu bojājumu smaguma pakāpēm ($p = 0,95$) (skat. 2.7. tabulu un 2.17. attēlu).

**bALP vērtības dažādās kaulu bojājumu pakāpēs
slimības diagnostikas brīdī**

Kaulu bojājumu pakāpe	Nav (N = 37)	1 (N = 6)	2 (N = 11)	3 (N = 69)
bALP1 µg/L				
M (SD), Min–max	13,6 (7,70); 5,10–45,0	13,6 (4,39); 10,4–22,4	12,1 (4,50); 5,60–23,5	12,8 (6,80); 4,20–42,8
Mediāna [Q1–Q3]	10,5 [8,10–19,0]	12,1 [11,8–12,8]	11,3 [10,1–13,1]	11,0 [8,50–15,3]

**2.17. attēls. bALP izmaiņas dažādās
kaulu bojājumu pakāpēs**

bALP vērtība pēc 6 mēnešu terapijas samazinājās 60 pacientiem jeb (64,52 %), bet pieauga 33 (35,48 %) pacientiem (2.18. attēls).

2.18. attēls. bALP izmaiņas pēc 6 mēnešiem

2.4.3. β -CTX korelāciju analīze ar bioķīmiskajiem rādītājiem, slimības stadiju un pacientu funkcionālo stāvokli

Pētījumā tika vērtēta iespējamā korelācija starp β -CTX un β 2 mikroglobulīnu, albumīnu, LDH, kalciju, Karnovska indeksu, ECOG, plazmas šūnu infiltrāciju kaulu smadzenēs, Hb un GFĀ līmeni (skat. 2.19. attēlu).

2.19. attēls. β -CTX korelācijas diagrammas ar a) albumīnu, b) paraproteīnu asinīs, c) Ca, d) LDH, e) Karnovska indeksu, f) GFĀ asinīs.

Spīrmēna korelācijas koeficienta analīzē konstatēja, ka starp β -CTX un albumīnu pastāv vāja, negatīva un statistiski nozīmīga korelācija ($r_s = -0,24$; 95 % TI: $p < 0,01$); starp β -CTX un plazmas šūnu infiltrāciju – vāja, pozitīva un statistiski nozīmīga korelācija ($r_s = 0,24$; $p < 0,01$); starp β -CTX un Hb – vāja, negatīva un statistiski nozīmīga korelācija ($r_s = -0,25$; $p < 0,01$); starp β -CTX un Ca ir pozitīva, vidēja un statistiski nozīmīga korelācija ($r_s = 0,37$; $p < 0,0011$);

starp β -CTX un Karnovska indeksu ir negatīva, vidēja un statistiski nozīmīga korelācija ($r_s = -0,36$; $p < 0,001$); starp β -CTX un ECOG ir vāja, pozitīva un statistiski nozīmīga korelācija ($r_s = 0,28$; $p = 0,001$); starp β -CTX un paraproteīnu ir vāja, pozitīva un statistiski nozīmīga korelācija ($r_s = 0,20$; $p = 0,01$); starp β -CTX un $\beta 2$ mikroglobulīnu ir vāja, pozitīva un statistiski nozīmīga korelācija ($r_s = 0,29$; $p < 0,01$). Bet netika konstatēta statistiski nozīmīga korelācija starp β -CTX un LDH līmeni ($p = 0,62$).

Veicot korelācijas analīzi, novērojams, ka, pieaugot ECOG, palielinās arī β -CTX (2.20. attēls), ko apliecina arī aprēķinātais Spīrmena korelācijas koeficients ($r_s = 0,28$; $p = 0,001$)

2.20. attēls. β -CTX izmaiņas dažādu ECOG gadījumā

2.4.4. Diagnostisko testu izvērtējums

Analizējot bALP piemērotību MM pacientu diagnostikai, izmantojot ROC līkni, ieguva, ka bALP nav piemērojams diagnostikai ($AUC = 0,5$; $p > 0,05$) (skat. 2.21. a) attēlu). Turpretī tika konstatēts, ka β -CTX ir izcils MM

kaulu slimības diagnostiskais rādītājs ($AUC = 0,91$; $p < 0,001$; 95 % TI: 0,88– 0,94) (skat. 2.21. b) attēlu).

2.21. attēls. a) bALP un b) β -CTX marķieru diagnostiskā testa ROC līkne visiem pētījumā iesaistītiem indivīdiem

2.8. tabula

β -CTX robežvērtības kontroles/MM pacientu grupai atkarībā no dzimuma un vecuma

Dzimums	Vecuma grupa, gadi	AUC; p-vērtība (95 % CI)	Robež- vērtība	Se% (95 % CI)	Sp% (95 % CI)	PPV% (95 % CI)	NPV% (95 % CI)
Sievietes	51–70	0,91; < 0,001; (0,85–0,97)	0,79	80 (63–91)	92 (79–88)	58 (43–71)	97 (94–99)
	> 70	0,87; < 0,001; (0,79–0,96)	0,82	68 (56–83)	92 (84–96)	73 (54–87)	90 (54–87)
Vīrieši	51–70	0,92; < 0,001; (0,84–0,99)	0,79	75 (53–90)	93 (82–98)	85 (63–96)	88 (76–96)
	> 70	0,80; < 0,001; (0,67–0,94)	0,87	62 (40–81)	85 (87–98)	88 (63–98)	57 (34–78)

Aprēķinātā β -CTX robežvērtība visiem pacientiem neatkarīgi no dzimuma un vecuma kontrolgrupai/MM pacientu diagnostikai bija 0,79 ng/ml (Sp = 91 % (95 % TI: 88–94); Se = 82 % (95 % TI: 69–85); PPV = 72 % (95 % TI: 63–79); NPV = 93 % (95 % TI: 90–95)).

No kopējā pacientu skaita β -CTX mazāks par 0,79 ng/ml bija 27 (22,13 %) pacientiem, bet lielāks par 0,79 ng/ml bija 95 (77,87 %) pacientiem. Analizējot β -CTX robežvērtību 0,79 ng/ml saistībā ar kaulu bojājumu pakāpi, konstatēja statistiski nozīmīgu asociāciju starp abām pazīmēm ($p < 0,001$). Pacientiem bez kaulu bojājumiem β -CTX mazāks par 0,79 ng/ml bija 22 pacientiem un 15 pacientiem β -CTX bija lielāks par 0,79 ng/ml (skat. 2.9. tabulu).

2.9. tabula

β -CTX robežvērtības dažādās kaulu bojājuma pakāpēs

β-CTX	<=0,79 ng/ml (N = 27; 22,13 %)	> 0,79 ng/ml (N = 95; 77,87 %)	p
Kaulu bojājumapakāpe			
Nav	22 (81,5 %)	15 (15,8 %)	–
1	1 (3,7 %)	5 (5,3 %)	< 0,001
2	1 (3,7 %)	10 (10,5 %)	–
3	3 (11,1 %)	65 (68,4 %)	–

2.4.5. β -CTX un bALP salīdzinājums ar kontroles grupu

Analizējot kontroles un pētījuma grupas β -CTX un bALP vērtības (skat. 2.10. tabulu), ieguva, ka β -CTX mediānā vērtība pētījuma grupai ir statistiski nozīmīgi augstāka nekā kontroles grupai ($p < 0,001$), savukārt bALP mediāna kontroles un pētījuma grupai statistiski nozīmīgi neatšķiras ($p = 0,55$). bALP un β -CTX kastveida diagrammas attēlotas 2.22. attēlā.

MM un kontroles grupas β -CTX un bALP raksturojums slimības diagnosticēšanas brīdī

–	MM (N = 123)	Kontroles (N = 1128)	p
β-CTX, ng/mL			
M (SD), min–max	1,11 (0,596); 0,114–3,22	0,410 (0,242); 0,03–2,50	–
Mediāna [Q1–Q3]	0,975 [0,813–1,29]	0,371 [0,234–0,543]	< 0,001
bALP, μg/L			
M (SD), min–max	13,0 (6,78); 4,20–45,0	13,5 (12,8); 1,50–217	–
Mediāna [Q1–Q3]	11,2 [8,73–16,0]	10,9 [8,40–15,2]	0,55

2.22. attēls. MM pacientu un kontroles grupas a) β -CTX, b) bALP kastveida diagrammas

2.5. Plazmas šūnu uzbūves analīze

Plazmas šūnas tika dalītas 6 tipos: 1) Maršalko (*Marschalko*), 2) sīko/mazo šūnu, 3) šķelto šūnu (*cleaved*), 4) polimorfo, 5) asinhrono un 6) plazmoblastisko šūnu tips. Tālāk šie tipi, izmantojot *Bartl* vērtēšanas sistēmu (Bartl et al., 1987), tika iedalīti 3 mielomas šūnu prognostiskās grupās: zemas malignitātes (Maršalko un sīko/mazo šūnu), vidējas malignitātes (šķelto

šūnu, polimorfo un asinhrono) un augstas malignitātes pakāpes (plazmoblastisko šūnu tips).

Maršalko tips – biežāk sastopamais tips. Lielākajai daļai šūnu ir ovāla vai ieapaļa forma, ekscentriski novietots kodols ar hromatīnu, kas izvietots līdzīgi riteņu spieķu gaitai, perinukleāro Goldži aparāta zonu un bazofilo citoplazmu (2.23. attēls). Šūnas izmērs ap 20–21 mkm. Dažos gadījumos redzamas mitozes. Apmēram 10 % no Maršalko tipa plazmas šūnām demonstrē plašāko citoplazmu ar organoīdiem.

2.23. attēls. **Maršalko tips (hematoksilīna/eozīna krāsojums, ×250)**

Siko/mazo šūnu tipam dominē mazas (vidēji 13 mkm), apaļas šūnas. Šūnas kodolu raksturo blīvs hromatīna graudiņu izvietojums, citoplazma šaura slāņa veidā apņem šūnas kodolu (2.24. attēls). Līdzīgi Maršalko tipa plazmas šūnām var saskatīt perinukleāro Goldži aparāta zonu, bet šūnas kodola kodoliņu parasti neredz. Mitožu figūras parasti arī neredz.

2.24. attēls. **Sīko/mazo šūnu tips** (hematoksilīna/eozīna krāsojums, ×250)

Šķelto šūnu tips – vairākumam plazmas šūnu raksturīgs dalīts, šķelts, dažreiz izliekts kodols, kas ļoti variē pēc izmēra. Citoplazmas mazāk nekā Maršalko tipa plazmas šūnā, bet Goldži aparāta zona bieži pamanāma.

Polimorfo šūnu tipu raksturo šūnu polimorfisms, bieži var saskatīt daudzkodolainas un gigantiskas šūnas (melnā bulta). Var noteikt plazmas šūnas ar perinukleāro Goldži aparāta zonu (2.25. attēls).

2.25. attēls. **Polimorfo šūnu tips (hematoksilīna/eozīna krāsojums, ×250)**

Asinhrono šūnu tipa plazmas šūnām raksturīgi lieli, ekscentriski novietoti kodoli ar izteiktiem kodoliņiem un bazofilu citoplazmu. Izteikta ir Goldži aparāta zona. Var noteikt arī limfocītus un Maršalko tipa plazmas šūnas.

Plazmoblastiskais šūnu tips – plazmoblasti ar lielu kodolu, ar izteiktu, centrāli novietotu kodoliņu. Goldži kompleksa zonu parasti neredz. Var redzēt Maršalko tipa šūnas un limfocītus.

Analizējot plazmas šūnu malignitātes pakāpju sadalījumu pacientiem ar kaulu bojājumiem un bez šādiem bojājumiem, novēroja, ka, salīdzinot pacientus ar vidēju plazmas šūnu malignitātes pakāpi, tiem kaulu bojājumi ir sastopami 1,6 reizes biežāk nekā pacientiem bez kaulu bojājumiem, bet pacientiem ar augstu plazmas šūnu malignitātes pakāpi kaulu bojājumi ir sastopami 5 reizes biežāk nekā pacientiem bez kaulu bojājumiem, un šī atšķirība ir statistiski nozīmīga (skat. 2.26. attēlu).

2.26. attēls. Plazmas šūnu malignitātes pakāpju sadalījums pacientiem ar kaulu bojājumiem un pacientiem bez kaulu bojājumiem

2.6. DKK-1 ekspresijas mielomas šūnās analīze

Plazmas šūnas tika izvērtētas, pamatojoties uz morfoloģisko izmeklēšanu.

DKK-1 ekspresijas pakāpes attēlotas 2.27., 2.28. un 2.29. attēlā.

2.27. attēls. DKK-1 vāja ekspresija

2.28. attēls. **DKK-1** vidēja ekspresija

2.29. attēls. **DKK-1 izteikta ekspresija**

Izmantojot Fišera precīzo statistisko testu, tika konstatēta statistiski nozīmīga asociācija starp DKK-1 ekspresijas pakāpēm un pacientiem ar kaulu bojājumu un pacientiem bez kaulu bojājuma ($p = 0,02$). DKK-1 ekspresijas pakāpe ir augstāka pacientiem ar kaulu bojājumiem, un viņiem ir vairāk vidējas un izteiktas pakāpes ekspresija. Turpretī izteiktu DKK-1 ekspresijas pakāpi nenovēro pacientiem bez kaulu bojājumiem (skat. 2.30. attēlu).

2.30. attēls. **DKK-1 ekspresijas pakāpju sadalījums pacientiem ar kaulu bojājumiem un pacientiem bez kaulu bojājumiem**

DKK-1 izteikta ekspresija ir biežāk plazmas šūnu vidējas malignitātes pakāpē. Slimniekiem ar augstas plazmas šūnu malignitātes pakāpi visos gadījumos tiek ekspresēts DKK-1 (2.31. attēls).

2.31. attēls. **DKK-1 ekspresijas pakāpju sadalījums plazmas šūnu malignitātes pakāpēs**

Analizējot korelāciju starp plazmas šūnu malignitātes pakāpi un β -CTX, statistiski ticamu korelāciju nekonstatēja ($p > 0,05$), tomēr, kā redzams 2.32. attēlā, pastāv tendence palielināties β -CTX augstākas malignitātes pakāpes gadījumā.

2.32. attēls. β -CTX kastveida diagrammas dažādās plazmas šūnu malignitātes pakāpēs

Līdzīga tendence, kaut gan ne statistiski nozīmīga ($p > 0,05$), palielināties β -CTX izteiktākas DKK-1 ekspresijas pakāpes gadījumā, arī tika novērota 2.33. attēlā.

2.33. attēls. **β -CTX kastveida diagrammas dažādās DKK-1 ekspresijas pakāpēs**

Izvērtējot β -CTX dažādās DKK-1 ekspresijas pakāpēs pacientiem ar kaulu bojājumiem un bez kaulu bojājumiem, konstatēja, ka pacientiem ar kaulu bojājumiem ir tendence ar izteiktāku DKK-1 ekspresijas pakāpi palielināties arī β -CTX, turpretī pacientiem bez kaulu bojājumiem šāda vizuāli novērojama tendence netiek konstatēta (skat. 2.34. attēlu).

2.34. attēls. **β -CTX kastveida diagrammas dažādās DKK-1 ekspresijas pakāpēs ar kaulu bojājumiem un bez kaulu bojājumiem**

Līdzīgi vizuāli novērojama tendence β -CTX palielināšanai līdz ar izteiktāku plazmas šūnu malignitātes pakāpi bija pacientiem ar kaulu bojājumiem, turpretī pacientiem bez kaulu bojājumiem šāda korelācijas tendence netika novērota (skat. 2.35. attēlu).

2.35. attēls. β -CTX kastveida diagrammas dažādās plazmas šūnu malignitātes pakāpēs pacientiem ar kaulu bojājumiem un bez kaulu bojājumiem

Veicot statistisko analīzi, izmantojot Fišera precīzo testu, konstatēja, ka starp DKK-1 un β -CTX virs vai zem robežvērtības (0,79 ng/mL) statistiski nozīmīgu asociāciju neiegūst ($p = 0,25$), tomēr tika novērots (2.36. attēls), ka virs robežvērtības 0,79 ng/mL ir vairāk pacientu ar vidēju un izteiktu DKK-1 ekspresiju.

2.36. attēls. **DKK-1 ekspresijas sadalījums pie β -CTX mazāks par robežvērtību (0,79 ng/mL), lielāks par robežvērtību (0,79 ng/mL)**

Veicot statistisko analīzi, izmantojot Fišera precīzo testu, konstatēja, ka starp plazmas šūnu malignitātes pakāpēm un β -CTX mazāks vai lielāks par robežvērtību (0,79 ng/mL) statistiski ticamu asociāciju nekonstatē ($p = 0,88$), tomēr tika novērots (2.37. attēls), ka virs robežvērtības 0,79 ng/mL ir vairāk pacientu ar vidējas un augstas plazmas šūnu malignitātes pakāpi.

2.37 attēls. **Plazmas šūnu malignitātes pakāpju skaita sadalījums pie β -CTX robežvērtības 0,79 ng/mL**

Veicot korelācijas analīzi starp plazmas šūnu malignitātes pakāpēm un kalciju (Ca), statistiski nozīmīgu korelāciju nekonstatēja ($p = 0,16$), tāpat arī, veicot savstarpējo grupu atšķirību, izmantojot Vilksiona testu, statistiski ticamu atšķirību starp plazmas šūnu malignitātes pakāpēm un Ca nekonstatēja ($p > 0,05$) (skat. 2.38. attēlu).

2.38. attēls. **Kalcija līmeņa kastveida diagrammas dažādās plazmas šūnu malignitātes pakāpēs**

Veicot korelācijas analīzi starp DKK-1 un kalciju (Ca), statistiski nozīmīgu korelāciju nekonstatēja ($p = 0,06$), tāpat arī, veicot savstarpējo grupu atšķirību, izmantojot Vilksiona testu, statistiski ticamu atšķirību starp DKK-1 un Ca nekonstatēja ($p > 0,05$) (skat. 2.39. attēlu).

2.39. attēls. Ca kastveida diagrammas dažādās DKK-1 ekspresijas pakāpēs

3. Diskusija

Promocijas darbs veltīts MM, kas ir vienīgā no onkoloģisko hematoloģisko slimību nozoloģijām ar sekundāru skeleta bojājumu, ko bieži atrod jau diagnosticēšanas brīdī līdz 80 % pacientu, bet slimības gaitā tas attīstās līdz pat 90 % pacientu. Kaulu slimība, sevišķi patoloģiskie lūzumi, būtiski ietekmē pacienta dzīves kvalitāti. Lai gan attēlu diagnostikai ir nozīmīga loma MM pacientu diagnostikā un ārstēšanā, tomēr visbiežāk tā nepalīdz agrīni atklāt kaulu slimību, tā nesniedz informāciju par kaulu veidošanos un rezorbciju, tādēļ pētījuma mērķis bija noskaidrot optimālās laboratoriskās un molekulārbioloģiskās metodes, kas palīdzētu agrīni atklāt un monitorēt MM kaulu slimību. Parasti radioloģiski konstatē osteolīzi, osteopēniju, patoloģiskus lūzumus vai to kombināciju. 15–20 % pacientu ir patoloģiski lūzumi, un 5 % novēro muguras smadzeņu kompresiju.

Pašreizējās vadlīnijas nosaka, ka rgt, CT, MR izmeklējumus izdara MM slimības diagnostikas brīdī vai tikai tad, ja pacientam ir sūdzības. Taču izmaiņas kaulos parādās jau pirms pacientu sūdzībām un pirms rentgenoģiski apstiprinātām kaulu pārmaiņām. Agrīnu kaulu bojājumu atklāšanai var izmantot PET/CT, bet to plašu lietošanu ierobežo izmeklējuma lielās izmaksas. Vēl svarīgi atzīmēt, ka osteoporoze nav ietverta simptomātiskas MM kritērijos, kā arī *Muchtar* (2017) savā pētījumā apstiprina densitometrijas nelietderību MM pacientu diagnostikā.

Promocijas darbs sastāv no divām pētījuma daļām, kuras vieno multiplās mielomas kaulu slimības prognostisko faktoru izpēte. Darbā tika pētīti gan kaulu metabolisma bioķīmiskie marķieri, gan kaulu smadzeņu trepānbiosijā noteikta mielomas šūnu malignitātes pakāpe un DKK-1 ekspresijas pakāpe.

MM raksturīga vidējā vai veca gadagājuma pacientiem, un līdzīgi rezultāti tika iegūti arī šajā pētījumā, kur tika pierādīts, ka pacientu vidējais vecums Latvijā ir 67,65 gadi (no 33 līdz 86 gadiem). No pētījumā iekļautiem

pacienti 70 (56,3 %) bija sievietes, un tas atšķiras no literatūrā aprakstītajam, kur teikts, ka mielomas slimību biežāk novēro vīriešiem (Landgren et al., 2009; Kristinsson, 2007; Kyle, 2003; Thorsteinsdottir, 2020). Pēc Centrālās statistikas pārvaldes (CSP) datubāzē pieejamiem datiem, vecuma grupā virs 65 gadiem Latvijas iedzīvotāju vidū sievietes ir 269,564, bet vīrieši 128,364 (t.i., attiecība 2,1:1). Iespējams, ka tas izskaidro mielomas slimības lielāku izplatību Latvijā tieši sieviešu vidū.

Pēdējā desmitgadē ir strauji pieaugušas zināšanas par MM patoģenēzi un ir attīstījušās terapijas iespējas (Pawlyn, 2017). Tādēļ ļoti svarīga ir kaulu slimības izpēte. Kaulu vielmaiņa ir dinamisks process, kuru var noteikt ar dažādiem bioķīmiskiem marķieriem asinīs vai urīnā un imūnhistoķīmijas metodēm, audu paraugus iegūstot invazīvas procedūras laikā. Kaulu slimības patoģenēze ir saistīta ar ģeneralizētu osteoklastu (OC) aktivāciju. MM slimnieku kaulu smadzeņu veikto biopsiju paraugi parāda ciešu saistību starp audzēju, OC skaitu un rezorbcijas virsmu. Kaut arī OC mainītā funkcija ir galvenais faktors kaulu slimības attīstībā, samazināts trabekulu biezums un zema kalcifikācija kaulu smadzeņu biopsijas preparātos ar osteolīzi un samazinātu osteoblastu (OB) skaitu pierāda, ka ir traucēta arī OB aktivitāte. Tas apstiprina, ka kaulu vielmaiņa, kurā OC un OB aktivitāte ir cieši saistīta, MM slimniekiem ir ļoti mainījusies.

Pašreiz nav augstas jutības un specifitātes metodes, kas varētu atrisināt klīnisko problēmu, kura ir saistīta ar kaulu slimības agrīnu diagnostiku un monitorēšanu pacientiem ar MM. Pēdējos gados ievērojami pieaugusi interese par MM kaulu bojājumu neinvazīvām un lētām diagnostikas un monitorēšanas metodēm, pamatojoties uz bioķīmisko rādītāju noteikšanu. 2010. gadā IMWG ieteica kaulu metabolisma marķierus klīniskajā praksē MM pacientu ārstēšanā (Terpos et al., 2010). Ar šiem laboratoriskiem testiem var novērtēt kaulaudu veidošanās un kaulaudu rezorbcijas intensitāti, un tie kalpo, lai varētu identificēt no kopējā MM pacientu skaita tos indivīdus, kuriem kaulaudu veidošanās ir

negatīva vēl pirms brīža, kad ir parādījušās klīniski izteiktas sūdzības vai attēlu diagnostikā konstatējamas kaulu slimības pazīmes.

Kaulu metabolisma marķieri ir plaša spektra termins faktoriem, kurus izdala kaulu šūnas vai kuri ir kaulu degradācijas produkti. Tie nav slimībai specifiski, un tos izmanto gan diagnostikā, gan slimības monitorēšanā, lai uzlabotu pacientu ārstēšanu dažādos kaulu slimību gadījumos, piemēram, Pedžeta slimība, primāra osteoporoze, audzēja izraisīta osteomalācija, reimatoīdais artrīts, 2. tipa cukura diabēts un primārs hiperparatireoidisms. Pamatojoties uz daudzu autoru darbiem, šo marķieru noteikšana dinamikā ļauj atklāt pacientu grupu, kam ir paaugstināts kaulu slimības attīstības risks (Lipton et al., 2007; Penq et al., 2015; Ting, 2016).

Kā rezorbcijas marķieri ir zināmi asinīs nosakāmie CTX, NTX un urīnā nosakāmie deoksipiridolīns (DPD), CTX, NTX un citi. Domājot par pētījuma dizainu, sākumā tika apsvērta iespēja DPD noteikšanai urīnā. Tomēr, ņemot vērā Starptautiskā osteoporozes fonda (*International Osteoporosis Foundation*) osteoporozes rekomendācijas un daudzu autoru (Park et al., 2018; Gurban et al., 2019) pētījumos apstiprinātos datus par precīzāko un labāko rezorbcijas marķieri, tika nolemts noteikt un analizēt CTX asinīs. Lielai daļai MM pacientu ir būtisks nieru bojājums, un ir zināms, ka CTX ir mazāka mijiedarbība ar nieru funkciju, salīdzinot ar DPD. Tādēļ savā darbā izvēlējos pētīt tieši CTX, kas ir kaulu rezorbcijas marķieris, un bALP, kas ir kaulu formācijas marķieris.

Tā kā bioķīmisko marķieru noteikšana nav invazīva, ir iespējama pacienta ik mēneša monitorēšana. Mūsu pētījumā ir pārlicecinoši pierādīts, ka β -CTX līmenis ir augstāks MM pacientiem, salīdzinot ar kontroles grupas indivīdiem. Turklāt β -CTX līmenis MM pacientiem slimības diagnosticēšanas brīdī bija mazāks pacientiem bez kaulu bojājumiem un pieauga līdz ar kaulu bojājumu pakāpi. Mūsu darbā 114 pacientiem, kuri bija saņēmuši terapiju, tika konstatēta pozitīva dinamika. Kā liecina pētījuma dati, uz efektīvas terapijas fona ar ķīmijterapiju un bisfosfonātiem pēc 6 mēnešiem 84 no 114 pacientiem bija

nozīmīga β -CTX mediānas samazināšanās, salīdzinoši ar rādītāju pirms terapijas. Tas apstiprina šī marķiera kā kaulu rezorbcijas marķiera jutību un specifitāti, kas parāda ķīmijterapijas un bisfosfonātu izraisītu osteolīzes samazināšanos tās inhibēšanas dēļ. Tajā pašā laikā 9 pacientiem ar progresējošu kaulu slimību novēroja ticamu β -CTX mediānas pieaugumu. Vēl pētījums parādīja, ka pacientiem ar kaulu slimības progresiju novēroja augstāku β -CTX līmeni slimības diagnostikas brīdī, salīdzinot ar pacientiem, kuriem bija laba atbildes reakcija uz terapiju. Augsts osteolīzes rādītāja līmenis korelēja ar klīniskām sūdzībām, laboratoriskiem rādītājiem. Paaugstināts β -CTX līmenis pacientiem ar slimības progresiju liecina par intensīvu kaulu rezorbciju uz neefektīvas MM terapijas fona.

Arī *Ting* (2016) un *Pecoraro* (2015) savos pētījumos ir apstiprinājuši, ka rezorbcijas marķiera (β -CTX) līmenis ir augstāks pirmreizējiem MM pacientiem, salīdzinot ar kontroles grupas un remisijā esošiem pacientiem, un tas samazinās terapijas gaitā. Tas ir apstiprināts arī citu autoru darbos (Vallet et al., 2018; Liu et al., 2016). *Ting* savā pētījumā parādīja, ka β -CTX līmenis pieauga 3–6 mēnešus pirms pierādīta recidīva, kas apstiprināja, ka β -CTX var noteikt preklīniskas kaulu slimības pazīmes, pirms tās ir nosakāmas ar laboratoriskām un radioloģiskām metodēm. Tas savukārt ļautu izvairīties no notikumiem, saistītiem ar skeletu un kaulu kompresijas lūzumiem. Autori apstiprināja arī, ka β -CTX paaugstinās MM pacientiem slimības recidīva laikā neatkarīgi no bisfosfonātu terapijas.

Promocijas darbā aprēķinātā β -CTX robežvērtība ir 0,79 ng/ml, un tā atšķiras atkarībā no dzimuma un vecuma. Mūsu pētījums pierādīja, ka no kopējā pacientu skaita β -CTX mazāks par 0,79 ng/ml bija 22,13 % pacientiem, bet lielāks par robežvērtību bija 77,87 % pacientiem. Analizējot β -CTX robežvērtību saistībā ar kaulu bojājumu pakāpi, konstatēja statistiski nozīmīgu asociāciju starp abām pazīmēm. Pacientiem bez kaulu bojājumiem β -CTX, mazāks par robežvērtību, bija 81 % pacientu, bet 68 % pacientu ar 3. pakāpes kaulu

bojājumiem β -CTX bija lielāks par robežvērtību. Tomēr daļai pacientu, kuriem nebija kaulu bojājumu, β -CTX bija virs robežvērtības. Iespējams, viens no β -CTX paaugstināšanās iemesliem pacientiem bez kaulu slimības ir MM slimības sistēmiska ietekme uz kaulu audiem, kas pavada intensīvu osteolīzes paaugstināšanos. Tāpēc pacientiem bez apstiprinātiem kaulu bojājumiem nevar izslēgt paaugstinātu kaulu vielmaiņu sakarā ar agrīnas diagnostikas grūtībām. Praksē ir pierādīts, ka pacientiem ar paaugstinātiem marķieru rādītājiem parasti attīstās kaulu slimība.

Mūsu pētījumā tika noteikta β -CTX diagnostiskā nozīme, pamatojoties uz šī parametra jutību un specifitāti. β -CTX piemīt izteikta jutība un specifitāte, ko apstiprina mūsu pētījuma dati, kur diagnostiskā jutība bija 82 % un attiecīgi specifitāte bija 91 %. Tas apstiprina to, ka β -CTX ir izcils MM kaulu slimības diagnostiskais rādītājs.

Ir zināms, ka daudziem pacientiem nezināmas izcelsmes monoklonāla gammopātija (MGUS) progresē mielomas slimībā. *Vallet et al.* 2018. gada pētījumā ar 241 pacientu konstatēts, ka kaulu metabolisma marķierus var noteikt, lai paredzētu kaulu bojājumu attīstību pacientiem ar nezināmas izcelsmes monoklonālu gammopātiju (MGUS), kuriem ir augsts progresijas risks mielomas slimībā. Šie rezultāti pierāda, ka kaulu rezorbcijas marķieris β -CTX ir ievērojami augstāks MM slimniekiem, salīdzinot ar MGUS pacientiem. Turklāt korelācijas trūkums ar rentgenoloģiskos izmeklējumos apstiprinātu kaulu lītisku bojājumu var apstiprināt agrīnas izmaiņas β -CTX līmenī. β -CTX līmenis korelē ar MRI atklātiem kaulu bojājumiem, un tas ir jutīgs marķieris, lai paredzētu kaulu slimību pirms izteiktu bojājumu izpausmes. Autoru 10 gadu novērošanas dati apstiprina, ka asimptomātiskus MGUS pacientus bez β -CTX paaugstināšanās var uzskatīt kā stabilus. Tā kā arī Latvijā ir dati par daudziem MGUS pacientiem, šai pacientu grupai būtu lietderīgi noteikt β -CTX līmeni dinamikā, lai varētu diagnosticēt pacientus, kuriem ir augsts progresijas risks mielomas slimībā ar kaulu bojājumiem.

MM pacientu pamatārstēšana ir ķīmijterapija un bisfosfonāti. Kā zināms, bisfosfonāti ir osteoklastu izraisītas kaulu rezorbcijas inhibitori, kas ievērojami samazina kaulu sāpes, patoloģisku lūzumu biežumu un citas komplikācijas pacientiem ar MM, kā arī ievērojami samazina rezorbcijas marķieru līmeni. *In vitro* dati apstiprina, ka bisfosfonātiem ir arī tiešs citotoksisks efekts uz audzēja šūnām, kā arī tie inhibē audzēja un stromas šūnu mijiedarbību. Tomēr, neskatoties uz pozitīviem rezultātiem *in vitro* un *in vivo*, lielākajā daļā klīnisko pētījumu netiek apstiprinātas ne simptomātiskas MM attīstības samazināšanās, ne dzīvildzes pagarināšanās pacientiem, kuri terapijā saņem bisfosfonātus.

Dažreiz ir grūti atrast labāko laiku šo medikamentu uzsākšanai. Vairāki pētījumi (Corso, 2001) ir demonstrējuši, ka pat asimptomātiskiem pacientiem bez jebkādiem klīniski vai radioloģiski apstiprinātiem kaulu bojājumiem kaulu metabolisms var būt mainīts. Turklāt pēdējā laikā ir tendence uzsākt ķīmijterapiju šādiem pacientiem maksimāli agri. Vēl joprojām ir neskaidrs jautājums, vai pacientiem ar snaudošu mielomu vai MGUS vai MM 1. stadiju bez lītiskiem kaulu bojājumiem, kuri nesaņem vienlaikus ķīmijterapiju, vajadzētu nozīmēt bisfosfonātus. Kaulu metabolisma marķieri var palīdzēt šajā jautājumā (Diamond et al., 2001). No otras puses, asimptomātisku pacientu populācija nav homogēna un laiks līdz progresijai ir no dažiem mēnešiem līdz vairākiem gadiem. Piemēram, 50 % pacientu ar snaudošu MM neprogresē mielomas slimībā 5 gadu laikā, bet 30 % nav progresijas pēc 10 gadiem.

Daudzos darbos ir analizēti rezultāti, kas liecina par marķieru klīnisko nozīmi, lai novērtētu ārstēšanas ar bisfosfonātiem efektivitāti (Kyle, 2007; Coleman et al., 2012; Pozzi et al., 2011; Soe et al., 2014; Lee et al., 2012).

Pētījumos (Terpos, 2005) ir apstiprināts, ka ir liela pacientu grupa, kuri nereaģē un ir refraktāri uz bisfosfonātu terapiju, un to apstiprina β -CTX paaugstināšanās. Šiem pacientiem ir augstāks ar skeletu saistīts notikumu risks un slimības progresija, salīdzinot ar pacientiem, kuri ir reaģējuši uz bisfosfonātu terapiju un kuriem normalizējies kaulu rezorbcija.

MM pacientu vidējā dzīvildze pēdējos gados ir augusi sakarā ar jaunu un efektīvu specifisku ķīmijterapiju un bisfosfonātu terapiju.

Tā kā ilgstoša bisfosfonātu lietošana var izraisīt žokļu osteonekrozi, stresa lūzumus un samazinātu nieru funkciju, tad ir nepieciešams atrast metodi, kas ļautu atrast pacientus, kuriem varētu droši pārtraukt bisfosfonātu terapiju (Patel et al., 2014; Oh et al., 2007; Weide et al., 2010; Soe et al., 2014). Lai identificētu pacientus ar paaugstinātu kaulu vielmaiņu un palielinātu žokļa osteonekrozes attīstības risku, varētu izmantot kaulu rezorbcijas marķierus. Diemžēl pašreiz ir nepietiekami dati par šo marķieru rutīnu izmantošanu žokļu osteonekrozes attīstības paredzēšanai.

Analizējot β -CTX saistību ar laboratoriskiem rādītājiem, mūsu pētījumā bija pozitīva korelācija starp β -CTX un $\beta 2$ mikroglobulīna, kalcija un PP līmeni, plazmas šūnu infiltrāciju kaulu smadzenēs un ECOG, bet negatīva korelācija starp β -CTX un albumīna, Hb līmeni, Karnovska indeksu un kalcija līmeni. Tas atšķiras no *Terpos* (2014) pētījuma datiem, kur tika konstatēta tikai vāja korelācija starp β -CTX un $\beta 2$ mikroglobulīna līmeni, albumīna līmeni. Savukārt mūsu pētījumā netika konstatēta korelācija tikai starp β -CTX un LDH līmeni.

Iegūtie klīniskie dati ar β -CTX, kas ir specifisks kaulu rezorbcijas un monitorēšanas rādītājs, parāda terapijas efektivitāti. Tādēļ ir lietderīgi iekļaut to pacientu ar un bez kaulu slimības novērošanas plānā, lai paaugstinātu novērošanas informativitāti un ekonomiskos ieguvumus, kā arī uzlabotu ārstēšanas rezultātus un pacientu dzīves kvalitāti. Jāatzīmē, ka mūsu iegūtie dati sakrīt ar citu autoru rezultātiem, kas parāda β -CTX marķiera klīnisko nozīmi. Kaulu bojājumu progresēšanas gadījumā regulāra β -CTX noteikšana nepieciešama, lai novērtētu terapijas efektivitāti un optimizētu ārstēšanas taktiku.

NCC vadlīnijās rekomendē MM pacientiem ar kaulu slimību plato fāzē, kuriem ir labvēlīgi prognostiskie faktori (zema slimības stadija, ECOG līdz 2. pakāpei, efektīva ārstēšana), noteikt β -CTX ar 6–12 mēnešu intervālu. Bet pacientiem ar nelabvēlīgiem prognostiskiem faktoriem (augsta slimības stadija,

ECOG 3. un augstāku pakāpi) rekomendē noteikt β -CTX ik pēc 3 mēnešiem, lai agrīni atklātu slimības progresēšanu.

Vislielākās pretrunas literatūrā ir par kaulu formācijas (bALP) marķiera lomu kaulu bojājumu agrīnai diagnostikai un monitorēšanai MM gadījumā. Mūsu pētījumā nenovēroja bALP līmeņa starpību starp MM pacientiem un kontroles grupas indivīdiem. Līdzīgi to nenovēroja arī *Ting* (2016), *Annibali* (2015), *Kowalska* (2010) pētījumos. Mūsu pētījumā, analizējot bALP mediānu, nebija statistiski ticamas atšķirības starp dažādām kaulu bojājumu smaguma pakāpēm ne slimības diagnosticēšanas brīdī, ne izvērtējot to līmeni dinamiskā. To varētu izskaidrot ar kaulu formācijas samazināšanos sakarā ar rezorbcijas un formācijas disbalansu. Šādi rezultāti bija arī *Ting* (2016) pētījumā. Divos neatkarīgos pētījumos (*Dizdar*, 2005; *Politou*, 2004) tika apstiprināts, ka pacientiem ar MM un kaulu bojājumiem ir zemāks bALP līmenis, salīdzinot ar kontrolgrupas indivīdiem un pacientiem ar MGUS. Tas tika pamatots ar kaulu formācijas samazināšanos MM pacientiem. Atsevišķos pētījumos (*Lund et al.*, 2010) novēroja, ka terapijas gaitā dažos gadījumos bALP līmenis pieauga, bet citos samazinājās. *Zangari* (2011) savā pētījumā apstiprināja, ka bALP līmenis paaugstinājās pacientiem pēc pozitīvas atbildes uz ķīmijterapiju un šī paaugstināšanās korelēja ar seruma DKK-1 līmeņa samazināšanos. *Terpos* (2014) savā pētījumā pierāda, ka ķīmijterapija samazina kaulu rezorbciju, bet neietekmē kaulu formāciju.

Tādēļ mūsu pētījumā β -CTX, salīdzinot ar bALP, ir parādījis lielāku prognostisku nozīmi kaulu bojājumu attīstībā un pacientu ārstēšanas efektivitātes novērtēšanā.

Dažādas prasības kaulu metabolisma marķieru izmantošanā klīniskajā praksē atšķiras no zinātniskiem pētījumiem. Kaulu rezorbcijas marķieri ir saistīti ar cirkādisko ritmu, un tie samazinās pēc ēšanas. *Szulc* (2017) rekomendē ņemt analīzi pacientiem no plkst. 7.30 līdz 10.00 tukšā dūšā. Tas ir jādara stobriņā ar EDTA. Turpretī kaulu formācijas marķieriem nav stingri noteikts diennakts ritms

un analīzes var ņemt jebkurā diennakts laikā. Tā kā šiem marķieriem ir lielas diennakts svārstības un tie nav pietiekami plaši lietoti, lai varētu būt laba standartizācija gan rezultātu interpretācijā, gan analīžu veikšanā, pašreiz tos plaši neizmanto klīniskajā praksē. Lai mūsu pētījums būtu standartizēts, analīzes tika veiktas visiem pacientiem plkst. 7 no rīta tukšā dūšā. Ambulatori pacientiem analīzes rekomendē nodot līdz plkst. 9 tukšā dūšā.

Klīnicistiem, nozīmējot un interpretējot kaulu metabolisma marķierus, nepieciešams apsvērt tukšās dūšas nepieciešamību, nesenus lūzumus, vecumu, sievietes menopauzālā periodā, nieru un aknu stāvokli, jo šie faktori varētu sniegt maldīgus rezultātus. Pacientiem ar smagas pakāpes nieru mazspēju ir ievērojami augstāks β -CTX līmenis, salīdzinot ar pacientiem ar normālu nieru funkciju. *Ting* (2016) iesaka, ka β -CTX pacientiem ar $GFR < 30 \text{ ml/min/1,73m}^2$ jānosaka ar piesardzību. Turpretī pacientiem ar vidēju nieru mazspēju ($GFR 30\text{--}60 \text{ ml/min/1,73}$) β -CTX līmenis neatšķiras no pacientiem ar normālu nieru funkciju.

Kaulu metabolisma marķierus var noteikt gan asinīs, gan urīnā. Tā kā visiem šiem marķieriem ir augsta individuāla variabilitāte, kura tiek lēsta apmēram 10 % asinīs un 15–25 % urīnā, tas ierobežo marķieru lietošanu ikdienas praksē.

Uz pierādījumiem balstītās literatūras avoti pierāda arī D vitamīna svarīgu lomu kaulu vielmaiņā, lai gan precīzs mehānisms nav zināms. Dažos pētījumos (*Khadka et al., 2018*) ir konstatēts, ka pacientiem ar D vitamīna deficītu ir augstāki kaulu vielmaiņas marķieru (CTX, bALP) līmeņi. Daudziem mūsu pacientiem nebija iespējams iegūt datus par D vit. līmeni, tāpēc pētījumā nav datu par D vit. un kaulu vielmaiņas marķieru korelāciju.

Kaulu rezorbcijas un formācijas marķieru kombinācija ar citiem laboratoriskiem rādītājiem un attēlu diagnostikas metodēm varētu uzlabot MM pacientu izmeklēšanu un ārstēšanu.

Tā kā visiem MM pacientiem diagnostiskos nolūkos tiek veikta kaulu smadzeņu histoloģiskā izmeklēšana, tad paralēli var kvantitatīvi noteikt arī osteoklastu un osteoblastu aktivitāti slimības diagnosticēšanas brīdī, bet to nav iespējams izmantot regulārai kaulu slimības monitorēšanai (Bataille et al., 1992; Abildgaard et al., 2004; Eastell et al., 2018).

Kaulu smadzeņu izmeklēšana sniedz nepieciešamo informāciju par plazmas šūnu infiltrācijas pakāpi kaulu smadzenēs un to morfoloģiskām īpatnībām. Tā kopā ar imūnhistoķīmiju ir iekļauta gan Starptautiskās mielomas darba grupas, gan NCCN diagnostisko izmeklējumu vadlīnijās.

DKK-1 ir proteīns, kas inhibē Wnt signālceļu, kuram savukārt ir svarīga nozīme embriogēnē, organogēnē un homeostāzē. Šī signālsistēmas kaskāde ir normālu fizioloģisku procesu, piemēram, šūnu proliferācijas, audu reģenerācijas, embrionālas attīstības, pamatā, kā arī tā tiek regulēta dažādos veidos. Tāpēc izmaiņas signālceļā izraisa sarežģījumus un var veicināt dažādu slimību, piemēram, audzēju, kaulu slimības, autoimūnas saslimšanas, diabēta un Alzheimer slimības, attīstību (Huang Yu et al., 2018). DKK-1 ekspresējas kaulu šūnās – osteoblastos un osteocītos, mezenhimālās cilmes šūnās –, kā arī ādā, prostatā, placentā un endotēlijā (Ke et al., 2012).

MM diagnostikā ļoti būtiska ir plazmas šūnu imūnhistoķīmiskā izmeklēšana. Strādājot pie izmeklējuma protokola un dizaina, tika apsvērta ideja par dubultkrāsošanas nozīmi. Saskaņā ar iepriekš veikto pētījumu rezultātiem (Tian et al., 2003; Kristensen et al., 2014), tika izvēlēts DKK-1 proteīns, kas ekspresējas mielomas šūnās pacientiem ar kaulu slimību. Plazmas šūnu pētījumos bieži tiek izmantots virsmas marķieris CD138 (sindekāns-1). Tomēr literatūras analīze liecina, ka mielomas šūnas bieži vāji ekspresē CD138 (Kawano et al., 2012). Citas plazmatiskās membrānas molekulas, proti, CD56 molekulas, nozīme plazmas šūnu noteikšanā arī tika apsvērta šajā pētījumā. Membrānas glikoproteīnu CD56 ekspresē NK šūnas un osteoblasti, kā arī mielomas šūnas (Harrington et al., 2009). Apsverot tehniskas grūtības

dubultkrāsošanas reakciju produktu identificēšanā un kvantitēšanā, nosakot citoplazmatisko un membranozo reakciju, kā arī šīs reakcijas nozīmi, tika nolemts veikt DKK-1 imūnekspressijas noteikšanu.

Vairāki pētījumi ir pierādījuši, ka DKK-1 ir liela loma kaulu lītisku bojājumu attīstībā (Liu, 2018; Hameed, 2014). Turklāt ir pierādīts, ka ilgstoši augsts DKK-1 līmenis kaulu smadzenēs MM pacientiem var samazināt arī osteoblastu priekšteču aktivitāti.

Mūsu pētījumā ir noteikts DKK-1 ekspresijas līmenis dažādās MM slimības stadijās, kas liek domāt par DKK-1 nozīmīgumu kaulu bojājumu attīstībā, izmantojot kaulu smadzeņu trepānbiospijas materiālu, kas iegūts no 49 MM pacientiem. Šie pacienti bija gan ar, gan bez kaulu bojājumiem.

Pētījums atklāja, ka kaulu smadzeņu paraugos vidēju un izteiktu DKK-1 ekspresiju pacientiem ar kaulu bojājumiem novēro ievērojami biežāk, salīdzinot ar paraugiem, kas iegūti no pacientiem bez osteolītiskiem kaulu bojājumiem. Šie rezultāti saskan ar *Ida B. Kristensen* 2014. gada un *Heath* 2009. gada rezultātiem, kas parādīja, ka DKK-1 ekspresija plazmas šūnās korelē ar kaulu bojājumiem. Tāpat kā *Heath* (2009) publicētajā pētījumā, arī šajā pētījumā izteiktu DKK-1 ekspresiju nenovēro pacientiem bez kaulu bojājumiem.

Wnt signālceļš ir iesaistīts mielomas slimības vairākos aspektos. Izdalot Wnt antagonistus, ieskaitot DKK-1, mielomas šūnas izjauc līdzsvaru starp kaulu formāciju un kaulu rezorbciju. Sekojošu kaulu homeostāzes traucējumu rezultātā attīstās kaulu osteolītiski bojājumi. Tie izraisa ne tikai tiešu un netiešu MM šūnu augšanu, kas savukārt izraisa audzēja progresiju, bet arī ir cēloņi MM pacientu kaulu sāpēm un patoloģiskiem lūzumiem. Ir ziņojumi (Spaan et al., 2018), ka iekšējais kanoniskais Wnt/ β -katenīnsignālceļš ietekmē mielomas šūnu dzīvildzi un tā veicina slimības progresiju. Papildus Wnt signālceļš ir saistīts ar iegūtu medikamentu rezistenci. Tas, visticamāk, ir saistīts ar MM šūnu un kaulu smadzeņu stromas šūnu mijiedarbību. Rezistence pret konvencionālo terapiju ir klīniska problēma un negatīvi ietekmē pacientu ārstēšanas rezultātus. Tāpēc Wnt

signālceļa medikamenti varētu būt saistoši jaunas terapijas izvēlei. Tas varētu paaugstināt MM šūnu apoptozi un samazināt DKK-1 sekrēciju kaulu smadzeņu mikrovidē un tādējādi sekmētu veiksmīgāku un ilgstošāku atbildes reakciju uz terapiju.

Pēdējos gados ir kļuvusi aktuāla MM pacientu personalizēta terapija. Tas ietver kaulu slimības attīstības riska noteikšanu, lai varētu katram pacientam atrast piemērotāko terapiju.

Terpos (2018) savā rakstā ir apstiprinājis, ka, samazinot DKK-1 līmeni, ir iespējams uzlabot terapijas efektivitāti un normalizēt kaulu vielmaiņu. Citi autori (Spaan, 2018; Heath, 2009) ir pierādījuši, ka anti-DKK-1 terapija palielina kaulu veidošanās ātrumu par 25 % un mineralizējošo virsmu par 28 %, un ir ieteikuši, ka osteoblastu diferenciācijas atjaunošana var novērst osteolītisku kaulu bojājumu attīstību, piedāvājot efektīvu terapeitisko pieeju šīs slimības ārstēšanai.

Pamatojoties uz plazmas šūnu morfoloģiju, mieloma tiek iedalīta nobriedušu, nenobriedušu plazmas šūnu un plazmoblastiskā variantā. Mūsu pētījumā tika izpētīta ļaundabīgo plazmas šūnu struktūra un apstiprināti plazmas šūnu morfoloģiskie varianti. Darbā, pamatojoties uz *Bartl* (1987) pētījumu, tika apstiprināti 6 plazmas šūnu histoloģiskie varianti, kuri tika iedalīti 3 plazmas šūnu malignitātes pakāpēs. Pētījumā tika apstiprināta plazmas šūnu morfoloģisko variantu korelācija ar kaulu bojājumu smaguma pakāpi MM slimniekiem.

Tā kā pētījumā vairāk bija pacientu ar kaulu bojājumiem, tad arī vairāk noteiktas ir plazmas šūnu malignitātes pakāpes pacientiem ar kaulu bojājumiem, salīdzinot ar pacientiem bez kaulu bojājumiem. Pacientiem ar kaulu bojājumiem ir vairāk augstas plazmas šūnu malignitātes pakāpes, salīdzinot ar pacientiem bez kaulu bojājumiem.

Bartl (1987) un *Fujino* (2018) veikto pētījumu rezultāti apstiprina samazinātu dzīvildzi un sliktāku prognozi pacientiem ar augstāku plazmas šūnu infiltrāciju kaulu smadzenēs un nenobriedušu un plazmoblastisku plazmas šūnu

morfoloģiju. Tā kā mūsu pētījumā ir pierādīts, ka pacientiem plazmoblastisko šūnu gadījumā ir palielināts kaulu slimības attīstības risks, var secināt, ka šiem pacientiem ir samazināta vidējā dzīvildze, salīdzinot ar pacientiem, kuriem ir nobriedušas plazmas šūnas kaulu smadzenēs. *Subramanian* (2009) pētījumā ir pierādīts, ka kaulu smadzeņu izmeklēšana ir nepieciešama ne tikai diagnostiskos, bet arī prognostiskos nolūkos. Plazmas šūnu morfoloģija un infiltrācijas pakāpe nozīmīgi korelē ar slimības stadiju.

Vienlaikus mūsu rezultāti rāda, ka DKK-1 ekspresijas pakāpes ievērojami atšķiras, salīdzinot zemas, vidējas un augstas plazmas šūnu malignitātes pakāpes. DKK-1 izteiktu ekspresiju biežāk novēro vidējas plazmas šūnu malignitātes pakāpes gadījumos. Slimniekiem ar augstas plazmas šūnu malignitātes pakāpi visos gadījumos tiek ekspresēts DKK-1.

Mūsu pētījumā, analizējot korelāciju starp plazmas šūnu malignitātes pakāpi un β -CTX, statistiski ticamu korelāciju nekonstatēja ($p > 0,05$), tomēr tendence palielināties β -CTX augstākā malignitātes pakāpē ir novērojama. Tāpat ir līdzīga tendence palielināties β -CTX izteiktākā DKK-1 ekspresijas pakāpē.

Izvērtējot β -CTX dažādās DKK-1 ekspresijas pakāpēs atsevišķiem pacientiem ar kaulu bojājumiem un pacientiem bez kaulu bojājumiem, konstatēja, ka pacientiem ar kaulu bojājumiem ir tendence ar izteiktāku DKK-1 ekspresijas pakāpi palielināties arī β -CTX, bet pacientiem bez kaulu bojājumiem šāda vizuāli novērojama tendence netiek konstatēta.

Līdzīgi novērojama tendence β -CTX pieaugumam līdz ar izteiktāku plazmas šūnu malignitātes pakāpi ir pacientiem ar kaulu bojājumiem, turpretī pacientiem bez kaulu bojājumiem šāda korelācijas tendence netika novērota.

Lai arī statistiski ticamu asociāciju nekonstatēja ($p = 0,25$) starp DKK-1 un β -CTX virs vai zem robežvērtības (0,79), tomēr novēroja, ka virs robežvērtības ir vairāk pacientu ar vidēju un izteiktu DKK-1 ekspresijas pakāpi. Arī starp plazmas šūnu malignitātes pakāpēm un β -CTX virs vai zem robežvērtības (0,79) statistiski ticamu asociāciju nekonstatēja ($p = 0,88$), tomēr

novēroja, ka virs robežvērtības ir vairāk pacientu ar vidējas un augstas plazmas šūnu malignitātes pakāpi.

Noslēgumā var secināt, ka kaulu smadzeņu biopsijas rezultātu novērtēšana joprojām ir būtiska MM diagnostikas sastāvdaļa. Tā kā kaulu slimība ir visbiežāk sastopamā MM komplikācija, tad DKK-1 noteikšana biopsijās var piedāvāt papildu informāciju šī klīniski svarīgā slimības aspekta interpretācijai.

Tādējādi, rutīnā veicot visiem pirmreizējiem MM slimniekiem trepānbiopsiju, var noteikt mielomas šūnu malignitātes pakāpi un DKK-1 ekspresijas pakāpi, kas korelē ar kaulu bojājumiem MM slimniekiem.

Turpretī, izmantojot kaulu metabolisma bioķīmiskos marķierus, var noteikt kaulu bojājumu attīstības risku gan slimības diagnostikas brīdī, gan dinamikā un izvērtēt terapijas efektivitāti.

Pamatojoties uz to, ka plazmatiskās šūnas veidojas no B limfocītiem, MM ir pieskaitāma B šūnu malignitāšu grupai, kurā ietilpst arī ne Hodžkina limfoma. Mūsdienās ne Hodžkina limfomas histoloģiski iedala pēc PVO 2016. gada limfoīdo audzēju klasifikācijas (Swerdlow et al., 2016) un tai ir klīniska un prognostiska nozīmība. Tāpēc būtu rekomendējama plazmas šūnu malignitātes un DKK-1 ekspresijas pakāpes izmantošana MM histoloģiskajā klasifikācijā.

Rezultātā, kombinējot asins bioķīmiskos marķierus un citus laboratoriskos rādītājus, kaulu smadzeņu DKK-1 ekspresijas pakāpi plazmas šūnās un plazmas šūnu morfoloģiskos rādītājus ar radioloģiskiem izmeklējumiem, var novērtēt kaulu bojājumu attīstības risku pacientiem, noteikt ārstēšanas efektivitāti un palīdzēt pieņemt lēmumu pareizākam laikam, kad uzsākt un pārtraukt bisfosfonātu terapiju slimniekiem ar MM slimību.

Pēdējos gados MM pacientu prognoze ir nozīmīgi uzlabojusies sakarā ar plaši lietoto autoloģisko cilmes šūnu transplantāciju un jauniem medikamentiem, kas iedarbojas gan uz mielomas šūnām, gan mikrovidi. Tomēr kaulu slimības kontrole vēl joprojām ir terapeitisks izaicinājums šiem pacientiem, jo to ārstēšanā

iesaistīta multidisciplināra komanda, ko veido hematologi, radiologi, patologi, neirologi un neiroķirurgi.

Secinājumi

1. Kaulu metabolisma rezorbcijas marķiera β -CTX līmenis ir augstāks MM pacientiem, salīdzinot ar kontroles grupas indivīdiem. β -CTX līmenis statistiski ticami korelē ar kaulu bojājumu smaguma pakāpi multiplās mielomas gadījumā.
2. Pacienti ar pozitīvu terapijas efektu pierādīta β -CTX līmeņa samazināšanās, salīdzinot ar pirmreizējo rādītāju un pretstatā tā paaugstināšanās pacientiem, kuri nereaģēja uz terapiju.
3. Kaulu metabolisma formācijas marķiera bALP līmenis MM gadījumā neatšķiras no kontrolgrupas indivīdiem. bALP līmeņa izmaiņas nekorelē ne ar kaulu slimības attīstību, ne ar kaulu bojājumu smaguma pakāpi.
4. DKK-1 ekspresijas pakāpe ir augstāka MM pacientiem ar kaulu bojājumiem nekā gadījumos bez tiem.
5. Pacienti ar kaulu bojājumiem ir vairāk plazmas šūnu augstas malignitātes pakāpe, salīdzinot ar pacientiem bez kaulu bojājumiem.

Praktiskās rekomendācijas

Lai izvērtētu kaulu slimību un tās attīstības risku, mielomas slimības gadījumā rekomendē:

1. Visiem pacientiem mielomas slimību diagnostikas brīdī noteikt β -CTX līmeni asinīs, kā arī kaulu smadzeņu histoloģiskajā izmeklējumā DKK-1 ekspresijas pakāpi un plazmas šūnu malignitātes pakāpi.
2. β -CTX līmenis jānosaka dinamikā (ik pēc 6 mēnešiem), lai varētu izvērtēt terapijas efektivitāti.

Publikācijas un ziņojumi par darba tēmu

Starptautiski citējamās publikācijas

1. **Auzina, D.**, Beinaroviča, I., Janicka-Kupra, B., Lejniece, S., Lejnieks, A., Groma, V. 2020. Dickkopf-related Protein 1 expression in bone marrow of Multiple Myeloma patients: correlation with bone disease and plasma cell malignancy type. *Experimental Oncology*. 42(4), 285–288.
2. **Auzina, D.**, Erts, R. and Lejniece, S. 2017, March. Prognostic value of the bone turnover markers in multiple myeloma. *Experimental Oncology*. 39(1), 53–56.
3. **Auzina, D.**, Slaidina, A., Sevastjanova, M., Erts, R., Lejnieks, A. and Lejniece, S. 2019. A population based study of multiple myeloma patients with medication-related osteonecrosis of the jaw. *Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal*. 21, 13–17.

Mutiski ziņojumi starptautiskās konferencēs

1. **Auzina, D.**, Trociukas, I., Nazarovs, J., Mahmajeve, O., Balode, D. and Lejniece, S. 2019. Simultaneously diagnosed primary AL amyloidosis and multiple myeloma. *RSU International Conference on Medical and Health Care Sciences, Knowledge For Use in Practice*, 1–3 aprīl. Rīga, Latvia.
2. **Auzina, D.**, Beinarovica, I., Janicka-Kupra, B., Lejniece, S., Groma, V. and Lejnieks, A. 2019. Expression of dickkopf- related protein 1 and evidence of osteolysis in multiple myeloma patients. *RSU International Conference on Medical and Health Care Sciences, Knowledge For Use in Practice*, 1–3 aprīl. Rīga, Latvia.
3. **Auzina, D.** 16. 09. 2016. New laboratory markers of bone disease in multiple myeloma. *10th Baltic Conference in Hematology*. Rīga, Latvia.

Mutiski ziņojumi vietēja mēroga konferencēs Latvijā

1. **Auzina, D.**, Lejniece, S., Trociukas, I. u.c. 2017. Vienlaikus primāri diagnosticēta AL amiloidoze un mielomas slimība. *Latvijas Ārstu kongresa tēzes (Rīga, 2017. g. 21.–23. sept.)*. Rīga: Latvijas ārstu biedrība, 1. Iegūts no: <http://www.arstukongress.lv>.
2. **Auzina, D.**, Lejniece, S. un Erts, R. 2017. Kaulu resorbcijas kontrole mielomas slimniekiem. *2017.gada zinātniskās konferences tēzes (Rīga, 2017. g. 6.–7. aprīlī)*. Rīga: Rīgas Stradiņa universitāte, 121.
3. **Auzina, D.**, Lejniece, S. un Erts, R. 2017. Kaulu bojājumu analīze pacientiem ar mielomas slimību. *2017. gada zinātniskās konferences tēzes (Rīga, 2017.g. 6.–7. aprīlī)*. Rīga: Rīgas Stradiņa universitāte, 120.

4. **Auziņa, D.**, Daukšte, I. un Lejniece, S. 2016. Kaulu minerālā blīvuma noteikšana pacientiem ar mielomas slimību. *2016. gada zinātniskās konferences tēzes (Rīga, 2016. g. 17.–18. martā)*. Rīga: Rīgas Stradiņa universitāte, 183.
5. **Auziņa, D.**, Lejniece, S. un Nazarovs, J. 2015. Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas Ķīmijterapijas un hematoloģijas klīnikā stacionēto mielomas slimnieku datu analīze. *2015. gada zinātniskās konferences tēzes (Rīga, 2015. g. 26.–27. martā)*. Rīga: Rīgas Stradiņa universitāte, 265.
6. **Auziņa, D.**, Strēle, I., Lejniece, S. un Nazarovs, J. 2015. Izdzīvotības analīze pacientiem ar mielomas slimību. *2015. gada zinātniskās konferences tēzes (Rīga, 2015. g. 26.–27. martā)*. Rīga: Rīgas Stradiņa universitāte, 264.

Tēzes starptautiskās konferencēs

1. **Auzina, D.**, Beinaroviča, I., Janicka-Kupra, B., Lejniece, S., Groma, V. and Lejnieks, A. 2019. Expression of dickkopf-related protein 1 and evidence of osteolysis in multiple myeloma patients. *RSU International Conference on Medical and Health Care Sciences, Knowledge for Use in Practice, 1–3 April. Abstracts*. Riga, 55.
2. **Auzina, D.**, Trociukas, I., Nazarovs, J., Mahmajeva, O., Balode, D. and Lejniece, S. 2019. Simultaneously diagnosed primary AL amyloidosis and multiple myeloma. *RSU International Conference on Medical and Health Care Sciences, Knowledge for Use in Practice, 1–3 April. Abstracts*. Riga, 602.
3. **Auzina, D.**, Erts, R., Balode, D. and Lejniece, S. 16.09.2016. Bone disease of patients with multiple myeloma in Latvia. *10th Baltic Conference in Hematology*. Riga, Latvia.
4. **Auzina, D.**, Erts, R., Balode, D. and Lejniece, S. 16.09.2016. Monitoring of bone resorption in multiple myeloma. *10th Baltic Conference in Hematology*. Riga, Latvia.
5. **Auzina, D.**, Lejniece, S. and Racenis, K. 2016. A population based study of primary simultaneous diagnosed multiple myeloma and AL amyloidosis in Latvia (2011–2015). *3rd International Conference on Multiple Myeloma (Milan, Italy, Oct. 7–9, 2016): Abstracts*. Paris, Poster No.9.
6. **Auzina, D.**, Nikulshin, S., Mikajanskis, R., Balode, D. and Lejniece, S. 16.09.2016. IgA myeloma with extraosseous involvement and prominent tumor cell anaplasia in a very young patient. *10th Baltic Conference in Hematology*. Riga, Latvia.
7. Nazarovs, J., Kleina, R., Lejniece, S. and **Auzina, D.** 2015, Sept. Bone marrow morphology and immunohistochemistry as a prognostic factor of renal insufficiency in case of multiple myeloma. *Virchows Archiv*. 467(1), 194.
8. **Auzina, D.**, Lejniece, S., Nazarovs, J. and Strele, I. 2015, June. A population based study of newly diagnosed multiple myeloma patients in Latvia (2007–2009 years). *Haematologica*. 100(1), 518.

9. **Auzina, D.**, Lejniece, S. and Nazarov, J. 2014. Renal failure of newly diagnosed patients with multiple myeloma in Latvia 2009–2013 data. *2nd International Conference on Multiple Myeloma (Athens, Greece, Nov. 7–9, 2014): Abstracts*. Athens, Poster No.7.
10. **Auzina, D.**, Lejniece, S., Blimhena, I. and Nazarovs, J. 2014. Hypercalcemia in case of multiple myeloma in Latvia 2009–2013 data. *XXXV World Congress International Society of Hematology (Beijing, China, Sept. 4–6): Abstracts Book*. Beijing, EP-08-008.
11. **Auzina, D.** and Lejniece, S. 2014. Bone disease in case of newly diagnosed myeloma patients in Latvia. *9th Baltic Conference of Hematology (BCH) (Vilnius, Lithuania, Apr. 24–26): Final Programme and Abstract Book*. Vilnius, 47–48.

Tēzes vietēja mēroga konferencēs Latvijā

1. **Auziņa, D.**, Lejniece, S., Nikuššins, S. u.c. 2017. IgA mieloma ar ekstraosālu izplatību un izteiktu audzēja šūnu anaplāziju gados jaunam pacientam. *Latvijas Ārstu kongresa tēzes (Rīga, 2017. g. 21.–23. sept.)*. Rīga: Latvijas ārstu biedrība, 1. Iegūts no: <http://www.arstukongress.lv>.
2. **Auziņa, D.**, Lejniece, S., Trociukas, I. u.c. 2017. Vienlaikus primāri diagnosticēta AL amiloidoze un mielomas slimība. *Latvijas Ārstu kongresa tēzes (Rīga, 2017. g. 21.–23. sept.)*. Rīga: Latvijas ārstu biedrība, 1. Iegūts no: <http://www.arstukongress.lv>.
3. **Auziņa, D.**, Lejniece, S. un Erts, R. 2017. Kaulu bojājumu analīze pacientiem ar mielomas slimību. *2017. gada zinātniskās konferences tēzes (Rīga, 2017. g. 6.–7. aprīlī)*. Rīga: Rīgas Stradiņa universitāte, 120.
4. **Auziņa, D.**, Lejniece, S. un Erts, R. 2017. Kaulu resorbcijas kontrole mielomas slimniekiem. *2017. gada zinātniskās konferences tēzes (Rīga, 2017. g. 6.–7. aprīlī)*. Rīga: Rīgas Stradiņa universitāte, 121.
5. **Auziņa, D.**, Daukšte, I. un Lejniece, S. 2016. Kaulu minerālā blīvuma noteikšana pacientiem ar mielomas slimību. *2016. gada zinātniskās konferences tēzes (Rīga, 2016. g. 17.–18. martā)*. Rīga: Rīgas Stradiņa universitāte, 183.
6. **Auziņa, D.**, Lejniece, S. un Nazarovs, J. 2015. Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas Ķīmijterapijas un hematoloģijas klīnikā stacionēto mielomas slimnieku datu analīze. *2015. gada zinātniskās konferences tēzes (Rīga, 2015. g. 26.–27. martā)*. Rīga: Rīgas Stradiņa universitāte, 265.
7. **Auziņa, D.**, Strēle, I., Lejniece, S. un Nazarovs, J. 2015. Izdzīvotības analīze pacientiem ar mielomas slimību. *2015. gada zinātniskās konferences tēzes (Rīga, 2015. g. 26.–27. martā)*. Rīga: Rīgas Stradiņa universitāte, 264.

8. Nazarovs, J., Lejniece, S., Kleina, R. un **Auziņa, D.** 2015. Kaulu smadzeņu rutīnas morfoloģisko diagnostisko kritēriju novērtējums saistībā ar multiplās mielomas klīniski laboratoriskiem rādītājiem. *2015. gada zinātniskās konferences tēzes (Rīga, 2015. g. 26.–27. martā)*. Rīga: Rīgas Stradiņa universitāte, 287.
9. Nazarovs, J., Lejniece, S., Kleina, R. un **Auziņa, D.** Mielomas slimības un cukura diabēta saistības biežums un nozīme saslimšanas prognozē. *2015. gada zinātniskās konferences tēzes (Rīga, 2015. g. 26.–27. martā)*. Rīga: Rīgas Stradiņa universitāte, 286.

Literatūras saraksts

1. Abe, M. 2011. Targeting the interplay between myeloma cells and the bone marrow microenvironment in myeloma. *International Journal of Hematology*. 94(4), 334–343.
2. Abildgaard, N., Brixen, K., Eriksen, E. et al. 2004. Sequential analysis of biochemical markers of bone resorption and bone densitometry in multiple myeloma. *Haematologica*. 89, 567–577.
3. Abildgaard, N., Brixen, K., Kristensen, J. et al. 2003. Comparison of five biochemical markers of bone resorption in multiple myeloma: elevated pre-treatment levels of S- ICTP and U-Ntx are predictive for early progression of the bone disease during standard chemotherapy. *British Journal of Haematology*. 120, 235–242.
4. Akhmetzyanova, I., McCarron, M. J., Parekh, S. et al. 2020. Dynamic CD138 surface expression regulates switch between myeloma growth and dissemination. *Leukemia*. 34(1), 245–256.
5. Alexandrakis, M. G., Passam, F. H., Malliaraki, N. et al. 2002. Evaluation of bone disease in multiple myeloma: a correlation between biochemical markers of bone metabolism and other clinical parameters in untreated multiple myeloma patients. *Clinica Chimica Acta*. 325, 51–57.
6. American Cancer Society. 19.01.2016. Signs and Symptoms of Multiple Myeloma American Cancer Society. Available from: <http://www.cancer.org/cancer/multiple-myeloma/detection-diagnosis-staging/signs-symptoms.html> [viewed 10.10.2017].
7. Ampil, F. L., Mills, G. M. 1999. Bone scintigraphy in plasma cell myeloma. *Eur J Orthop Surg Traumatol*. 9, 59–60.
8. Anagnostopoulos, A., Gika, D., Symeonidis, A. et al. 2005. Multiple myeloma in elderly patients: Prognostic factors and outcome. *Eur J Haematol*. 75, 370–375.
9. Anderson, K. C., Carrasco, R. D. 2011. Pathogenesis of myeloma. *Annu Rev Pathol*. 6, 249–274.
10. Annibaldi, O., Petrucci, M. T., Santini, D. et al. 2015. Alkaline Phosphatase (ALP) levels in Multiple Myeloma (MM) and Cancer with bone lesions: Is there any difference? *Clinical Lymphoma & Myeloma & Leukemia*. 15(3), E125.
11. Auzina, D., Slaidina, A., Sevastjanova, M., Erts, R., Lejnieks, A., Lejniece, S. 2019. A population based study of multiple myeloma patients with medication-related osteonecrosis of the jaw. *Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal*. 21, 13–17.
12. Bačovský, J., Ščudla, V., Vytrasova, M. et al. 2002. Monitoring of bone resorption and bone formation in multiple myeloma. *Biomed. Papers*. 146(2), 59–61.
13. Baffour, F. I., Glazebrook, K. N., Kumar, S. K., Broski, S. M. 2020. Role of imaging in multiple myeloma. *American Journal of Hematology*. 95(8), 966–977.

14. Barlogie, B., Bolejack, V., Schell, M. et al. 2011. Prognostic factor analysis of myeloma survival with intergroup trial S9321 (INT 0141): Examining whether different variables govern different time segments of survival. *Ann Hematol.* 90, 423–428.
15. Barlogie, B., Smallwood, L., Smith, T. et al. 1989. High serum levels of lactic dehydrogenase identify a high-grade lymphoma-like myeloma. *Ann Intern Med.* 110, 521–525.
16. Bartel, T. B., Haessler, J., Brown, T. L. et al. 2009. F18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography in the context of other imaging techniques and prognostic factors in multiple myeloma. *Blood.* 114, 2068–2076.
17. Bartl, R., Frisch, B., Burkhardt, R. et al. 1982. Bone marrow histology in myeloma: Its importance in diagnosis, classification and staging. *Br J Haematol.* 51, 361–375.
18. Bartl, R., Frisch, B., Fateh-Moghadam, A., Kettner, G. et al. 1987. Histologic classification and staging of multiple myeloma. A retrospective and prospective study of 674 cases. *Am J Clin Pathol.* 87, 342–355.
19. Bataille, R., Boccadora, M., Klein, B. et al. 1992. C-reactive protein and beta 2 microglobulin produce a simple and powerful myeloma staging system. *Blood.* 80, 733–737.
20. Bataille, R., Chappard, D., Klein, B. 1992. Mechanisms of bone lesions in multiple myeloma. *Hematology/Oncology Clinics of North America.* 6, 285–295.
21. Bell, K. J., Hayen, A., Irwig, L. et al. 2012. The potential value of monitoring bone turnover markers among women on alendronate. *J Bone Miner Res.* 27, 195.
22. Bhattoa, H. P. 2018. Laboratory aspects and clinical utility of bone turnover markers. *The electronic Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.* 29, 117–128.
23. Bingham, N., Reale, A., Spencer, A. 2017. An evidence-based approach to myeloma bone disease. *Curr Hematol Malig Rep.* 12(2), 109–118.
24. Birgegard, G., Gascon, P., Ludwig, H. 2006. Evaluation of anaemia in patients with multiple myeloma and lymphoma: findings of the European CANCER ANAEMIA SURVEY. *Eur J Haematol.* 77(5), 378–386.
25. Biver, E. 2012. Use of bone turnover markers in clinical practice. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* 19, 468–473.
26. Black, D. M., Kelly, M. P., Genant, H. K., Palermo, L., Eastell, R., Bucci-Rechtweg, C., Cauley, J., Leung, P. C., Boonen, S., Santora, A. et al. 2010. Bisphosphonates and Fractures of the Subtrochanteric or Diaphyseal Femur. *N. Engl. J. Med.* 362, 1761–1771.
27. Blimark, C., Holmberg, E., Mellqvist, U. H. et al. 2015. Multiple myeloma and infections: a population-based study on 9253 multiple myeloma patients. *Haematologica.* 100(1), 107–113.

28. Blom, J., Hansen, O. P., Mansa, B. 1980. The Ultrastructure of bone marrow plasma cells obtained from patients with multiple myeloma during the clinical course of the disease. *Acta path microbiol Scand.* 88, 25–39.
29. Body, J. J., Pereira, J., Sleeboom, H. et al. 2016. Health resource utilization associated with skeletal-related events: results from a retrospective European study. *Eur J Health Econ.* 17, 711–721.
30. Boyce, B. F., Xing, L. 2007. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Research and Therapy.* 9(1), S1–S7.
31. Boyle, E. M., Fouquet, G., Manier, S. et al. 2012. Immunomodulator drug-based therapy in myeloma and the occurrence of thrombosis. *Expert Rev Hematol.* 5(6), 617–626.
32. Caers, J., Garderet, L., Kortüm, K. M. et al. 2018. European Myeloma Network recommendations on tools for the diagnosis and monitoring of multiple myeloma: what to use and when. *Haematologica.* 103(11), 1772–1784.
33. Cancer research UK. 11.03.2020. *Myeloma incidence statistics*. Available from: <https://www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics/statistics-by-cancer-type/myeloma/incidence#heading=Two> [viewed 13.07.2020.].
34. Chantry, A., Kazmi, M., Barrington, S., Goh, V., Mulholland, N., Streetly, M., Lai, M., Pratt, G. 2017, Aug. British Society for Haematology Guidelines. Guidelines for the use of Imaging in the management of patients with myeloma. *Br J Haematol.* 178(3), 380–393.
35. Chawla, S. S., Kumar, S. K., Dispenzieri, A. et al. 2015. Clinical course and prognosis of non-secretory multiple myeloma. *Eur J Haematol.* 95, 57–64.
36. Christoulas, D., Terpos, E., Dimopoulos, M. A. 2009. Pathogenesis and management of myeloma bone disease. *Expert Rev Hematol.* 2, 385–398.
37. Chu, B., Lu, M. Q., Wu, M. Q. et al. 2016. Clinical characteristics of bone disease in multiple myeloma and clinical significance of monitoring bone metabolic markers. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 96, 1424–1429.
38. Clark, R. E., Flory, A. J., Ion, E. M. et al. 2000. Biochemical markers of bone turnover following high-dose chemotherapy and autografting in multiple myeloma. *Blood.* 96, 2697–2702.
39. Clezardin, P. 2013. Mechanisms of action of bisphosphonates in oncology: a scientific concept evolving from antiresorptive to anticancer activities. *Bonekey Rep.* 2, 267.
40. Coleman, R., Costa, L., Saad, F. et al. 2011. Consensus on the utility of bone markers in the malignant bone disease setting. *Crit.Rev. Oncol. Hematol.* 80, 411–432.
41. Coleman, R., Gnani, M., Morgan, G. et al. 2012. Effects of bone-targeted agents on cancer progression and mortality. *J Natl Cancer Inst.* 104(14), 1059–67.

42. Colucci, S., Brunetti, G., Oranger, A. et al. 2011. Myeloma cells suppress osteoblasts through sclerostin secretion. *Blood Cancer. J* 1,e27.
43. Comas-Calonge, A., Figueiredo, R., Gay-Escoda, C. 2017. Surgical treatment vs. Conservative treatment in intravenous bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *Systematic review.* 9(2), 302–307.
44. Corso, A., Arcaini, L., Mangiacavalli, S. et al. 2001. Biochemical markers of bone disease in asymptomatic early stage multiple myeloma. A study on their role in identifying high risk patients. *Haematologica.* 86, 394–398.
45. Dal Pra, K. J., Lemos, C. A. A., Okamoto, R. 2017. Efficacy of the C-terminal telopeptide test in predicting the development of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw; a systematic review. *International Journal of Oral Maxillofacial Surgery.* 46, 151–156.
46. Dammacco, F., Rubini, G., Ferrari, C. et al. 2015. 18-F FDG PET/CT: a review of diagnostic and prognostic features in multiple myeloma and related disorders. *Clin Exp Med.* 15, 1–18.
47. De Stefano, V., Za, T., Rossi, E. 2014. Venous thromboembolism in multiple myeloma. *Semin Thromb Hemost.* 40(3), 338–347.
48. Delgado-Calle, J. et al. 2016. Bidirectional notch signaling and osteocyte-derived factors in the bone marrow microenvironment promote tumor cell proliferation and bone destruction in multiple myeloma. *Cancer Res.* 76, 1089–1100.
49. Deligiorgi, M. V., Panayiotidis, M. I., Griniatsos, J., Trafalis, D. T. 2020. Harnessing the versatile role of OPG in bone oncology: counterbalancing RANKL and TRAIL signaling and beyond. *Clinical & Experimental Metastasis.* 37, 13–30.
50. Derlin, T., Bannas, P. 2014. Imaging of multiple myeloma: current concepts. *World J Orthop.* 5(3), 272–282.
51. Desikan, R., Jagannath, S., Richardson, P. et. al. 2004. Multiple myeloma and other plasma cell dyscrasias. *Cancer management: a Multidisciplinary Approach.* 727–729.
52. Diamond, T., Levy, S., Smith, A. et al. 2001. Noninvasive markers of bone turnover and plasma cytokines differ in osteoporotic patients with multiple myeloma and monoclonal gammopathies of undetermined significance. *Intern Med J.* 31, 272–278.
53. Dimopoulos, M. A., Barlogie, B., Smith, T. L., Alexanian, R. 1991. High serum lactate dehydrogenase level as a marker for drug resistance and short survival in multiple myeloma. *Ann Intern Med.* 115, 931–935.
54. Dimopoulos, M., Terpos, E., Comenzo, R. L., Tosi, P., Beksac, M., Sezer, O., Siegel, D., Lokhorst, H., Kumar, S., Rajkumar, S. V., Niesvizky, R., Mouloupoulos, L. A. & Durie, B. G. & IMWG. 2009. International myeloma working group consensus statement and guidelines regarding the current role of imaging techniques in the diagnosis and monitoring of multiple myeloma. *Leukemia.* 23, 1545–1556.

55. Dimopoulos, M. A., Facon, T., Terpos, E. 2018. Multiple Myeloma and Other Plasma Cell Neoplasms. *Hematologic Malignancies*. 25.
56. Dimopoulos, M. A., Hillengass, J., Usmani, S. et al. 2015. Role of magnetic resonance imaging in the management of patients with multiple myeloma: a consensus statement. *J Clin Oncol*. 33(6), 657–664.
57. Dimopoulos, M. A., Kastritis, E., Anagnostopoulos, A. et al. 2006. Osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma treated with bisphosphonates: evidence of increased risk after treatment with zoledronic acid. *Haematologica*. 91(7), 968–971.
58. Dimopoulos, M. A., Kastritis, E., Bamia, C. et al. 2009. Reduction of osteonecrosis of the jaw (ONJ) after implementation of preventive measures in patients with multiple myeloma treated with zoledronic acid. *Ann Oncol*. 20(1), 117–120.
59. Dimopoulos, M. A., Meletions, A., Facon. et al. 2018. Multiple Myeloma and Other Plasma Cell Neoplasms. *Hematologic Malignancies*. 110–131.
60. Dizdar, O., Barista, I., Kalyoncu, U. et al. 2005. Biochemical markers of bone turnover in the diagnosis of myeloma bone disease. *J Clin Oncol*. 23(16), 585 (Abstract #6600).
61. Dytfeld, D., Sosnowski, P., Czyz, A., Komarnick, M. 2007. The role of the magnetic resonance in diagnosis of multiple myeloma. *Pol Merkur Lekarski*. 23, 85–88.
62. D'Sa, S., Abildgaard, N., Tighe, J., Shaw, P. & Hall- Craggs, M. 2007. Guidelines for the use of imaging in the management of myeloma. *British Journal of Haematology*. 137, 49–63.
63. Dupuis, M. M., Tuchman, S. A. 2016. Non-secretory multiple myeloma: from biology to clinical management. *Onco Targets Ther*. 9, 7583–7590.
64. Durie, B. G. M., Hoering, A., Abidi, M. H. et al. 2017. Bortezomib, lenalidomide and dexamethasone vs. lenalidomide and dexamethasone induction followed by lenalidomide and dexamethasone maintenance in patients with newly diagnosed myeloma without intent for immediate autologous stem cell transplant: results of the randomised phase III SWOG Trial S0777. *Lancet*. 389(10068), 519–527.
65. Durie, B. G., Stock-Novack, D., Salmon, S. E. et al. 1990. Prognostic value of pretreatment serum beta 2 microglobulin in myeloma: a Southwest Oncology Group study. *Blood*. 75, 823–830.
66. 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, 842–854.
67. Eastell, R., Pigott, T., Gossiel, F. et al. 2018. Bone turnover markers: are they clinically useful? *European Journal of Endocrinology*. 178, R19–R31.
68. Edwards, C. M., Zhuang, J., Mundy, G. R. et al. 2008. The pathogenesis of the bone disease in multiple myeloma. *Bone*. 42 (6), 1007–1013.

69. Eid, A., Atlas, J. 2014. The role of bisphosphonates in medical oncology and their association with jaw bone necrosis. *Oral Maxillofacial Surgery Clin N Am.* 26, 231–237.
70. Eleutherakis-Papaïakovou, V., Bamias, A., Gika, D. et al. 2007. Renal failure in multiple myeloma: incidence, correlations, and prognostic significance. *Leuk Lymphoma.* 48(2), 337–341.
71. Faiman, B. 2014. Myeloma genetics and genomics: Practice implications and future directions. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia.* 14(6), 436–440.
72. Fleisher, K. E., Welch, G., Kottal, S., Craig, R. G. 2010. Predicting risk for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: CTX versus radiographic markers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 110(4), 509–516.
73. Fliefel, R., Troltsch, M., Kuhnisch, J. et al. 2015. Treatment strategies and outcomes of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ) with characterization of patients: a systematic review. *International Journal of Oral Maxillofacial Surgery.* 44, 568–585.
74. Fujino, M. 2018. The histopathology of myeloma in the bone marrow. *Journal of clinical and experimental hematopathology.* 58(2), 61–67.
75. Gavriatopoulou, M., Fotiou, D., Ntanasis-Stathopoulos, I. et al. 2018. How I treat elderly patients with plasma cell dyscrasias. *Aging.* 10(12), 4248–4268.
76. Gertz, M. A. 2020. Immunoglobulin light chain amyloidosis: 2020 update on diagnosis, prognosis, and treatment. *American Journal of Hematology.* 95(7), 848–860.
77. Giuliani, N. et al. 2012. Increased osteocyte death in multiple myeloma patients: role in myeloma-induced osteoclast formation. *Leukemia.* 26, 1391–1401.
78. Glover, S. J., Gall, M., Schoenborn-Kellenberger, O. et al. 2009. Establishing a reference interval for bone turnover markers in 637 healthy, young, premenopausal women from the United Kingdom, France, Belgium, and the United States. *J Bone Miner Res.* 24, 389.
79. Glover, S. J., Garnero, P., Naylor, K. et al. 2008. Establishing a reference range for bone turnover markers in young, healthy women. *Bone.* 42, 623.
80. Goldman-Mazur, S., Jurczynszyn, A., Castillo, J. J. et al. 2020. A multicenter retrospective study of 223 patients with t(14;16) in multiple myeloma. *American Journal of Hematology.* 95(5), 503–509.
81. Goldschmidt, H., Lokhorst, H. M., Mai, E. K. et al. 2018. Bortezomib before and after high-dose therapy in myeloma: Long-term results from the phase III HOVON-65/GMMG-HD4 trial. *Leukemia.* 32(2), 383–390.
82. Goede, V. 2020. Multiple myeloma in old people: Practical skills for geriatricians and general practitioners. *Z Gerontol Geriat.* 53, 263–272.
83. Green, J. R. 2004. Bisphosphonates: Preclinical Review. *Oncologist.* 9(4), 3–13.

84. Greenspan, S. L., Resnick, N. M., Parker, R. A. 2005. Early changes in biochemical markers of bone turnover are associated with long-term changes in bone mineral density in elderly women on alendronate, hormone replacement therapy, or combination therapy: a three-year, double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 90, 2762.
85. Greipp, P. R., San Miguel, J., Durie, B. G. M. et al. 2005. International Staging System for Multiple Myeloma. *Journal of Clinical Oncology.* 23(15), 3412–6281.
86. Grimaud, E., Soubigou, L., Couillaud, S. et al. 2003. Receptor activator of nuclear factor kappa B ligand (RANKL)/osteoprotegerin (OPG) ratio is increased in severe osteolysis. *Am J Pathol.* 163, 2021–2031.
87. Guanabens, N., Peris, P., Monegal, A. 2015. Bone turnover markers: a clinical review. *Clin. Rev. Bone Miner. Metab.* 13, 83–97.
88. Gupta, N., Sharma, A., Sharma, A. 2020. Emerging biomarkers in multiple myeloma: A review. *Clinica Chimica Acta.* 503, 45–53.
89. Gurban, C., Balas, M., Vlad, M. 2019. Bone turnover markers in postmenopausal osteoporosis and their correlation with bone mineral density and menopause duration. *Rom J Morphol Embryol.* 60(4), 1127–1135.
90. Guzdar, A., Costello, C. 2020. Supportive care in multiple myeloma. *Current Hematologic Malignancy Reports.* 15(2), 56–61.
91. Hameed, A., Brady, J., Dowling, P. et al. 2014. Bone Disease in Multiple Myeloma: Pathophysiology and Management. *Cancer Growth Metastasis.* 7, 33–42.
92. Hansford, B. G., Silbermann, R. 2018. Advanced Imaging of Multiple Myeloma Bone Disease. *Front Endocrinol (Lausanne).* 7(9), 436.
93. Harrington, A. M., Parameswaran, H., Kroft, S. H. 2009. Utility of CD56 Immunohistochemical Studies in Follow-up of Plasma Cell Myeloma. *American Journal of Clinical Pathology.* 132(1), 60–66.
94. Harris, S. N., Winter, E. W. 2006. *Multiple Myeloma and Related Serum Protein Disorders: an Electrophoretic Guide.* 58–59.
95. Hata, H. 2005. Bone lesions and macrophage inflammatory protein-1 alpha (MIP-1a) in human multiple myeloma. *Leukemia & Lymphoma.* 46(7), 967–972.
96. Heath, D., Chantry, A., Buckle, C. et al. 2009. Inhibiting Dickkopf-1 (Dkk-1) Removes Suppression of Bone Formation and Prevents the Development of Osteolytic Bone Disease in Multiple Myeloma. *J Bone Miner Res.* 24, 425–436.
97. Hillengass, J., Mouloupoulos, L. A., Delorme, S. et al. 2016. Findings of whole body computed tomography compared to conventional skeletal survey in patients with monoclonal plasma cell disorders – a study of the International Myeloma Working Group [Abstract]. *Blood.* 128, 4468.

98. Hillengass, J., Moulopoulos, L. A., Delorme, S. et al. 2017. Whole-body computed tomography versus conventional skeletal survey in patients with multiple myeloma: a study of the International Myeloma Working Group. *Blood Cancer J.* 7, e599.
99. Hillengass, J., Moulopoulos, L. A., Delorme, S., Koutoulidis, V., Mosebach, J., Hielscher, T., Drake, M., Rajkumar, S. V., Oestergaard, B., Abildgaard, N., Hinge, M., Plesner, T., Suehara, Y., Matsue, K., Withofs, N., Caers, J., Waage, A., Goldschmidt, H., Dimopoulos, M. A., Lentzsch, S., Durie, B., Terpos, E. 2017. Whole-body computed tomography versus conventional skeletal survey in patients with multiple myeloma: a study of the International Myeloma Working Group. *Blood Cancer J.* 7(8), e599. Available from: <https://doi.org/10.1038/bcj.2017.78> [viewed 13.07.2020.]
100. Hinge, M., Andersen, K. T., Lund, T. et al. 2016. Baseline bone involvement in multiple myeloma – a prospective comparison of conventional X-ray, low-dose computed tomography, and 18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography in previously untreated patients. *Haematologica.* 101, e415–e418.
101. Hinge, M., Andersen, K. T., Lund, T., Jørgensen, H. B., Holdgaard, P. C., Ormstrup, T. E., Østergaard, L. L., Plesner, T. 2016. Bone healing in multiple myeloma: A prospective evaluation of the impact of first-line anti-myeloma treatment. *Haematologica.* 101, e419–e422.
102. Hlaing, T., Compston, J. E. 2014. Biochemical markers of bone turnover – uses and limitations. *Ann Clin Biochem.* 51(2), 189–202.
103. Hsiao, L. T., Yang, C. F., Yang, S. H. et al. 2012. Chronic kidney disease stage 5 as the prognostic complement of International Staging System for multiple myeloma. *European Journal of Haematology.* 88(2), 159–166.
104. Huang, Yu., Liu, L., Liu, A. 2018. Dickkopf-1: Current knowledge and related diseases. *Life Sciences.* 209, 249–254.
105. Hutchison, C. A., Batuman, V., Behrens, J. et al. 2012. The pathogenesis and diagnosis of acute kidney injury in multiple myeloma. *Nat Rev Nephrol.* 8(1), 43–51.
106. Yaccoby, S. 2010. Osteoblastogenesis and tumor growth in myeloma. *Leuk Lymphoma.* 51(2), 213–220.
107. Yamazaki, T., Takahashi, K., Bessho, K. 2014. Recent Clinical Evidence in Bisphosphonate-related Osteomyelitis of the jaw: focus on risk, prevention and treatment. *Reviews on recent clinical trials.* 9, 37–52.
108. Yang, S. W., Ma, R. J., Zhao, J. J. et al. 2018. Clinical significance of the ratio of serum beta-CTX/PINP in multiple myeloma bone diseases and bone metastases. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 98, 2583–2587.
109. Yoneda, T., Hagino, H., Sugimoto, T. et al. 2017. Antiresorptive agent-related osteonecrosis of the jaw: Position Paper 2017 of the Japanese Allied Committee on Osteonecrosis of the Jaw. *J Bone Miner Metab.* 35, 6–19.

110. Jagosky, M. H., Usmani, S. Z. 2020. Extramedullary disease in multiple myeloma. *Current Hematologic Malignancy Reports*. 15(2), 62–71.
111. Jakob, C., Sterz, J., Liebisch, P. et al. 2008. Incorporation of the bone marker carboxy-terminal telopeptide of type-1 collagen improves prognostic information of the International Staging System in newly diagnosed symptomatic multiple myeloma. *Leukemia*. 22, 1767–1772.
112. Jeon, H. L., Oh, I. S., Baek, Y. H. et al. 2020. Zoledronic acid and skeletal-related events in patients with bone metastatic cancer or multiple myeloma. *Journal of Bone and Mineral metabolism*. 38(2), 254–263.
113. Jemal, A., Siegel, R., Xu, J. et. al. 2010. Cancer Statistics. *CA Cancer J Clin*. 60, 277–300.
114. Jorgensen, N. R., Mollehave, L. T., Hansen, Y. B. L. et al. 2017. Comparison of two automated assays of BTM (CTX and P1NP) and reference intervals in a Danish population. *Osteoporos Int*. 28(7), 2103–2113.
115. Junquera, L., Gallego, L., Cuesta, P., Pelaz, A., de Vicente, J. C. 2009. Clinical experience with bisphosphonate- associated osteonecrosis of the jaws: analysis of 21 cases. *Am J Otolaryngol*. 30, 390–395.
116. Kane, S. F. 2020. Bone tumors: Multiple myeloma. *FP Essent*. 493, 30–35.
117. Kaiser, M., Mieth, M., Liebisch, P. et al. 2008. Serum concentrations of DKK-1 correlate with the extent of bone disease in patients with multiple myeloma. *Eur J Haematol*. 80, 490–494.
118. Karnofsky, D., Burchenal, J. 1949. The clinical evaluation of chemotherapeutic agents in cancer. In: MacLeod, C. ed. *Evaluation of Chemotherapeutic Agents*. New York: Columbia University Press, 191–205.
119. Kasper, D. L., Fauci, A. S., Hauser, S. L., Longo, D. L., Jameson, J. L., Loscalzo, J. 2015. Harrison's Principles of Internal Medicine, Nineteenth Edition. New York: McGraw Hill Education, Part 7, Section 2, Chapter 136.
120. Kastiris, E., Terpos, E., Roussou, M. et al. 2013. High risk cytogenetics, elevated LDH and ISS-3 identify a subgroup of myeloma patients with very poor prognosis. *Haematologica*. 98, 334, abstract P797.
121. Kastiris, E., Zervas, K., Symeonidis, A. et. al. 2009. Improved survival of patients with multiple myeloma after the introduction of novel agents and the applicability of the International Staging System (ISS): an analysis of the Greek Myeloma Study Group (GMSG). *Leukemia*. 23, 1152–1157.
122. Kawano, Y., Fujiwara, S., Wada, N. et al. 2012. Multiple myeloma cells expressing low levels of CD138 have an immature phenotype and reduced sensitivity to lenalidomide. *Int J Oncol*. 41(3), 876–884.
123. Ke, H. Z., Richards, X. Li., Ominsky, M. S. et al. 2012. Sclerostin and Dickkopf-1 as therapeutic targets in bone diseases. *Endocr. Rev*. 33, 747–783.

124. Khadka, B., Tiwari, M., Gautam, R. et al. 2018. Correlates of biochemical markers of bone turnover among post-menopausal women. *JNMA J Nepal Med Assoc.* 56(212), 754–748.
125. Kyle, R. A., Gertz, M. A., Witzig, T. E. et al. 2003. Review of 1,027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clin Proc.* 78(1), 21–31.
126. Kyle, R. A., Durie, B. G., Rajkumar, S. V., Landren, O., Blade, J., Merlini, G. et al. 2010. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering (asymptomatic) multiple myeloma: IMWG consensus perspectives risk factors for progression and guidelines for monitoring and management. *Leukemia.* 24(6), 1121–1127.
127. Kyle, R. A., Gertz, M. A., Witzig, T. E. et al. 2003. Review of 1,027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clin Proceedings.* 78(1), 21–31.
128. Kyle, R. A., Rajkumar, S. V. et al. 2008. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *British Journal of Haematology.* 121, 749–757.
129. Kyle, R. A. & Rajkumar, S. V. 2009. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment for multiple myeloma. *Leukemia.* 23, 3–9.
130. Kyle, R. A., Yee, G. C., Somerfield, M. R., Flynn, P. J., Halabi, S., Jagannath, S., Orłowski, R. Z., Roodman, D. G., Twilte, P., Anderson, K. 2007. American Society of Clinical Oncology 2007. Clinical practice guideline update on the role of bisphosphonates in multiple myeloma. *J Clin Oncol.* 25, 2464–2472.
131. Kyle, R. A., Therneau, T. M., Rajkumar, S. V. et al. 2004. Incidence of multiple myeloma in Olmsted County, Minnesota: trend over 6 decades. *Cancer.* 101, 2667–2674.
132. Knudsen, L. M., Hippe, E., Hjorth, M. et al. 1994. Renal function in newly diagnosed multiple myeloma – a demographic study of 1353 patients. The Nordic Myeloma study Group. *Eur J Haematol.* 53(4), 207–212.
133. Kowalska, M., Druzd-Sitek, A., Fuksiewicz, M. et al. 2010. Procollagen I amino-terminal propeptide as a potential marker for multiple myeloma. *Clinical Biochemistry.* 43, 604–608.
134. Kristensen, I., Christensen, J., Lyng, M. et al. 2014. Expression of osteoblast and osteoclast regulatory genes in the bone marrow microenvironment in multiple myeloma: only up-regulation of Wnt inhibitors SFRP3 and DKK1 is associated with lytic bone disease. *Leukemia&Lymphoma.* 55(4), 911–919.
135. Kristensen, I., Christensen, J., Lyng, M. et al. 2013. Gene expression of bone modulators in whole bone marrow biopsies in correlation to dynamic bone markers in multiple myeloma bone disease. *Haematologica.* 98, 318, abstract P761.
136. Kristinsson, S. Y., Landgren, O., Dickman, P. W., Derolf, A. R., Björkholm, M. 2007. Patterns of survival in multiple myeloma: a population-based study of patients diagnosed in Sweden from 1973 to 2003. *J Clin Oncol.* 25(15), 1993–1999.

137. Kumar, S. K., Rajkumar, S. V., Dispenzieri, A. et al. 2008. Improved survival in multiple myeloma and the impact of novel therapies. *Blood*. 111, 2516–2520.
138. Kumar, S., Paiva, B., Anderson, K. C. et al. 2016. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *The Lancet Oncology*. 17, e328–e346.
139. Kwon, Y. D., Kim, D. Y., Ohe, J. Y. et al. 2009. Correlation between serum C-terminal cross-linking telopeptide of type I collagen and staging of oral bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg*. 67, 2644–2648.
140. Kwon, Y. D., Ohe, J. Y., Kim, D. Y. et al. 2011. Retrospective study of two biochemical markers for the risk assessment of oral bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: can they be utilized as risk markers? *Clin Oral Implants Res*. 22, 100–105.
141. Landgren, O., Katzmann, J. A., Hsing, A. W., Pfeiffer, R. M., Kyle, R. A., Yeboah, E. D. et al. 2007. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance among men in Ghana. *Mayo Clin Proc*. 82(12), 1468–1473.
142. Landgren, O., Kyle, R. A., Pfeiffer, R. M. et al. 2009 Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) consistently precedes multiple myeloma: a prospective study. *Blood*. 113(22), 5412–5417.
143. Landgren, O., Weiss, B. M. 2009. Patterns of monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma in various ethnic/racial groups: support for genetic factors in pathogenesis. *Leukemia*. 23(10), 1691–1697.
144. Lecouvet, F. E., Vande Berg, B. C., Malghem, J., Maldague, B. E. 2001. Magnetic resonance and computed tomography imaging in multiple myeloma. *Semin Musculoskelet Radiol*. 5(1), 43–55.
145. Lee, J., Vasikaran, S. 2012. Current recommendations for laboratory testing and use of bone turnover markers in management of osteoporosis. *Ann Lab Med*. 32(2), 105–112.
146. Lejniece, S. 2020. *Klīniskā hematoloģija*. Rīga: Nacionālais Medicīnas Apgāds, 253– 272.
147. Lejnieks, A., Ādamsone, I., Beķeris, G. u.c. 2010. *Klīniskā medicīna I*. Rīga: Medicīnas apgāds. 861–868.
148. Leslie, W. D., Martineau, P., Bryanton, M. et al. 2019. Which is the preferred site for Bone Mineral Density Monitoring as an indicator of treatment – related anti-fracture effect in routine clinical practice? A registry-based cohort study. *Osteoporos int*. 30(7), 1445–1453.
149. Leslie, W. D., Tsang, J. F., Lix, L. M. 2009. Simplified System for Absolute Fracture Risk Assessment: Clinical Validation in Canadian Women. *J Bone Miner Res*. 24, 353–360.

150. Lipton, A., Cook, R. J., Coleman, R. E. et al. 2007. Clinical utility of biochemical markers of bone metabolism for improving the management of patients with advanced multiple myeloma. *Clinical Lymphoma&Myeloma*. 7(5), 346–353.
151. Lipton, A., Costa, L., Coleman, R. 2011. Bone turnover markers: tools for prognosis and monitoring response to bisphosphonates? *Breast Dis*. 33, 59–69.
152. Liu, Y., Ke, X. Y., Tian, L. et al. 2016. Relationship between Bone Markers and the Progression of Multiple Myeloma. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Za Zhi*. 24, 1433–1436.
153. Liu, T., Wu, Y., Niu, T. 2018. Human DKK-1 and human HSP70 fusion DNA vaccine induces an effective anti-tumor efficacy in murine multiple myeloma. *Oncotarget*. 9(1), 178–191.
154. Lomas, O. C., Tahri, S., Ghobrial, I. M. 2020. The microenvironment in myeloma. *Current Opinion in Oncology*. 32(2), 170–175.
155. Lund, T., Abildgaard, N., Andersen, T. et al. 2010. Multiple myeloma: changes in serum C-terminal telopeptide of collagen type I and bone-specific alkaline phosphatase can be used in daily practice to detect imminent osteolysis. *European Journal of Haematology*. 84, 412–420.
156. Lund, T., Abildgaard, N., Delaisse, J. M. et al. 2010. Effect of withdrawal of zoledronic acid treatment on bone remodelling markers in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 151(1), 92–93.
157. Mahnken, A. H., Wildberger, J. E., Gehbauer, G., Schmitz-Rode, T., Blaum, M., Fabry, U., Gunther, R. W. 2002. Multidetector CT of the spine in multiple myeloma: comparison with MR imaging and radiography. *AJR Am J Roentgenol*. 178(6), 1429–1436.
158. Maia, C., Puig, N., Cedena, M. et al. 2020. Biological and clinical significance of dysplastic hemopoiesis in patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Blood*. 135(26), 2375–2387.
159. Manier, S., Salem, K. Z., Park, J. et al. 2017. Genomic complexity of multiple myeloma and its clinical implications. *Nat Rev Clin Oncol*. 14(2), 100–113.
160. Marshall, C., Frantz, N., Kikano, E. et al. 2020. The Role of imaging and systemic treatments in myeloma: A primer for radiologists. *American Journal of Roentgenology*. 214(6), 1321–1334.
161. Marx, R. E. 2003. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zo-meta) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg*. 61, 1115–7.
162. Mashiba, T., Mori, S., Burr, D. B., Komatsubara, S., Cao, Y., Ma-nabe, T. et al. 2005. The effects of suppressed bone remodeling by bisphosphonates on microdamage accumulation and degree of mineralization in the cortical bone of dog rib. *J Bone Miner Metab*. 23, 36–42.

163. Mateos, M. V., Fink, L., Koneswaran, N. et al. 2020. Bone complications in patients with multiple myeloma in five European countries: a retrospective patient chart review. *BMC Cancer* 20, article number 170.
164. Mateos, M. V., Landgren, O. 2016. MGUS and Smoldering Multiple: Diagnosis and Epidemiology. *Cancer Treat.* 169, 3–12.
165. McKenna, R., Kyle, R., Kuehi, W. et al. 2008. Mature B Cells Neoplasms. In: Swerdlow, S., Campo, E., Harris, N. et al. eds. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. 4th ed. Lyon:IARC, 202–207.
166. Meckova, Z., Lambert, L., Spicka, I., Kubinyi, J., Burgetova, A. 2018, Sep-Dec. Is fluorine-18-fluorocholine PET/CT Suitable for the Detection of Skeletal Involvement of Multiple Myeloma? *Hell J Nucl Med.* 21(3), 167–168.
167. Menezes, M. E., Devine, D. J., Shevde, L.A. et al. 2012. Dickkopf1: a tumor suppressor or metastasis promoter. *Int J cancer.* 130, 1477–1483.
168. Merz, M., Dechow, T., Scheytt, M. et al. 2020. The clinical management of lenalidomide-based therapy in patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Annals of Hematology.* 99(8), 1709–1725.
169. Merz, M., Hielscher, T., Wagner, B. et al. 2014. Predictive value of longitudinal whole- body magnetic resonance imaging in patients with smoldering multiple myeloma. *Leukemia.* 28, 1902–1908.
170. Migkou, M., Avivi, I., Gavriatopoulou, M. et al. 2020. Clinical characteristics and outcomes of oligosecretory and non-secretory multiple myeloma. *Annals of Hematology.* 99(6), 1251–1255.
171. Mina, R., Joseph, N. S., Gay, F. et al. 2020. Clinical features and survival of multiple myeloma patients harboring t(14;16) in the era of novel agents. *Blood Cancer Journal.* 10(4), 40.
172. Mohty, M. and Harousseau, J. L. 2015. *Handbook of Multiple Myeloma*. Springer International Publishing Switzerland. 79–87.
173. Mohty, M., Malard, F., Mohty, B. et al. 2014. The effects of bortezomib on bone disease in patients with multiple myeloma. *Cancer.* 120(5), 618–623.
174. Morden, N. E., Munson, J. C., Smith, J. et al. 2015. Oral bisphosphonates and upper gastrointestinal toxicity: a study of cancer and early signals of esophageal injury. *Osteoporos Int.* 26, 663.
175. Moreau, P., Attal, M., Caillot, D. et al. 2017. Prospective evaluation of magnetic resonance imaging and [(18)F]fluorodeoxyglucose positron emission tomography-computed tomography at diagnosis and before maintenance therapy in symptomatic patients with multiple myeloma included in the IFM/DFCI 2009 trial: Results of the IMAJEM study. *J Clin Oncol.* 35, 2911–2918.
176. Moreau, P., San Miguel, J., Sonneveld, P. et al. 2017. Multiple myeloma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology.* 28(4), 52–61.

177. Morgan, G. J., Walker, B. A., Davies, F. E. 2012. The genetic architecture of multiple myeloma. *Nat Rev Cancer*. 12(5), 335–348.
178. Morris, H. A., Eastell, R., Jorgensen, N. R. et al. 2017. Clinical usefulness of bone turnover marker concentrations in osteoporosis. *Clin Chim Acta*. 467, 34–41.
179. Mouloupoulos, L. A., Gika, D., Anagnostopoulos, A. et al. 2005. Prognostic significance of magnetic resonance imaging of bone marrow in previously untreated patients with multiple myeloma. *Ann Oncol*. 16, 1824–1828.
180. Muchtar, E., Dagan, A., Robenshtok, E. et al. 2017. Bone Mineral Density Utilization in Patients With Newly Diagnosed Multiple Myeloma. *Hematol Oncol*. 35(4):703–710.
181. Mundy, G. R. 2002. Metastasis to bone: causes, consequences and therapeutic opportunities. *Nat Rev Cancer*. 2, 584–593.
182. Nandakumar, B., Binder, M., Dispenzieri, A. et al. 2019. *Continued improvement in survival in multiple myeloma (MM) including high-risk patients*. Presented at: American Society of Clinical Oncology Annual Meeting; May 31–June 4, 2019; Chicago, Illinois. Suppl Abstract 8039.
183. National Cancer Institute. *Cancer Stat Facts: Myeloma*. Available from: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/mulmy.html> [viewed 13.07.2020.].
184. Neben, K., Jauch, A., Hielscher, T. et al. 2013. Progression in smoldering myeloma is independently determined by the chromosomal abnormalities del(17p), t(4;14), gain 1q, hyperdiploidy, and tumor load. *J Clin Oncol*. 31(34), 4325–4332.
185. Neve, A., Corrado, A. and Cantatore, F. P. 2011. Osteoblast physiology in normal and pathological conditions. *Cell and Tissue Research*. 343 (2), 289–302.
186. Nierste, B., Glackin, C., Kirshner, J. 2014. Dkk-1 and IL-7 in plasma of patients with multiple myeloma prevent differentiation of mesenchymal stem cells into osteoblasts. *American Journal of Blood Research*. 4(2), 73–85.
187. Oyajobi, B. 2007. Multiple myeloma. Hypercalcemia. *Arthritis Research & Therapy*. 9(1), S4.
188. O'Donnell, E. K., Raje, N. C. 2017. Myeloma bone disease: pathogenesis and treatment. *Clin Adv Hematol Oncol*. 15(4), 285–295.
189. Oh, W. K., Proctor, K., Nakabayashi, M., Evan, C. et al. 2007. The risk of renal impairment in hormone-refractory prostate cancer patients with bone metastases treated with zoledronic acid. *Cancer*. 109, 1090–1096.
190. Okazuka, K., Ishida, T., Nashimoto, J. et al. 2020. The efficacy and safety of modified bortezomib-lenalidomide-dexamethasone in transplant-eligible patients with newly diagnosed multiple myeloma. *European Journal of Hematology*. 104(2), 110–115.
191. Pagani, F., Francucci, C. M., Moro, L. 2005. Markers of bone turnover: biochemical and clinical perspectives. *J Endocrinol Invest*. 28, 8.

192. Palumbo, A., Avet-Loiseau, H., Oliva, S. et al. 2015. Revised International Staging System for Multiple Myeloma: A Report From International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol.* 33(26), 2863–2869.
193. Palumbo, A., Bringhen, S., Mateos, M. V. et al. 2015. Geriatric assessment predicts survival and toxicities in elderly myeloma patients: an International Myeloma Working Group report. *Blood.* 125(13), 2068–2074.
194. Park, H. Y., Kim, K. W., Yoon, M. A. 2020. Role of whole-body MRI for treatment response assessment in multiple myeloma: comparison between clinical response and imaging response. *Cancer Imaging.* 20(1), 14.
195. Park, S., Jeong, S., Lee, J. et al. 2018. The changes of CTX, DPD, Osteocalcin, and Bone Mineral Density during the postmenopausal period. *Ann Rehabil Med.* 42(3), 441–448.
196. Patel, C., Yee, A., Scullen, T. et al. 2014. Biomarkers of bone remodeling in multiple myeloma patients to tailor bisphosphonate therapy. *Clin Cancer Res.* 20(15), 3955–3961.
197. Pawlyn, C., Cairns, D., Kaiser, M. 2020. The relative importance of factors predicting outcome for myeloma patients at different ages: results from 3894 patients in the Myeloma XI trial. *Leukemia.* 34(2), 604–612.
198. Pawlyn, C., Fowkes, L., Otero, S. et al. 2016. Whole-body diffusion-weighted MRI: a new gold standard for assessing disease burden in patients with multiple myeloma? *Leukemia.* 30, 1446–1448.
199. Pearce, R. N., Sordillo, E. M., Yaccoby, S. et al. 2001. Multiple myeloma disrupts the TRANCE/osteoprotegerin cytokine axis to trigger bone destruction and promote tumor progression. *Proc Natl Acad Sci USA.* 98, 11581–11586.
200. Pecoraro, V., Germagnoli, L., Roli, L. 2015. Prognostic and medical relevance of bone turnover markers for multiple myeloma patients: an evidence based approach for clinical laboratory. *Clin. Chem. Lab. Med.* 53, S574.
201. Pecoraro, V., Roli, L., Germagnoli, L. et al. 2015. The prognostic role of bone turnover markers in multiple myeloma patients: The impact of their assay. A systematic review and meta-analysis. *Critical Reviews in Oncology/Hematology.* 96, 54–66.
202. Penq, F., Fu, R., Liu, H. et al. 2015. Clinical significance of serum bone metabolic markers in diagnosis and monitoring of myeloma bone disease. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 95(42), 3436–3439.
203. Petralia, G., Padhani, A. R., Pricolo, P., Zugni, F., Martinetti, M., Summers, P. E., Grazioli, L., Colagrande, S., Giovagnoni, A., Bellomi, M. 2019. Italian Working Group on Magnetic Resonance. Whole-body Magnetic Resonance Imaging (WB-MRI) in Oncology: Recommendations and Key Uses. *Radiol Med.* 124(3), 218–233.

204. Pianko, M. J., Terpos, E., Roodman, G. D. et al. 2014. Whole-body low-dose computed tomography and advanced imaging techniques for multiple myeloma bone disease. *Clin Cancer Res.* 20, 5888–5897.
205. Politou, M., Terpos, E., Anagnostopoulos, A. et al. 2004. Role of receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand (RANKL), osteoprotegerin and macrophage protein 1- alpha (MIP-1a) in monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS). *Br J Haematol.* 126, 686–689.
206. Politou, M. C., Heath, D. J., Rahemtulla, A. et al. 2006. Serum concentrations of Dickkopf-1 protein are increased in patients with multiple myeloma and reduced after autologous stem cell transplantation. *Int J Cancer.* 119, 1728–1731.
207. Pozzi, S., Raje, N. 2011. The role of bisphosphonates in multiple myeloma: mechanisms, side effects, and the future. *Oncologist.* 16(5), 651–62.
208. Qiang, Y., Chen, Y., Stephens, O. et al. 2008. Myeloma-derived Dickkopf-1 disrupts Wnt-regulated osteoprotegerin and RANKL production by osteoblasts: a potential mechanism underlying osteolytic bone lesions in multiple myeloma. *Blood.* 112, 196–207.
209. Qvist, P., Christgau, S., Pedersen, B. J. et al. 2002. Circadian variation in the serum concentration of C-terminal telopeptide of type I collagen (serum CTx): effects of gender, age, menopausal status, posture, daylight, serum cortisol, and fasting. *Bone.* 31, 57.
210. Ray, S., Khassawna, T., Sommer, U. et al. 2016. Differences in expression of Wnt antagonist Dkk-1 in healthy versus pathological bone samples. *Journal of Microscopy.* 265(1), 111–120.
211. Raje, N., Roodman, D. 2011. Advances in the biology and treatment of bone disease in multiple myeloma. *Clinical Cancer Research.* 17(6), 1278–86.
212. Rajkumar, S. V., Landgren, O., Mateos, M. V. 2015. Smoldering multiple myeloma. *Blood.* 125, 3069–3075.
213. Rajkumar, S. V., Dimopoulos, M. A., Palumbo, A., Blade, J., Merlini, G., Mateos, M. V. et al. 2014. International myeloma working group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 15(12), e538–e548.
214. Rajkumar, S. V., Gupta, V., Fonseca, R. et al. 2013. Impact of primary molecular cytogenetic abnormalities and risk of progression in smoldering multiple myeloma. *Leukemia.* 27(8), 1738–1744.
215. Rajkumar, S., Dispenzieri, A. 2014. Multiple myeloma and related disorders. In: Niederhuber, J. E., Armitage, J. O., Doroshow, J. H., Kastan, M. B. et al. eds. *Abeloff's Clinical Oncology.* 5th ed. Philadelphia: Elsevier. 1991–2017.
216. Rajkumar, S. V., Dimopoulos, M. A. et al. 2014. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 15(12), e538–548.

217. Rajkumar, S. V., Kumar, S. 2016. Multiple Myeloma: Diagnosis and Treatment. *Mayo Clin. Proc.* 91(1), 101–119.
218. Rajkumar, S. V. 2020. Multiple myeloma: 2020 update on diagnosis, risk-stratification and management. *American Journal of Hematology.* 95(5), 548–567.
219. Rasa, I., Krišāne, A. 2012, oktobris. Kaulu vielmaiņas bioķīmisko marķieru nozīme osteoporozes pacientu aprūpē. *Proctus.* 16–21.
220. Rasche, L., Alapat, D., Kumar, M. et al. 2019. Combination of flow cytometry and functional imaging for monitoring of residual disease in myeloma. *Leukemia.* 33, 1713–1722.
221. Regelink, J. C., Minnema, M. C., Terpos, E. et al. 2013. Comparison of modern and conventional imaging techniques in establishing multiple myeloma-related bone disease: a systematic review. *British Journal of Haematology.* 162(1), 50–61.
222. Rezska, A. A., Rodan, G. A. 2003. Mechanism of action of bisphosphonates. *Curr Osteoporos Rep.* 1, 45–52.
223. Ribourtout, B., Zandecki, M. 2015. Plasma cell morphology in multiple myeloma and related disorders. *Morphologie.* 99(325), 38–62.
224. Rolig, C., Knop, S., Bornhauser, M. 2015. Multiple myeloma. *Lancet.* 385(9983), 2197–208.
225. Roodman, G. 2009. Pathogenesis of myeloma bone disease. *Leukemia.* 23(3), 435–441.
226. Roodman, G. 2011. Osteoblast function in myeloma. *Bone.* 48(1), 135–140.
227. Roodman, G. D. 2002. Role of the bone marrow microenvironment in multiple myeloma. *J Bone Miner Res.* 17, 1921–1925.
228. Roodman, G. D. 2008. Novel targets for myeloma bone disease. *Expert Opin Ther Targets.* 12, 1377–1387.
229. Roodman, G. D. 2004. Pathogenesis of myeloma bone disease. *Blood Cells Mol Dis.* 32, 290–292.
230. Roodman, G. D. 2011. Osteoblast function in myeloma. *Bone.* 48, 135–140.
231. Ruggiero, S. L., Dodson, T. B., Fantasia, J., Goodday, R., Aghaloo, T., Mehrotra, B. et al. 2014. American association of oral and maxillofacial surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg.* 72, 1938–1955.
232. Ruggiero, S. L., Mehrotra, B., Rosenberg, T. J., Engroff, S. 2004. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *J Oral Maxillofac Surg.* 62, 527–534.

233. Rupel, K., Ottaviani, G., Gobbo, M., Contardo, L., Tirelli, G., Vescovi, P., di Lenarda, R., Biasotto, M. 2014. A Systematic review of therapeutical approaches in bisphosphonates-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ). *Oral Oncology*. 50, 1049–1057.
234. Russell, S. J., Rajkumar, S. V. 2011. Multiple myeloma and the road to personalised medicine. *Lancet Oncol*. 12(7), 617–619.
235. Saad, F., Lipton, A., Cook, R. et al. 2007. Pathologic fractures correlate with reduced survival in patients with malignant bone disease. *Cancer*. 110(8), 1860–1867.
236. Sant, M., Allemani, C., Tereanu, C. et al. 2010. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood*. 116, 3724.
237. Sapir-Koren, R., Livshits, G. 2014. Bone mineralization is regulated by signaling cross talk between molecular factors of local and systemic origin: the role of fibroblast growth factor 23. *Biofactors*. 40(6), 555–568.
238. Scheven, B. A., Visser, J. W., Nijweide, P. J. 1986. *In vitro* osteoclast generation from different bone marrow fractions, including a highly enriched haematopoietic stem cell population. *Nature*. 321, 79.
239. Schirrmeister, H., Bommer, M., Buck, A. K. et al. 2002. Initial results in the assessment of multiple myeloma using F-18 FDG PET. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 29, 361–366.
240. Schlemmer, A., Hassager, C. 1999. Acute fasting diminishes the circadian rhythm of biochemical markers of bone resorption. *Eur J Endocrinol*. 140, 332.
241. Schulze, M., Weisel, K., Grandjean, C., Oehrlein, K., Zago, M., Spira, D., Horger, M. 2014. Increasing bone sclerosis during bortezomib therapy in multiple myeloma patients: Results of a reduced-dose whole-body MDCT study. *Am J Roentgenol*.
242. Scutellari, P. N., Spanedda, R., Feggi, L. M., Cervi, P. M. 1985. The value and limitations of total body scan in the diagnosis of multiple myeloma: A comparison with conventional skeletal radiography. *Haematologica*. 70, 136–142.
243. Seibel, M. J., Lang, M., Geilenkeuser, W. J. 2001. Interlaboratory variation of biochemical markers of bone turnover. *Clin Chem*. 47, 1443.
244. Seiter, K., Dhaval, S., Emmanuel, C. B. et al. 23.12.2013. *Multiple myeloma*. <http://www.emedicine.medscape.com/article/204369-overview>.
245. Sezer, O. 2009. Myeloma bone disease: recent advances in biology, diagnosis, and treatment. *Oncologist*. 14, 276–283.
246. Sezer, O., Heider, U., Zavrski, I. et al. 2003. RANK ligand and osteoprotegerin in myeloma bone disease. *Blood*. 101, 2094–2098.

247. Shachar, B., Prica, A., Anconina, R. 2020. Impact of 18F-fluorodeoxyglucose PET/CT in the management of patients with plasma cell disorders. *Nucl Med Commun.* 41(1), 34–39.
248. Shane, E., Burr, D., Ebeling, P. R. et al. 2010. Atypical subtrochanteric and diaphyseal femoral fractures: report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. *J Bone Miner Res.* 25, 2267.
249. Shipman, C. M., Rogers, M. J., Apperley, J. F. et al. 1997. Bisphosphonates induce apoptosis in human myeloma cell lines: a novel anti-tumour activity. *Br J haematol.* 98, 665.
250. Short, K. D., Rajkumar, S. V., Larson, D. et. al. 2011. Incidence of extramedullary disease in patients with multiple myeloma in the era of novel therapy, and the activity of pomalidomide on extramedullary myeloma. *Leukemia.* 25(6), 906–908.
251. Siegel, R. L., Miller, K. D., Jemal, A. 2017. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 67, 7.
252. Silbermann, R., Roodman, G. D. 2016. Current controversies in the management of myeloma bone disease. *J Cell Physiol* 231(11): 2374–2379. <https://doi.org/10.1002/jcp.25351>.
253. Siontis, B., Kumar, S., Dispenzieri, A. et al. 2015. Positron emission tomography-computed tomography in the diagnostic evaluation of smoldering multiple myeloma: identification of patients needing therapy. *Blood Cancer.* 5, e364.
254. Smith, A., Howell, D., Patmore, R. et al. 2011. Incidence of hematological malignancy by sub-type: a report from the Haematological Malignancy Research Network. *Br J Cancer.* 105, 1684.
255. Smittenaar, C. R., Petersen, K. A., Stewart, K., Moitt, N. 2016. Cancer Incidence and Mortality Projections in the UK Until 2035. *Brit J Cancer.* Available from: <https://www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics/statistics-by-cancer-type/myeloma/incidence#heading=Three> [viewed 13.07.2020.].
256. Snowden, J. A., Ahmedzai, S. H., Ashcroft, J. et al. 2011. Guidelines for supportive care in multiple myeloma 2011. *Br J Haematol.* 154, 76–103.
257. Soe, K., Delaisse, J., Jakobsen, E. et al. 2014. Dosing related effects of zoledronic acid on bone markers and creatinine clearance in patients with multiple myeloma and metastatic breast cancer. *Acta Oncologica.* 53(4), 547–556.
258. Sonneveld, P., Avet-Loiseau, H., Lonial, S. et al. 2016. Treatment of multiple myeloma with high-risk cytogenetics: a consensus of the International myeloma working group. *Blood.* 127 (24), 2955–2962.
259. Spaan, I. A., Raymakers, R., van de Stolpe, A. et al. 2018. Wnt signaling in multiple myeloma: a central player in disease with therapeutic potential. *Journal of Hematology & Oncology.* 11, 67.

260. Spanou, A., Lyritis, G. P., Chronopoulos, E. et al. 2015. Management of bisphosphonates-related osteonecrosis of the jaw: a literature review. *Oral Disease*. 21, 927–936.
261. Stella, F., Pedrazzini, E., Agazzoni, M. et al. 2015. Cytogenetic alterations in multiple myeloma: prognostic significance and the choice of frontline therapy. *Cancer Investig*. 33(10), 496–504.
262. Sternlicht, H., Glezerman, I. G. 2015. Hypercalcemia of malignancy and new treatment options. *Ther Clin Risk Manag*. 11, 1779–1788.
263. Stoffel, K., Engler, H., Kuster, M. et al. 2007. Changes in biochemical markers after lower limb fractures. *Clin Chem*. 53, 131.
264. Subramanian, R., Basu, D., Dutta, T. K. 2009. Prognostic significance of bone marrow histology in multiple myeloma. *Indian Journal of Cancer*. 46(1), 40–45.
265. Sugatani, T., Alvarez, U. M., Hruska, K. A. 2003. Activin A stimulates IkappaB-alpha/NfkappaB and RANK expression for osteoclast differentiation, but not AKT survival pathway in osteoclast precursors. *J Cell Biochem*. 90, 59–67.
266. Suzuki, K., Tsukada, N., Nishimura, N. et al. 2020. Bortezomib, lenalidomide, and dexamethasone in transplant-eligible newly diagnosed multiple myeloma patients: a multicenter retrospective comparative analysis. *International Journal of Hematology*. 111, 103–111.
267. Swerdlov, S., Campo, E., Harris, N. et al. 2016. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016; 127 (20): 2375–2390.
268. Szulc, P., Naylor, K., Houle, N. R. et al. 2017. Use of CTX-I and PINP as bone turnover markers: National Bone Health Alliance recommendations to standardize sample handling and patient preparation to reduce pre-analytical variability. *Osteoporos Int*. 28, 2541–2556.
269. Szulc, P., Naylor, K., Pickering, M. et al. 2018. Use of CTX-1 and PINP as bone turnover markers: National Bone Health Alliance recommendations to standardize sample handling and patient preparation to reduce pre-analytical variability. *Ann Biol Clin*. 76(4), 373–391.
270. Terpos, E., Kleber, M., Engelhardt, M. et al. 2015. European Myeloma Network Guidelines for the Management of Multiple Myeloma-Related Complications. *Haematologica*. 100(10), 1254–66.
271. Terpos, E., Ntanasis-Stathopoulos, I., Gavriatopoulou, M. et al. 2018. Pathogenesis of bone disease in multiple myeloma: from bench to bedside. *Blood Cancer Journal*. 8(1), 7.
272. Terpos, E., Berenson, J., Cook, R. et al. 2010. Prognostic variables for survival and skeletal complications in patients with multiple myeloma osteolytic bone disease. *Leukemia*. 24, 1043–1049.

273. Terpos, E., Berenson, J., Raje, N., Roodman, G. D. 2014. Management of bone disease in multiple myeloma. *Expert Rev Hematol.* 7, 113–125.
274. Terpos, E., Christoulas, D., Gavriatopoulou, M. 2017. Mechanisms of bone destruction in multiple myeloma. *Eur J Cancer Care.* 26(6).
275. Terpos, E., Christoulas, D., Kastritis, E. et al. 2014. The combination of lenalidomide and dexamethasone reduces bone resorption in responding patients with realapse/refractory multiple myeloma but has no effect on bone formation: Final results on 205 patients of the Greek myeloma study group. *American journal of Hematology.* 89(1), 34–40.
276. Terpos, E., Christoulas, D., Katodritou, E. et al. 2012. Elevated circulating sclerostin correlates with advanced disease features and abnormal bone remodeling in symptomatic myeloma: reduction post-bortezomib monotherapy. *Int J Cancer.* 131, 1466–1471.
277. Terpos, E., Dimopoulos, M. A. 2005. Myeloma bone disease: pathophysiology and management. *Ann Oncol.* 16, 1223–1231.
278. Terpos, E., Dimopoulos, M. A., Moulopoulos, L. A. 2016. The role of imaging in the treatment of patients with multiple myeloma in 2016. *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* 35, e407–e417.
279. Terpos, E., Dimopoulos, M. A., Sezer, O. 2008. The effect of novel anti-myeloma agents on bone metabolism of patients with multiple myeloma. *Eur J Haematol.* 80, 490–494.
280. Terpos, E., Dimopoulos, M. A., Sezer, O. et al. 2010. The use of biochemical markers of bone remodeling in multiple myeloma: a report of the International Myeloma Working Group. *Leukemia.* 24, 1700–1712.
281. Terpos, E., Kastritis, E., Christoulas, D. et al. 2012. Circulating activin-A is elevated in patients with advanced multiple myeloma and correlates with extensive bone involvement and inferior survival; no alterations post-lenalidomide and dexamethasone therapy. *Ann Oncol.* 23, 2681–2686.
282. Terpos, E., Kastritis, E., Dimopoulos, M. 2012. Prevention and treatment of myeloma bone disease. *Curr. Hematol. Malig. Rep.* 7, 249–257.
283. Terpos, E., Katodritou, E., Roussou, M. et al. 1991. High serum lactate dehydrogenase level as a marker for drug resistance and short survival in multiple myeloma. *Ann Intern Med.* 115, 931–935.
284. Terpos, E., Katodritou, E., Roussou, M. et al. 2010. High serum lactate dehydrogenase adds prognostic value to the international staging system even in the era of novel agents. *Eur J Haematol.* 85, 114–119.
285. Terpos, E., Kleber, M., Engelhardt, M. et al. 2015. European Myeloma Network Guidelines for the Management of Multiple Myeloma-related Complications. *Haematologica.* 10(100), 1254–1266.

286. Terpos, E., Mihou, D., Szydlo, R. et al. 2005. The combination of intermediate doses of thalidomide with dexamethasone is an effective treatment for patients with refractory/ relapsed multiple myeloma and normalizes abnormal bone remodeling, through the reduction of sRANKL/osteoprotegerin ratio. *Leukemia*. 19, 1969–1976.
287. Terpos, E., Morgan, G., Dimopoulos, M. A. et al. 2013 International Myeloma Working Group recommendations for the treatment of multiple myeloma-related bone disease. *J Clin Oncol*. 31(18), 2347–2357.
288. Terpos, E., Moulopoulos, L. A., Dimopoulos, M. A. 2011. Advances in imaging and the management of myeloma bone disease. *J Clin Oncol*. 29, 1907–1915.
289. Terpos, E., Politou, M., Rahemtulla, A. 2005. The role of markers of bone remodeling in multiple myeloma. *Blood Reviews*. 19, 125–142.
290. Terpos, E., Sezer, O., Croucher, P. L., Clark, O. A., Miladinovic, B., Glasmacher, A. et al. 2009. The use of bisphosphonates in multiple myeloma: recommendations of an expert panel on behalf of the European Myeloma Network. *Ann Oncol*. 20, 1303–1317.
291. Terpos, E., Szydlo, R., Apperley, J. F. et al. 2003. Soluble receptor activator of nuclear factor kappa B ligand-osteoprotegerin ratio predicts survival in multiple myeloma: proposal for a novel prognostic index. *Blood*. 102, 1064–1069.
292. Thorsteinsdottir, S., Gislason, G., Aspelund, T. et al. 2020. Fractures and survival in multiple myeloma: results from a population-based study. *Haematologica*. 105(4), 1067–1073.
293. Tian, E., Zhan, F., Walker, R. et al. 2003. The role of the Wnt-signaling antagonist DKK-1 in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma. *N Engl J Med*. 349, 2483–2494.
294. Ting, K., Brady, J., Hameed, A. et al. 2016. Clinical utility of C-terminal telopeptide of type 1 collagen in multiple myeloma. *British Journal of Haematology*. 173(1), 82–88.
295. Ting, K., Hameed, A., Brady, J. et al. 2013. Bone biomarkers are useful in monitoring myeloma bone disease and as early predictor for relapse disease in multiple myeloma. *Haematologica*. 98, 334, abstract P798.
296. Torra, R., Blade, J., Cases, A. et al. 1995. Patients with multiple myeloma requiring long-term dialysis: presenting features, response to therapy, and outcome in a series of 20 cases. *Br J Haematol*. 91(4), 854–859.
297. Tsuda, H., Yamasaki, H., Tsuji, T. et al. 2012. Therapy with lenalidomide plus dexamethasone-induced bone formation in a patient with refractory multiple myeloma. *Int J Hematol*. 95, 706–710.
298. Turesson, I., Bjorkholm, M., Blimark, C. H. et al. 2018, April 20. Rapidly changing myeloma epidemiology in the general population: Increased incidence, older patients, and longer survival. *Eur J haematol*. 237–244.

299. Turesson, I., Kovalchik, S. A., Pheiffer, R. M., Kristinsson, S. Y., Goldin, L. R., Drayson, M. T. et al. 2014. Monoclonal gammopathy of undetermined significance and risk of lymphoid and myeloid malignancies: 728 cases followed up to 30 years in Sweden. *Blood*. 123(3), 338–345.
300. Ulaner, G. A., Landgren, C. O. 2020. Current and potential applications of positron emission tomography for multiple myeloma and plasma cell disorders. *Best Practice & Research Clinical Haematology*. 33(1), 101148.
301. Vallet, S. et al. 2010. Activin A promotes multiple myeloma-induced osteolysis and is a promising target for myeloma bone disease. *Proc Natl Acad Sci Usa*. 107, 5124–5129.
302. Vallet, S., Hoyle, N. R., Kyle, R. A. et al. 2018. A role for bone turnover markers B-CrossLaps (CTX) and amino-terminal propeptide of type I collagen (PINP) as potential indicators for disease progression from MGUS to multiple myeloma. *Leuk Lymphoma*. 59, 2431–2438.
303. Van Rhee, F., Anaissie, E., Angtuaco, E. et al. 2010. Myeloma. In: Lichtman, M. A., Kipps, T. J., Seligsohn, U., Kaushansky, K. et al. eds. *Williams Hematology*. 8th ed. New York: McGraw-Hill.
304. Vashikaran, S. D., Chubb, S. A. 2016. The use of biochemical markers of bone turnover in the clinical management of primary and secondary osteoporosis. *Endocrine*. 52, 222– 225.
305. Velez, R., Turesson, I., Landgren, O., Kristinsson, S. Y., Cuzick, J. 2016. Incidence of multiple myeloma in Great Britain, Sweden, and Malmo, Sweden: the impact of differences in case ascertainment on observed incidence trends. *BMJ Open*. 6(1), e009584.
306. Vlot, M. C., den Heijer, M., de Jongh, R. T. et al. 2018. Clinical utility of bone markers in various diseases. *Bone*. 114, 215–225.
307. Vogel, M. N., Weisel, K., Maksimovic, O. et al. 2009. Pathological fractures in multiple myeloma undergoing bisphosphonate therapy: incidence and correlation with course of disease. *American Journal of Roentgenology*. 193, 656–661.
308. Vu, T., Gonsalves, W., Kumar, S. et al. 2015. Characteristics of exceptional responders to lenalidomide-based therapy in multiple myeloma. *Blood cancer J*. 5(10), e363.
309. Wada, S., Fukawa, T., Kamiya, S. 2009. Biochemical markers of bone turnover. New aspect. Bone metabolic markers available in daily practice. *Clin Calcium*. 19, 1075–82.
310. Wahner, H. W., Kyle, R. A., Beabout, J. W. 1980. Scintigraphic evaluation of the skeleton in multiple myeloma. *Mayo Clin Proc*. 55, 739–746.
311. Wajs, J., Sawicki, W. 2013. The morphology of myeloma cells changes with progression of the disease. *Wspolczesna Onkol*. 17(3), 272–275.

312. Walker, C. R., Brown, L. T., Jones-Jackson, L. B., de Blanche, L., Bartel, T. 2012. Imaging of Multiple Myeloma and Related Plasma Cells Dyscrasias. *The Journal of Nuclear Medicine*. 53(7), 1091–1101.
313. Walker, R., Barlogie, B., Haessler, J. et al. 2007. Magnetic resonance imaging in multiple myeloma: diagnostic and clinical implications. *J Clin Oncol*. 25, 1121–1128.
314. Walker, R. E., Eustace, S. J. 2001. Whole-body magnetic resonance imaging: techniques, clinical indications, and future applications. *Semin Musculoskelet Radiol*. 5, 5–19.
315. Walsh, M. C. and Choi, Y. 2014. Biology of the RANKL-RANK-OPG System in Immunity, Bone, and Beyond. *Frontiers in Immunology*. 5, 511.
316. Weide, R., Koppler, H., Antras, L. et al. 2010. Renal toxicity in patients with multiple myeloma receiving zoledronic acid vs. ibandronate: a retrospective medical records review. *J Cancer Res Ther*. 6, 31–35.
317. Wheeler, G., Elshahaly, M., Tuck, S. et al. 2013. The clinical utility of bone marker measurements in osteoporosis. *J. Transl. Med*. 11, 201.
318. Wolf, M. B., Murray, F., Kilk, K. et al. 2014. Sensitivity of whole-body CT and MRI versus projection radiography in the detection of osteolysis in patients with monoclonal plasma cell disease. *Eur J Radiol*. 83, 1222–1230.
319. Woolfenden, J. M., Pitt, M. J., Durie, B. G. M., Moon, T. E. 1980. Comparison of bone scintigraphy and radiology in multiple myeloma. *Radiology*. 134, 723–728.
320. Zaleckas, L., Stacevičius, M., Proškute, D., Povilaityte, J. 2015. Medication-related osteonecrosis of the jaws. The first reported cases in the Baltic States and a literature review. *Stomatologija. Baltic Dent Maxillofac J*. 17, 89–96.
321. Zamagni, E., Tacchetti, P., Cavo, M. 2019. Imaging in multiple myeloma: How? When? *Blood*. 133(7), 644–651.
322. Zamagni, E., Cavo, M. 2012. The role of imaging techniques in the management of multiple myeloma. *Br J Haematol*. 159, 499–513.
323. Zamagni, E., Cavo, M., Fakhri, B., Vij, R., Roodman, D. 2018, May. Bones in Multiple Myeloma: Imaging and Therapy. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 23,(38), 638–646.
324. Zamagni, E., Nanni, C., Gay, F. et al. 2016. 18-F FDG PET/CT focal ,but not osteolytic, lesions predict the progression of smoldering myeloma to active disease. *Leukemia*. 30, 417–422.
325. Zamagni, E., Nanni, C., Mancuso, K. et al. 2015. PET/CT improves the definition of complete response and allows to detect otherwise unidentifiable skeletal progression in multiple myeloma. *Clin Cancer Res*. 21, 4384–4390.

- 326. Zamagni, E., Nanni, C., Patriarca, F. et al. 2007. A prospective comparison of ¹⁸F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography- computed tomography, magnetic resonance imaging and whole-body planar radiographs in the assessment of bone disease in newly diagnosed multiple myeloma. *Haematologica*. 92, 50–55.
- 327. Zangari, M., Yaccoby, S., Pappas, L. et al. 2011. A prospective evaluation of the biochemical, metabolic, hormone and structural bone changes associated with bortezomib response in multiple myeloma patients. *Haematologica*. 96(2), 333–336.
- 328. Луговская, С. А., Морозова, В. Т., Почтарь, М. Е. 2016. Лабораторная гематология. Москва. 74–77.
- 329. Луговская, С. А., Козинец, Г. И. 2010. Гематология пожилого возраста. Москва. 166–167.
- 330. Луговская, С. А., Почтарь, М. Е. 2016. Гематологический атлас. Москва. 236–241.
- 331. Луговская, С. А., Почтарь, М. Е. 2018. Морфология клеток костного мозга в норме и патологии. Москва. 129–231.

Pielikumi

RSU Ētikas komitejas lēmums

Veidlapa Nr. E-9 (2) ^(*)

RSU ĒTIKAS KOMITEJAS LĒMUMS

Rīga, Drīzciema iela 16, LV-1007
Tel. 67409089

Komitejas sastāvs	Kvalifikācija	Nodarbošanās
1. Profesors Oļafs Brīvers	Dr.theo.	teologs
2. Profesors Viļa Sīle	Dr.phil.	filosofs
3. Asoc.prof. Santa Puvīša	Dr.med.	farmakologs
4. Asoc.prof. Voldemārs Amis	Dr.biol.	rehabilitologs
5. Profesors Ragnis Kleina	Dr.med.	psihologs
6. Profesors Guntars Pupelis	Dr.med.	ķirurgs
7. Asoc.prof. Viesturs Līguts	Dr.med.	mikrobiologs

Pieteikuma iesniedzējs: Dr. Daiga Anziņa
Tālrunskaimiņas fakultāte

Pētījuma nosaukums: „Kaulu metabolismu bioloģisko marķieru pētījumā
nosīme kaulu bojājuma attīstībā mēģenās slimniekiem”.

Iesniedzšanas datums: 10.06.2014.

Pētījuma protokols: Izskatot augstāk minēto pētījuma pieteikuma materiālus (protokolu) ir redzams, ka pētījuma mērķis tiek sasniegts veicot ar pacientiem, kas kāda apdraudējuma veselībai, klīniski-analītisku darbu (klīnisko, laboratorisko un radioloģisko izmeklējumu veikšana un datu savākšana), iegūto datu apstrādi un analīzi, kā arī izskatot priekšlikumus. Personu (pacientu, dalībnieku) datu aizsardzība, brīvprātīga informācija pieņemšana pieņemot pētījuma un konfidencialitāte tiek nodrošināta. Līdz ar to pieteikums atbilst biomedicīniskā pētījuma ētikas prasībām.

Iesakāmdrošības formulāri: ir

Pieņemšana piedalīties pētījumā: ir

Komitejas lēmums: piekrist pētījumam

Komitejas priekšsēdētājs Oļafs Brīvers

Tiņš: Dr. med., prof.

Pasakots

Ētikas komitejas sēdes datums: 27.05.2014.

Pacienta informācijas un piekrišanas veidlapa

Pacienta vārds, uzvārds _____

Dzimšanas gads, vieta _____

Adrese _____

Es, apakšā parakstīties/parakstījusies, paziņoju, ka esmu iepazīstināts/iepazīstināta ar pētījuma mērķi un brīvprātīgi piekrītu piedalīties pētījumā **“Mielomas pacientu bioķīmisko marķieru un morfoloģisko rādītāju prognostiskās nozīmes analīze kaulu slimības attīstībā”**. Neiebilstu pret asins paraugu nodošanu un arī pret tālāko manu analīžu kontroli slimības gaitā un izdarīto analīžu un izmeklējumu apkopojumu. Neiebilstu arī par papildu izmeklējumu veikšanu kaulu smadzeņu materiālā, kas man tiks paņemts, lai veiktu rutīnas morfoloģisko pārbaudi. Apliecinu, ka esmu ieguvis/ieguvusi pietiekamu informāciju no ārstējošā ārsta un pētnieka par pētījuma mērķi un nozīmi.

Pētījuma laikā iegūtie dati būs konfidenciāli un netiks izpausti trešajām personām. Atteikšanās no piedalīšanās pētījumā neietekmēs ārsta attieksmi pret pacientu un viņa ārstēšanu. Esmu informēts/informēta, ka jebkurā brīdī varu pārtraukt līdzdalību pētījumā.

Datums _____

Pētnieka vārds, uzvārds _____

Pacienta vārds, uzvārds _____