doi:10.25143/prom-rsu_2022-15_pd

RĪGAS STRADIŅA UNIVERSITĀTE

Jurijs Nazarovs

Multiplās mielomas morfoloģiskie un imūnhistoķīmiskie prognostiskie faktori un to korelācija ar saslimšanas klīniski laboratoriskajiem rādītājiem

Promocijas darbs zinātniskā doktora grāda
"zinātnes doktors (*Ph. D.*)" iegūšanai

Nozare – medicīnas bāzes zinātnes, tai skaitā farmācija
Apakšnozare – patoloģija

Rīga, 2022

RĪGAS STRADIŅA UNIVERSITĀTE

Jurijs Nazarovs

ORCID 0000-0001-9730-9837

Multiplās mielomas morfoloģiskie un imūnhistoķīmiskie prognostiskie faktori un to korelācija ar saslimšanas klīniski laboratoriskajiem rādītājiem

Promocijas darbs zinātniskā doktora grāda
"zinātnes doktors (*Ph. D.*)" iegūšanai

Nozare – medicīnas bāzes zinātnes, tai skaitā farmācija

Apakšnozare – patoloģija

Promocijas darba vadītājas:

Dr. med. emeritētā profesore **Regīna Kleina**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

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

Rīga, 2022

Anotācija

Multiplā mieloma ir salīdzinoši reti sastopams ļaundabīgs audzējs, kas veido ap 1 % no visiem onkoloģiskajiem saslimšanas gadījumiem un 13 % no hematoloģiskajiem audzējiem. Tā visbiežāk tiek diagnosticēta pacientiem, kas ir vecāki par 70 gadiem, 35 % pacientu ir jaunāki par 65 gadiem un ap 2 % slimnieku ir jaunāki par 40 gadiem.

Multiplās mielomas (MM) pētījuma aktualitāti nosaka gan Rietumu pasaulē, gan arī Latvijā pēdējos gados novērotā pieaugošā saslimstības tendence ar šo ļaundabīgo neoplāziju (Slimību profilakses un kontroles centra dati).

Pēdējos 20 gados pasaulē, pateicoties agrīnākai diagnostikai un mūsdienīgākiem MM ārstēšanas paņēmieniem, pacienti dzīvo 10–20 un pat vairāk gadus, piecu gadu dzīvildze ir palielinājusies līdz pat 50–60 %.

MM diagnostikā izmanto vairākus testus: seroloģiskos, radioloģiskos, citoloģiskos, histoloģiskos u. c., kas palīdz ne tikai diagnosticēt MM, bet arī noteikt tās prognozi un ārstēšanas efektivitāti. Neapšaubāmi, ievērojamu vietu MM gaitas paredzēšanā ieņem imūnhistoķīmiskie imeklējumi ar dažādu biomarķieru kombināciju noteikšanu kaulu smadzeņu trepānbiopsijās.

Darba mērķis bija novērtēt kaulu smadzeņu trepānbiopsijās morfoloģiskās un imūnhistoķīmiskās izmaiņas un salīdzināt tās ar klīniskajiem un laboratoriskajiem rādītājiem, lai noteiktu svarīgākos prognostiskos MM kritērijus pacientiem ar primāri diagnosticētu šo slimību tās dažādajās stadijās.

Pētījumā tika analizēti 122 slimnieku morfoloģiskie parametri: mielomas šūnu daudzums, mielomas šūnu procentuālais daudzums ar plazmoblastisku diferenciāciju un to infiltrācijas tipu, kā arī kaulu smadzeņu celularitāte un mielofibrozes pakāpe. Savukārt imūnhistoķīmiski tika izvērtēta aberanto un onkogēno marķieru (CD56, BCL2, p53, ciklīns D1, p21) ekspresija mielomas šūnās.

Visi nepārtauktie mainīgie tika aprakstīti kā vidējie aritmētiskie, datu izkliedes diapazons un 95 % ticamības intervāls. Imūnhistoķīmisko un morfoloģisko parametru korelācija ar klīniski laboratoriskajiem datiem tika veikta, izmantojot Spīrmena (*Spearman*) neparametrisko korelācijas testu. Neparametriskie un tostarp kategoriskie dati tika salīdzināti, izmantojot Manna–Vitnija U testu, bet parametriskie – ar divu izlašu t-testu.

Izanalizējot iegūtos rezultātus, tika secināts, ka kaulu smadzeņu histoloģisko datu izvērtējums pierāda, ka tādi morfoloģiskie parametri kā paaugstināta kaulu smadzeņu celularitāte, kaulaudu trabēkulu mikroosteolīze, augsts mielomas šūnu skaits, ievērojami paaugstināts mielomas šūnu procentuālais daudzums ar plazmoblastisku diferenciāciju, mielomas šūnu difūzais un jauktais infiltrācijas tips korelē ar sliktākiem klīniski

laboratoriskajiem prognostiskajiem parametriem: B2MKB, kreatinīna, M-gradienta līmeņa paaugstināšanos, bet albumīna, hemoglobīna līmeņa un nieru funkcijas samazināšanos, kā arī ar vēlīnākām MM stadijām pēc Salmona–Djurī klasifikācijas (SDK).

Tāpat tika konstatēts, ka CD56 marķiera ekspresijas izzušana un p53 antigēna pozitivitāte mielomas šūnās statistiski ticami korelē ar B2MKB paaugstināšanos un nieru bojājumu, kā arī ar hemoglobīna līmeņa un trombocītu skaita samazināšanos un vēlīnākām MM stadijām pēc SDK.

Ciklīna D1 antigēna ekspresija mielomas šūnās statistiski ticami korelē ar MM nelabvēlīgāku, agresīvāku gaitu, t. i., B2MKB, kalcija līmeņa paaugstināšanos serumā, biežākiem klīniski radioloģiski pierādītiem kaulu bojājumiem, patoloģiskiem lūzumiem un vēlīnākām MM stadijām pēc SDK.

Pētījumā tika pierādīts, ka pastāv statistiski ticama korelācija starp p21 antigēna ekspresiju mielomas šūnās un paaugstinātu M-gradienta līmeni serumā, bet samazinātu albumīna līmeni un vēlīnākām MM stadijām pēc SDK.

MM slimības gaitas prognozēšanai kaulu smadzeņu biopsijās iesaku noteikt šādas histoloģiskās izmaiņas: kaulu smadzeņu celularitāti, mielomas šūnu skaitu, mielomas šūnu procentuālo daudzumu ar plazmoblastisku diferenciāciju, mielomas šūnu infiltrācijas veidu, kā arī imūnhistoķīmiski noteikt aberanto un onkogēno imūnhistoķīmisko marķieru CD56, p53, ciklīna D1 ekspresiju.

Atslēgvārdi: *Multiple myeloma,* plazmoblastiska diferenciācija, CD56, p53, ciklīns D1.

Abstract

Morphological and Immunohistochemical Prognostic Factors of Multiple Myeloma and their Correlation with Clinical and Laboratory Indicators of Morbidity

Multiple myeloma accounts for 13% of hematologic malignancies. MM affects not only older people, but also persons of working age (35% of all) and 2% of patients are younger than 40 years.

The importance of MM research is denoted by the growing incidence of the disease in the Western world and in Latvia in recent years. MM incidence has increased from 4.06 in year 2008 to 5.5 in year 2017 per 100’000 inhabitants.

Over the last 20 years early diagnostics and novel treatment options have allowed for an increase in MM patient life expectancy up to 10–20 years after diagnosis, and the five-year survival rate has reached 50%.

The MM workup includes serological, radiological, cytological, and histological tests that allow to verify the diagnosis, estimate the prognosis and treatment efficacy. Immunohistochemical detection of a variety of biomarker combinations in bone marrow biopsies has an important prognostic role of MM.

The aim of the study was to find correlations between morphological, immunohistochemical features of the bone marrow with clinical and laboratory prognostic parameters and clinical stages of MM.

Bone marrow trephine biopsies of 122 MM patients were analysed: amount of plasma cells, percentages of myeloma cells with plasmablastic morphology, myeloma cell infiltration type, bone marrow cellularity, degree of myelofibrosis, aberrant and myeloma cells expression of oncogenic immunohistochemical markers – CD56, BCL2, p53, cyclin D1, p21.

The results were expressed as mean (M) ± standard deviation (SD) or percentage and range. Normality was assessed using the D’Agostino-Pearson omnibus normality test. Correlation between histological, clinical and laboratory parametric data were determined by Spearman's tests.

It was found that increased bone marrow cellularity, microosteolytic lesion, high myeloma cell numbers, increased percentage of the myeloma cells with plasmablastic morphology, diffuse and mixed myeloma cell infiltration patterns were associated with worse clinical and laboratory prognostic parameters such as elevated serum ß2 microglobulin and creatinine levels, higher M-protein, decreased albumin and haemoglobin levels, renal insufficiency, and advanced stages of Salmon-Durie classification.

We have proved that CD56 negative and p53 positive MM patients' groups correlate with the higher levels of ß2 microglobulin, renal insufficiency, low platelet count, decreased haemoglobin levels and advanced stages of Salmon-Durie classification.

A statistically significant correlation was found between cyclin D1 expression in myeloma cells and the following prognostically poor clinical and laboratory findings – increased ß2 microglobulin serum levels, hypercalcaemia, clinically and radiologically proven bone damage or fractures, advanced stages of Salmon-Durie classification.

There was proved that a statistically significant correlation exists between p21 antigen expression in myeloma cells and the following laboratory and clinical features: higher M-protein, decreased albumin level and advanced stages of Salmon-Durie classification.

We recommend to investigate bone marrow material with such a combination of histological changes: amount of plasma cells percentages of myeloma cells with plasmablastic morphology, myeloma cell infiltration type, bone marrow cellularity, aberrant and myeloma cells expression of oncogenic immunohistochemical markers – CD56, BCL2, p53, cyclin D1, p21for the prediction of MM course.

Keywords: Multiple myeloma, plasmablastic morphology, CD56, p53, cyclin D1.

Saturs

Darbā izmantotie saīsinājumi 8

Ievads 9
Darba mērķis 10
Darba uzdevumi 10
Darba hipotēze 11
Darba novitāte 11

1. Literatūras apskats 12
1.1. MM: definīcija, tipiska plazmocīta un tā antivielu vispārējais apraksts, etioloģija, vispārējais epidemioloģiskais un klīniskais raksturojums, slimības diagnostika, klīniskās klasifikācijas 12
1.2. MM vispārējais morfoloģiskais raksturojums 21
1.2.1. Kaulu smadzeņu celularitāte 21
1.2.2. Mielomas šūnu daudzums 22
1.2.3. Mielomas šūnu infiltrācijas tips 22
1.2.4. Mielomas šūnas ar plazmoblastisku diferenciāciju 23
1.2.5. Kaulaudu trabēkulu mikroosteolītiskie bojājumi 23
1.2.6. Kaulu smadzeņu fibrozes pakāpe 24
1.3. MM diagnostisko un prognostisko imūnhistoķīmisko marķieru raksturojums 24
1.3.1. CD56 antigēna ekspresija 24
1.3.2. BCL2 antigēna ekspresija 25
1.3.3. Ciklīna D1 antigēna ekspresija 26
1.3.4. p53 antigēna ekspresija 28
1.3.5. p21 antigēna ekspresija 30

2. Materiāls un metodes 31
2.1. Pētāmo datu raksturojums 31
2.2. Slimnieku klīniskie un laboratoriskie dati 31
2.3. Kaulu smadzeņu biopsijas histoloģiskās apstrādes, rutīnās krāsošanas un histoķīmiskās metodes 32
2.3.1. Audu apstrāde un rutīnās krāsošanas metode 32
2.3.2. Histoķīmiskās metodes 33
2.3.3. Imūnhistoķīmiskā krāsošanas metode un primārās antivielas 35
2.4. Iegūto datu statistiskās apstrādes metodes 36

3. Rezultāti 38
3.1. Pētāmās grupas klīniski laboratorisko datu raksturojums 38
3.2. Kaulu smadzeņu biopsijas morfoloģisko datu raksturojums 39
3.2.1. Kaulu smadzeņu celularitāte 39
3.2.2. Mielomas šūnu daudzums kaulu smadzenēs (CD138+) 42
3.2.3. Mielomas šūnu infiltrācijas tipa raksturojums 45
3.2.4. Mielomas šūnu ar plazmoblastisku diferenciāciju daudzuma raksturojums 50
3.2.5. Kaulaudu trabēkulu mikroskopiskie mikroosteolītiskie bojājumi 53
3.2.6. Kaulu smadzeņu mielofibrozes pakāpe 56
3.3. MM diagnostisko un prognostisko imūnhistoķīmisko marķieru raksturojums 58
3.3.1. CD56 58
3.3.2. BCL2 61
3.3.3. Ciklīns D1 62
3.3.4. p53 66
3.3.5. p21 70

4. Diskusija 72
Secinājumi 79
Literatūras saraksts 83
Pateicības 94
Pielikumi 95
1. pielikums 96
2. pielikums 97

Darbā izmantotie saīsinājumi

B2MKB	beta 2 mikroglobulīns
BCL-2	B-šūnu limfomas 2 (*B-cell lymphoma 2*) gēna proteīns
CD	klasteru diferenciācijas marķieris (*cluster of differentiation*)
CRO	C reaktīvais olbaltums
DAB	3,3′-diaminobenzidīna-tetrahidrohlorīda dihidrāta hromogēna šķīdums
EDTA	etilēndiamīntetraetiķskābe (*Ethylenediaminetetraacetic acid*)
FISH	fluorescentā *in situ* hibridizācijas metode (*fluorescence in situ hybridization*)
GFĀ	glomerulu filtrācijas ātrums (*glomerular filtration rate*)
H/E	hematoksilīns un eozīns
H_20_2	ūdeņraža pārskābe
Hb	hemoglobīns
IgA	imūnglobulīns A
IgG	imūnglobulīns G
ISS	starptautiskā klasifikācijas sistēma (*International Staging System*), ko izveidojusi Starptautiskā mielomas darba grupa
LDH	laktātdehidrogenāze
Lei	leikocīti
M	vidējais aritmētiskais (*mean*)
MM	multiplā mieloma
PAS	periodiskā skābes *Shiff* reakcija
SD	standarta deviācija (*standard deviation*)
SDK	Salmona–Djurī klasifikācija
SPKC	Slimību profilakses un kontroles centrs
TI	ticamības intervāls (*confidence interval – CI*)
TP53	tumora proteīna 53 gēns (*tumour protein 53*)

Ievads

Ar multiplo mielomu slimo ne vien vecāki cilvēki, bet arī personas darbspējas vecumā – 35 % no visiem pacientiem (Kazandjian, 2016), kā arī cilvēki, jaunāki par 40 gadiem, – ap 2 % no visiem pacientiem (Kyle et al., 2003). MM veido 13 % no ļaundabīgajām hematoloģiskajām slimībām un 1 % no visiem onkoloģiskajiem gadījumiem (Palumbo et al., 2011). Pēc dažādu autoru pētījumiem, MM pacientu vidējais vecums diagnosticēšanas brīdī ir 66–70 gadi (Noone et al., 2017; Kazandjian et al., 2016).

Pasaulē pēdējos 30 gados novēro MM incidences pieaugumu no 4,79 gadījumiem līdz 7,68 gadījumiem uz 100 000 iedzīvotājiem attiecīgi 1980. un 2015. gadā (Noone et al., 2017; Kazandjian et al., 2016). Latvijā tāpat kā citur pasaulē pēdējo 10 gadu laikā novēro MM saslimstības pieaugumu no 4,06 gadījumiem līdz 5,5 gadījumiem uz 100 000 iedzīvotājiem attiecīgi 2008. un 2017. gadā (SPKC, 2017).

MM riska faktori saskaņā ar literatūras datiem ir cilvēka herpesvīrusa-8 (HHV-8) ietekme uz organisma antiapoptozes regulāciju plazmocītos (Berenson et al., 1999), toksisko vielu iedarbība – naftas produkti, azbests (Linet et al., 1987), hroniskas slimības (cukura diabēts, aptaukošanās u. c.), kuru ietekmi uz MM attīstību skaidro ar iekaisuma citokīnu, piemēram, interleikīna-6, pārprodukciju (Beason et al., 2013; Srija et al., 2014). Jāatzīmē arī saslimšanas demogrāfiskais faktors: cilvēki dzīvo arvien ilgāk, un vidējais mūža ilgums pasaulē ir pieaudzis no 62,1 līdz 73,2 gadiem attiecīgi 1980. un 2020. gadā (anonīms autors, www.worldometers, 2020), līdz ar to arī MM ir novērojama biežāk.

Saistībā ar jaunākajām MM ārstēšanas iespējām pasaulē pēdējos 20 gados novēro lielāku pacientu skaitu ar piecu un vairāk gadu dzīvildzi. Piemēram, ASV saskaņā ar publicētajiem statistikas datiem piecu gadu dzīvildze pieaugusi no 25,9 % līdz 52,4 % attiecīgi 1978.–1980. gadā un 2008.–2014. gadā (Kazandjian et al., 2016; Noone et al., 2017; Moreau et al., 2017). Arī Latvijā, pateicoties mūsdienīgai terapijai, piecu gadu dzīvildze pēdējos gados pieaugusi līdz 50 % (Pildava, 2012 un Lejniece et al., 2014). Modernizējoties terapijas metodēm, arvien vairāk aktualizējas jautājums par MM agresivitātes klīniskās gaitas noteikšanu, izmantojot morfoloģiskos, imūnhistoķīmiskos, kā arī ģenētiskos parametrus, lai pacientam piemērotu individuālu terapijas veidu un devu. Tāpēc aktuāli ir pētījumi, kas nosaka histoloģiskās un imūnhistoķīmiskās īpatnības mielomas šūnās, kas var ietekmēt MM prognozi un ārstēšanas efektivitāti. Līdz ar to ir jāpalielina izmeklējamo morfoloģisko parametru skaits trepānbiopsijās, kas jāatspoguļo patologa slēdzienā.

Mielomas šūnu daudzums, to morfoloģija un infiltrācijas tips, kā arī sekundāras izmaiņas kaulu smadzenēs var palīdzēt hematologam prognozēt slimības gaitu (Park et al., 2016; Suarez-Londono et al., 2020; Korbet et al., 2006). Svarīgi ir noteikt tādu aberanto un

onkogēno marķieru ekspresiju kā CD56, BCL2, ciklīns D1, p53 u. c. (Skerget et al., 2018; Kumar et al., 2019; Padhi et al., 2013; Issaeva, 2019), jo arī šie imūnhistoķīmiskie rādītāji var paredzēt MM komplikāciju attīstību un dzīvildzi, kā arī palīdzēt patologam diagnostikā.

Daži kaulu smadzeņu histoloģiskie parametri klīniski var palielināt risku konkrētas MM komplikācijas attīstībā, piemēram, p53 ekspresijas gadījumos pacientiem novēro biežāku nieru bojājumu (Nag et al., 2013; Brooks et al., 2010; Hao et al., 2014), bet ciklīna D1 ekspresijas gadījumos biežāk konstatē kaulaudu bojājumus un / vai to patoloģiskus lūzumus (Wallin et al., 2011; Beason et al., 2013; Hsu et al., 2015).

Literatūrā ir salīdzinoši maz datu, kas apkopotu vairāku morfoloģiski imūnhistoķīmisko parametru korelācijas ar klīniski laboratoriskajiem parametriem un tās nozīmi MM gaitas prognozēšanā.

Tādēļ iepriekš minētie faktori nosaka izvēlētā promocijas darba tēmas aktualitāti, tās fundamentālo un praktisko nozīmi, lai prognozētu MM gaitu, kā arī precīzāk kontrolētu iespējamās MM mērķorgānu bojājuma komplikācijas.

Darba mērķis

Izvērtēt kaulu smadzeņu trepānbiopsijās morfoloģiskās un imūnhistoķīmiskās izmaiņas un salīdzināt tās ar klīniskajiem un laboratoriskajiem rādītājiem, lai noteiktu svarīgākos prognostiskos MM kritērijus pacientiem ar primāri diagnosticētu slimību tās dažādajās stadijās.

Darba uzdevumi

1. Apkopot primāri diagnosticētu MM pacientu epidemioloģiskos, klīniski laboratoriskos datus un veikt to novērtējumu.
2. Noteikt un analizēt kaulu smadzeņu bioptātos mielomas šūnu morfoloģiskos parametrus, izmantojot rutīnās, histoķīmiskās un imūnhistoķīmiskās krāsošanas metodes: mielomas šūnu daudzumu, mielomas šūnu procentuālo daudzumu ar plazmoblastisku diferenciāciju un infiltrācijas tipu, kā arī kaulu smadzeņu celularitāti un mielofibrozes pakāpi.
3. Izvērtēt morfoloģisko parametru korelāciju ar MM stadiju un klīniski laboratoriskajiem rādītājiem.
4. Analizēt imūnhistoķīmisko aberanto un onkogēno marķieru ekspresiju mielomas šūnās: CD56, BCL2, p53, ciklīns D1, p21. Izvērtēt šo marķieru ekspresijas biežumu un korelāciju ar MM stadiju un klīniski laboratoriskajiem rādītājiem, kā arī noteikt prognostisku marķieru nozīmīgumu slimības agresivitātes novērtēšanai.

5. Noteikt informatīvākos prognostiskos histoloģiskos parametrus, kuri statistiski ticami korelē ar MM klīniskajiem un laboratoriskajiem rādītājiem.

Darba hipotēze

Kaulu smadzenēs vairāki morfoloģiskie parametri un imūnhistoķīmisko marķieru ekspresija korelē ar MM klīniski laboratoriskajiem datiem, un tos var izmantot MM slimības gaitas prognozēšanā.

Darba novitāte

Pirmoreiz Latvijā tika izvērtēta vairāku potenciālo prognostisko, morfoloģisko un imūnhistoķīmisko parametru kombinācija un analizēta šo parametru saistība ar pacientu klīniski laboratoriskajiem datiem primāri diagnosticētas MM gadījumā.

Publicētajā literatūrā tika atrasti tikai atsevišķi, lielākoties aprakstoši, pētījumi par morfoloģiskajām, ar histoķīmiskajām metodēm noteiktām izmaiņām, tādām kā, piemēram, mikroosteolīze vai infiltrācijas tips. Līdz ar to mūsu pētījums ar salīdzinoši lielu slimnieku grupu, kurā veikta kaulu smadzeņu morfoloģiskā un imūnhistoķīmisko marķieru analīze saistībā ar klīniski laboratoriskiem rādītājiem, ir novitāte arī pasaules pētniecības līmenī.

Līdzšinējos morfoloģiskajos un imūnhistoķīmiskajos (CD56, BCL2, p53, ciklīns D1, p21 antigēnu ekspresijas) pētījumos dažādu institūtu un klīniku publikācijās tika vērtēta mielomas šūnu saistība ar dzīvildzi, terapijas efektivitāti vai ar salīdzinoši nelielu klīniski laboratorisko parametru apkopojumu (hemoglobīna, kalcija u. c. līmeni), kā arī pētījumi tika veikti salīdzinoši nelielās pacientu grupās, jo pacientiem lielā vecumā un ar smagām blakusslimībām trepānbiopsija ir kontrindicēta vai netiek uzskatīta par nepieciešamu.

Šie dati tiks izmantoti kā prediktīvi un prognostiski rādītāji, raksturojot MM attīstības gaitu.

1. Literatūras apskats

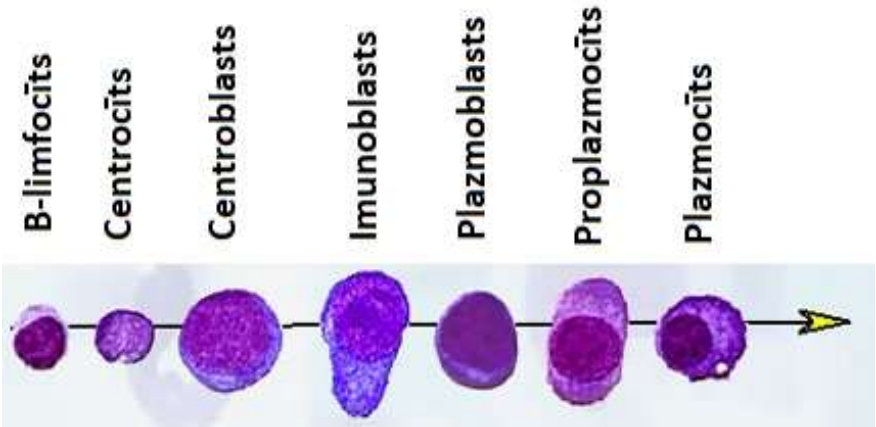
1.1. MM: definīcija, tipiska plazmocīta un tā antivielu vispārējais apraksts, etioloģija, vispārējais epidemioloģiskais un klīniskais raksturojums, slimības diagnostika, klīniskās klasifikācijas

Definīcija. MM ir monoklonālo atipisko plazmocītu jeb plazmatisko šūnu (mielomas šūnu) proliferācija kaulu smadzenēs, kas klasiskos gadījumos sintezē un izdala monoklonālu imūnglobulīnu asinīs un / vai urīnā (Singhal et al., 2006; Moreau et al., 2017), bet MM vēlīnās stadijās atipiskie plazmocīti lielā daudzumā parādās arī perifērajās asinīs. Monoklonālo imūnglobulīnu sauc arī par M-proteīnu jeb paraproteīnu.

Ir zināms, ka MM ir ļaundabīgs B limfocitāras izcelsmes audzējs, kas veidojas no folikulāro centru B limfocītiem, kuri savukārt diferencējas par plazmocītiem (Bergsagel et al., 2001).

MM ir vienīgais ļaundabīgais hematoloģiskais audzējs, kam raksturīgs osteolītisks skeleta bojājums ar skeleta destrukciju, patoloģiskiem lūzumiem, sāpēm kaulos un hiperkalciēmiju (Grogan et al., 2001).

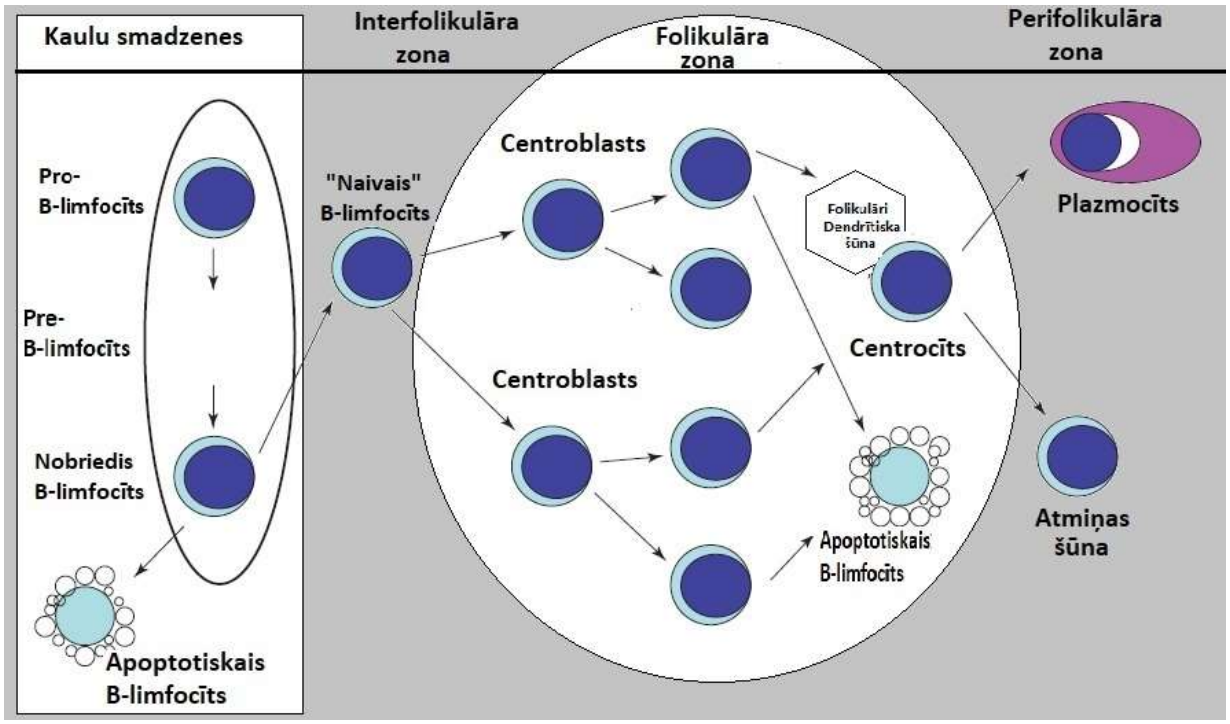
Normāla plazmocīta un tā sintezēto antivielu vispārējais apraksts. Normā jaunizveidotie B limfocīti (t. s. naivie limfocīti) no kaulu smadzenēm asinsrades procesa beigās ar asinsriti pārvietojas uz limfmezgliem vai liesu, kur to tālāko attīstību stimulē antigēni ar T limfocītu palīdzību, kad folikulu augšanas centrā aktivācijas rezultātā attīstās atmiņas B limfocīti un plazmoblasti, no kuriem pēc tam veidojas plazmocīti (1.1. un 1.2. attēls) (Faramarz Naeim, 2008; Hernani et al., 2012).



1.1. attēls. **Aktivēta B limfocīta attīstības secība līdz nobriedušam plazmocītam**

Attēls adaptēts no Bain et al., 2010.

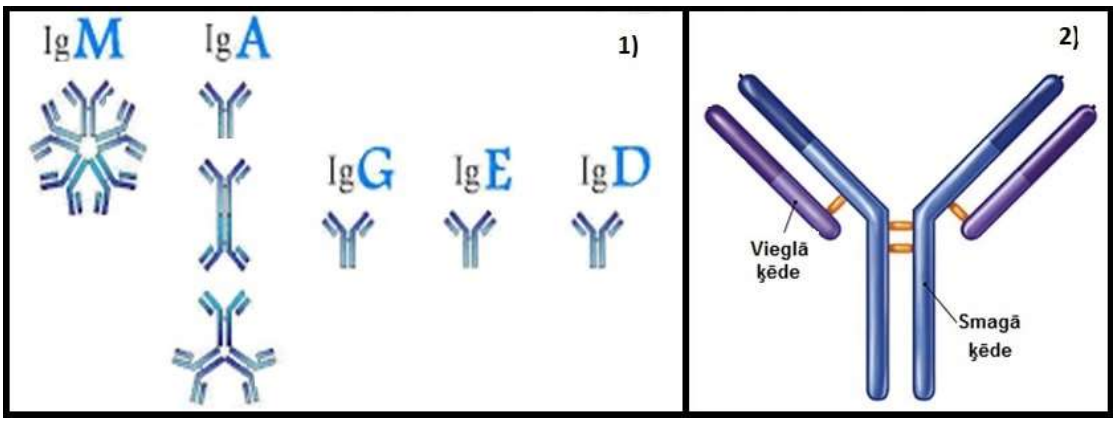
Plazmocīti ir ovālas formas šūnas ar izmēru 5 līdz 30 μm Ø un bagātu vāji bazofilu citoplazmu, kas satur labi attīstītu endoplazmatisko tīklu, kā arī gaišāku perinukleāro halo zonu, kuru veido Goldži komplekss. Plazmocītā bieži atrod eozinofilas krāsas ieslēgumus citoplazmā – Rasela (*Russell*) ķermenīši – vai kodolos – Datčera (*Dutcher*) ķermenīši. Ieslēgumi satur imūnglobulīnus. Rasela un Datčera ķermenīšus visbiežāk vizualizē plazmocītu saslimšanu gadījumos (Hernani et al., 2012; Naeim, 2008).



1.2. attēls. **B limfocīta attīstības un diferenciācijas shēma**

Attēla skaidrojums: naivais B limfocīts tiek stimulēts ar antigēnu, notiek klonāla izplatīšanās, kuras rezultātā folikulu augšanas centrā ar folikulāri dendrītisko šūnu palīdzību no centroblasta attīstās centrocīts, un gala rezultātā veidojas plazmocīts vai atmiņas B limfocīts.
Attēla autors Jurijs Nazarovs (datu avots Hernani et al., 2012).

Plazmocītu galvenie uzdevumi ir nodrošināt imunitāti, neitralizēt patogēnus mikrobus un vīrusus. Sekundes laikā plazmocīts var sintezēt no simta līdz vairākiem tūkstošiem antivielu molekulu. Sintezētās antivielas (imūnglobulīni) sastāv no divām smagām – α (alfa), γ (gamma), δ (delta), ε (epsilons) vai μ (mu) –, kā arī no divām vieglām – λ (lambda), κ (kapa) – ķēdēm, un atkarībā no smagās ķēdes klases izšķir 5 izotipus: IgA, IgG, IgD, IgE, IgM (1.3. attēls) (Naeim, 2008; Hernani, 2012).



1.3. attēls. **Cilvēka antivielas. Imūnglobulīnu izotipi (1) un struktūra (2)**

Attēls adaptēts no Cotran et al., 1999.

Diagnostika. MM diagnostikā izmanto vairākus laboratoriskus un radioloģiskus testus:

Pilna asinsaina (Hb, Lei, Tr līmenis), ar kuras palīdzību var noteikt mielomas šūnu ietekmi uz asinsradi, izvērtējot anēmijas esamību un tās smaguma pakāpi. Patoģenēzes galvenais mehānisms saistīts ar palielinātu mielomas šūnu infiltrāciju kaulu smadzenēs, kas samazina asins šūnu attīstību jeb asinsradi kaulu smadzenēs (Lokhorst et al., 2002; Riccardi et al.,1991; Maia et al., 2020).

Asins seruma un / vai urīna bioķīmiskie rādītāji (LDH, albumīns, kalcijs, kreatinīns, B2MKB) tiek noteikti, lai izvērtētu nieru un aknu funkcionālos traucējumus, kā arī kaulaudu bojājuma iespējamību.

- *LDH, albumīna* koncentrācijas noteikšanai ir prognostiska nozīme. Parasti slimības sākuma stadijā LDH koncentrācija nav paaugstināta, taču, pieaugot audzēja šūnu masai, LDH sāk pakāpeniski palielināties. LDH korelē ar dzīvildzes prognozi: jo augstāks LDH, jo sliktāka dzīves prognoze, īsāka dzīvildze.

Līdzīga nozīme ir arī seruma albumīna koncentrācijas noteikšanai.

- *B2MKB* ir MM slimības iznākuma prognostiskais rādītājs, to saista ar audzēja masas palielināšanos, kā arī to var izmantot kā nieru funkcijas rādītāju (Greipp et al., 2005; Singhal, et al., 2006).
- *Kreatinīna līmenis, GFĀ.* Galvenie nieru funkcijas rādītāji, norāda uz nieru iesaisti slimības norisē, kas liecina par slimības progresiju un prognozi (Greipp et al., 2005; Singhal, et al., 2006).
- *Kalcija līmenis.* Mielomas šūnas, stimulējot osteoklastus, veicina osteolīzi un kalcija līmeņa pieaugumu asinīs. Progresējot slimībai, pacientiem tiek novērots kalcija līmeņa pieaugums. Palielināta kalcija koncentrācija norāda uz MM kaulu lītiska procesa smaguma pakāpi (Cozzolino et al., 1989; Ong et al., 1995).

- *M-gradients* jeb paraproteīns. Seruma un urīna olbaltumvielu elektroforēze spēj noteikt M-gradienta (paraproteīna) esamību, kā arī to koncentrāciju. Savukārt precīzi paraproteīna veidu var noteikt, izmantojot imūnfiksāciju.

Urīnā paraproteīnu mēdz dēvēt par Bensa–Džonsa (*Bens-Jones*) proteīnu.

M-gradienta pieaugums serumā veicina disproteīnēmiju, disalbuminēmiju un EGĀ izmaiņas. EGĀ, kopējais olbaltums un albumīna līmenis klīniski nav specifiski kritēriji MM pacientiem, bet šo rādītāju izmaiņas ietekmē slimības prognozi (Lokhorst et al., 2002; Greipp et al., 2005; Singhal, et al., 2006; Moreau et al., 2017).

Radioloģiskie izmeklējumi. MM osteolītiskie bojājumi parasti parādās plakanajos kaulos (galvaskausa velves kauli, lāpstiņas, ribas un iegurņa kauli). Osteolītiskus bojājumus var atklāt ar šādiem radioloģiskiem izmeklējumiem – kaulu rentgenogrāfiju, datortomogrāfiju, magnētisko rezonanci vai pozitronu emisijas tomogrāfu PET (Cozzolino et al., 1989; Ong et al., 1995; Kumar et al., 2019).

Kaulu smadzeņu histoloģija (trepānbiopsija) ir svarīgs MM diagnostiskais, kā arī prognostiskais tests. MM tiek apstiprināta, ja mikroskopiski monoklonālo plazmocītu skaits pārsniedz 10 % no visām kaulu smadzeņu kodolu saturošām hemopoēzes šūnām (Kyle et al., 2017). Trepānbiopsijai, izmantojot gan histoķīmiskās, gan imūnhistoķīmiskās metodes, ir ne tikai diagnostiska, bet arī prognostiska nozīme (Bennett et al., 2009; Moreau et al., 2017; Sultan et al., 2018; Lonial et al., 2016; Kyle et al., 2017).

Kaulu smadzeņu un perifēro asiņu citoloģija ir salīdzinoši ātra un lēta metode, kas palīdz diagnosticēt MM, nosakot ne tikai palielinātu plazmocītu skaitu perifērajās asinīs vai kaulu smadzenēs, bet arī diagnosticējot šūnu atipiju plazmocītos (Hayhoe et al., 1976; Lokhorst et al., 2002). Galvenais histoloģiskais diagnostiskais kritērijs ir monoklonāla atipisko plazmocītu (CD138+) infiltrācija (virs 10 % nukleāro šūnu) kaulu smadzenēs (Kyle et al., 2017).

Plūsmas citometrija – standarta MM diagnostiska metode, kas ļauj noteikt arī vairāku aberantu prognostisko antigēnu ekspresiju mielomas šūnās. Plūsmas citometriju rekomendē izmantot arī MM ārstēšanas efektivitātes noteikšanā (Flores-Montero et al., 2016; Jelinek et al., 2017).

Ģenētiskie testi – palīdz prognozēt slimības gaitu un ārstēšanas efektivitāti. Piemēram, diagnosticējot t(4;14) un / vai t(14;16), paredz agresīvāku MM gaitu un rezultātā hematologam jāizvēlas agresīvāka terapija (Sonneveld et al., 2016; Fonseca, 2017).

1.1. tabulā atspoguļota vairāku klīniski laboratorisko un histoloģisko parametru nozīme MM diagnostikā, stadijas noteikšanā, slimības kontrolē, kā arī MM prognozes noteikšanā. Var secināt, ka, piemēram, hemoglobīna, kreatinīna un kalcija līmenim ir nozīme

M stadijas noteikšanā, kā arī slimības kontrolē un slimības prognozes noteikšanā. Savukārt kaulu smadzeņu trepānbiopsijas morfoloģijai tiek atvēlēta būtiska nozīme MM diagnostikā un slimības prognozes noteikšanā (Singhal et al., 2006).

1.1 tabula

Klīniski laboratoriskie izmeklējumi MM gadījumā un to klīniskā nozīme

Izmeklējumi	Klīniskā nozīme			
	Diagnozes noteikšana	**Stadijas noteikšana**	**Prognozes rādītājs**	**Slimības kontrole**
Hemoglobīna koncentrācija	+	+	+/–	+
Kalcija koncentrācija	+	+	–	+
Kreatinīna koncentrācija	+	+	+/–	+
CRO koncentrācija	–	–	+	+/–
LDH koncentrācija	–	–	+	+/–
Vieglo ķēžu koncentrācija	+/–	–	–	+/–
Albumīna koncentrācija	–	+	+	+/–
B2MKB koncentrācija	–	+	+	–
Imūnglobulīnu koncentrācija	+	+	–	+
Magnētiskā rezonanse	+/–	+/–	–	+/–
Pozitronu emisijas tomogrāfija	+/–	–	–	+/–
Kaulu smadzeņu morfoloģija	+	–	+	–
Kaulu smadzeņu citoģenētika	–	–	+	+/–

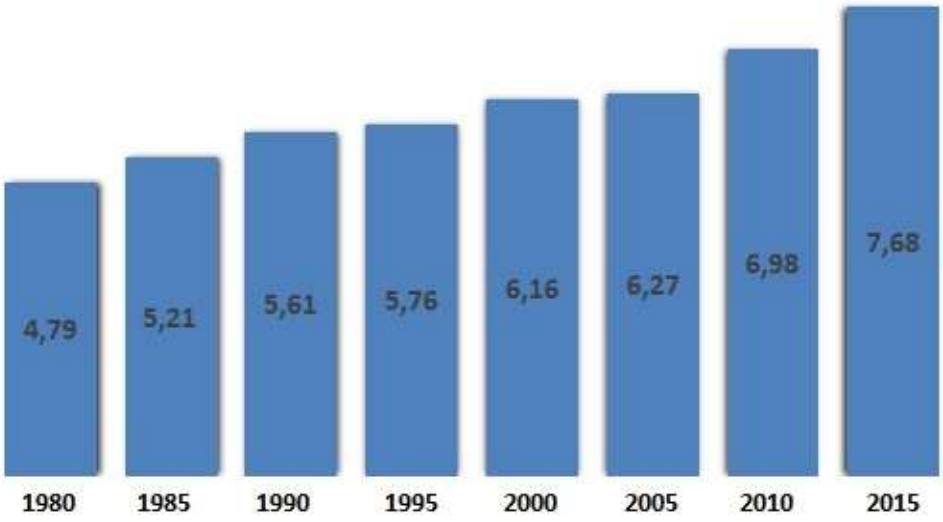
(+) – būtisks; (+/–) – lietderība nav viennozīmīga; (–) – nav noderīga.
Tabulas autors Jurijs Nazarovs (datu avots Singhal et al., 2006).

Vispārējais epidemioloģiskais raksturojums. MM veido ap 1 % no visiem onkoloģiskajiem saslimšanas gadījumiem un 10–13 % no visiem hematoloģiskajiem audzējiem (Palumbo et al., 2011) un ieņem otro vietu ne-Hodžkina limfomu grupā (Castaneda et al., 2019).

Rietumvalstīs pēdējos 35 gados novēro primāri diagnosticētas MM incidences pieaugumu (1.4. attēls) no 4,79 gadījumiem līdz 7,68 gadījumiem uz 100 000 iedzīvotājiem atbilstoši 1980. un 2015. gadā (Kazandjian et al., 2016; Noone et al., 2017).

Vidējais pacientu vecums jaunatklātajos MM gadījumos ir 66–70 gadi, bet ap 35 % pacientu ir jaunāki par 65 gadiem (Kazandjian et al., 2016), un ap 2 % ir jaunāki par 40 gadiem (Kyle et al., 2003).

Tā kā pēdējos 20 gados ir parādījušās modernākas terapijas iespējas, pasaulē novēro lielāku pacientu skaitu ar MM, kuri nodzīvo piecus un vairāk gadus. Piemēram, ASV, pēc publicētajiem statistikas datiem, piecu gadu dzīvildze pieauga no 25,9 % līdz 52,4 % atbilstoši 1978.–1980. gadā un 2008.–2014. gadā (Kazandjian et al., 2016; Noone et al., 2017).



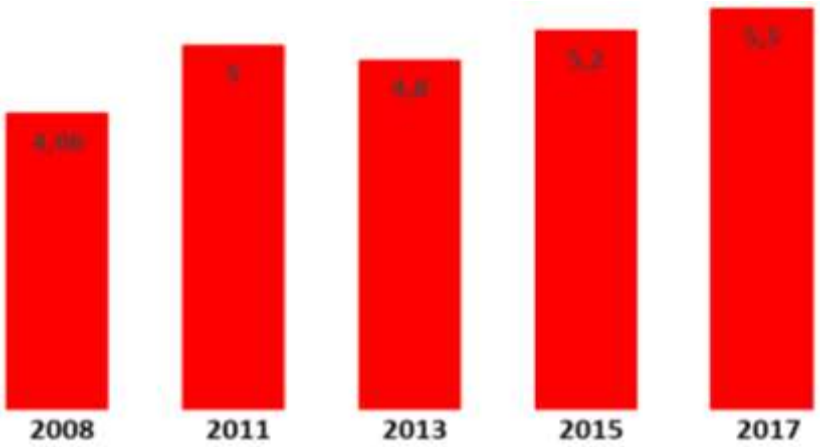
1.4. attēls. **Saslimstība ar MM rietumvalstīs uz 100 000 iedzīvotājiem ar piecu gadu intervālu**

Attēla autors Jurijs Nazarovs (datu avots Noone et al., 2017).

Latvijā, pēc SPKC publicētiem datiem, gadā tiek reģistrēti ap 100 pacientu ar MM, un līdzīgi rietumvalstīs pēdējo 10 gadu laikā novēro MM saslimstības pieaugumu (1.5. attēls) no 4,06 gadījumiem līdz 5,5 gadījumiem uz 100 000 iedzīvotājiem atbilstoši 2008. un 2017. gadā (SPKC, 2017). Piecu gadu dzīvildze Latvijā pēdējos gados ir no 30 līdz 50 %, un, pateicoties jaunākajiem ārstēšanas paņēmieniem, pacienti dzīvo 10–20 un pat vairāk gadus (Pildava, 2012 un Lejniece et al., 2014).

Etioloģija. Kā riska faktorus MM saslimšanā atzīmē profesijas, kas ir saistītas ar ilgstošu saskari ar naftu vai naftas produktiem, azbestu, kā arī ir pētījumi par MM attīstību cilvēkiem, kuri ilgstoši lietojuši caureju izraisošus līdzekļus (Linet et al., 1987). Pretrunīga ir cilvēka herpesvīrusa-8 (HHV-8) nozīme MM izcelsmē: vieni pētnieki atzīst, ka vīruss var izraisīt antiapoptozes regulācijas traucējumus (Berenson et al., 1999), bet citi to noliedz (Sadeghian et al., 2013).

Daļa zinātnieku uzsver, ka cilvēkiem ar aptaukošanos, kā arī cukura diabētu un hiperglikēmiju ir paaugstināts risks saslimt ar MM (Larsson et al., 2007; Tamayo et al., 2014), kas tiek skaidrots ar paaugstinātu iekaisuma citokīna, interleikīna-6 (IL-6) koncentrāciju, kuru producē adipocīti (Wallin et al., 2011). Savukārt *Beason* et al. (2013) pierāda, ka adipoziem MM slimniekiem vēlīnāk veidojas kaheksija, tādēļ slimībai ir salīdzinoši labvēlīga prognoze.



1.5. attēls. **MM saslimstība Latvijā uz 100 000 iedzīvotājiem 2008.–2017. gadā**

Attēla autors Jurijs Nazarovs (datu avots SPKC, 2017).

MM klīniskās klasifikācijas. 2003. gadā Starptautiskā MM darba grupa (*ISS*) publicēja izstrādātos un pieņemtos MM klīniskos variantus un to diagnostiskos kritērijus (1.2. tabula).

- **Simptomātiskā MM** – 1) monoklonāla > 10 % plazmocītu (mielomas šūnu) infiltrācija kaulu smadzenēs no visām kodolu saturošām šūnām un / vai histoloģiski apstiprināta plazmocitoma; 2) monoklonāla (IgG vai IgA) paraproteinēmija un / vai paraproteinūrija (Bensa–Džonsa olbaltums); 3) pierādīts mērķorgānu bojājums ar mielomas šūnu infiltrāciju: hiperkalciēmija un / vai nieru mazspēja un / vai anēmija (< 10 g dL) un / vai kaulu lītisks vai kompresijas bojājums (no angļu valodas saīsinājuma ***CRAB*** *–hiper**C**alcemia, **R**enal insuifficiency, **A**naemia, **B**one lesions*).
- **Asimptomātiskā / snaudošā MM** – 1) monoklonāla > 10 % plazmocītu (mielomas šūnu) infiltrācija kaulu smadzenēs no visām kodolu saturošām šūnām un / vai histoloģiski apstiprināta plazmocitoma; 2) monoklonāla (IgG vai IgA) paraproteinēmija un / vai paraproteinūrija (Bensa–Džonsa olbaltums); 3) netiek konstatēts mielomas šūnu mērķorgānu bojājums.
- **Nesekretorā MM** (1 % no MM) – 1) monoklonāla > 10 % no visām kodolu saturošām šūnām mielomas šūnu infiltrācija kaulu smadzenēs un / vai histoloģiski apstiprināta plazmocitoma; 2) netiek konstatēta paraproteinēmija un / vai paraproteinūrija; 3) netiek konstatēts mērķorgānu bojājums ar mielomas šūnām (Greipp et al., 2005).

1.2. tabula

MM klīniskie varianti un to diagnostiskie kritēriji*

Diagnostiskie kritēriji	Klīniskie varianti		
	Simptomātiskā MM	**Asimptomātiskā MM**	**Nesekretorā MM**
> 10 % plazmocītu kaulu smadzenēs un / vai plazmocitoma	IR	IR	IR
Paraproteinēmija vai paraproteinūrija	IR	IR	NAV
MM mērķorgānu bojājums (*CRAB*)	IR	NAV	NAV

* Tabulas autors Jurijs Nazarovs (datu avots Greipp et al., 2005).

MM klīnisko stadiju nosaka, izmantojot 1975. gadā M. Djurī un S. Salmona (Durie, Salmon, 1975) izstrādāto sistēmu, pēc vairākiem klīniskiem un laboratoriskiem parametriem, bet 2005. gadā izstrādātajā jaunajā *ISS* klasifikācijā tika ieteikts ņemt vērā B2MKB un albumīna līmeni asinīs, savukārt salīdzinoši nesen, 2015. gadā, *Palumbo* et al. *ISS* klasifikācijā ietvēra LDH līmeni un augsta riska citoģenētiskās aberācijas – t (4;14), t (14;16) vai del (17p) (1.3. tabula).

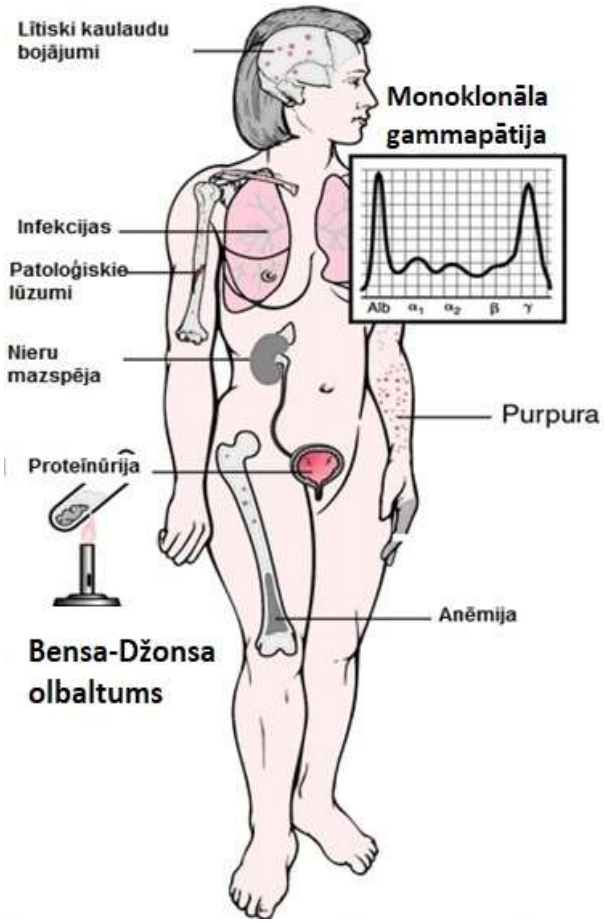
1.3. tabula

MM Salmona–Djurī klasifikācijas un *ISS* kritēriju salīdzinājums*

Stadija	SDK	Starptautiskā MM *ISS* darba grupas klasifikācija	Dzīvildze (mēneši)
I	Hemoglobīna koncentrācija > 100 g/L Normāla kalcija koncentrācija asinīs Nav kaulaudu bojājuma Zema paraproteīna koncentrācija: (IgA < 50 g/L vai IgG < 30 g/L) Bensa–Džonsa proteīns urīnā < 4g/dnn	ß2-mikroglobulīna koncentrācija asinīs < 3,5 mg/L; Albumīna koncentrācija < 35 g/L Nav augsta riska citoģenētiskas aberācijas LDH normas robežas (125–240 IU/L)	62
II	Pazīmes starp I un III stadiju	Izmaiņas starp I un III stadiju	44
III	Hb koncentrācija < 85 g/L Hiperkalciēmija (> 3 mmol/L) > 3 lītiski kaulaudu bojājumi Augsta paraproteīna koncentrācija : (IgA > 70 g/L vai IgG > 50 g/L) Bensa–Džonsa proteīns urīnā > 12g/dnn	ß2-mikroglobulīna koncentrācija > 5,5mg/L Augsta riska citoģenētiskas aberācijas un / vai Paaugstināts LDH līmenis (> 240 IU/L)	29

* Tabulas autors Jurijs Nazarovs (datu avots Greipp et al., 2005; Palumbo et al., 2015).

Klīnika. MM var norisināties ar dažādiem simptomiem, biežāk gan nespecifiskiem, bet ap 10 % gadījumu ir asimptomātiski (Lokhorst et al., 2002) (1.6. attēls).



1.6. attēls. **MM klīniskā aina un dažādu orgānu bojājums**

Attēls adaptēts no Damjanov, 2000.

1. Kaulu sāpes konstatē 50–90 % gadījumu, visbiežāk mugurkaulā. Šo simptomu saista ar to, ka osteoklastus aktivē mielomas šūnu producēti IL-1, IL-6, kā arī TNF, kuru rezultātā notiek kaula rezorbcija, kas manifestējas ar kaulu lītiskiem bojājumiem un patoloģiskiem lūzumiem. Visbiežāk kaulu bojājumi ir šādās lokalizācijās: galvaskausā, mugurkaulā, ribās un iegurņa kaulā (Kyle, 1975; Cozzolino et al., 1989; Ong et al., 1995; Maia, C. et al., 2020).
2. Infekcijas ir visbiežākais nāves iemesls pacientiem ar MM: ap 25 % pacientu mirst pirmo 6 mēnešu laikā pēc MM diagnosticēšanas, no kuriem ap 70 % mirst no dažādām bakteriālām (*Str. pneumoniae, H. influenzae* u. c.) un vīrusu infekcijām, tostarp sezonālās gripas (Riccardi et al., 1991; Snowdon et al.,1994; Ong et al., 1995).
3. Aktivitātes jeb tā sauktie B simptomi – drudzis, nakts svīšana, svara zudums – tiek novēroti ap 1 % MM gadījumu (Lokhorst et al., 2002).

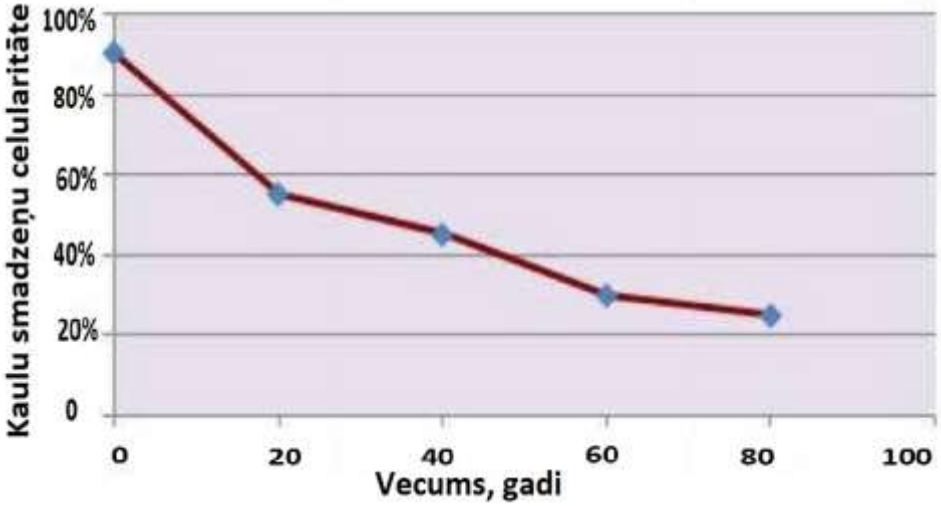
4. Nogurumu, sliktu dūšu konstatē 40–50 % pacientu ar MM, un to biežums korelē ar anēmijas smaguma pakāpi, kā arī hiperkalciēmiju un asins hiperviskozitāti. Anēmija visbiežāk saistīta ar nieru bojājuma izraisītu eritropoetīna koncentrācijas samazināšanos asinīs, kā arī ar eritropoēzes nomākumu sakarā ar mielomas šūnu producētiem citokīniem (Bataille et al., 1981; Lokhorst et al., 2002; Riccardi et al.,1991; Musto et al., 1998).
5. Neiroloģiska simptomātika slimniekiem novērojama salīdzinoši reti (ap 5 %), un visbiežāk tā ir saistīta ar mugurkaula līmiskiem bojājumiem, kas manifistējas ar radikulopātijām un perifēro neiropātiju (Lokhorst et al., 2002; Bataille et al., 1981; Ong et al., 1995). Papildus tām bieži vien attīstās paraproteinēmiskā polineiropātija, kas var izpausties ar jušanas un kustību traucējumiem, tirpšanas sajūtu un neiropātiskām sāpēm (Dispenzieri et al., 2005; Denier et al., 2006).
6. Redzes traucējumi saistīti ar tīklenes bojājumu, kuru var izraisīt disproteinēmija, asins hiperviskozitāte un asins izplūdumi (Lokhorst et al., 2002).
7. Nieru funkcijas traucējumi MM laikā parādās līdz pat pusei pacientu (Kyle et al., 2003; Hsu P. et al., 2015). MM var bojāt nieres vairākos veidos: kā mielomas cilindru nefropātija (*myeloma cast nephropathy*), AL-amiloidoze un / vai monoklonālu imūnodepozītu slimība (Ivanyi et al., 1990; Leung et al., 2008). Klīniski MM var izpausties ar šādiem sindromiem: akūts nieru bojājums, hroniska nieru slimība, Fankoni sindroms un nefrotiskais sindroms (Korbet et al., 2006).
8. Ādas bojājumi visbiežāk izpaužas ar purpuru, kura veidošanos saista ar trombocitopēniju, ādas amiloidozi un hiperviskozitātes sindromu (Lokhorst et al., 2002).

1.2. MM vispārējais morfoloģiskais raksturojums

1.2.1. Kaulu smadzeņu celularitāte

Kaulu smadzeņu celularitāte ir laukuma vai tilpuma attiecība starp hemopoēzes nukleārām šūnām un stromu, pārsvarā lipocītiem (Justesen et al., 2001). Dzīves laikā veseliem indivīdiem kaulu smadzeņu celularitāte samazinās (1.7. attēls). Dažādu ārējo un / vai iekšējo faktoru ietekmē celularitāte var samazināties, un šo stāvokli dēvē par hipocelularitāti, piemēram, pie aplastiskām anēmijām, toksiskiem bojājumiem u. c., vai arī palielināties – hipercelularitāte, piemēram, slimniekiem ar leikozēm, mieloproliferatīvām neoplāzijām u. c. (Gondek et al., 2014; Bennett et al., 2009; Sultan et al., 2018).

Kaulu smadzeņu celularitāte ir viens no svarīgākajiem nespecifiskajiem histoloģiskajiem parametriem, un tam ir prognostiska nozīme arī MM gadījumos. Paaugstināta celularitāte saskaņā ar literatūras datiem biežāk var asociēties ar agrīnāku MM stadiju un sliktāku prognozi (Bartl et al., 1987; Riccardi et al.,1990; Singhal et al., 2004).



1.7. attēls. **Kaulu smadzeņu normālas celularitātes skaitļi dažādās vecumgrupās**

Attēla autors Jurijs Nazarovs, datu avots: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/ pmc/articles/PMC2805199/pdf/nihms-159744.pdf [skatīts 17.10.2022.].

1.2.2. Mielomas šūnu daudzums

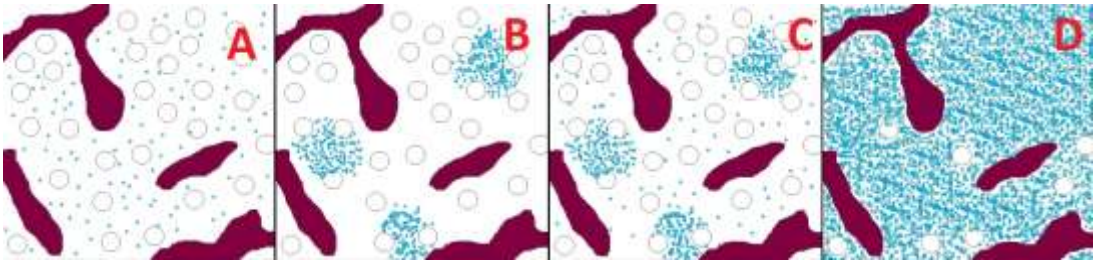
Plazmatisko šūnu vai mielomas šūnu daudzums, kas ir plazmocītu attiecība pret visām kodolu saturošām hemopoēzes šūnām kaulu smadzenēs, izteikts procentos, ir svarīgs MM diagnostiskais parametrs (Akhmetzyanova et al., 2019). Vairākos pētījumos šim parametram autori piešķir arī lielu prognostisku nozīmi, jo paaugstināts mielomas šūnu skaits pacientiem bieži saistīts ar īsāku dzīvildzi un vēlīnākām slimības stadijām (Singhal et al., 2004; Fujino, 2018; Dass et al., 2019).

1.2.3. Mielomas šūnu infiltrācijas tips

Kaulu smadzeņu patoloģisku infiltrāciju ar mielomas šūnām iedala 4 tipos: intersticiāls, fokāls, jaukts (intersticiāls un fokāls) un difūzs (1.8. attēls).

Senāki pētījumi, izvērtējot kaulu smadzeņu infiltrācijas tipu, konstatējuši, ka pacientiem ar intersticiālu infiltrācijas tipu ir salīdzinoši garāka dzīvildze nekā pacientiem ar difūzo un nodulāro infiltrācijas tipu (Sailer et al., 1995; Riccardi et al., 1990). Mums pieejamā literatūrā neatradām publikācijas par mielomas šūnu infiltrācijas tipu saistību ar vairākiem

klīniskiem prognostiskiem parametriem, piemēram, nieru funkcijas rādītājiem, LDH koncentrāciju u. c.



1.8. attēls. **Plazmatisko šūnu infiltrācijas tipu shematiskie attēli**

A – intersticiāls, B – fokāls, C – jaukts (intersticiāls un fokāls) un D – difūzs.
Attēla autors Jurijs Nazarovs (datu avots Bartl et al., 2002; Subramanian et al., 2009).

1.2.4. Mielomas šūnas ar plazmoblastisku diferenciāciju

Mielomas šūna ar plazmoblastisko diferenciāciju ir liela vai vidēji liela šūna ar centrāli novietotu nenobriedušu kodolu, vienu vai vairākiem kodoliņiem un vāji eozinofilo citoplazmu. Plazmoblastiska diferenciācija, pēc literatūras datiem, konstatēta 10–15 % pacientu ar primāri diagnosticētu MM (Subramanian et al., 2009; Rajkumar et al., 1999; Møller et al., 2015). Vairāki autori savos pētījumos to saista ar MM sliktāku prognozi, īsāku dzīvildzi (Greipp et al., 1985; Kuriakose et al., 1995; Jovanović et al., 2018), bet nav pētījumu par mielomas šūnu ar plazmoblastisku diferenciāciju ietekmi uz nieru funkcijas parametriem, kas ir svarīgs klīniskais rādītājs.

1.2.5. Kaulaudu trabēkulu mikroosteolītiskie bojājumi

MM izpaužas ar kaulaudu lītiskiem bojājumiem ar dažādu klīnisko simptomātiku, kas, pēc dažādiem literatūras datiem, konstatēta ap 80 % pacientu, un bojājuma plašums korelē ar slimības prognozes gaitu (Hameed et al., 2014; Vallet et al., 2018).

MM pacientiem trepānbiopsijās salīdzinoši bieži tiek konstatēti mikroskopiski mikroosteolīzes bojājumi, kurus var izmantot kā vienu no morfoloģiski konstatējamiem diagnostiskiem kritērijiem MM diagnostikā. Tikai atsevišķi pētījumi šo atradi saista ar slimības prognozi (Silbermann et al., 2013), un mūsu pētījumā tika iekļauts šis kritērijs, lai noskaidrotu tā nozīmi MM prognozē.

1.2.6. Kaulu smadzeņu fibrozes pakāpe

Kaulu smadzeņu mielofibrozes pakāpi nosaka, izmantojot histoķīmisko papildu krāsošanas metodi – Gordona retikulīna noteikšanas metodi, kuru izmanto rutīnā histoloģiskā diagnostikā, izmeklējot trepānbiopsijas (1.9. attēls).

1.9. attēls. **Kaulu smadzeņu fibrozes pakāpes shematiskie attēli**

A – 0. pakāpe, B – 1. pakāpe, C – 2. pakāpe, D – 3. pakāpe un E – 4. pakāpe.
Attēla autors Jurijs Nazarovs (datu avots Thiele, 2007).

Daļa autoru atzīmē, ka MM kombinācija ar smagākas pakāpes mielofibrozi korelē ar sliktāko prognozi, īpaši pacientu grupā ar pleomorfiski izmainītām mielomas šūnām (Krzyzaniak et al., 1988; Subramanian et al., 2007). Kaulu smadzeņu fibrozes pakāpes palielināšanos zinātnieki traktē arī kā reakciju uz ārstēšanu, bet tās nozīme vēl pagaidām nav pietiekami pierādīta (Hallgrimsdottir et al., 2013). Citi autori savos pētījumos neatrada statistiski ticamu saistību starp mielofibrozes pakāpi un MM prognozi (Pulsoni et al., 1993).

1.3. MM diagnostisko un prognostisko imūnhistoķīmisko marķieru raksturojums

1.3.1. CD56 antigēna ekspresija

Normā CD56 antigēns jeb NCAM (*Neural cell adhesion molecule)* ekspresējas neironos, gliālās šūnās, un tam ir izšķiroša nozīme neironu, kā arī sinapšu attīstībā un reģenerācijā (Ditlevsen, 2008). Hemopoētiskā CD56 antigēna ekspresija normā tiek konstatēta šūnās, kurām piemīt zināma līmeņa citotoksiskas īpašības, – NK šūnās (naturālie killeri), kā arī αβT / γδT limfocītos, dendrītiskās šūnās un monocītos (Van Acker et al., 2017).

Aberanta CD56 antigēna ekspresija mielomas šūnās tika atklāta 1990. gadā ar incidenci no 70 % līdz 80 %. Šo pozitivitāti nosaka kaulu smadzeņu parafīna griezumos, izmantojot imūnhistoķīmisko krāsošanas metodi, un / vai kaulu smadzeņu aspirātā vai perifērajās asinīs, izmantojot plūsmas citometrijas metodi (Harrington et al., 2009; Harada et al., 1993).

Aberanta CD56 antigēna trūkums mielomas šūnās bieži ir saistīts ar sliktāku prognozi, agresīvāku slimības izpausmi, īsāku dzīvildzi pacientiem ar primāri diagnosticētu MM. Šiem

pacientiem biežāk konstatē augstāku B2MKB līmeni, izteiktāku nieru bojājumu, trombocitopēniju, plašus kaulaudu bojājumus u. c., kā arī ķīmijterapijas zemāku efektivitāti (Hundemer et al., 2007; Rawstron et al., 1999; Sahara et al., 2002; Chang et al., 2006; Ceran et al., 2017; Skerget et al., 2018).

Daži autori, piemēram, *Dunphy* (2007) ar līdzautoriem, tomēr nekonstatēja korelāciju starp CD56 ekspresiju mielomas šūnās un klīniskajiem prognostiskajiem parametriem, kā arī ar pacienta dzīvildzi.

1.3.2. BCL2 antigēna ekspresija

B-šūnu limfomas-2 (*B-cell lymphoma-2*, BCL2) gēns, no kura tiek sintezēts BCL2 proteīns, ir viens no svarīgākajiem BCL2 ģimenes proteīniem. Tas tika atklāts pirms vairāk nekā 30 gadiem pētījumos ar folikulārām limfomām kombinācijā ar hromosomālu t (14;18) translokāciju (Tsujimoto et al., 1985 un Bakhshi et al., 1985). Tika konstatēts, ka BCL2 proteīna pārmērīga ekspresija inhibē apoptozi, savukārt BCL2 proteīna trūkums veicina apoptozes attīstību audzēju šūnās (Vaux et al., 1988).

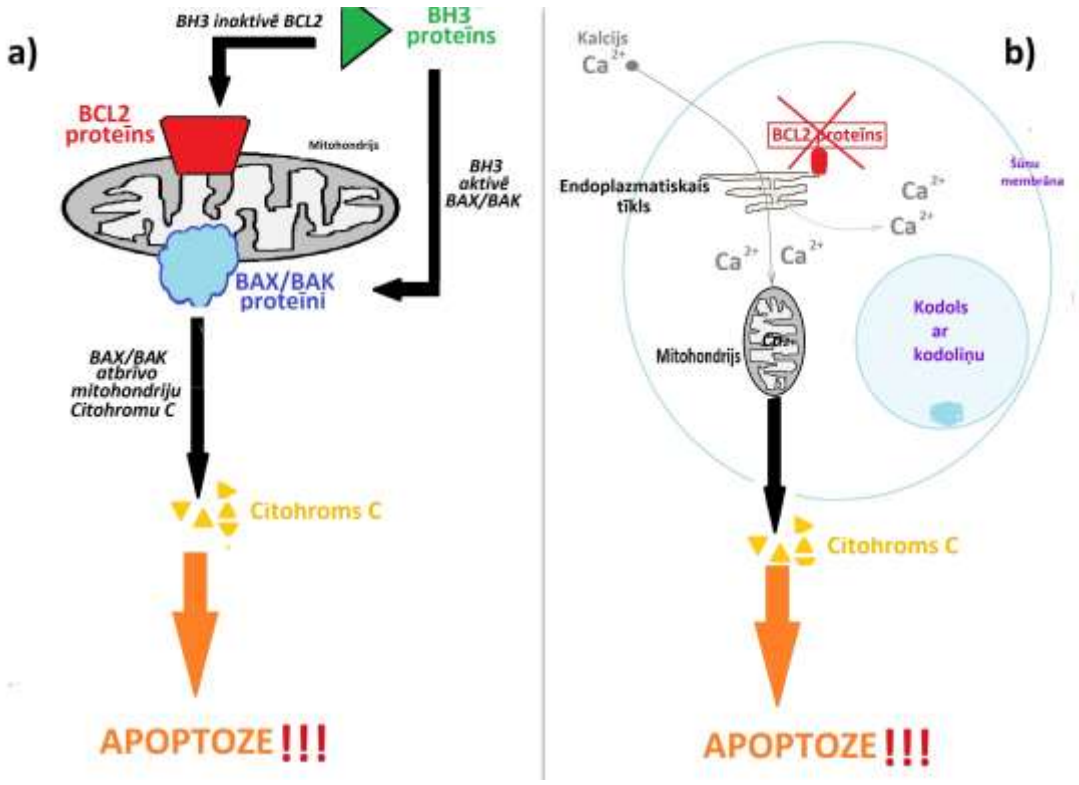
BCL2 antigēns ekspresējas mitohondriju ārējā membrānā, kā arī endoplazmatiskajā tīklā un kodolu membrānā (Wang et al., 2001). Dažādi šūnu bojājošie faktori aktivē BH3 proteīnu, inhibē mitohondrijā antiapoptotisko BCL2 proteīnu, un rezultātā tiek aktivēti BAX / BAK proapoptotiskie proteīni, kas atbrīvo citohromu C no mitohondrijiem, kam seko citohroma C atkarīgo kaspāžu aktivācija, kas savukārt beidzas ar DNS fragmentāciju un šūnu nāvi – apoptozi (Danial et al., 2007).

Cits šūnu apoptozes regulācijas mehānisms saistīts ar BCL2 proteīnu un kalcija līmeņa regulāciju šūnā (Bhatt et al., 2008). Proapoptotisko faktoru dēļ endoplazmatiskajā tīklā zūd BCL2 proteīns (1.10. attēls), kas noved pie kalcija izdalīšanās no tā šūnu citoplazmā. Palielinoties kalcija koncentrācijai citoplazmā, kā arī mitohondrijos, notiek dažādu apoptotisko faktoru stimulācija, kuru rezultātā mitohondriji izdala citohromu C ar kaspāžu aktivāciju un rezultātā šūnas iet bojā apoptozes ceļā (Heath-Engel et al., 2012 un Chiu et al., 2018).

Protoonkogēna BCL2 antigēna izteikta ekspresija ir konstatēta arī vairākās karcinomās: plaušu nesīkšūnu vēzī, nieru un kolorektālajos audzējos, un tas korelē ar sliktāku prognozi (Paraf et al., 1995; Pezzella et al., 1993; Hague et al., 1994; Touzeau et al, 2018).

Pacientiem ar primāri diagnosticētu multiplo mielomu BCL2 antigēna ekspresijas biežums ir ievērojami lielāks nekā pacientiem ar reaktīvām plazmocitozēm. Saskaņā ar literatūras datiem BCL2 ekspresiju novēro 97 % MM gadījumu (Miguel-García et al.,1998;

Wei et al., 2003). BCL2 ekspresivitātes biežums un dažkārt tās intensitāte variē atkarībā no mielomas šūnas atipijas pakāpes un var korelēt ar slimības stadiju (Korsrneyer, 1992).



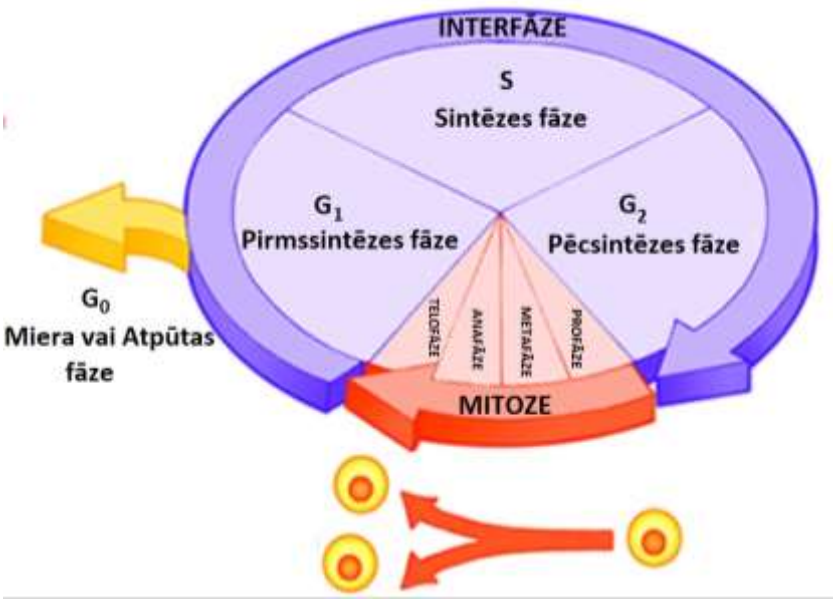
1.10. attēls. **BCL2 proteīna loma šūnu apoptozes attīstībā**

a) mitohondriāla BCL2 proteīna inaktivācijas ar sekojošu proapoptotisko BAX/BAK proteīnu aktivāciju;
b) endoplazmatiskā tīkla BCL2 proteīna inaktivācija ar sekojošu kalcija jonu koncentrācijas līmeņa pieaugumu mitohondrijā proapoptotiskā aktivācijā.
Attēla autors Jurijs Nazarovs (datu avots Germain et al., 2009; Strauss et al., 2008).

1.3.3. Ciklīna D1 antigēna ekspresija

Ciklīna D1 proteīns ir svarīgs šūnu cikla G1, S un G2 fāzes regulators, tas ir CCND1 gēna produkts, kas lokalizējas 11. hromosomas garajā plecā (11q13) (Padhi et al., 2013; de Falco et al., 2004; Alt et al., 2000).

Ciklīna D1 proteīns dimerizējas kopā ar CDK6 un CDK4 kināzēm, izveidojot ciklīna-D-CDK4/6 kompleksu, lai veicinātu un regulētu šūnu cikla (1.11. attēls) G1/S fāzi un to tālāku progresiju S fāzē. Progresiju S fāzē veicina arī retinoblastomas gēna proteīna (pRb) inaktivācija, tās fosforilācijas procesā ar izveidoto ciklīn-D-CDK4/6 kompleksu. pRb inaktivācija veicina atbildīgā gēna E2F aktivāciju ar sekojošu transkripciju (1.12. attēls) un tālāk attīstoties procesam pārejai S un mitozes fāzē (Donnellan et al., 1998; Alao et al., 2007; Stamatakos et al., 2010).

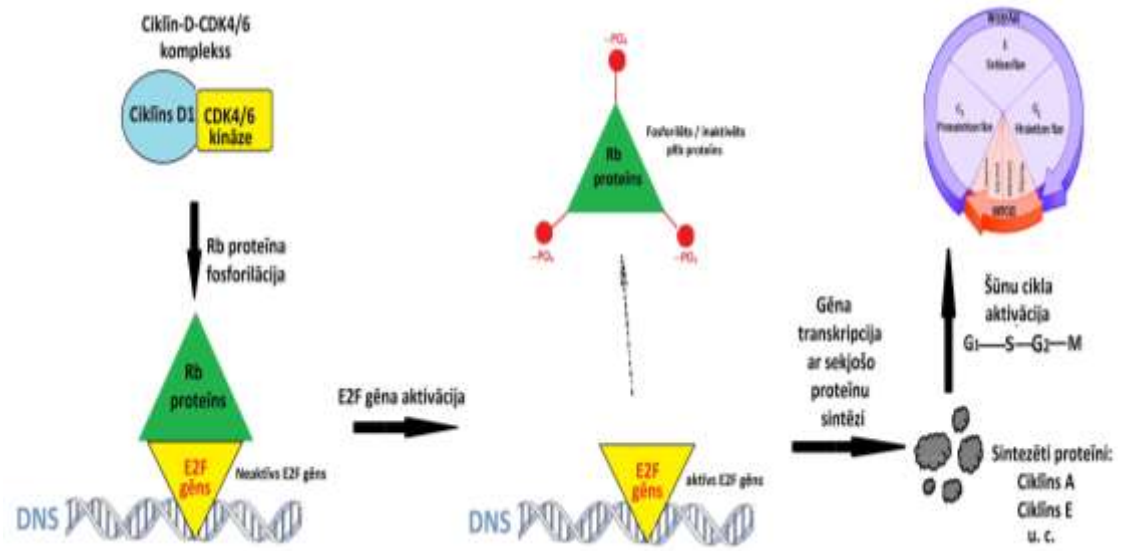


1.11. attēls. **Šūnas dzīves cikls**

Attēls adaptēts no https://blog.creative-bioarray.com/ different-phases-of-cell-cycle-and-its-main-events-within/ [skatīts 17.10.2022.].

CCND1 gēna amplifikācija audzējos, tostarp mielomas šūnās, izraisa ciklīna D1 proteīna hiperprodukciju, kas praktiski vienmēr imūnhistoķīmiski izpaužas ar ciklīna D1 ekspresijas pozitivitāti kodolos (Ooi et al., 2017; Sewify et al., 2014; Gautschi et al., 2017). Ciklīna D1 ekspresiju, izmantojot imūnhistoķīmisko metodi, konstatē no 20 līdz 50 % pacientu ar MM (Cook et al., 2006; Markovic et al., 2004; Padhi et al., 2013).

Ciklīna D1 ekspresijas palielināšanos saista ar audzēja agresīvāku gaitu, bet MM gadījumos šie dati nav viennozīmīgi (Yan et al., 2020). Daļa autoru pierāda, ka MM pacientu grupā ar CCND1 gēna amplifikāciju un ciklīna D1 ekspresiju statistiski ticami konstatē mazāku mielomas šūnu skaitu kaulu smadzenēs un labāku prognozi (Athanasiou et al., 2001), bet citi autori pierāda, ka mielomas šūnas ar ciklīna D1 ekspresiju liecina par nelabvēlīgāku prognozi, kas izpaužas ar sliktākiem laboratoriskajiem prognostiskajiem rādītājiem un īsāku dzīvildzi (Padhi et al., 2013; Cook et al., 2006). Ir pētījumi, kuros autori nav atraduši statistiski ticamu korelāciju starp ciklīna D1 ekspresiju un slimības klīniskajiem, laboratoriskajiem un histoloģiskajiem rādītājiem (Markovic et al., 2004; Dunphy et al., 2007).



1.12. attēls. **Ciklīna D1 loma šūnu cikla regulācijā**

Attēla autors Jurijs Nazarovs (datu avots Stamatakos, 2010; Hao et al., 2014; anonīms autors, 2017).

1.3.4. p53 antigēna ekspresija

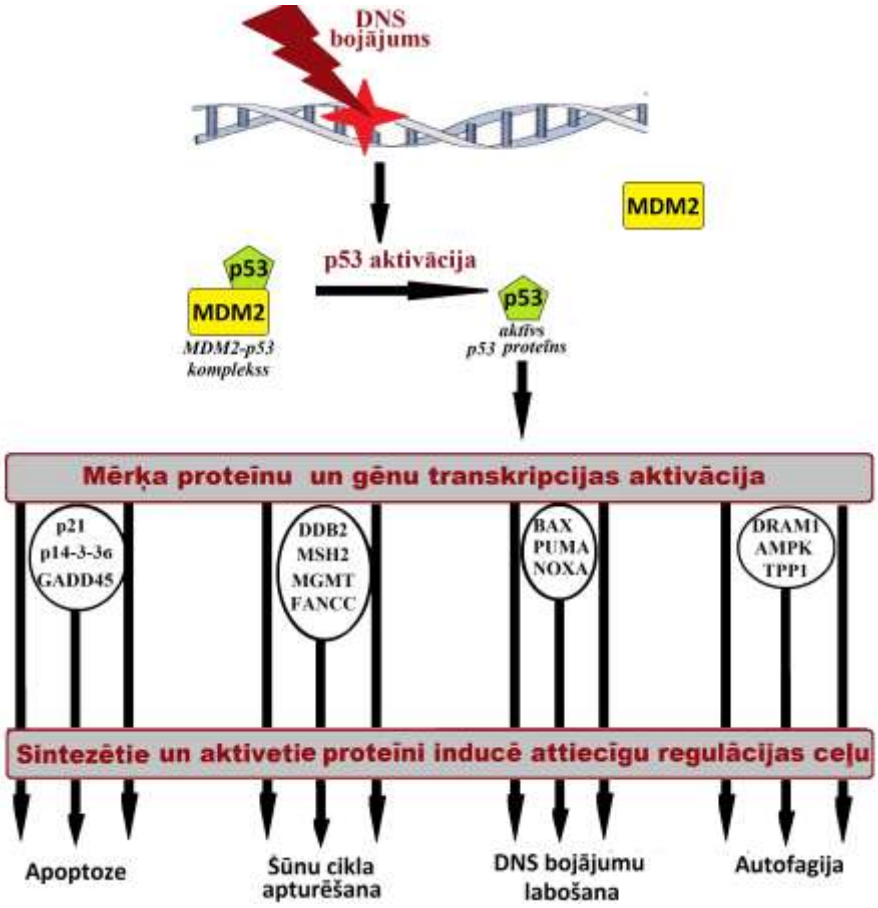
Antionkogēno proteīnu p53 kodē 17. hromosomas gēns TP53 (17p13.1) (Soussi, 2010). p53 proteīns ir svarīgs šūnu dzīves cikla regulators, kas, aktivizējoties dažādiem "šūnu iznīcinošiem" iekšējiem vai ārējiem faktoriem (piemēram, DNS bojājums, hipoksija, radiācija u. c.), veicina šūnu cikla apturēšanu (1.13. attēls), bojātas DNS atjaunošanu un gadījumos, ja DNS bojājumu nav iespējams likvidēt, šūnu apoptozi vai autofāgiju (Fischer, 2017). Sakarā ar to p53 proteīnu *Efeyan* ar līdzautoriem (2007) dēvē par genoma sargu (*the guardian of the genome*).

Veselā šūnā p53 proteīna koncentrācija ir zema un tā daudzuma regulācija saistīta ar onkogēnu proteīnu MDM2, kas, veidojot p53-MDM2 kompleksu, inhibē p53 proteīna aktivitāti (Nag et al., 2013). Viens no malignu audzēju ārstēšanas mehānismiem ir bloķēt MDM2 un p53 mijiedarbību un aktivizēt p53 proteīnu ar antionkogēno efektu saturošiem medikamentiem (Wade et al., 2013).

DNS bojājuma rezultātā aktivēts p53 proteīns atkarībā no šūnu cikla fāzes inducē p21, p14-3-3σ, GADD45 ģimenes proteīnu sintēzi, kuru galvenais mērķis izolēti vai mijiedarbojoties savstarpēji apturēt šūnu dzīves ciklu G1/S, S vai G2/M fāzē, bloķējot attiecīgas ciklīna atkarīgās kināzes (Chen, 2016; Giono et al., 2006).

Ja DNS bojājuma defekts netiek likvidēts (Williams et al., 2016), p53 proteīns inducē apoptozes attīstības mehānismu bojātā šūnā, palielinot mitohondriālās membrānas caurlaidību (1.10. attēls), aktivējot proapoptotiskus BAX / BAK proteīnus un bloķējot antiapoptotisko BCL2 proteīnu (Benchimol, 2001; Fridman et al., 2003).

p53 proteīns inducē šūnu autofāgiju, aktivējot specifiskus gēnu modulatorus (DAPK u. c.) un specifiskus proteīnus (AMPK u. c.), kas izraisa lizosomālo proteīnu aktivāciju (White, 2016; Mrakovcic et al., 2018).



1.13. attēls. **p53 proteīna galveno aktivācijas ceļu shēma**

Attēla autors Jurijs Nazarovs (datu avots Brooks et al., 2010; Hao et al., 2014).

Viens no kanceroģenēzes mehānismiem saistīts ar TP53 gēna mutāciju, kas izraisa p53 proteīna samazināšanos vai mutanta p53 proteīna sintēzi (Muller et al., 2014). Rezultātā tiek traucēta šūnu cikla regulācija, jo nav iespējams apturēt šūnas ciklu, veicināt DNS atjaunošanos un apoptozi, kā arī sintezētais mutantais p53 proteīns stimulē audzējaudu vielu maiņu un enerģijas piegādi, tādējādi veicinot audzēja proliferāciju un rezistenci pret ķīmijterapijas līdzekļiem, kā arī jonizējošo starojumu (Perri et al., 2016; Zhou et al., 2019).

Pacientiem ar MM TP53 gēna delēciju *del* (*17p13)(TP53*) konstatē ap 15 % gadījumu un to nosaka, izmantojot FISH (*in situ* hibridizācijas) metodi, kā arī imūnhistoķīmisko metodi, kas ir salīdzinoši lētāka un ērtāka interpretācijas ziņā, tās pozitivitāte gandrīz 90 % gadījumu sakrīt ar FISH metodi (Chen et al., 2012; Soussi, 2010).

Palielināta p53 nukleāra ekspresija MM gadījumos ir saistīta ar slimības agresīvāku gaitu un nelabvēlīgu klīnisku iznākumu (Kanavaros et al., 2000; Chen et al., 2012; Chang et al., 2007), kā arī šīs grupas pacientiem bieži konstatē rezistenci pret standarta ķīmijterapiju (Teoh et al., 2014; Herrero et al., 2016; Mikhael et al., 2019).

1.3.5. p21 antigēna ekspresija

p21 proteīns ir ciklīna atkarīgās kināzes inhibitors. Proteīna kodējošais gēns *CDKN1A* atrodas 6. hromosomā (6p21.2) (Liu et al., 2013; Collier et al., 2018). DNS bojājuma gadījumā p53 aktivē p21 proteīnu, kas, inaktivējot ciklīna E-ciklīnatkarīgas kināzes 2 (Cyclin E-CDK2) kompleksu, bloķē šūnu ciklu G1/S fāzē, inhibējot E2F gēna transkripciju (Blagosklonny et al., 2002; Jung et al., 2010; anonīms autors, 2021).

p21 antiapoptotiskās funkcijas blokādi arvien biežāk izmanto, lai uzlabotu ķīmijterapijas efektivitāti (Ogino et al., 2006; Liu et al., 2013; Maes et al., 2017; Argueta, 2017; Mei A. H.-C., 2020).

Saskaņā ar literatūras datiem p21 proteīna ekspresijai mielomas šūnās ir dažāda loma audzēja prognozē. Daļa zinātnieku (Khalid et al., 1998; Seo et al., 2003) publicē pētījumus, kuros p21 proteīna ekspresija mielomas šūnās, kā arī dažādu audzēju šūnās (piemēram, glioblastomās, kuņģa vēzī) korelē ar slimības sliktāku prognozi, bet citi autori ziņo, ka p21 ekspresijai nav nekādas statistiski ticamas korelācijas ar slimības gaitu un prognozi, piemēram, krūts un barības vada vēzī (Villwock, et al., 2006; O'Hanlon et al., 2002; Ohata et al., 2005).

p21 proteīna ekspresija mielomas šūnās bieži korelē ar palielinātu p53 proteīna ekspresiju un sliktāku slimības prognozi, kā arī ar biežāku rezistenci pret MM ķīmijterapijas līdzekļiem (Ohata et al., 2005; Kanavaros et al., 2000; Fulciniti et al., 2017; Mikhael et al., 2019).

2. Materiāls un metodes

2.1. Pētāmo datu raksturojums

Retrospektīvi tika analizēti Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas Ķīmijterapijas un hematoloģijas klīnikas 122 pacientu kaulu smadzeņu biopsijas un klīniski laboratoriskie dati ar primāri diagnosticētu MM laika periodā no 2011. gada līdz 2015. gadam.

Darbs izstrādāts saskaņā ar starptautisko Helsinku deklarāciju, Latvijas Republikas noteikumiem un RSU Ētikas komisijas atļauju Nr. 26-4/7/ 5 (25.06.2014.).

Klīnisko un laboratorisko izmeklējumu dati tika iegūti, analizējot slimnieku ambulatorās kartes un slimības vēstures.

2.2. Slimnieku klīniskie un laboratoriskie dati

Tika apkopoti dati par pacientu vecumu, dzimumu, kā arī laboratoriskie dati, kas veikti E. Gulbja laboratorijā (iekavās norādītas normas):

- B2MKB (0–3 mg/l);
- LDH (125–240 IU/l);
- albumīns (34–52 g/l);
- kopējā olbaltumviela (64–84 g/l);
- hemoglobīna līmenis (♂: 126–175 g/l, ♀ 118–161 g/l);
- trombocītu skaits (150–410x10^9 l);
- GFĀ pēc MDRD II (*Modification of Diet in Renal Disease*) formulas (> 90 ml/min);
- kreatinīns (♂: 62–115 µmol/l, ♀ 53–106 µmol/l);
- CRO (< 8 mg/l);
- kalcija līmenis (2,2–2,6 mmol/l);
- M-gradients (0 g/l);
- IgG (800–1800 mg/dl);
- IgA (40–400 mg/dl).

Slimniekiem tika noteikta klīniskā stadija pēc SDK. Tika izdalīta pacientu grupa ar rentgenoloģiski un / vai klīniski apstiprinātiem kaulaudu bojājumiem (lūzumi, osteolītiskie perēkļi vienā vai vairākos kaulos).

2.3. Kaulu smadzeņu biopsijas histoloģiskās apstrādes, rutīnās krāsošanas un histoķīmiskās metodes

Visi preparāti tika apstrādāti un krāsoti ar histoķīmiskām un imūnhistoķīmiskām krāsošanas metodēm pēc standarta protokoliem, kurus ikdienā izmanto RAKUS Patoloģijas centrā.

Kaulu smadzeņu trepānbiopsijas minimālais garums bija 5 mm un laukums 4,5 mm^2 (vidēji 7,6 mm^2).

2.3.1. Audu apstrāde un rutīnās krāsošanas metode

Kaulu smadzeņu biopsiju fiksācija, apstrāde un krāsošana ar H/E rutīnās krāsošanas metodi:

Kaulu smadzeņu bioptāti tika fiksēti 10 % neitrālā (pH = 7) buferētā formalīnā. Tie tika dekalcinēti, izmantojot *Microdecfast* šķidrumu (10 minūtes), un apstrādāti, izmantojot vakuuma procesoru (*Sakura Tissue-Tek VIP 5*), kā arī ieguldīti parafīna blokos. No katra iegūtā parauga veica līdz 5 μm plānus griezumus, kurus krāsoja ar rutīnās krāsošanas metodi – hematoksilīnu un eozīnu, kā arī izmantoja periodiskās skābes *Shiff* (PAS) reakciju, Gīmzas krāsošanas (*Giemsa stain*) un Gordona retikulīna noteikšanas metodi vai sudraba impregnāciju retikulārām šķiedrām (*Gordon & Sweet's reticulin silver staining*).

H/E rutīno krāsošanu veica, izmantojot standarta krāsošanas protokolu: tika veikti 5 μm plāni griezumi. Deparafinizāciju veica, tos ievietojot ksilolā istabas temperatūrā uz 10 minūtēm, tad skaloja 4 reizes, mainot 96 % etilspirtu, pēc tam paraugus skaloja 5 minūtes destilētā ūdenī, tad ievietoja uz 10 minūtēm hematoksilīna šķīdumā (*Mayer's hematoxylin, Bio-Optica*, Itālija) un skaloja krāna ūdenī, līdz griezums ieguva zilu krāsojumu, tad skaloja 1 minūti destilētā ūdenī. Sagatavotos griezumus krāsoja eozīna šķīdumā (*Eosin Y alcoholic solution, Bio-Optica*, Itālija). Iegūtos mikropreparātus noskaloja destilētā ūdenī, atūdeņoja 4 reizes, mainot 96 % etilspirtu, dzidrināja īslaicīgi karboksilolā un 3 minūtes ksilolā, tad attīrīja no liekā ksilola un, uzpilinot histoloģisko līmi, nosedza ar segstikliņu.

Pēc šīs metodes tādas audu bazofilās struktūras kā šūnu kodoli iekrāsojās zilā vai zili violetā krāsā, bet acidofilās, piemēram, šūnu citoplazma, kaulaudu trabēkulas, – rozā vai tumši sarkanā krāsā.

2.3.2. Histoķīmiskās metodes

PAS (*Shiff*) reakcija: uz noskalotiem ar destilēto ūdeni, deparafinizētiem un dehidratētiem 5 μm plāniem griezumiem uzpilināja jodskābes šķīdumu (A reaģentu) un inkubēja 10 minūtes, pēc tam tos noskaloja ar destilēto ūdeni, uzpilināja *Schiff* reaģentu (*Schiff Reagent Hotchkiss-McManus,* B reaģents), atstājot 20 minūtes. Paraugus noskaloja ar destilēto ūdeni un uzpilināja *Potassium methabisulphite* šķīdumu (C reaģentu), atstājot 2 minūtes, tad tos bez skalošanas izžāvēja un atstāja 2 minūtes ar uzpilinātu fiksējošo šķīdumu (D reaģentu), pēc tam skaloja destilētā ūdenī un inkubēja 5 minūtes *Mayer's Hemalum* šķīdumā. Iegūtos preparātus 5 minūtes skaloja krāna ūdenī, atūdeņoja spirtā, attīrīja ksilolā un ar histoloģisko līmi pielīmēja segstikliņu (*P.A.S. Periodic Acid Schiff Hotchkiss-McManus* krāsu / reaģentu komplekts, *Bio-Optica*, Itālija).

PAS reakcija ir histoķīmiska krāsošanas metode, kas dod pozitīvu reakciju (sārtā vai sarkanā krāsā) ar audu glikoproteīniem, polisaharīdiem, glikolipīdiem un mukopolisaharīdiem. Kodoli iekrāsojas zilā krāsā. Šī krāsošanas metode palīdzēja interpretēt kaulu smadzeņu hemopoēzes šūnu citoloģiskās īpašības, kā arī kaulaudu trabēkulu strukturālās patoloģiskās pārmaiņas (t. s. mikroskopisko osteolīzi).

Gīmzas krāsošanas metode: ar destilēto ūdeni noskalotus, deparafinētus un dehidratētus 5 μm plānus griezumus novietoja uz elektrostatiskiem stikliņiem, iegremdēja uz 10 minūtēm neatšķaidītā Gīmzas šķīdumā, pēc tam uz 10 sekundēm ievietoja 0,1 % etiķskābes šķīdumā un noskaloja ar destilēto ūdeni. Iegūtos preparātus dehidratēja etilspirtā, attīrīja ksilolā un ar histoloģisko līmi pielīmēja segstikliņus (*Giemsa Solution, BioGnost, Horvātija*).

Gīmzas krāsošanas metode palīdzēja interpretēt hemopoēzes šūnu un stromas īpatnības, audu bazofilās struktūras: šūnu kodoli iekrāsojās zilā krāsā, savukārt kolagēna šķiedras – gaiši zilā krāsā, bet acidofilās, piemēram, šūnu granulas, iekrāsojās oranžā vai sarkanā krāsā.

Gordona retikulīna noteikšanas metode jeb t. s. retikulāro šķiedru sudraba impregnācijas metode (*Gordon & Sweet's reticulin silver staining*): uz noskalotiem ar destilēto ūdeni, deparafinizētiem un dehidratētiem 5 μm plāniem paraugiem uzpilināja kālija permanganāta šķīdumu (A reaģentu) un skābes aktivācijas buferi (B reaģentu), atstājot 5 minūtes, pēc tam tos noskaloja destilētā ūdenī un uzpilināja skābeņskābes šķīdumu (C reaģentu), atstājot 3 minūtes, tad 2 reizes noskaloja ar destilēto ūdeni un uz 3 minūtēm atstāja ar uzpilinātu dzelzs amonija sulfāta šķīdumu (D reaģentu). Paraugus 2 reizes noskaloja ar destilēto ūdeni, tad 3 minūtes inkubēja ar amonija sudraba šķīdumu (E reaģentu), pēc tam noskaloja destilētā ūdenī un uz 3 minūtēm atstāja ar uzpilinātu formalīna šķīdumu ar pH = 7

(F reaģentu). Tad uz paraugiem, kuri iepriekš tika divas reizes skaloti destilētā ūdenī, uzpilināja nātrija tiosulfīta fiksējošo šķīdumu (G reaģentu), atstājot 3 minūtes. Iegūtos preparātus 5 minūtes skaloja krāna ūdenī, dehidratēja etilspirtā, attīrīja ksilolā un ar histoloģisko līmi pielīmēja segstikliņu (*Silver impregnation for reticulum, Bio-Optica,* Itālija).

Gordona retikulīna noteikšanas metode palīdzēja interpretēt kaulu smadzeņu fibrozes pakāpi, retikulārās šķiedras specifiski marķējot melnā krāsā, kolagēnu – zeltaini dzeltenā krāsā, bet saistaudus – pelēcīgi brūnā (tabakas) krāsā (1.9. attēls).

Sagatavotie preparāti tika analizēti, izmantojot gaismas mikroskopu *Zeiss* Lab.A1 (Vācija), kā arī mikropreparātu vizualizācijai papildus tika izmantota digitālā kamera *Axiocam ERc 5s* (Vācija) vairākos – 50×, 200×, 400× un 630× – palielinājumos.

Izmantojot rutīnās un histoķīmiskās, kā arī imūnhistoķīmiskās krāsošanas metodes, kaulu smadzeņu biopsijās noteicām:

1) kaulu smadzeņu celularitāti – hemopoēzes šūnu saliņu laukuma attiecību pret kaulu smadzeņu stromu, lipocītiem, izteiktu procentos, kas tika izrēķināta, izmantojot rutīnās un histoķīmiskās krāsošanas metodes, maksimāli pieejamos (no 6 līdz 15) redzes laukos 50× palielinājumā (Justesen et al., 2001);
2) mielomas šūnu daudzumu, izteiktu procentos, no kaulu smadzeņu visām kodolus saturošām šūnām: kaulu smadzeņu plazmocītu attiecību pret visām nukleārajām hemopoēzes šūnām, kas tika izrēķināta ar CD138 antivielas palīdzību maksimāli pieejamos redzes laukos 200× palielinājumā (Akhmetzyanova et al., 2019);
3) plazmatisko šūnu infiltrācijas tipu, iedalot to 4 veidos: A – intersticiāls, B – fokāls, C – jaukts (intersticiāls un fokāls) un D – difūzs (Bartl et al., 2002; Subramanian et al., 2009);
4) plazmatisko šūnu procentuālo daudzumu ar plazmoblastisku diferenciāciju. Plazmoblasti – vidēja izmēra šūnas ar vienu vai vairākiem kodoliņiem. To skaitu nosaka maksimāli pieejamos redzes laukos 400× palielinājumā (Subramanian et al., 2009; Rajkumar et al., 1999);
5) kaulaudu trabēkulu mikroskopisku mikroosteolītisku bojājumu – ir vai nav (Hameed et al., 2014; Vallet et al., 2018; Silbermann et al., 2013);
6) mielofibrozes esamību un tās pakāpi: 0. pakāpe (nav); 1. pakāpe – perēkļveida viegla retikulāra fibroze; 2. pakāpe – difūza rakstura viegla retikulāra fibroze; 3. pakāpe – difūza vai fokāla "rupji" izteikta retikulāra fibroze un 4. pakāpe – smagas pakāpes fokāla vai difūza rakstura kolagēna fibroze (Thiele et al., 2005).

2.3.3. Imūnhistoķīmiskā krāsošanas metode un primārās antivielas

Imūnhistoķīmiskajai antigēna ekspresijas izpētei tika izmantoti 3–4 μm biezi trepānbiopsijas griezumi, kas tika novietoti uz elektrostatiski lādētiem priekšmetstikliņiem (*HistoBond*, Vācija) un inkubēti 24 stundas termostatā 37 ºC temperatūrā. Paraugiem tika veikta deparafinizācija ar ksilolu (10 minūtes) un dehidratācija 95 % (3 minūtes) un 75 % (3 minūtes) etilspirta šķīdumā.

Antigēna demaskēšanai tika izmantots svaigi gatavots EDTA 0,01 mmol/l nātrija citrāta buferēts (pH = 9,0) šķidrums (*Dako*, Dānija), kurā ievietoja paraugus un pēc tam uz trim cikliem pa 10 minūtēm katru ievietoja mikroviļņu krāsnī (jauda 750 W). Pēc demaskēšanas atdzesētus preparātus 10 minūtes inhibēja ar 3 % H_20_2, lai neitralizētu endogēnās peroksidāzes aktivitāti. Pēc atdzesēšanas un skalošanas *TRIS* (tri-etanolamīna) buferī paraugus 60 minūtes 37 ºC temperatūrā apstrādāja ar primārām antivielām (2.1. tabula).

Primāro antivielu reaktivitāte tika noteikta, izmantojot ar sekundāro antivielu konjugēto polimēru sistēmu (*EnVision kit, Dako,* Dānija) ar ilgumu 30 min. Imūnās reakcijas vizualizācijai tika lietots DAB šķīdums, inkubējot tajā 5–7 minūtes. Pēdējā etapā preparāti tika noskaloti destilētā ūdenī, tad 1 minūti kontrastēti ar Meijera (*Mayer's*) hematoksilīnu (šūnu kodolu vizualizācijai) un dehidratēti divas reizes pa 5 minūtēm 96 % etilspirtā un 5 minūtes ksilolā, iegūtie preparāti tika noskaloti tekošā ūdenī un pārklāti ar segstikliņiem.

2.1. tabula

Pētījumā izmantoto primāro antivielu raksturojums

Antiviela	Klons	Ražotājs	Atšķaidījums
CD138	M15	*Dako*	Gatavs lietošanai
Ciklīns D1	SP4	*Dako*	Gatavs lietošanai
p53	Do-7	*Dako*	Gatavs lietošanai
BCL2	124	*Dako*	Gatavs lietošanai
CD56	123C3	*Dako*	1:50
p21	DCS-60.2	*Cell Marque*	1:50

Par pozitīvu reakciju tika uzskatīts šūnu struktūrelementu – kodola, citoplazmas vai plazmolemmas (2.2. tabula) – brūns krāsojums (DAB+H_2O_2 reakcija).

CD138 pozitīvo šūnu jeb mielomas šūnu daudzumu izteicām procentos no visām nukleārām šūnām kaulu smadzenēs. Savukārt CD56, BCL2 antigēna un kapa / lambda vieglās ķēdes ekspresiju interpretējām kā pozitīvu, ja bija marķētas vairāk par 10 % no visām mielomas šūnām (Pruneri et al., 2002).

2.2. tabula

Pozitīvas imūnhistoķīmiskās reakcijas interpretācijas raksturojums

Antiviela	Antigēna ekspresijas lokalizācija	Pozitīvas reakcijas interpretācija
CD138	Plazmolemmā	Pozitīvo šūnu skaits no visām nukleārām šūnām, procentos
Ciklīns D1	Kodolos	Pozitīva vai negatīva ekspresija
p53	Kodolos	Pozitīva vai negatīva ekspresija
BCL2	Citoplazmā	Pozitīva vai negatīva ekspresija
CD56	Plazmolemmā	Pozitīva vai negatīva ekspresija
p21	Kodolos	Pozitīva vai negatīva ekspresija

Ciklīna D1 un p53 ekspresiju raksturojām, izmantot puskvantitatīvu sistēmu, sadalot marķieru pozitivitāti 2 pakāpēs:

- pozitīvs – augstas vai vidēji augstas intensitātes marķiera ekspresija > 10 % malignās šūnās;
- negatīvs – vājas vai ļoti zemas intensitātes marķiera ekspresija līdz pat tās zudumam vai augstas un vidēji augstas intensitātes ekspresija < 10 % maligno šūnu (Pruneri et al., 2002).

Imūnhistoķīmiskās pozitīvās kontroles grupā bija trīs pacientu mugurkaula operācijas materiāls ar diagnozi "deformējošs spondilīts" ar hroniska iekaisuma infiltrāciju, bet par negatīvo kontroli tika izmantotas pašas kaulu smadzeņu biopsijas audu negatīvās struktūras – endotēlijs, lipocīti, kaulaudi, megakariocīti u. tml. struktūras.

2.4. Iegūto datu statistiskās apstrādes metodes

Iegūtie rezultāti tika apkopoti un apstrādāti ar *Microsoft Excel 2016* un *Graph Pad Prism* 5. versijas (Amerikas Savienotās Valstis) datorprogrammas palīdzību.

Visi nepārtrauktie mainīgie tika aprakstīti kā vidējie aritmētiskie (*Mean* ± SD), datu izkliedes diapazons un 95 % TI.

Imūnhistoķīmisko un morfoloģisko parametru korelācija ar klīniski laboratoriskajiem datiem tika veikta, izmantojot Spīrmena neparametrisku korelācijas testu, ar kura palīdzību aprēķināja ciešuma kvantitatīvo rādītāju – korelācijas koeficientu (r_s) – ar attiecīgu korelācijas koeficienta interpretāciju (2.3. tabula). Rezultāti tika uzskatīti par statistiski ticamiem, ja p vērtība bija mazāka par 0,05 ($p < 0,05$).

Neparametriskie un tajā skaitā kategoriskie dati (dzimums, klīniskā stadija, kaulu lūzumi, paraproteīna klase) tika salīdzināti, izmantojot Manna–Vitnija U testu, bet parametriskie – ar divu izlašu t-testu. Salīdzināmās grupās ar nekategoriskiem parametriem

tika veikts normālsadalījuma Dagostīno–Pīrsona (*D'Agostino-Pearson*) tests. Par nozīmīgu atšķirību pieņēma rezultātus, kuru p vērtība bija mazāka par 0,05.

Mielomas šūnas 4 infiltrācijas tipu grupas klīniskos un laboratoriskos parametrus salīdzinājām, izmantojot *one-way ANOVA* ar neparametrisku Kraskela–Valisa (*Kruskal-Wallis*) testu.

2.3. tabula

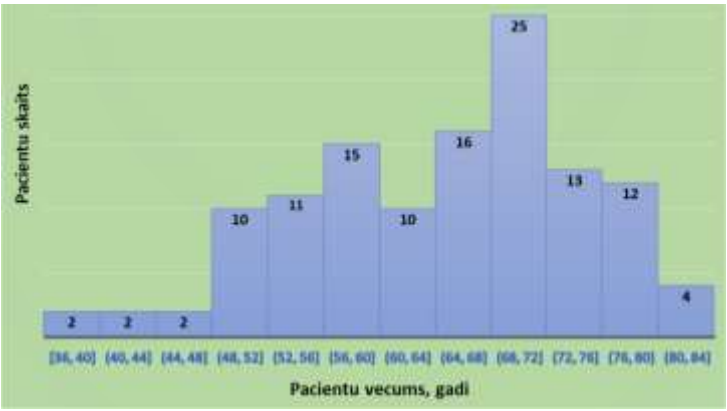
Korelācijas koeficienta vērtības interpretācija

Korelācijas koeficienta vērtība	Korelācijas vērtība
r > 0,7	Cieša korelācija
r = 0,3–0,7	Vidēji cieša korelācija
r < 0,3	Vāja korelācija

3. Rezultāti

3.1. Pētāmās grupas klīniski laboratorisko datu raksturojums

Pētījumā tika analizēti 122 pacienti ar klīniski laboratoriski un histoloģiski apstiprinātu MM. No tiem 53 bija vīrieši un 69 sievietes vecumā no 36 līdz 82 gadiem, vidējais vecums 64,88 ± 10,01 gadi. Pētāmās grupas pacientu sadalījums pēc vecuma bija atbilstošs normālam sadalījumam $p < 0,05$ (normālsadalījuma Dagostīno–Pīrsona tests) un ir norādīts 3.1. attēlā.



3.1. attēls. **Pacientu sadalījums pēc vecuma ar piecu gadu intervālu**

Pacientu sadalījums pēc SDK bija šāds: I A un I B stadija tika noteikta 24 pacientiem (20 %); II A un II B stadija tika noteikta 55 (45 %) pacientiem, bet III A un III B stadija bija 43 pacientiem (35 %).

Visbiežākais paraproteīna paveids, kurš pacientiem tika pierādīts, bija IgG – 80 pacientiem (66 %), savukārt IgA – 23 pacientiem (19 %). Bensa–Džonsa (*Bence-Jones*) mieloma tika konstatēta 14 pacientiem (11 %), bet 5 pacientiem (4 %) bija klīniski un histoloģiski apstiprināta nesekretorā MM.

Rentgenoloģiski un / vai klīniski apstiprināti kaulaudu bojājumi (lūzumi, osteolītiskie perēkļi vienā vai vairākos kaulos) tika konstatēti 78 pacientiem (64 %).

Paraproteinūrija tika konstatēta 75 pacientiem (51,5 %). Visi pētāmās grupas laboratorisko testu rezultāti atspoguļoti 3.1. tabulā.

3.1. tabula

Pētāmas grupas laboratorisko datu raksturojums

Laboratoriskie testi	M ± SD 95 % TI	Norma*
Hemoglobīna līmenis, g / dl	101,9 ± 18,43 95 % TI 98,57–105,2	♂: 126–175 ♀: 118–161
Trombocītu daudzums, 10^9 l	218,5 ± 87,78 95 % TI 202,8–234,8	150–410
Kopējā olbaltuma līmenis, g/l	90,99 ± 25,76 95 % TI 86,38–95,61	64–84

3.1. tabulas turpinājums

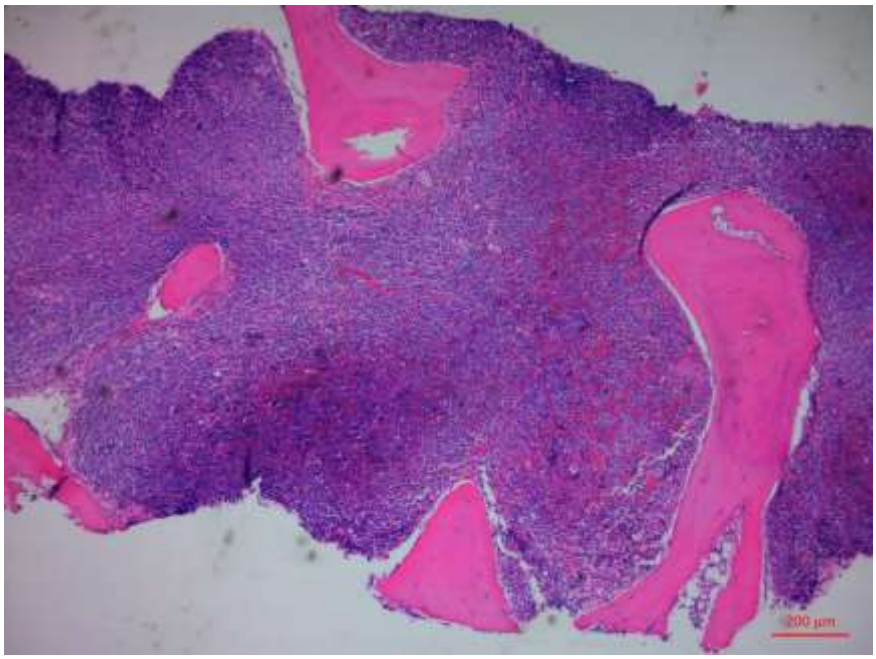
Laboratoriskie testi	M ± SD 95 % TI	Norma*
Albumīna līmenis, g/l	40,65 ± 20,14 95 % TI 37–44,26	34–52
M-gradienta līmenis, g/l	28,13 ± 18,28 95 % TI 24,82–31,43	0
Kreatinīna līmenis, µmol/L	127,3 ± 156,2 95 % TI 99,25–155,3	♂: 62–115 ♀: 53–106
GFĀ, ml/min	78,17 ± 46,67 95 % TI 69,8–86,53	> 90
Kalcija līmenis, mmol/L	2,39 ± 0,28 95 % TI 2,34–2,44	2,2–2,6
B2MKB līmenis, mg/dL	4,9 ± 4,47 95 % TI 4,1–5,7	0–3
LDH līmenis, IU / l	361,6 ± 111,3 95 % TI 340,4–382,9	125–240
CRO līmenis, mg/l	18,1 ± 42,22 95 % TI 10,53–25,67	< 8

* E. Gulbja laboratorija.

3.2. Kaulu smadzeņu biopsijas morfoloģisko datu raksturojums

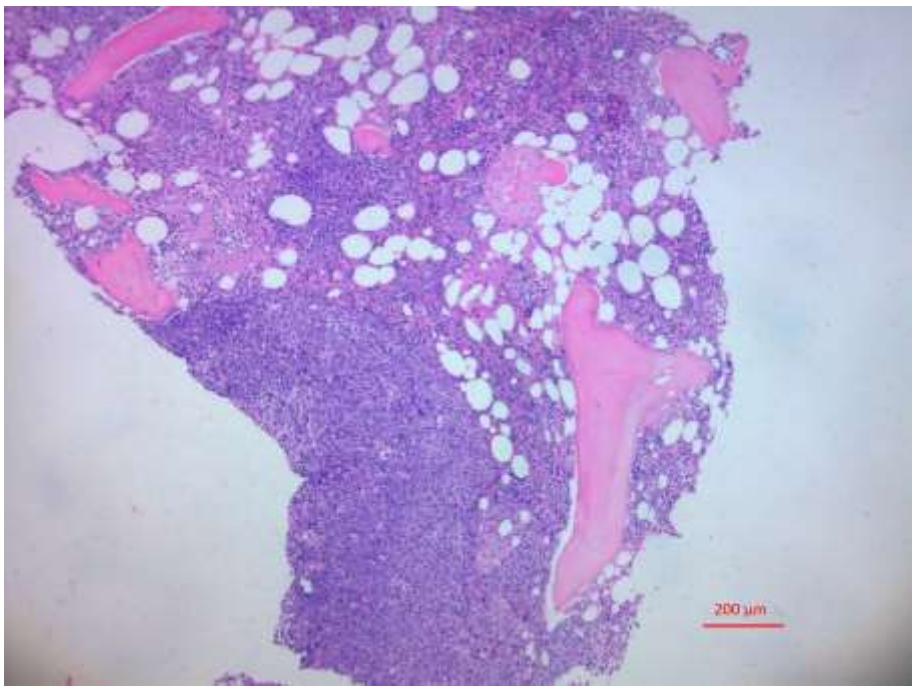
3.2.1. Kaulu smadzeņu celularitāte

Kaulu smadzeņu celularitāte, izteikta procentos, svārstījās no 15 % līdz 95 % (vidēji 57,87 ± 20,64) un ar 95 % TI 54,17–61,57 %. Visbiežākais celularitātes līmenis pētāmo pacientu grupā bija intervālā no 50 % līdz 55 %, bet retākais – no 15 % līdz 20 % (3.2. un 3.3. attēls).



3.2. attēls. **Kaulu smadzeņu 100 % celularitātes fokuss**

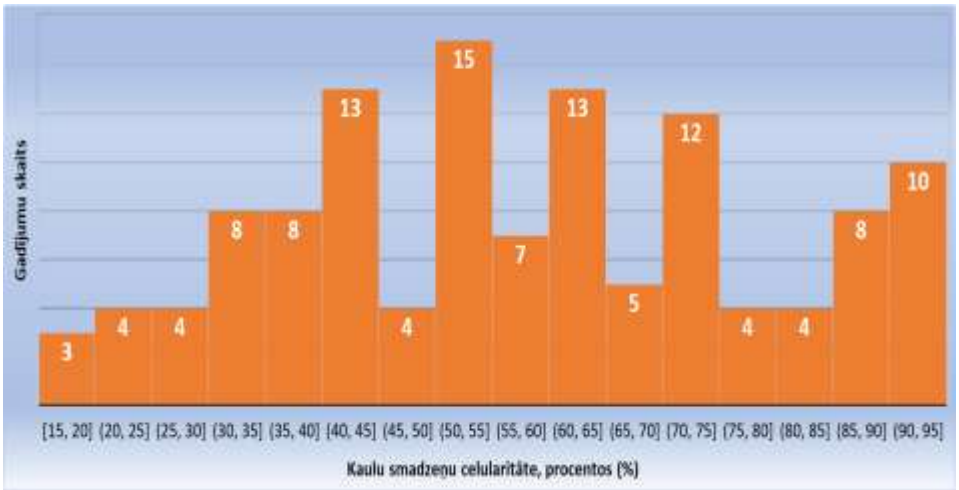
H/E, 50× palielinājums. Attēla autors Jurijs Nazarovs.



3.3. attēls. **Kaulu smadzeņu 85–90 % celularitātes fokuss**

H/E, 200× palielinājums. Attēla autors Jurijs Nazarovs.

Analizēto pacientu grupā kaulu smadzeņu celularitāte atbilda normālam sadalījumam $p < 0,05$ (normālsadalījuma Dagostīno–Pīrsona tests), tāpēc, lai pārbaudītu korelāciju starp diviem mainīgiem lielumiem, tika izmantots Spīrmena tests (3.4. attēls).



3.4. attēls. **Pētāmās grupas pacientu sadalījums pēc kaulu smadzeņu celularitātes**

Palielināto kaulu smadzeņu celularitātes rādītāju vidēji cieša pozitīva statistiski ticama korelācija ($p < 0,0001$, $r = +0,45$) tika konstatēta ar paaugstinātu B2MKB līmeni, kā arī ar paaugstinātu kreatinīna ($p = 0,0012$, $r = +0,29$) un M-gradienta līmeni asinīs, kad Spīrmena korelācijas koeficients bija $r = +0,24$ un p vērtība 0,007 (3.2. tabula un 3.5. attēls).

Negatīva vidēji cieša statistiski ticama korelācija tika konstatēta ar palielinātu kaulu smadzeņu celularitāti un samazinātu hemoglobīna līmeni ($p < 0,0001$, $r = -0,43$) un samazinātu GFĀ ($p < 0,0001$, $r = -0,36$), bet vāja – ar samazinātu albumīna līmeni ($p = 0,001$, $r = -0,29$).

3.2. tabula

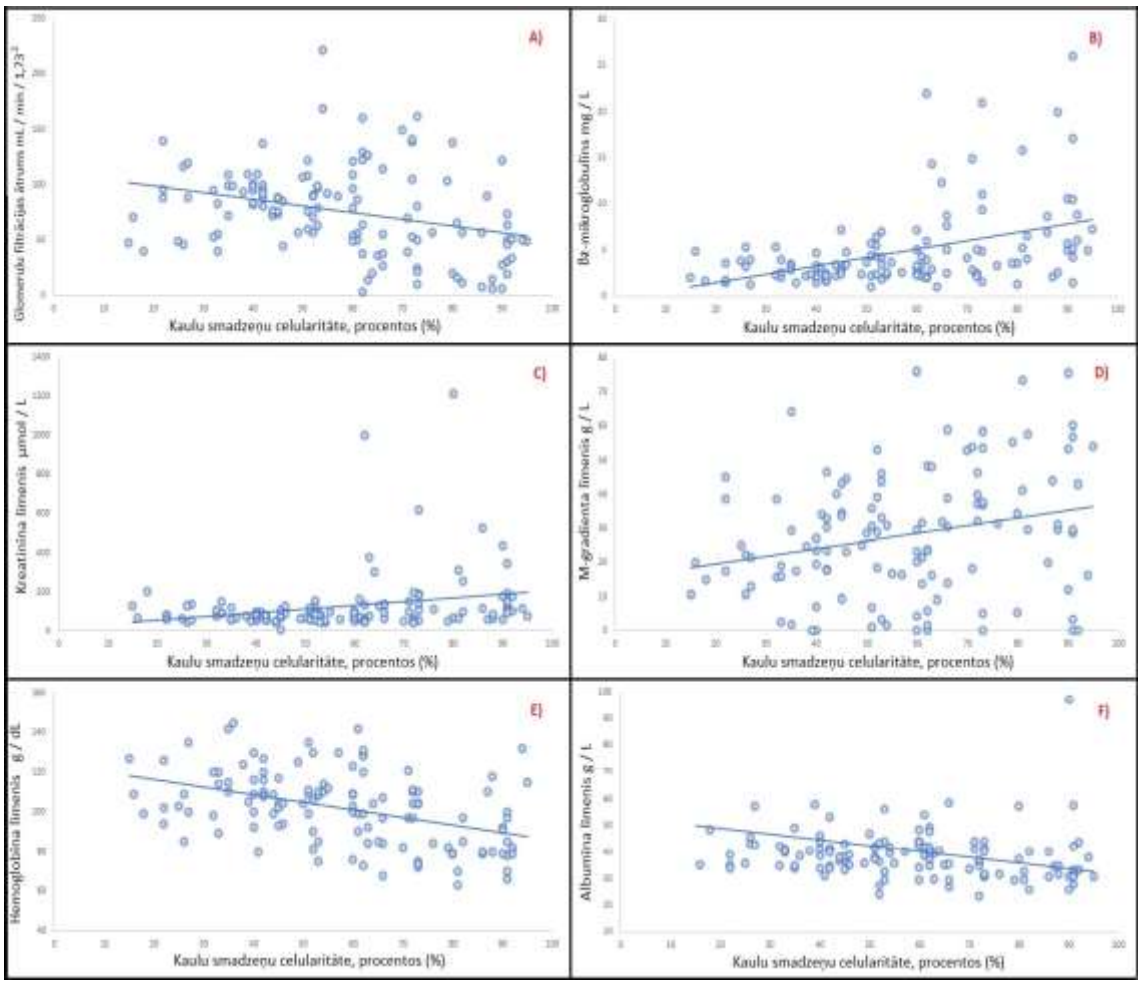
Kaulu smadzeņu celularitātes korelācija ar visiem klīniski laboratoriskajiem datiem

Klīniski laboratoriskie dati	**Korelācija ar kaulu smadzeņu celularitāti**
B2MKB līmenis	Pozitīva, vidēji cieša ($p < 0,0001$, $r = +0,45$)
Albumīna līmenis	Negatīva, vāja ($p = 0,001$, $r = -0,29$)
Hemoglobīna līmenis	Negatīva, vidēji cieša ($p < 0,0001$, $r = -0,43$)
Glomerulu filtrācijas ātrums	Negatīva, vidēji cieša ($p < 0,0001$, $r = -0,36$)
Kreatinīna līmenis	Pozitīva, vāja ($p = 0,0012$, $r = +0,29$)
M-gradienta līmenis	Pozitīva, vāja ($p = 0,007$, $r = +0,24$)
Stadija, pēc SDK	Pozitīva, vidēji cieša ($p < 0,0001$, $r = +0,4$)
Vecums	nav atrasta ($p > 0,05$)
Dzimums	nav atrasta ($p > 0,05$)
Laktātdehidrogenāzes līmenis	nav atrasta ($p > 0,05$)
Kopējā olbaltuma līmenis	nav atrasta ($p > 0,05$)
Trombocītu daudzums	nav atrasta ($p > 0,05$)
Rentgenoloģiskie kaulu bojājumi	nav atrasta ($p > 0,05$)
Kalcija līmenis	nav atrasta ($p > 0,05$)
CRO	nav atrasta ($p > 0,05$)
Paraproteinūrija	nav atrasta ($p > 0,05$)

Vidēji cieša statistiski ticama pozitīva korelācija tika noteikta arī ar kaulu smadzeņu paaugstinātu celularitāti un vēlīnākām MM stadijām saskaņā ar SDK ($p < 0,0001$, $r = +0,4$).

Analizētajā pacientu grupā netika konstatēta statistiski ticama korelācija starp kaulu smadzeņu celularitāti un vecumu, dzimumu, rentgenoloģiski klīniski pierādītajiem kaulaudu bojājumiem, paraproteīna klasi, trombocītu daudzumu, kā arī LDH, kopējo olbaltumu, kalcija un CRO līmeni ($p > 0,05$).

Visi iegūtie rezultāti ir atspoguļoti 3.2. tabulā.

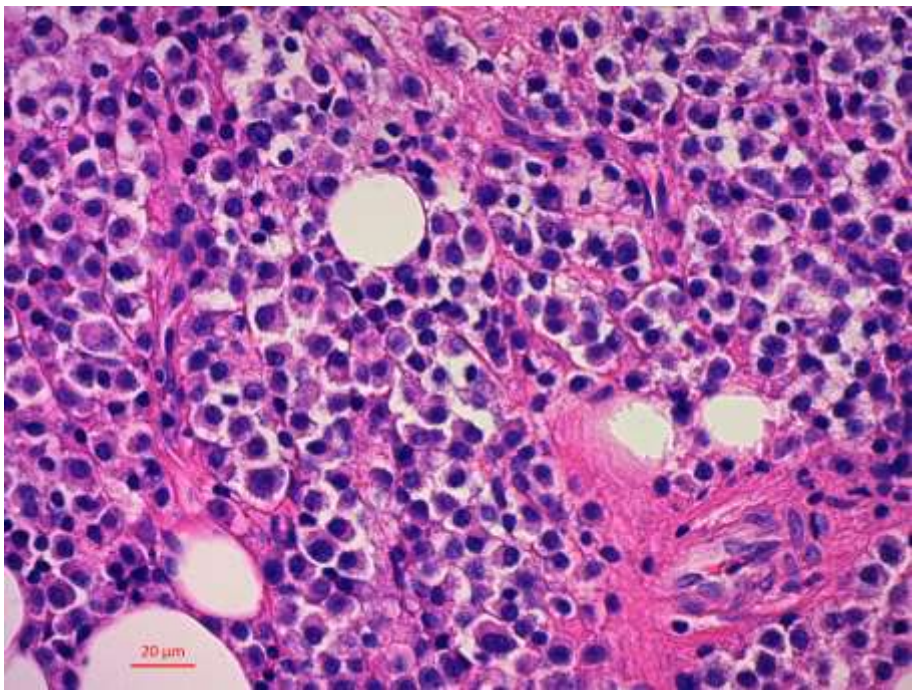


3.5. attēls. **Kaulu smadzeņu celularitātes korelācija ar:**

A) GFĀ ($p < 0{,}0001$, $r = -0{,}36$); B) B2MKB līmeni ($p < 0{,}0001$, $r = +0{,}45$);
C) kreatinīna līmeni ($p = 0{,}0012$, $r = +0{,}29$); D) M-gradienta līmeni ($p = 0{,}007$, $r = +0{,}24$);
E) hemoglobīna līmeni ($p < 0{,}0001$, $r = -0{,}43$); F) albumīna līmeni ($p = 0{,}001$, $r = -0{,}29$)

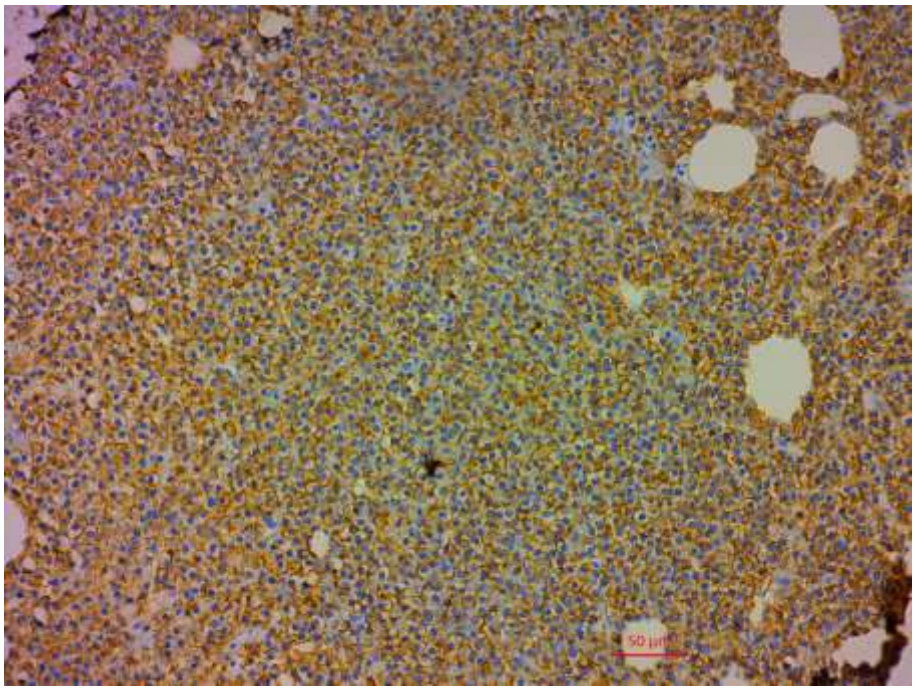
3.2.2. Mielomas šūnu daudzums kaulu smadzenēs (CD138+)

Mielomas šūnu daudzums no visām kaulu smadzeņu nukleārām šūnām, izteikts procentos, svārstījās no 15 % līdz 90 % (vidēji 52,14 ± 21,1) ar 95 % TI 48,36–55,92 (3.6 un 3.7 attēls). Visbiežākais mielomas šūnu daudzums kaulu smadzenēs bija intervālā no 30 % līdz 35 %, bet retākais no 36 % līdz 40 %.



3.6. attēls. **Maza un vidēja izmēra mielomas šūnu klasteris (85–90 %)**

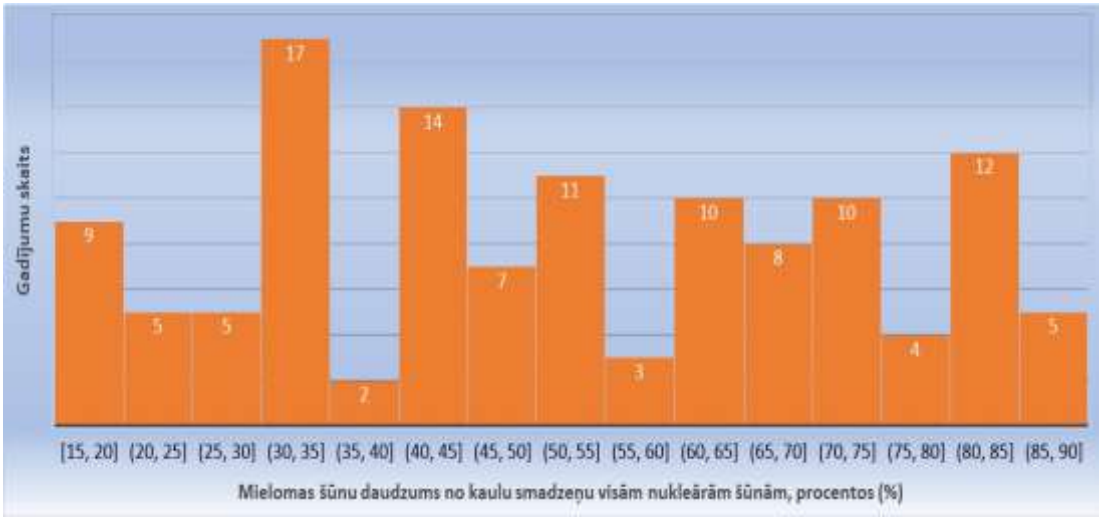
H/E, 400× palielinājums. Attēla autors Jurijs Nazarovs.



3.7. attēls. **Plaša difūza tipa mielomas šūnu (CD138+) infiltrācija ≥80 % no kaulu smadzeņu kopējā nukleāro šūnu skaita**

CD138, 200× palielinājums. Attēla autors Jurijs Nazarovs.

Pētījuma pacientu grupā mielomas šūnu daudzums kaulu smadzenēs atbilda normālam sadalījumam $p < 0,05$ (normālsadalījuma Dagostīno–Pīrsona tests), korelāciju starp diviem mainīgiem lielumiem aprēķināja, izmantojot Spīrmena testu (3.8. attēls).



3.8. attēls. **Pētāmās grupas pacientu procentuālais sadalījums pēc mielomas šūnu daudzuma kaulu smadzenēs**

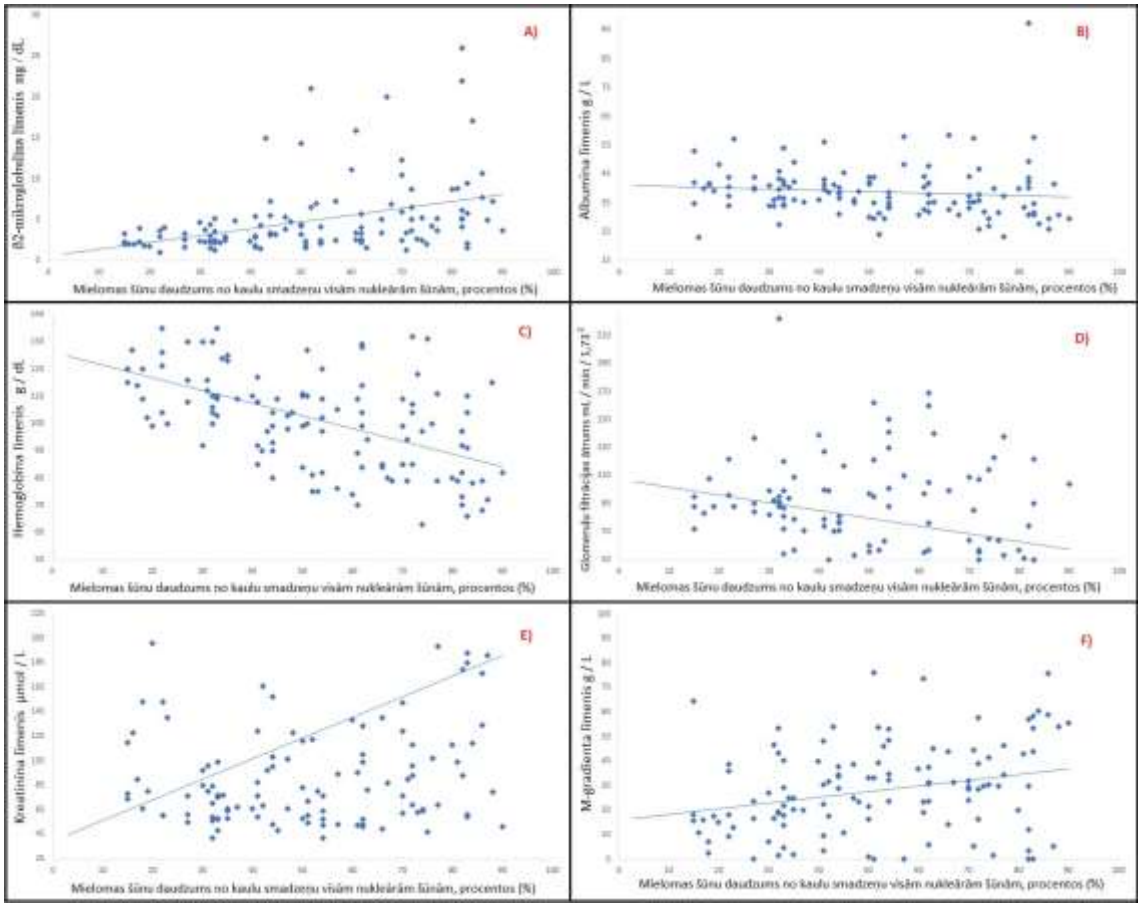
Vidēji cieša pozitīva statistiski ticama korelācija tika atrasta starp palielinātu mielomas šūnu daudzumu un palielinātu B2MKB līmeni ($r = +0{,}47$, $p < 0{,}0001$), kā arī ar vēlīnākām stadijām pēc SDK ($r = +0{,}5$, $p < 0{,}0001$). Vāja statistiski ticama pozitīva korelācija tika atrasta starp palielinātu mielomas šūnu daudzumu un palielinātu kreatinīna ($p = 0{,}031$, $r = +0{,}2$) un M-gradienta līmeni asinīs ($p = 0{,}002$, $r = +0{,}28$), kā arī biežākiem klīniski rentgenoloģiski apstiprinātiem kaulaudu bojājumiem ($p = 0{,}0078$, $r = +0{,}24$).

3.3. tabula

Mielomas šūnu daudzuma korelācija ar visiem klīniski laboratoriskajiem datiem

Klīniski laboratoriskie dati	Korelācija ar plazmatisko šūnu daudzumu
B2MKB līmenis	Pozitīva, vidēji cieša ($p < 0{,}0001$, $r = +0{,}47$)
Albumīna līmenis	Negatīva, vāja ($p = 0{,}0007$, $r = -0{,}3$)
Hemoglobīna līmenis	Negatīva, vidēji cieša ($p < 0{,}0001$, $r = -0{,}53$)
Glomerulu filtrācijas ātrums	Negatīva, vāja ($p = 0{,}0019$, $r = -0{,}28$)
Kreatinīna līmenis	Pozitīva, vāja ($p = 0{,}031$, $r = +0{,}2$)
Rentgenoloģiskie kaulu bojājumi	Pozitīva, vāja ($p = 0{,}0078$, $r = +0{,}24$)
M-gradienta līmenis	Pozitīva, vāja ($p = 0{,}002$, $r = +0{,}28$)
Stadija pēc SDK	Pozitīva, vidēji cieša ($p < 0{,}0001$, $r = +0{,}5$)
Vecums	nav atrasta ($p > 0{,}05$)
Dzimums	nav atrasta ($p > 0{,}05$)
Laktātdehidrogenāzes līmenis	nav atrasta ($p > 0{,}05$)
Kopējā olbaltuma līmenis	nav atrasta ($p > 0{,}05$)
Trombocītu daudzums	nav atrasta ($p > 0{,}05$)
Kalcija līmenis	nav atrasta ($p > 0{,}05$)
CRO	nav atrasta ($p > 0{,}05$)
Paraproteinūrija	nav atrasta ($p > 0{,}05$)

Vidēji cieša negatīva statistiski ticama korelācija tika konstatēta starp palielinātu mielomas šūnu daudzumu un samazinātu hemoglobīna ($p < 0,0001$, $r = -0,53$), kā arī albumīna līmeni ($p = 0,0007$, $r = -0,3$), bet vāja – starp mielomas šūnu palielinātu daudzumu un samazinātu GFĀ, ar Spīrmena koeficientu $r = -0,28$ un p vērtību 0,0019 (3.9. attēls un 3.3. tabula).



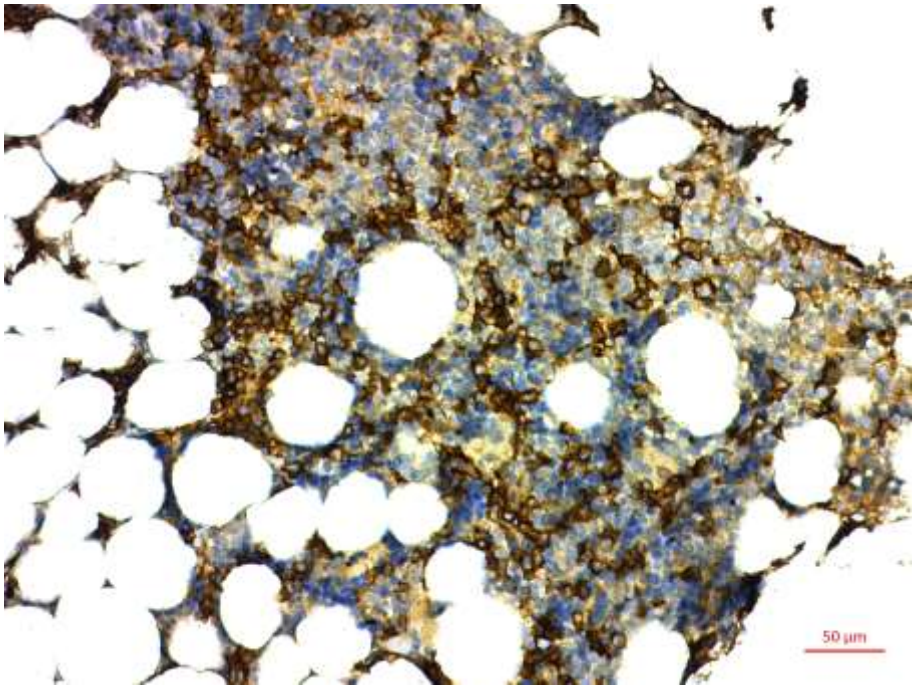
3.9. attēls. **Mielomas šūnu daudzuma korelācija ar**:

A) B2MKB ($r = +0,47$, $p < 0,0001$); B) albumīna līmeni ($p = 0,0007$, $r = -0,3$);
C) hemoglobīna līmeni ($p < 0,0001$, $r = -0,53$); D) GFĀ ($p = 0,0019$, $r = -0,28$);
E) kreatinīna līmeni ($p = 0,031$, $r = +0,2$); F) M-gradienta līmeni ($p = 0,002$, $r = +0,28$)

3.2.3. Mielomas šūnu infiltrācijas tipa raksturojums

Pētāmo pacientu grupā kaulu smadzenēs tika konstatēts visbiežāk jauktais 47 % (n = 57) mielomas šūnu infiltrācijas tips. Difūzā tipa infiltrācija tika konstatēta 29 % (n = 35), intersticiālā – 15 % (n = 19), bet fokālā – tikai 9 % (n = 11) (3.10. un 3.11. attēls).

3.10. attēls. **Pētāmās grupas pacientu kaulu smadzeņu mielomas šūnu infiltrācijas tips**



3.11. attēls. **Kaulu smadzenes ar mielomas (CD138+) intersticiālu infiltrācijas tipu**

CD138, 200× palielinājums. Attēla autors Jurijs Nazarovs.

Salīdzinot klīniski laboratoriskos rādītājus, sadalot pētāmos pacientus pēc mielomas šūnu infiltrācijas tipa, izmantojot *one-way ANOVA* ar neparametrisku Kraskela–Valisa testu (*Kruskal-Wallis test*), tika atrasta statistiski ticama atšķirība ($p < 0,05$) starp hemoglobīna, B2MKB, kreatinīna un M-gradienta līmeni, kā arī trombocītu daudzumu, GFĀ, rentgenoloģiski un klīniski apstiprināto kaulaudu bojājuma esamību un stadijām pēc SDK (3.4. tabula).

3.4. tabula

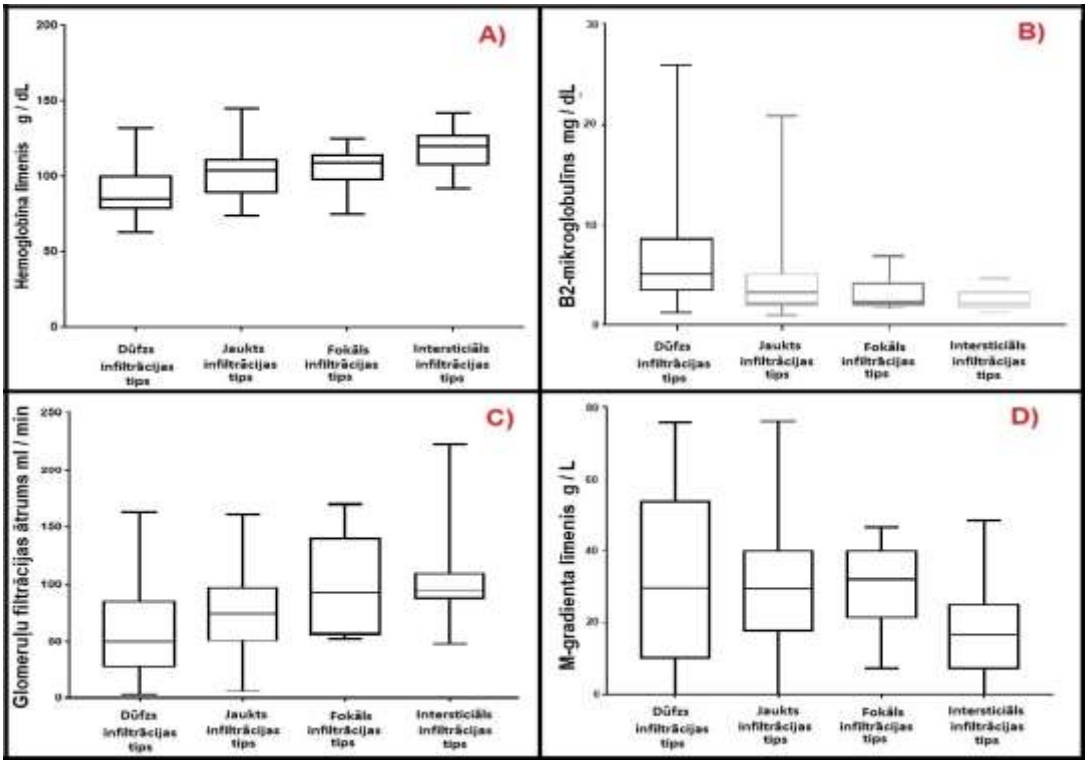
Klīniski laboratorisko rādītāju salīdzinājums pēc pacientu MM infiltrācijas tipa

	Difūzs infiltrācijas tips n = 35	Jaukts infiltrācijas tips n = 57	Fokāls infiltrācijas tips n = 11	Intersticiāls infiltrācijas tips n = 19	Statistiskā ticamība, salīdzinot grupas
Vecums, gadi n = 122	63,14 ± 9,8 (36-79) 95% TI 59,79-66,49	65,63 ± 9,6 (39-82) 95% TI 63,08-68,18	65,91 ± 12,46 (43-81) 95% TI 57,54-74,28	65,21 ± 10,62 (47-82) 95% TI 60,09-70,33	nav atrasta (p > 0,05)
Vīrieši / sievietes, pacientu skaits n=122	16 / 19	25 / 32	6 / 5	6 / 13	nav atrasta (p > 0,05)
ß2-mikroglobulīna līmenis, mg / dl n = 121	6,93 ± 5,9 (1,29-26) 95% TI 5-8,85 n = 35	4,76 ± 4,3 (1-21) 95% TI 3,6-5,91 n = 56	3,22 ± 1,64 (1,78-7) 95% TI 2,12-4,32 n = 11	2,56 ± 0,89 (1,28-4,69) 95% TI 2,13-2,99 n = 19	p < 0,0001 Kraskela-Valisa tests
Laktātdehidrogenāzes līmenis, IU / L n = 108	372,1 ± 137,9 (184-871) 95% TI 321,5-422,7 n = 31	355 ± 99,33 (185-623) 95 TI 326,8-383,2 n = 50	294,1 ± 77,19 (146-401) 95 TI 242,2-345,9 n = 11	408,4 ± 89,99 (260-607) 95 TI 360,4-456,3 n = 16	p = 0,04 Kraskela-Valisa tests
Albumīna līmenis, g / l n=122	39,41± 13,19 (26-97,3) 95% TI 34,88-43,94	37,95 ± 7 (23,4-57,3) 95% TI 36,08-39,82	37,85 ± 4,3 (29,7-43,9) 95% TI 34,95-40,73	41,34± 7,35 (23,8-58) 95% TI 37,8-44,88	nav atrasta (p > 0,05)
Kopējā olbaltuma līmenis, g / l n = 122	88,34 ± 32,46 (11,7-158,3) 95% TI 77,19-99,49	94,75 ±23,45 (56,3-162) 95% TI 88,53-101	99,66 ±17,33 (71,3-130,9) 95% TI 88,02-111,3	79,4 ±18,34 (44,9-110) 95% TI 70,56-88,24	ns
Hemoglobīna līmenis, g / dl n = 122	89,89 ± 17,23 (63-132) 95% TI 83,97-95,8	103,4 ±17,1 (74-145) 95% TI 98,85-107,9	105 ±13,14 (75-125) 95% TI 96,17-113,8	117,6±12,82 (92-142) 95% TI 111,4-123,8	p < 0,0001 Kraskela-Valisa tests
Trombocītu daudzums, 10^{9}/l n = 122	177,9 ±83,16 (26-336) 95% TI 149,3-206,5	226,5 ± 71,63 (75-447) 95% TI 207,5-245,5	291,2 ± 95,75 (164-475) 95% TI 226,9-355,5	227,4 ± 104,7 (52-439) 95% TI 177-277,9	p = 0,004 Kraskela-Valisa tests
Glomeruļu filtrācijas ātrums, ml / min n = 122	58,2±40,81 (3-162) 95% TI 44,4-72,02	74,75 ± 35,52 (6-160) 95% TI 65,33-84,18	96,64 ± 39,35 (53-169) 95% TI 70,2-123,1	99,68 ± 35,53 (48-222) 95% TI 82,56-116,8	p = 0,0005 Kraskela-Valisa tests
Kreatinīna līmenis, µmol / l n = 122	203,2 ± 252,2 (51-1211) 95% TI 116,6-289,8	109,8 ±91,57 (9-617) 95% TI 85,51-134,1	71,09 ±17,08 (42-106) 95% TI 59,62-82,56	72,21 ±19,83 (42-128) 95% TI 62,65-81,77	p = 0,001 Kraskela-Valisa tests
Rentgenoloģiskie kaulu bojājumi, pacientu skaits un % n = 122	25 71,4%	36 63%	10 91%	7 37%	p = 0,016 Kraskela-Valisa tests
C-reaktīva olbaltuma līmenis, mg / l n = 122	28,51 ± 65,1 (0,1-302) 95% TI -6,2-50,86 n = 35	14,08 ±29,34 (0,2-199,8) 95% TI 6,3-21,86 n = 57	6,3 ±6,6 (0-20) 95% TI 1,62-10,89 n = 11	17,85 ±30,53 (0-126) 95% TI 3,14-32,57 n = 19	nav atrasta (p > 0,05)
Kalcija līmenis, mmol / l n = 122	2,44 ± 0,33 (1,9-3,49) 95% TI 2,3-2,55	2,37 ±0.23 (1,78-2,98) 95 TI 2.31-2,43	2,45 ±0,32 (2,18-3,33) 95 TI 2,4-2,67	2,31 ±0,25 (1,99-2,94) 95 TI 2,19-2,43	nav atrasta (p > 0,05)
M-gradienta līmenis, g / l n = 120	31,07 ± 22,48 (0-75,7) 95% TI 23,22-38,91 n=34	29,43 ±17,05 (0-76.1) 95 TI 24,87-34 n=56	30,82 ±12,25 (7-46,6) 95 TI 22,59-39,05 n=11	17,46 ±12,86 (0-48,4) 95 TI 11,26-23,66 n=19	p = 0,03 Kraskela-Valisa tests
Stadija pēc Salmom-Djurie, pacientu skaits un % n = 122	I / II / III 2 / 12 / 21 6% / 34% / 60%	I / II / III 11 / 26 / 20 19% / 46% / 35%	I / II / III 1 / 9 / 1 9% / 82% / 9%	I / II / III 10 / 8 / 1 53% / 42% / 5%	p< 0,0001 Kraskela-Valisa tests
Paraproteinūrija, pacientu skaits un % n = 122	21 60%	39 68,4%	6 54,5%	9 47,4%	nav atrasta (p > 0,05)

Savstarpēji salīdzinot divas grupas ar dažādiem mielomas šūnu infiltrācijas tipiem, izmantojot neparametrisko Manna–Vitnija U testu, konstatēja, ka pacientu grupā ar intersticiālu infiltrācijas tipu statistiski ticami ($p < 0,05$) bija augstāks hemoglobīna līmenis, nekā grupā ar difūzu infiltrācijas tipu 117,6 ± 12,82 pret 89,89 ± 17,23, $p < 0,0001$, zemāks B2MKB 6,93 ± 5,9 pret 2,56 ± 0,89, $p < 0,0001$, M-gradienta 17,46 ± 12,86 pret 31,07 ± 22,48, $p = 0,03$, un kreatinīna līmenis 72,21 ± 19,83 pret 203,2 ± 252,2, $p = 0,0005$, kā arī grupā ar intersticiālu infiltrācijas tipu retāk diagnosticē rentgenoloģiski un klīniski apstiprinātus kaulaudu bojājumus, nekā grupā ar difūzu infiltrācijas tipu: n = 25 (71,4 %) pret n = 7 (37 %), $p = 0,02$.

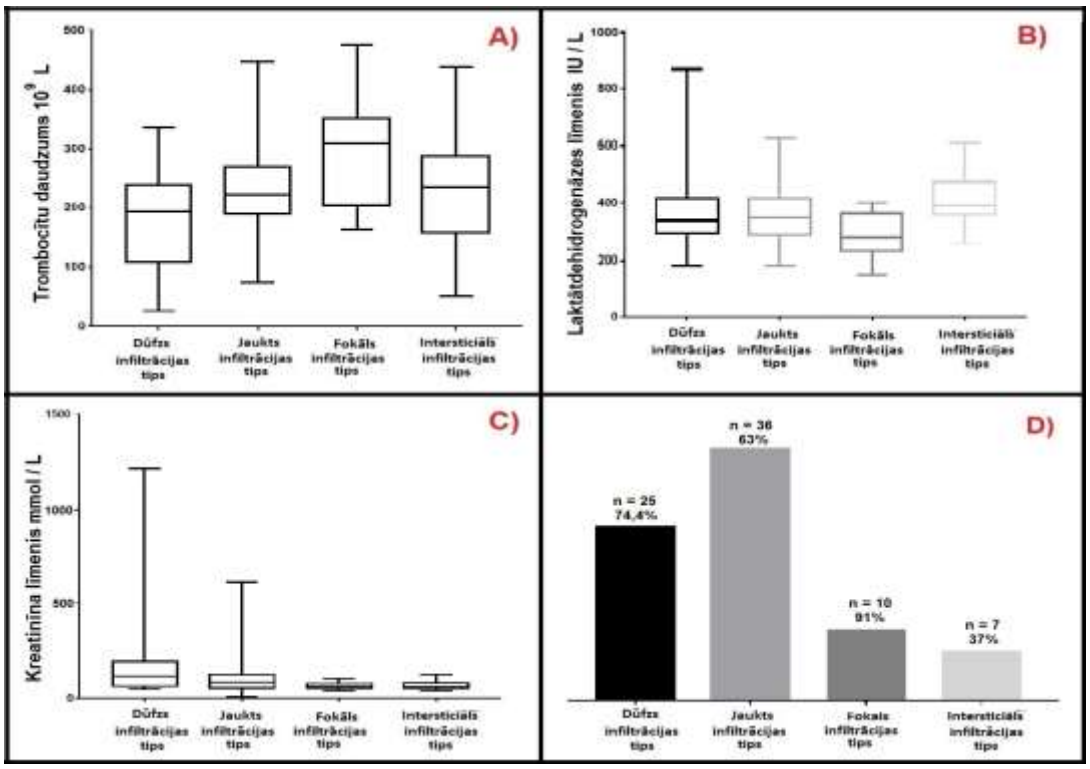
Pacientu grupā ar maligno šūnu fokālu infiltrācijas tipu konstatē statistiski ticamu zemāku LDH līmeni (Manna–Vitnija U tests), nekā grupā ar difūzu infiltrācijas tipu 294,1 ± 77,19 pret 372,1 ± 137,9 IU/L (3.4. tabula un 3.12.–3.15. attēls).

Pacientu grupās ar intersticiālu un fokālu infiltrācijas tipu statistiski ticami biežāk konstatē agrīnākas stadijas pēc SDK, nekā grupās ar jauktu un difūzu tipu (3.4. tabula un 3.12., 3.13., 3.14. un 3.15. attēls).



3.12. attēls. **Pacientu grupas ar dažādu mielomas šūnu infiltrācijas tipu**

A) Hb līmenis; B) B2MKB līmenis; C) GFĀ; D) M-gradienta līmenis.



3.13. attēls. **Pacientu grupas ar dažādu mielomas šūnu infiltrācijas tipu**

A) Hb līmenis; B) B2MKB līmenis; C) GFĀ;
D) rentgenoloģiski un klīniski apstiprināti kaulaudu bojājumi.

A)						B)
		ns	Fokāls infiltrācijas tips	p = 0,018		
	ns	p = 0,01	Jaukts infiltrācijas tips	p = 0,0009	p = 0,0062	
p = 0,034	p = 0,0046	p < 0,0001	Difūzs infiltrācijas tips	p < 0,0001	ns	p = 0,0002
Jaukts infiltrācijas tips	Fokāls infiltrācijas tips	Intersticiāls infiltrācijas tips		Intersticiāls infiltrācijas tips	Fokāls infiltrācijas tips	Jaukts infiltrācijas tips
p = 0,007	p = 0,001	ns	Difūzs infiltrācijas tips	p = 0,0006	p = 0,006	p = 0,02
	p = 0,03	ns	Jaukts infiltrācijas tips	p = 0,004	ns	
C)		ns	Fokāls infiltrācijas tips	ns		D)

3.14. attēls. **Statistiski ticama atšķirība pacientu grupās ar dažādu mielomas šūnu infiltrācijas tipu, savstarpēji salīdzinot divas grupas**

A) B2MKB līmenis; B) Hb līmenis; C) Tr daudzums; D) GFĀ.
Divu izlašu neparametriskais Manna–Vitnija U tests.

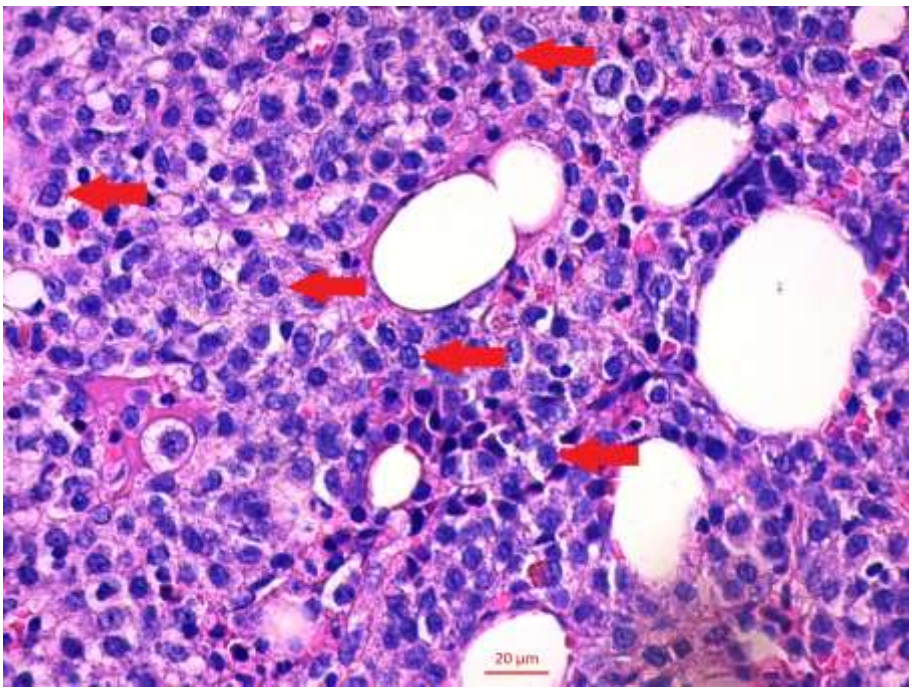
A)		ns	Fokāls infiltrācijas tips	p = 0,006		B)
	ns	p = 0,04	Jaukts infiltrācijas tips	ns	ns	
p = 0,02	p = 0,006	p = 0,0005	Difūzs infiltrācijas tips	p = 0,02	ns	ns
Jaukts infiltrācijas tips	Fokāls infiltrācijas tips	Intersticiāls infiltrācijas tips		Intersticiāls infiltrācijas tips	Fokāls infiltrācijas tips	Jaukts infiltrācijas tips
ns	ns	p = 0,03	Difūzs infiltrācijas tips	p < 0,0001	p = 0,005	p = 0,01
C)	ns	p = 0,004	Jaukts infiltrācijas tips	p = 0,002	ns	D)
		p = 0,008	Fokāls infiltrācijas tips	p = 0,03		

3.15. attēls. **Statistiski ticama atšķirība pacientu grupās ar dažādu mielomas šūnu infiltrācijas tipu, savstarpēji salīdzinot divas grupas**

A) kreatinīna līmenis; B) rentgenoloģiski un klīniski apstiprināto kaulaudu bojājuma esamība; C) M-gradienta līmenis; D) klīniskās stadijas pēc SDK. Divu izlašu neparametriskais Manna–Vitnija U tests.

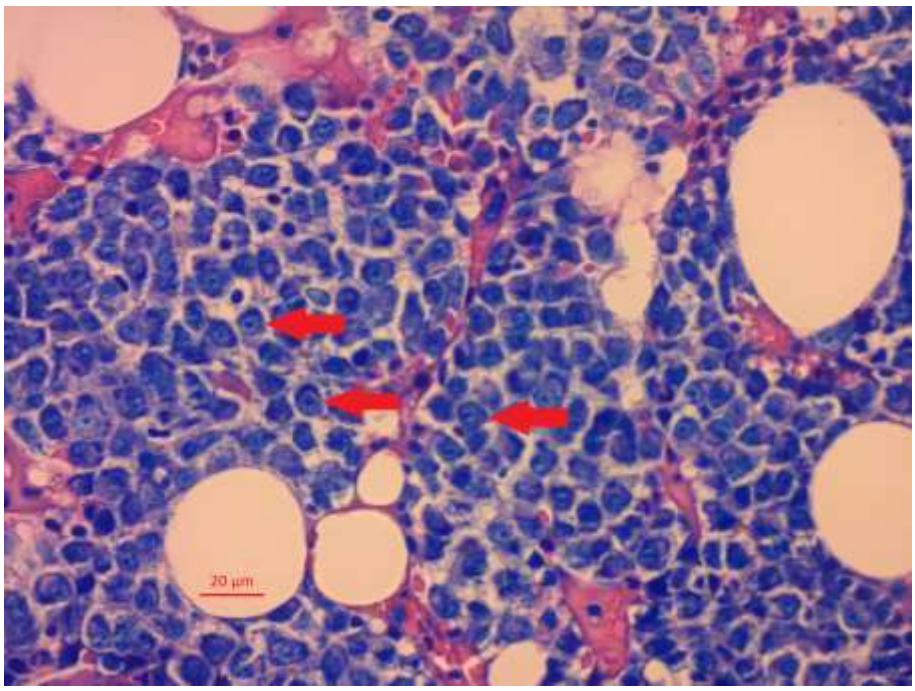
3.2.4. Mielomas šūnu ar plazmoblastisku diferenciāciju daudzuma raksturojums

Analizētajā grupā mielomas šūnu daudzums ar plazmoblastisku diferenciāciju, izteiktu procentos, svārstījās no 0 % līdz 74 % (vidēji 9,87 ± 17,34 %) ar 95 % TI 6,76–12,98 % (3.16. un 3.17. attēls).



3.16. attēls. **Mielomas šūnas ar plazmoblastisku diferenciāciju (←)**

H/E, 400× palielinājums. Attēla autors Jurijs Nazarovs.



3.17. attēls. **Mielomas šūnas ar plazmoblastisku diferenciāciju (←)**

Giemsa, 400× palielinājums. Attēla autors Jurijs Nazarovs.

Vidēji cieša statistiski ticama pozitīva korelācija tika atrasta starp palielinātu mielomas šūnu ar plazmoblastisku diferenciācijas daudzumu un palielinātu B2MKB līmeni ($r = +0,34$, $p = 0,0001$), kā arī starp palielinātu M-gradienta līmeni asinīs ($p < 0,0001$, $r = +0,35$) un vēlīnākām stadijām pēc SDK ($r = +0,4$, $p < 0,0001$) (3.5. tabula). Vāja statistiski ticama pozitīva korelācija tika atrasta starp mielomas šūnu ar plazmoblastisku diferenciācijas palielinātu daudzumu un palielinātu kreatinīna līmeni ($p = 0,015$, $r = +0,22$), kā arī palielinātu kopējā olbaltuma līmeni asinīs ($p = 0,0078$, $r = +0,24$).

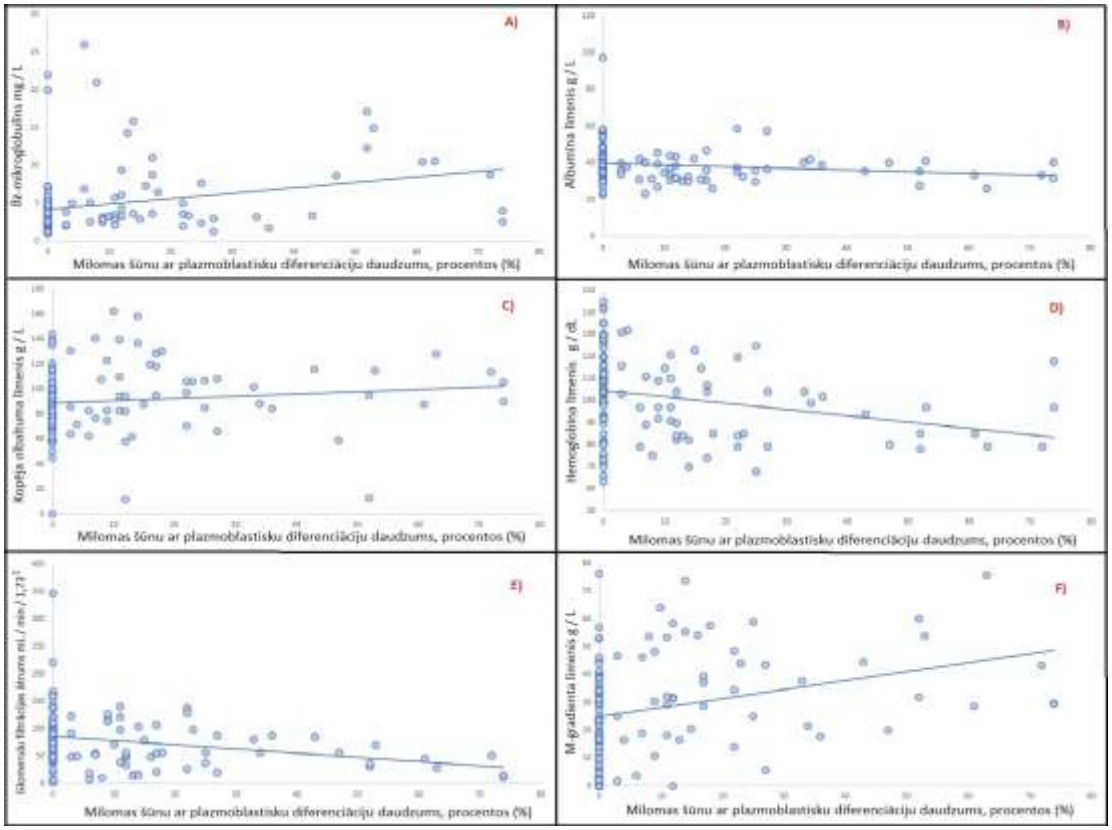
Vidēji cieša negatīva statistiski ticama korelācija (3.18 attēls) tika konstatēta starp palielinātu mielomas šūnu ar plazmoblastisku diferenciācijas daudzumu un samazinātu hemoglobīna līmeni ($p = 0,0006$, $r = −0,31$). Vāja negatīva statistiski ticama korelācija tika konstatēta starp palielinātu mielomas šūnu ar plazmoblastisku diferenciācijas daudzumu un samazinātu GFĀ ($p = 0,0007$, $r = −0,3$), kā arī albumīna līmeni ($p = 0,001$, $r = −0,29$).

Iegūtie rezultāti ir atspoguļoti 3.5. tabulā.

3.5. tabula

Mielomas šūnu ar plazmoblastisku diferenciācijas daudzuma korelācija ar visiem klīniski laboratoriskajiem datiem

Klīniski laboratoriskie dati	Korelācija ar mielomas šūnu ar plazmoblastisku diferenciācijas daudzumu
B2MKB līmenis	Pozitīva, vidēji cieša (p = 0,0001, r = +0,34)
Albumīna līmenis	Negatīva, vāja (p = 0,001, r = −0,29)
Kopējā olbaltuma līmenis	Pozitīva, vāja (p = 0,014, r = +0,22)
Hemoglobīna līmenis	Negatīva, vidēji cieša (p = 0,0006, r = −0,31)
Glomerulu filtrācijas ātrums	Negatīva, vāja (p = 0,0007, r = −0,3)
Kreatinīna līmenis	Pozitīva, vāja (p = 0,015, r = +0,22)
M-gradienta līmenis	Pozitīva, vidēji cieša (p < 0,0001, r = +0,35)
Stadija pēc SDK	Pozitīva, vidēji cieša (p < 0,0001, r = +0,4)
Vecums	nav atrasta (p > 0,05)
Dzimums	nav atrasta (p > 0,05)
Laktātdehidrogenāzes līmenis	nav atrasta (p > 0,05)
Trombocītu daudzums	nav atrasta (p > 0,05)
Rentgenoloģiskie kaulu bojājumi	nav atrasta (p > 0,05)
Kalcija līmenis	nav atrasta (p > 0,05)
CRO	nav atrasta (p > 0,05)
Paraproteinūrija	nav atrasta (p > 0,05)



3.18. attēls. **Mielomas šūnu ar plazmoblastisku diferenciācijas daudzuma korelācija ar:**

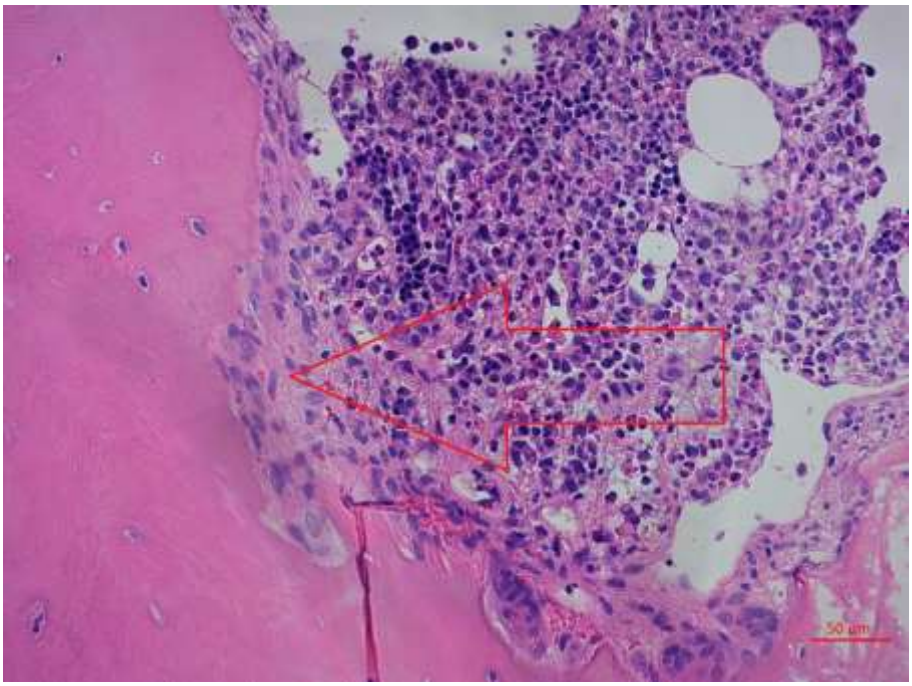
A) B2MKB līmeni (r = +0,34, p = 0,0001); B) albumīna līmeni (p = 0,001, r = −0,29);
C) kopējā olbaltuma līmeni (p = 0,014, r = +0,22); D) hemoglobīna līmeni (p = 0,0006, r = −0,31);
E) GFĀ (p = 0,0007, r = −0,3); F) M-gradienta līmeni asinīs (p < 0,0001, r = +0,35)

3.2.5. Kaulaudu trabēkulu mikroskopiskie mikroosteolītiskie bojājumi

Kaulaudu trabēkulu mikroskopisku osteolītisku bojājumu konstatējām 78 (64 %) pacientiem (3.19 un 3.20. attēls).

Tika konstatēta vidēji cieša pozitīva statistiski ticama korelācija starp biežāk konstatētu kaulaudu trabēkulu mikroskopisku mikroosteolīzi un B2MKB līmeni ($p < 0,0001$, $r = +0,35$), kā arī starp vēlīnākām stadijām pēc SDK ($p < 0,0001$, $r = +0,37$).

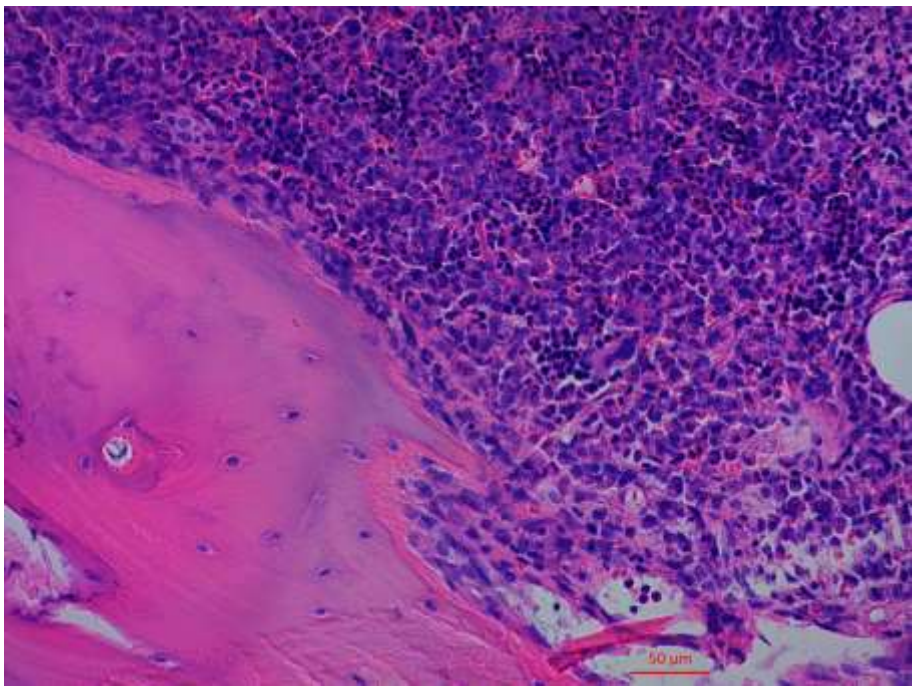
Vāja statistiski ticama pozitīva korelācija tika pierādīta starp biežāk konstatētu kaulaudu trabēkulas mikroskopisku mikroosteolīzi un palielinātu kopējā olbaltuma ($p = 0,014$, $r = +0,23$), kreatinīna ($p = 0,013$, $r = +0,22$), kalcija ($p = 0,027$, $r = +0,2$) un M-gradienta līmeni asinīs ($p = 0,0023$, $r = +0,28$), kā arī biežākiem rentgenoloģiski klīniski apstiprinātiem kaulaudu bojājumiem ($p = 0,0048$, $r = +0,25$).



3.19. attēls. **Mikroskopisks osteolīzes perēklis (←) ar osteoklastu agregāciju**

H/E, 200× palielinājums. Attēla autors Jurijs Nazarovs.

Vidēji cieša negatīva statistiski ticama korelācija tika atrasta starp biežāk konstatētu kaulaudu trabēkulu mikroskopisku mikroosteolīzi un samazinātu albumīna ($p = 0,0003$, $r = -0,32$), kā arī hemoglobīna līmeni ($p < 0,0001$, $r = -0,36$) un GFĀ ($p = 0,0027$, $r = -0,27$).



3.20. attēls. **Mikroskopisks osteolīzes perēklis. Plaša mielomas šūnu infiltrācija**

H/E, 200× palielinājums. Attēla autors Jurijs Nazarovs.

3.6. tabula

Kaulaudu trabēkulu mikroskopiskā osteolītiskā bojājuma korelācija ar visiem klīniski laboratoriskajiem datiem

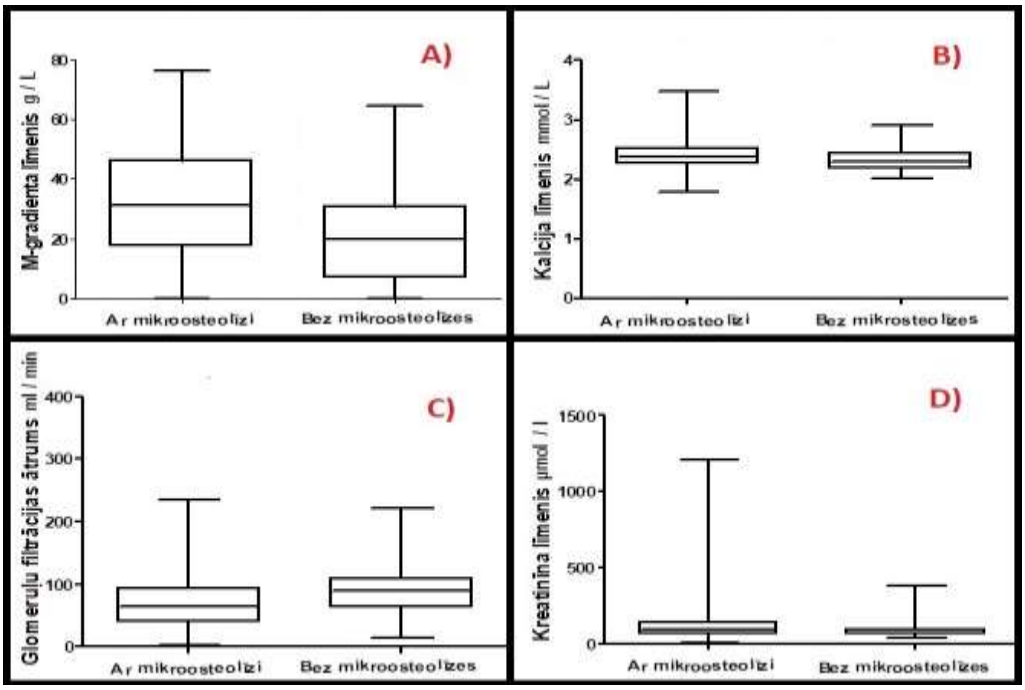
Klīniski laboratoriskie dati	Korelācija ar kaulaudu trabēkulu mikroskopisku osteolītisku bojājumu
B2MKB līmenis	Pozitīva, vidēji cieša ($p < 0,0001$, $r = +0,35$)
Albumīna līmenis	Negatīva, vidēji cieša ($p = 0,0003$, $r = −0,32$)
Kopējā olbaltuma līmenis	Pozitīva, vāja ($p = 0,014$, $r = +0,23$)
Hemoglobīna līmenis	Negatīva, vidēji cieša ($p < 0,0001$, $r = −0,36$)
Glomerulu filtrācijas ātrums	Negatīva, vāja ($p = 0,0027$, $r = −0,27$)
Kreatinīna līmenis	Pozitīva, vāja ($p = 0,013$, $r = +0,22$)
Rentgenoloģiskie kaulu bojājumi	Pozitīva, vāja ($p = 0,0048$, $r = +0,25$)
Kalcija līmenis	Pozitīva, vāja ($p = 0,027$, $r = +0,2$)
M-gradienta līmenis	Pozitīva, vāja ($p = 0,0023$, $r = +0,28$)
Stadija pēc SDK	Pozitīva, vidēji cieša ($p < 0,0001$, $r = +0,37$)
Vecums	nav atrasta ($p > 0,05$)
Dzimums	nav atrasta ($p > 0,05$)
Laktātdehidrogenāzes līmenis	nav atrasta ($p > 0,05$)
Trombocītu daudzums	nav atrasta ($p > 0,05$)
CRO	nav atrasta ($p > 0,05$)
Paraproteinūrija	nav atrasta ($p > 0,05$)

Pacientiem ar kaulaudu trabēkulu mikroskopisku osteolīzi statistiski ticami konstatē: augstāku B2MKB līmeni (mg/dL) $5,92 \pm 5,13$ pret $3,12 \pm 2$ ($p = 0,0001$), augstāku kopējā olbaltuma līmeni (g/L) $94,58 \pm 27,32$ pret $84,64 \pm 21,58$ ($p = 0,012$), augstāku kreatinīna līmeni (µmol/L) $148,1 \pm 187,6$ pret $90,36 \pm 58,76$ ($p = 0,0143$) un augstāku kalcija līmeni (mmol/L) $2,43 \pm 0,3$ pret $2,31 \pm 0,2$ ($p = 0,028$), bet zemāku hemoglobīna līmeni (g/dL)

97,06 ± 17,49 pret 110,4 ± 17,08 (p < 0,0001), GFĀ (m/min./1,73 m2) 70,99 ± 49,25 pret 90,89 ± 39,08 (p = 0,0031) (3.21. un 3.22. attēls).

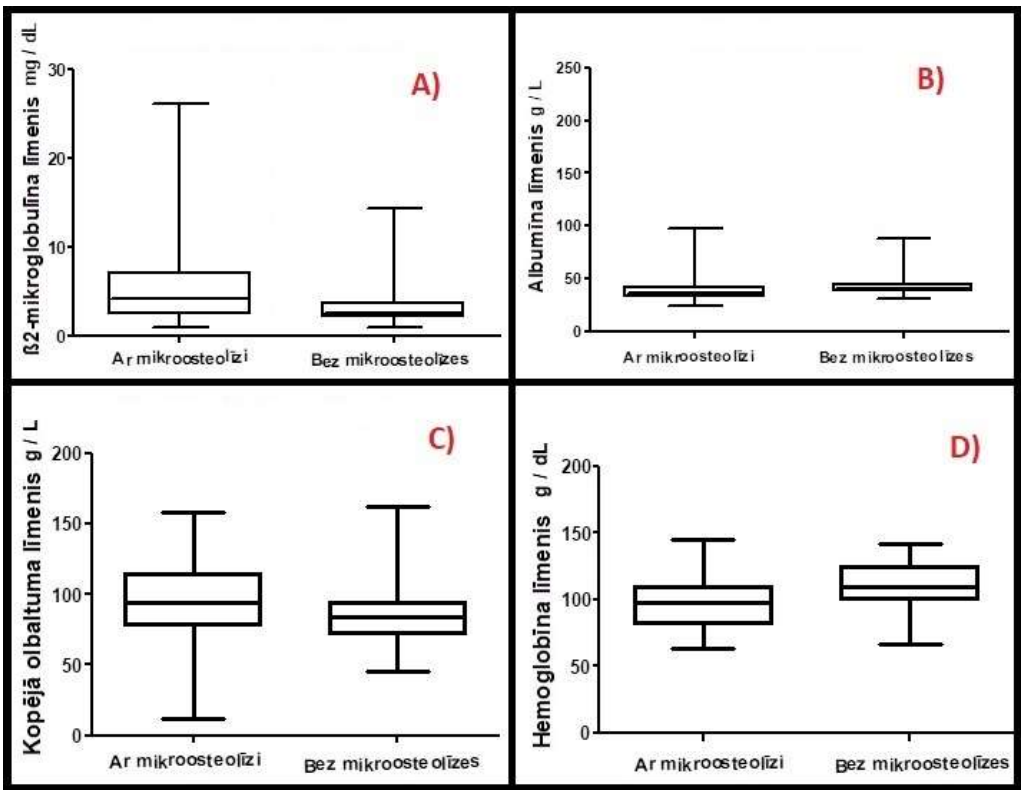
Pacientiem ar kaulaudu trabēkulu mikroskopisku osteolīzes bojājumu statistiski ticami biežāk konstatē rentgenoloģiski klīniski apstiprinātus kaulaudu bojājumus – 77 % (n = 57) pret 48 % (n = 21), p = 0,0054, kā arī vēlīnākas stadijas pēc SDK (p < 0,0001).

Iegūtie rezultāti tika atspoguļoti 3.6. un 3.7. tabulā.



3.21. attēls. **Pacientu grupu ar un bez mikroskopiskas mikroosteolīzes salīdzinājums**

A) M-gradienta līmenis (p = 0,0015, divu izlašu t-tests); B) kalcija līmenis (p = 0,028, Manna–Vitnija U tests); C) GFĀ (p = 0,031, Manna–Vitnija U tests); D) kreatinīna līmenis (p = 0,0143, Manna–Vitnija U tests)



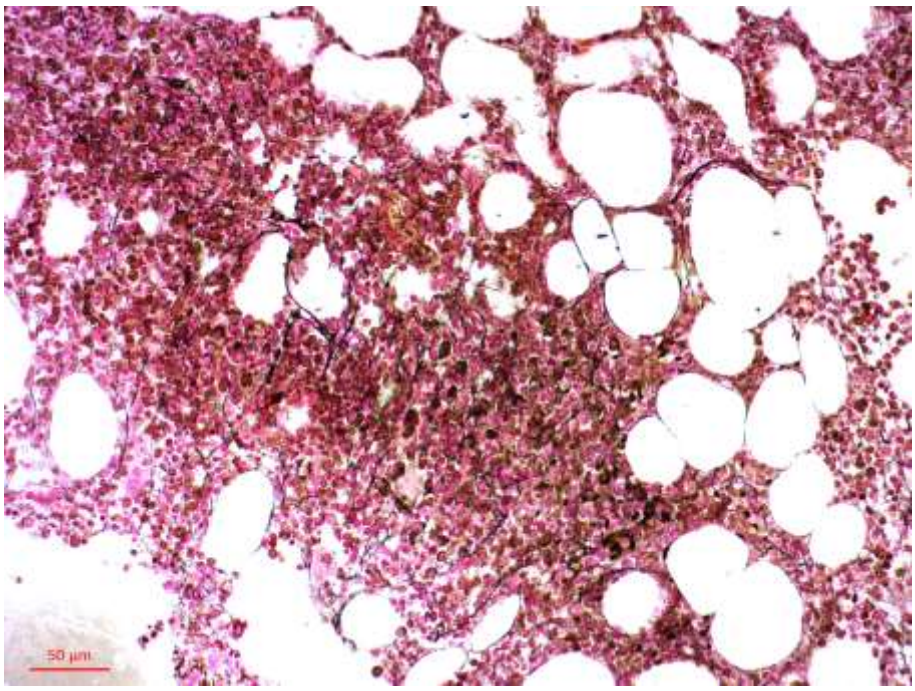
3.22. attēls. **Pacientu grupu ar un bez mikroskopiskas mikroosteolīzes salīdzinājums**

A) B2MKB līmenis (p = 0,0001, Manna–Vitnija U tests); B) albumīna līmenis (p = 0,004, Manna–Vitnija U tests); C) kopējā olbaltuma līmenis (p = 0,012, Manna–Vitnija U tests); D) hemoglobīna līmenis (p < 0,0001, divu izlašu t-tests)

3.2.6. Kaulu smadzeņu mielofibrozes pakāpe

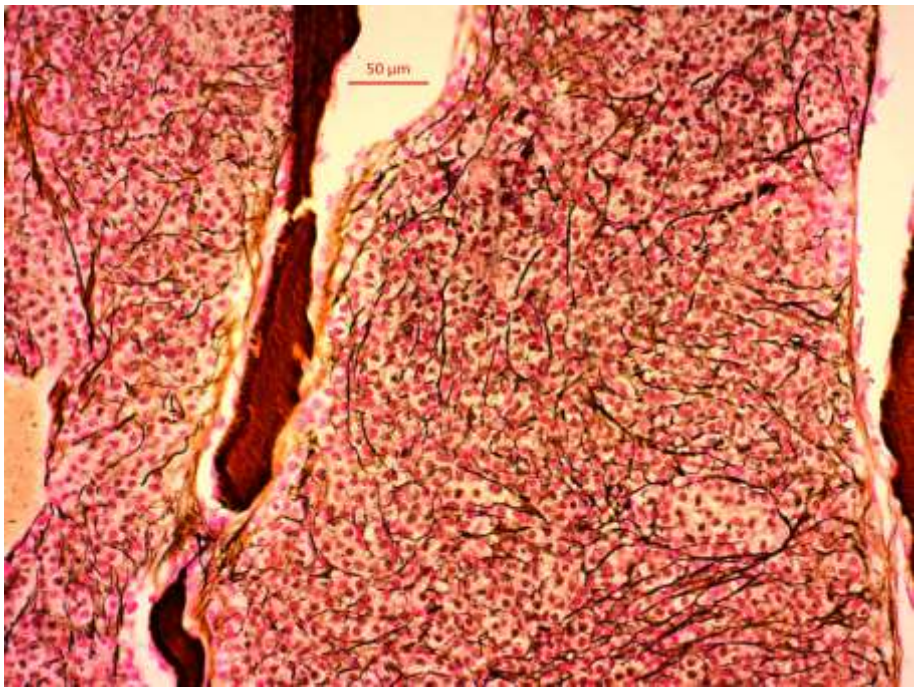
Perēkļaina mērena retikulāra fibroze (1. pakāpe) tika diagnosticēta 61 pacientam (50 %), difūza viegla retikulāra fibroze (2. pakāpe) – 19 pacientiem (16 %), bet difūza rupja retikulāra fibroze tika konstatēta tikai 3 pacientiem (2 %). Analizētajā grupā 39 pacientiem (32 %) kaulu smadzeņu mielofibrozes pazīmes netika konstatētas (3.23. un 3.24. attēls).

Statistiski ticama korelācija starp mielofibrozes pakāpi un klīniski laboratoriskajiem rādītājiem netika atrasta (p > 0,05).



3.23. attēls. **Perēkļaina (1. pakāpes) viegla retikulāra fibroze**

Gordona retikulīna noteikšanas metode, 200× palielinājums.
Attēla autors Jurijs Nazarovs.



3.24. attēls. **Difūza (2. pakāpes) viegla retikulāra fibroze**

Gordona retikulīna noteikšanas metode, 200× palielinājums.
Attēla autors Jurijs Nazarovs.

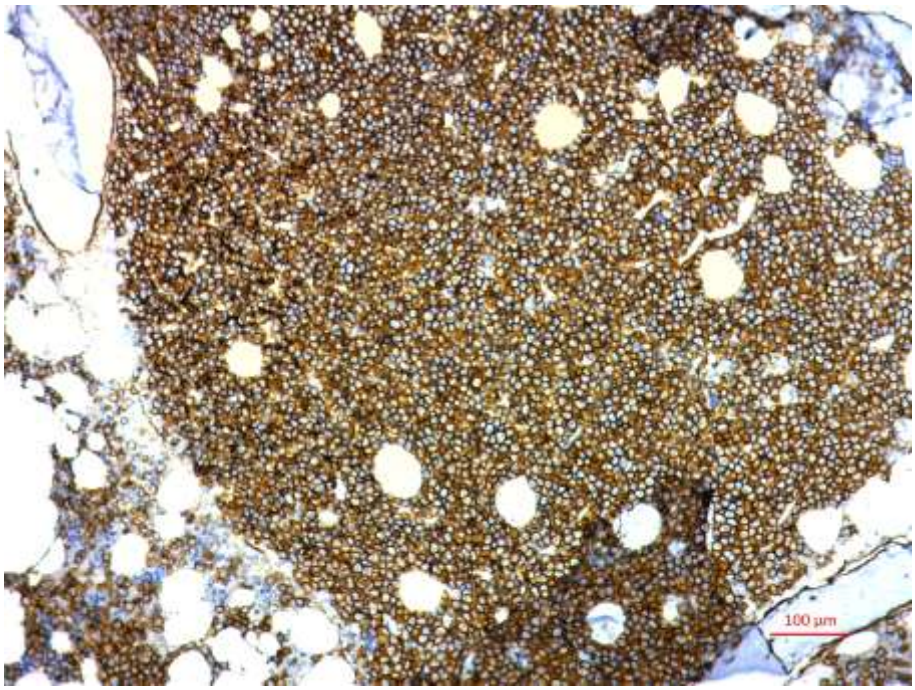
3.3. MM diagnostisko un prognostisko imūnhistoķīmisko marķieru raksturojums

3.3.1. CD56

CD56 pozitivitāte ar intensīvu ekspresiju visās mielomas šūnās analizētajā slimnieku grupā tika konstatēta 95 (78 %) gadījumos (3.25. un 3.26. attēls).

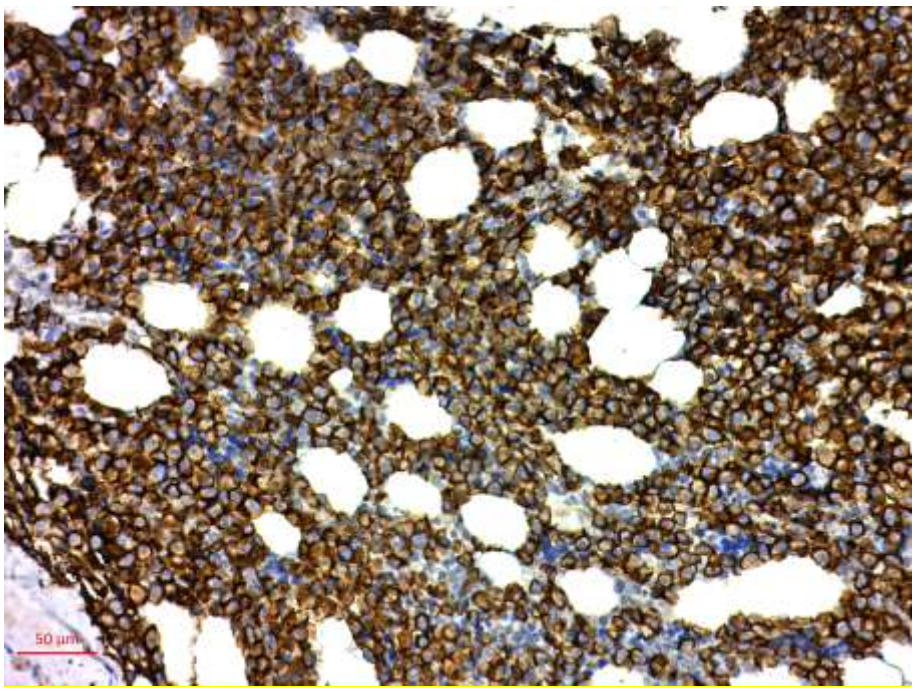
Tika atrasta vidēji cieša pozitīva statistiski ticama korelācija starp biežāku CD56 marķiera ekspresiju un palielinātu GFĀ ($p < 0,0001$, $r = +0,43$), vāja – starp palielinātu hemoglobīna ($p = 0,005$, $r = +0,25$) līmeni, kā arī trombocītu daudzumu ($p = 0,031$, $r = +0,2$).

Vidēji cieša negatīva statistiski ticama korelācija tika atrasta starp biežāku CD56 marķiera ekspresiju mielomas šūnās un samazinātu kreatinīna līmeni ($p < 0,0001$, $r = -0,43$), bet vāja – starp B2MKB līmeni ($p = 0,013$, $r = -0,22$), kā arī starp vēlīnākām stadijām pēc SDK ($p = 0,0009$, $r = -0,3$).



3.25. attēls. **Kaulu smadzeņu difūza rakstura mielomas šūnu infiltrācija ar aberantā CD56 antigēna ekspresiju plazmatiskajā membrānā jeb plazmolemmā**

CD56, 100× palielinājums. Attēla autors Jurijs Nazarovs.



3.26. attēls. **Mielomas šūnas ar CD56 antigēna ekspresiju plazmolemmā**

CD56, 200× palielinājums. Attēla autors Jurijs Nazarovs.

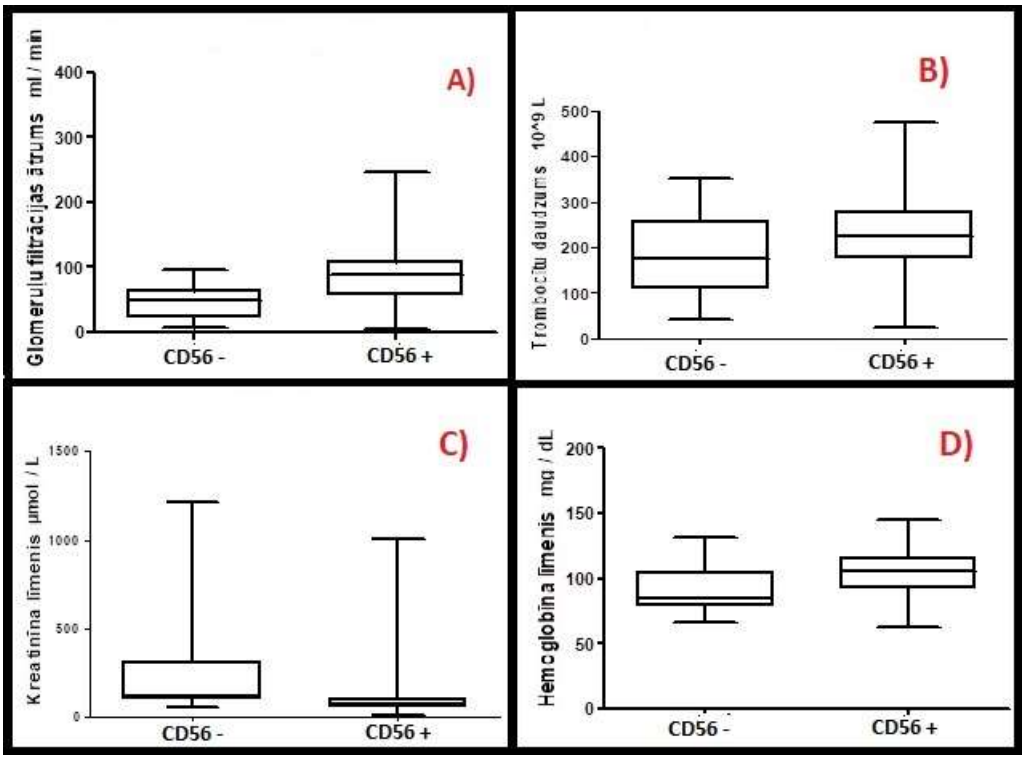
Analizētajā pacientu grupā statistiski ticama korelācija starp CD56 marķiera ekspresiju un vecumu, dzimumu, rentgenoloģiski un / vai klīniski pierādītiem kaulaudu bojājumiem, paraproteīna veidu, paraproteinūriju, kā arī LDH, kopējā olbaltuma, kalcija, albumīna, M-gradienta un CRO līmeni netika atrasta ($p > 0,05$) (3.7. tabula).

3.7. tabula

CD56 marķiera ekspresijas mielomas šūnās korelāciju atspoguļojums ar visiem klīniski laboratoriskajiem datiem

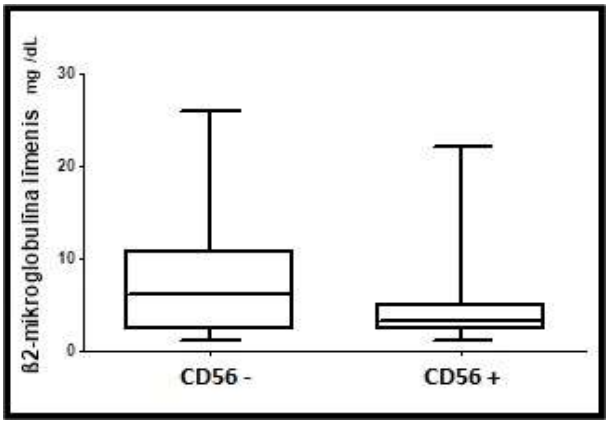
Klīniski laboratoriskie dati	Korelācija ar CD56 marķiera ekspresiju mielomas šūnās
B2MKB līmenis	Negatīva, vāja ($p = 0,013$, $r = −0,22$)
Hemoglobīna līmenis	Pozitīva, vāja ($p = 0,005$, $r = +0,25$)
Trombocītu daudzums	Pozitīva, vāja ($p = 0,031$, $r = +0,2$)
Glomerulu filtrācijas ātrums	Pozitīva, vidēji cieša ($p < 0,0001$, $r = +0,43$)
Kreatinīna līmenis	Negatīva, vidēji cieša ($p < 0,0001$, $r = −0,43$)
Stadija pēc SDK	Negatīva, vāja ($p = 0,0009$, $r = −0,3$)
Vecums	nav atrasta ($p > 0,05$)
Dzimums	nav atrasta ($p > 0,05$)
Laktātdehidrogenāzes līmenis	nav atrasta ($p > 0,05$)
Albumīna līmenis	nav atrasta ($p > 0,05$)
Kopējā olbaltuma līmenis	nav atrasta ($p > 0,05$)
Rentgenoloģiskie kaulu bojājumi	nav atrasta ($p > 0,05$)
Kalcija līmenis	nav atrasta ($p > 0,05$)
M-gradienta līmenis	nav atrasta ($p > 0,05$)
CRO	nav atrasta ($p > 0,05$)
Paraproteinūrija	nav atrasta ($p > 0,05$)

Pacientu grupā ar CD56 antigēna ekspresiju mielomas šūnās statistiski ticami konstatē zemāku B2MKB (mg/dL) 4,11 ± 3,34 pret 7,81 ± 6,54 (p = 0,0141), kreatinīna (µmol/L) 101,1 ± 111,7 pret 219,3 ± 239 (p < 0,0001), kalcija (mmol/L) 2,31 ± 0,2 pret 2,43 ± 0,3 (p = 0,028) līmeni, bet salīdzinoši augstāku hemoglobīna līmeni (g/dL) 104,3 ± 17,6 pret 93,33 ± 19,13 (p = 0,0059), kā arī augstāku GFĀ (ml/min./1,73 m2) 87,36 ± 47,12 pret 45,82 ± 26,73 (p < 0,0001) (3.7. tabula, 3.27. un 3.28. attēls).



3.27. attēls. **Pacientu grupu ar un bez CD56 antigēna ekspresijas salīdzinājums**

A) GFĀ (p < 0,0001, Manna–Vitnija U tests); B) trombocītu skaits (p = 0,0195, divu izlašu t-tests); C) kreatinīna līmenis (p < 0,0001, Manna–Vitnija U tests); D) hemoglobīna līmenis (p < 0,0059, divu izlašu t-tests)

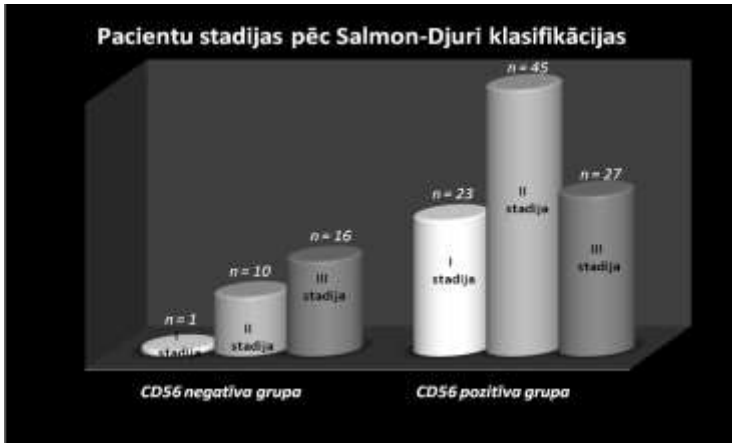


3.28. attēls. **B2MKB līmenis pētāmo pacientu grupās ar pozitīvu un negatīvu CD 56 ekspresiju**

p = 0,00141, Manna–Vitnija U tests.

CD56 pozitīvā pētāmo pacientu grupā statistiski ticami biežāk konstatē agrīnākas stadijas pēc SDK ($p < 0,0012$) (3.29. attēls).

Izvērtējot slimnieku grupas ar CD 56 pozitīvu un negatīvu ekspresiju, netika konstatēta statistiski ticama korelācija starp pacientu vecumu, dzimumu, LDH, albumīna, kopējā olbaltuma, kalcija, M-gradienta līmeni, kā arī ar pacientu rentgenoloģiski klīniski apstiprinātiem kaulaudu bojājumiem, CRO un paraproteinūrijas esamību ($p > 0,05$).



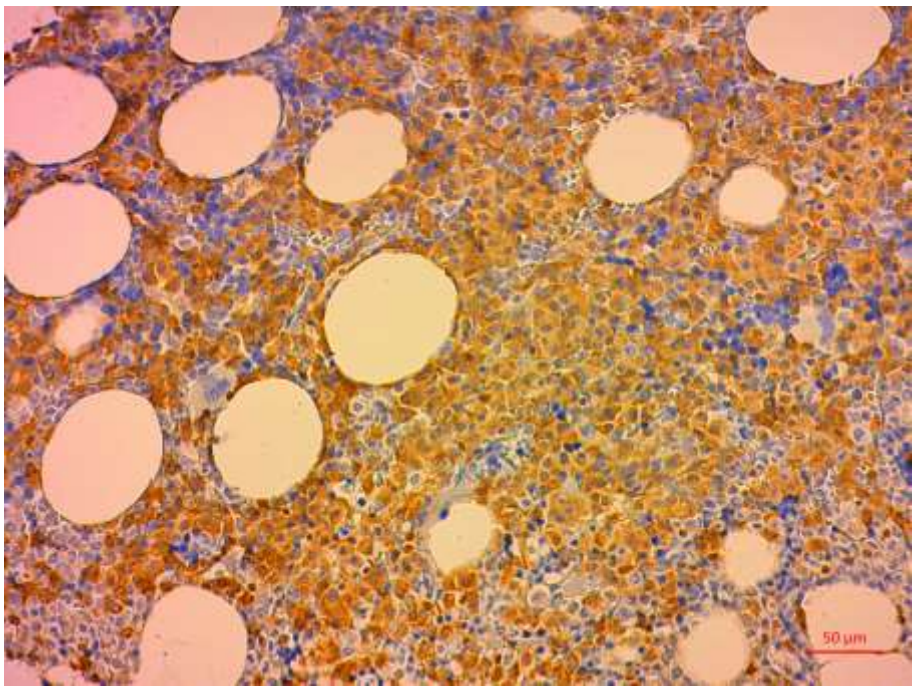
3.29. attēls. **MM stadijas pēc SDK pētāmo slimnieku grupās ar pozitīvu un negatīvu CD 56 ekspresiju**

$p = 0,0012$, Manna–Vitnija U tests.

3.3.2. BCL2

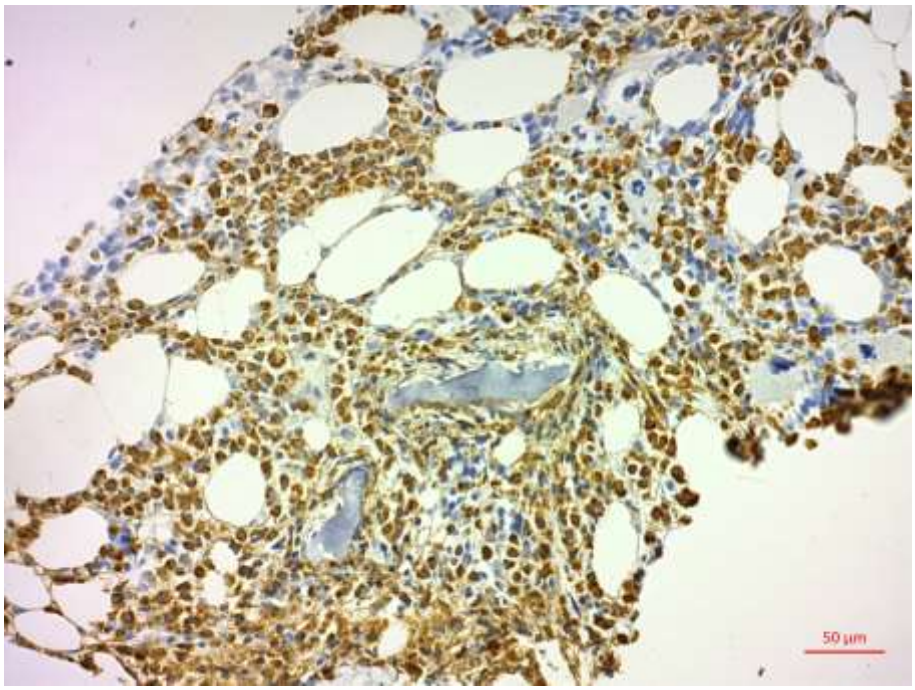
BCL2 antigēna ekspresija mielomas šūnās tika konstatēta 118 MM pacientiem (96,7 %) (3.30. un 3.31. attēls).

Statistiskie aprēķini neuzrādīja būtiskas statistiski ticamas atšķirības starp klīniski laboratoriskajiem datiem pacientu grupās ar un bez BCL2 ekspresijas mielomas šūnās ($p > 0,05$).



3.30. attēls. **Mielomas šūnas ar BCL2 antigēna ekspresiju citoplazmā**

BCL2, 200× palielinājums. Attēla autors Jurijs Nazarovs.

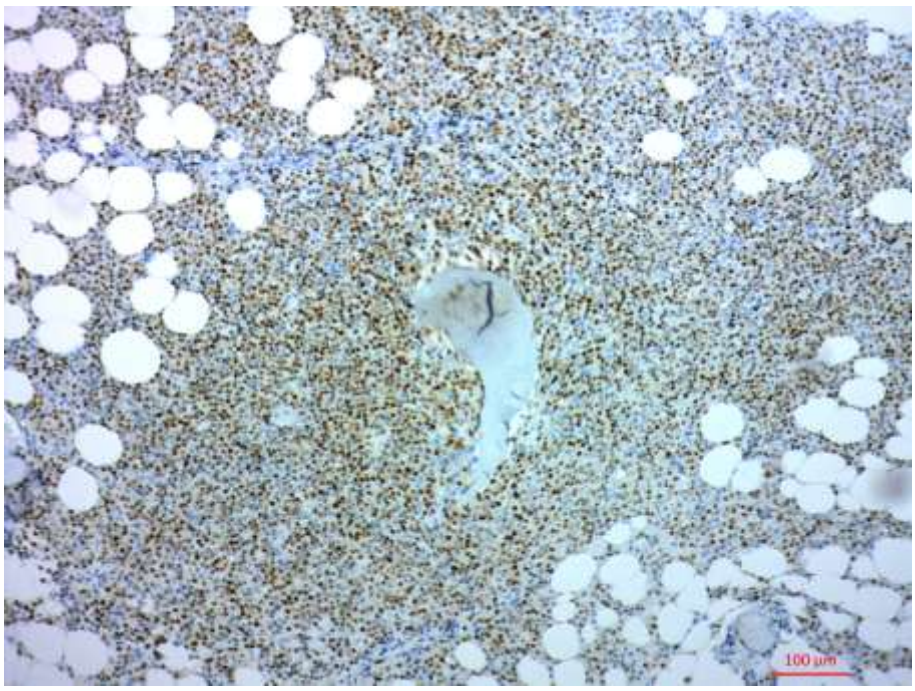


3.31. attēls. **Kaulu smadzeņu mielomas šūnas ar BCL2 antigēna ekspresiju citoplazmā**

BCL2, 200× palielinājums. Attēla autors Jurijs Nazarovs.

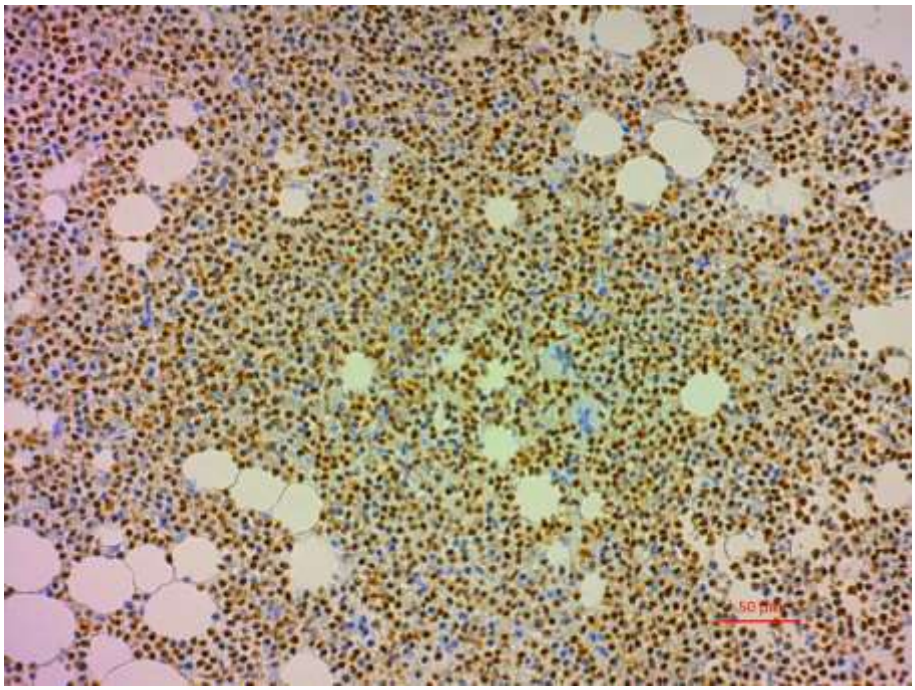
3.3.3. Ciklīns D1

Analizēto pacientu grupā ciklīna D1 antigēna ekspresija mielomas šūnās tika konstatēta 62 pacientiem (50,8 %) (3.32. un 3.33. attēls).



3.32. attēls. **Mielomas šūnas ar ciklīna D1 antigēna ekspresiju kodolos**

Ciklīns D1, 100× palielinājums. Attēla autors Jurijs Nazarovs.



3.33. attēls. **Mielomas šūnu ar ciklīna D1 antigēna ekspresiju kodolos**

Ciklīns D1, 200× palielinājums. Attēla autors Jurijs Nazarovs.

Grupas ar parametriskiem klīniski laboratoriskajiem parametriem tika salīdzinātas, izmantojot divu izlašu t-testu, bet ar neparametriskiem – Manna–Vitnija U testu, savukārt korelācija starp ciklīna D1 pozitīvām un negatīvām grupām un klīniski laboratoriskajiem datiem tika aprēķināta, izmantojot Spīrmena testu.

Tika atrasta vāja pozitīva statistiski ticama korelācija starp biežāku ciklīna D1 antigēna ekspresiju mielomas šūnās un palielinātu B2MKB (p = 0,033, r = +0,19) un kalcija (p = 0,009, r = +0,24) līmeni, biežākiem rentgenoloģiski un klīniski pierādītiem kaulaudu bojājumiem (p = 0,0014; r = +0,29) un vēlīnākām stadijām pēc SDK (p = 0,002, r = +0,28).

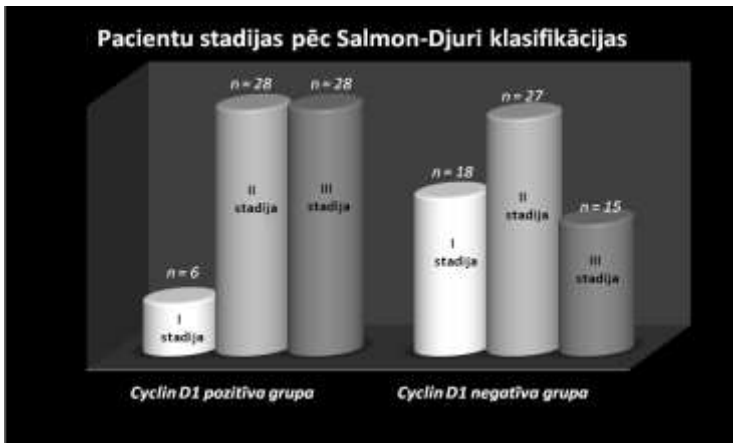
3.8. tabula

Ciklīna D1 marķiera ekspresijas korelācija mielomas šūnās ar visiem klīniski laboratoriskajiem datiem

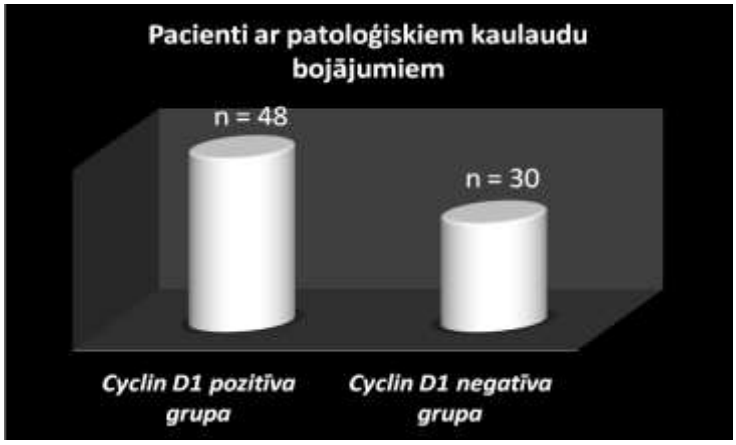
Klīniski laboratoriskie dati	Korelācija ar ciklīna D1 marķiera ekspresiju
B2MKB līmenis	Pozitīva, vāja (p = 0,033, r = +0,19)
Rentgenoloģiskie kaulu bojājumi	Pozitīva, vāja (p = 0,0014;r = +0,29)
Kalcija līmenis	Pozitīva, vāja (p = 0,009, r = +0,24)
Stadija pēc SDK	Pozitīva, vāja (p = 0,002, r = +0,28)
Vecums	nav atrasta (p > 0,05)
Dzimums	nav atrasta (p > 0,05)
Laktātdehidrogenāzes līmenis	nav atrasta (p > 0,05)
Albumīna līmenis	nav atrasta (p > 0,05)
Kopējā olbaltuma līmenis	nav atrasta (p > 0,05)
Hemoglobīna līmenis	nav atrasta (p > 0,05)
Trombocītu daudzums	nav atrasta (p > 0,05)
Glomerulu filtrācijas ātrums	nav atrasta (p > 0,05)
Kreatinīna līmenis	nav atrasta (p > 0,05)
M-gradienta līmenis	nav atrasta (p > 0,05)
CRO	nav atrasta (p > 0,05)
Paraproteinūrija	nav atrasta (p > 0,05)

Pacientu grupa ar ciklīna D1 antigēna ekspresiju mielomas šūnās statistiski ticami konstatē augstāku B2MKB (mg/dL) 5,5 ± 4,58 pret 4,27 ± 4,3 (p = 0,034) un kalcija līmeni serumā (mmol/L) 2,43 ± 0,28 pret 2,34 ± 0,27 (p = 0,0096) (3.8. tabula un 3.36. attēls).

Pacientu grupā ar ciklīna D1 ekspresiju statistiski ticami biežāk konstatē rentgenoloģiski un klīniski apstiprinātus kaulaudu bojājumus (p = 0,0017), kā arī vēlīnākas stadijas pēc SDK (p = 0,0025) (3.34. un 3.35. attēls).

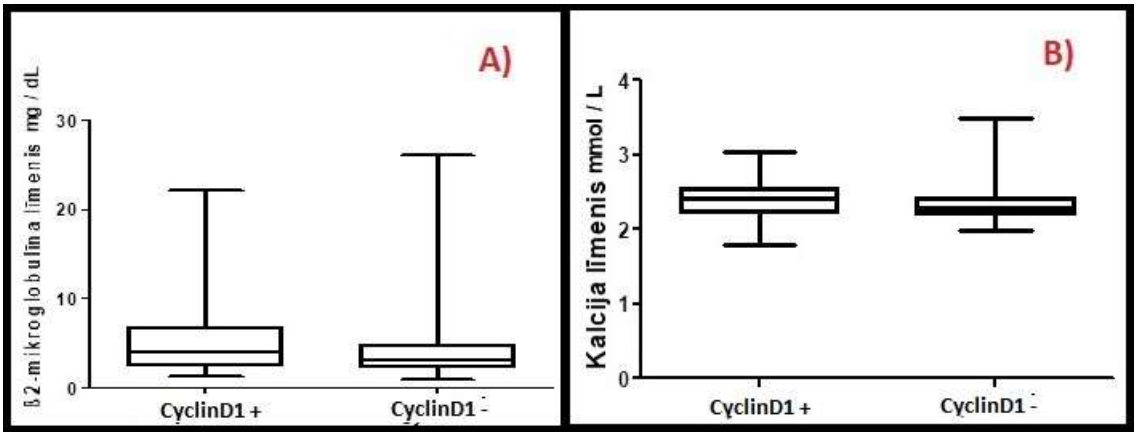


3.34. attēls. **MM pacientu ciklīna D1 pozitīvas un negatīvas grupas salīdzinājums pēc SDK** p = 0,0025, Manna–Vitnija U tests.



3.35. attēls. **Rentgenoloģiski un klīniski apstiprinātu kaulaudu bojājumu pacientu skaits grupās ar pozitīvu un negatīvu ciklīna D1 ekspresiju**

p = 0,0017, Manna–Vitnija U tests.



3.36. attēls. **Pacientu grupu salīdzinājums ar un bez ciklīna D1 ekspresijas**

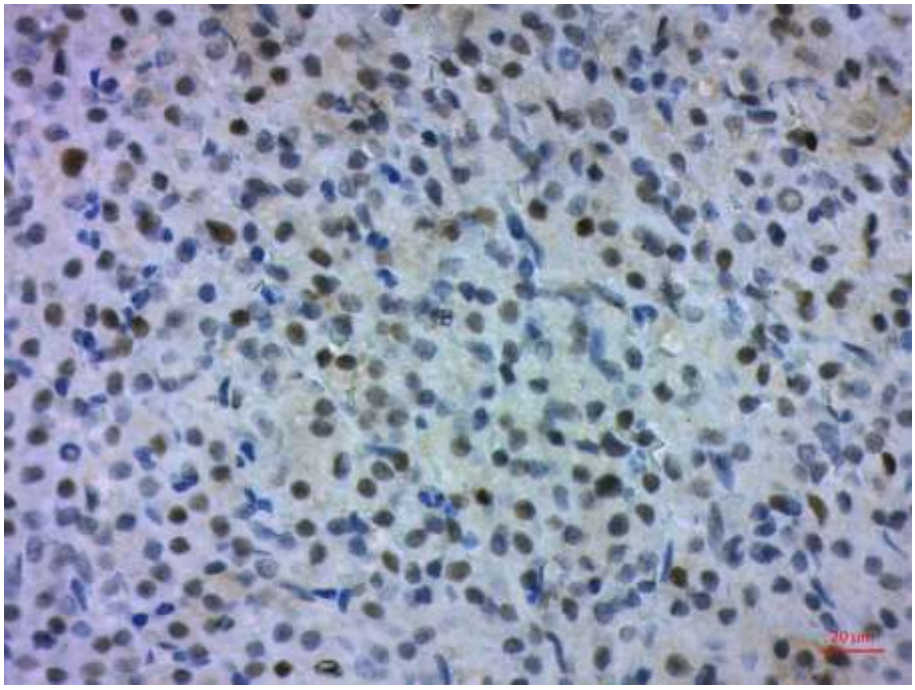
A) B2MKB līmenis (p = 0,034, Manna–Vitnija U tests); B) kalcija līmenis (p = 0,0096, Manna–Vitnija U tests)

Salīdzinot ciklīna D1 pozitīvo un negatīvo grupu statistiski ticamu korelāciju starp pacientu vecumu, dzimumu, LDH, albumīna, kopējā olbaltuma, hemoglobīna, kalcija, kreatinīna, M-gradienta līmeni, kā arī GFĀ, trombocītu skaitu, CRO un paraproteinūrijas esamību nekonstatē (p > 0,05).

3.3.4. p53

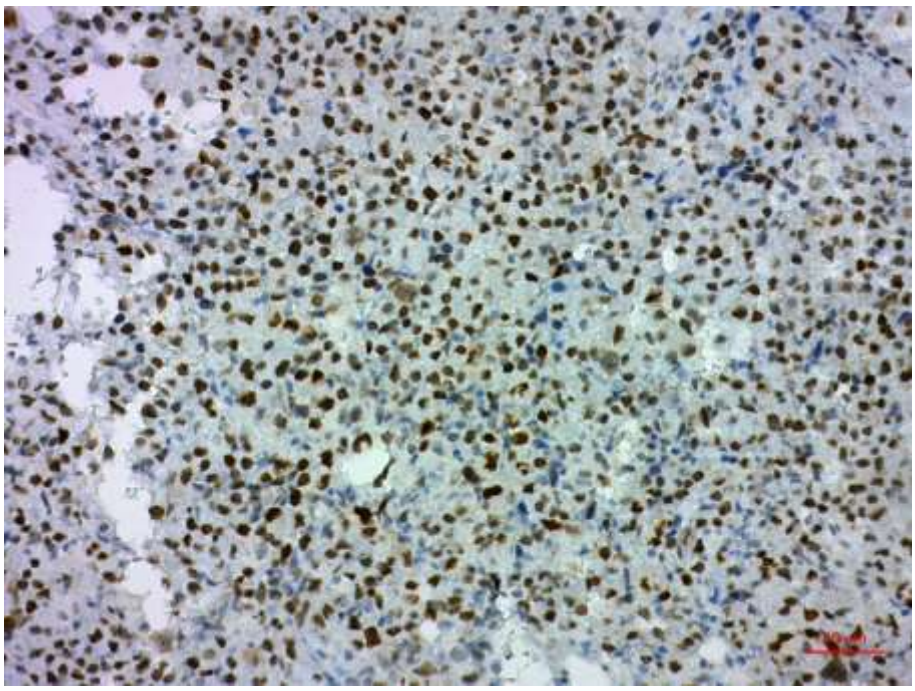
Mielomas šūnas ar p53 antigēna izteiktu nukleāro pozitivitāti analizētajā slimnieku grupā tika konstatētas 44 gadījumos (36 %) (3.37. un 3.38. attēls).

Vidēji cieša, pozitīva, statistiski ticama korelācija tika atrasta starp biežāku p53 antigēna ekspresiju mielomas šūnās un vēlīnākām MM stadijām pēc SDK ($p < 0,0001$, $r = +0,41$). Vāja, pozitīva, statistiski ticama korelācija tika atrasta starp biežāku p53 antigēna ekspresiju un palielinātu B2MKB līmeni ($p = 0,0025$, $r = +0,27$), kā arī kreatinīna ($p = 0,018$, $r = +0,21$) un CRO līmeni ($p = 0,025$, $r = +0,2$).



3.37. attēls. **p53 antigēna ekspresija mielomas šūnu kodolos**

p53, 400× palielinājums. Attēla autors Jurijs Nazarovs.



3.38. attēls. **p53 antigēna ekspresija vairāk nekā 90 % no mielomas šūnām**

p53, 200× palielinājums. Attēla autors Jurijs Nazarovs.

Vidēji cieša, negatīva, statistiski ticama korelācija tika atrasta starp biežāku p53 marķiera ekspresiju mielomas šūnās un samazinātu hemoglobīna līmeni ($p < 0,0001$, $r = -0,38$), bet vāja – starp samazinātu trombocītu daudzumu ($p = 0,023$, $r = -0,21$) un samazinātu GFĀ ($p = 0,021$, $r = -0,21$) (3.9. tabula).

3.9. tabula

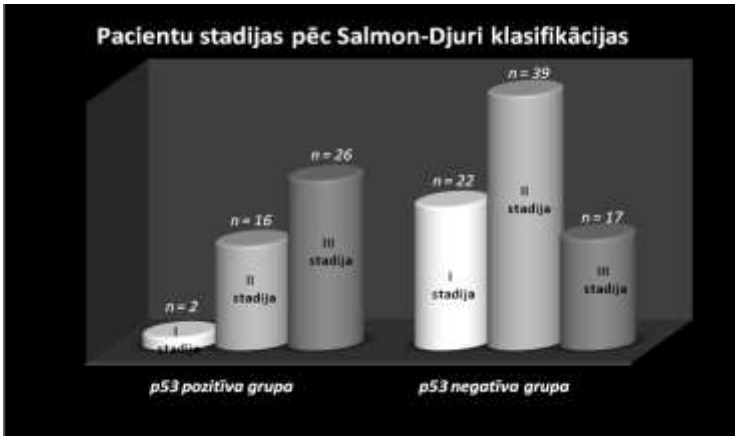
Mielomas šūnu p53 antigēna ekspresijas korelācija ar visiem klīniski laboratoriskajiem datiem

Klīniski laboratoriskie dati	Korelācija ar p53 antigēna ekspresiju mielomas šūnās
B2MKB līmenis	Pozitīva, vāja ($p = 0,0025$, $r = +0,27$)
Hemoglobīna līmenis	Negatīva, vidēji cieša ($p < 0,0001$, $r = -0,38$)
Trombocītu daudzums	Negatīva, vāja ($p = 0,023$, $r = -0,21$)
Glomerulu filtrācijas ātrums	Negatīva, vāja ($p = 0,021$, $r = -0,21$)
Kreatinīna līmenis	Pozitīva, vāja ($p = 0,018$, $r = +0,21$)
Stadija pēc SDK	Pozitīva, vidēji cieša ($p < 0,0001$, $r = +0,41$)
CRO	Pozitīva, vāja ($p = 0,025$, $r = +0,2$)
Vecums	nav atrasta ($p > 0,05$)
Dzimums	nav atrasta ($p > 0,05$)
Laktātdehidrogenāzes līmenis	nav atrasta ($p > 0,05$)
Albumīna līmenis	nav atrasta ($p > 0,05$)
Kopējā olbaltuma līmenis	nav atrasta ($p > 0,05$)
Rentgenoloģiskie kaulu bojājumi	nav atrasta ($p > 0,05$)
Kalcija līmenis	nav atrasta ($p > 0,05$)
M-gradienta līmenis	nav atrasta ($p > 0,05$)
Paraproteinūrija	nav atrasta ($p > 0,05$)

p53 antigēna pozitivitāte pacientu grupā statistiski ticami konstatē augstāku B2MKB (mg/dL) 5,84 ± 4,66 pret 4,37 ± 4,3 (p = 0,029), palielinātu kreatinīna (mmol/L) 164,5 ± 203,6 pret 106,3 ± 118,1 (p = 0,0192), kā arī palielinātu CRO līmeni (mg/L) 29,39 ± 62 pret 11,73 ± 23,24 (p = 0,0258).

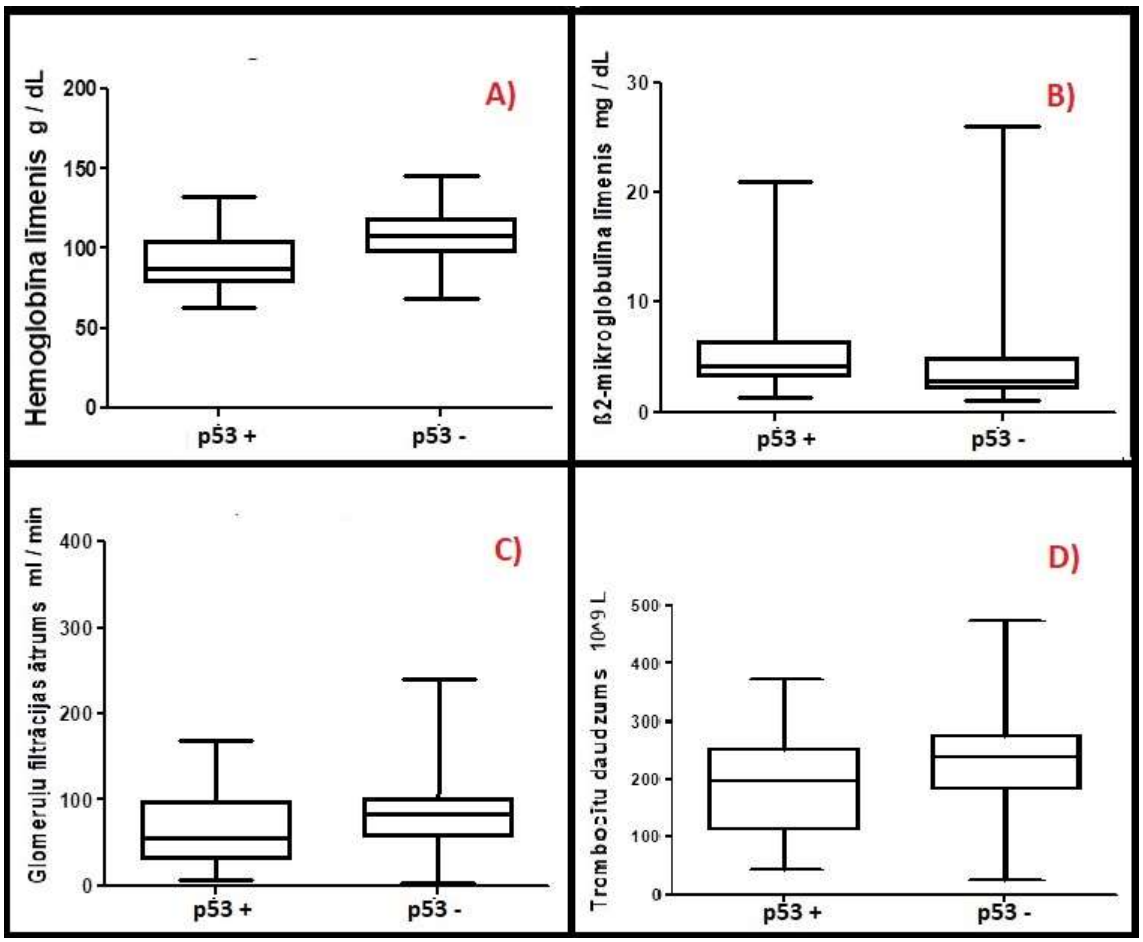
Pacientu grupā ar p53 antigēna ekspresiju mielomas šūnās statistiski ticami biežāk konstatē zemāku hemoglobīna līmeni (g/dL) 92,55 ± 17,13 pret 107,1 ± 17,1 (p < 0,0001) un trombocītu skaitu (10^9 L) 193,8 ± 87,65 pret 232,5 ± 85,3 (p = 0,0188), kā arī zemāku GFĀ (m / min. / 1,73 m2) 66,66 ± 44,51 pret 84,65 ± 46,9 (p = 0,0215) (3.40 un 3.41. attēls).

Pacientu grupā ar p53 ekspresiju statistiski ticami biežāk konstatē vēlīnākas stadijas pēc SDK (p < 0,0001) (3.39. attēls).



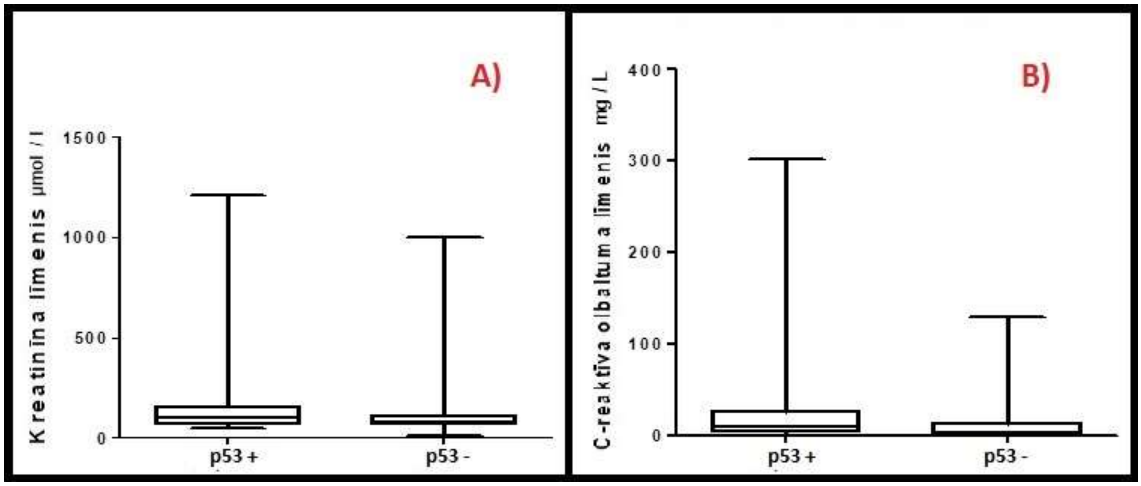
3.39. attēls. **MM stadijas pēc SDK pētāmo pacientu grupās ar p53 antigēna pozitīvu un negatīvu ekspresiju**

p < 0,0001, Manna–Vitnija U tests



3.40. attēls. **Pacientu grupu salīdzinājums ar un bez p53 antigēna ekspresijas**

A) hemoglobīna līmenis ($p < 0,0001$, divu izlašu t-tests); B) B2MKB līmenis ($p = 0,029$, Manna–Vitnija U tests); C) GFĀ ($p = 0,0215$, Manna–Vitnija U tests); D) trombocītu skaits ($p < 0,0188$, divu izlašu t-tests)



3.41. attēls. **Pacientu grupu ar un bez p53 antigēna ekspresijas salīdzinājums**

A) kreatinīna līmenis ($p < 0,0192$, Manna–Vitnija U tests); B) CRO līmenis ($p = 0,0258$, Manna–Vitnija U tests)

3.3.5. p21

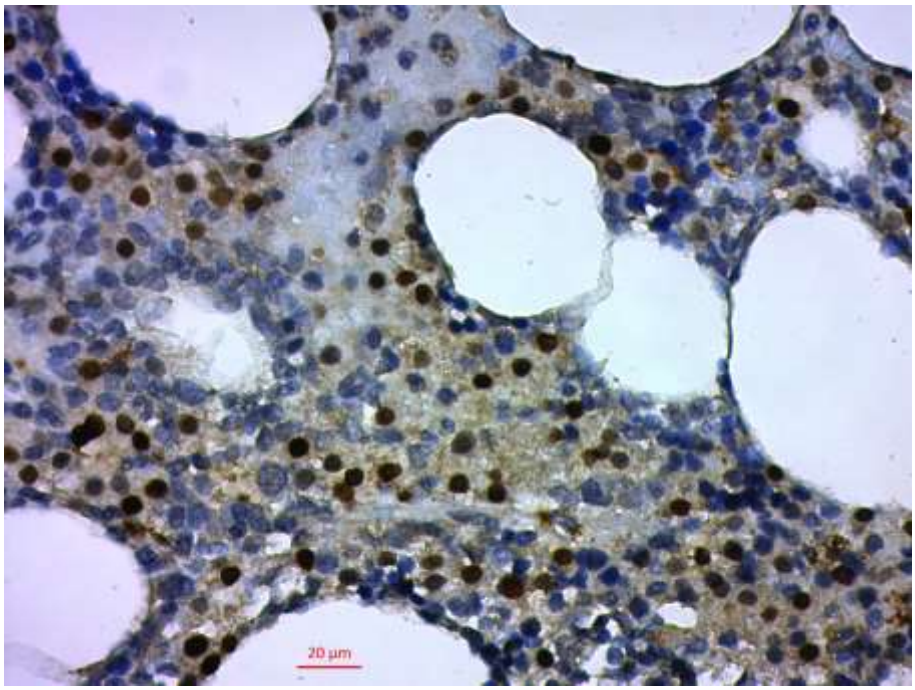
Analizētajā slimnieku grupā mielomas šūnas ar p21 antigēna nukleāro pozitivitāti (3.42. attēls) tika konstatētas 34 (28 %) gadījumos.

Vāja, pozitīva, statistiski ticama korelācija tika atrasta starp biežāku p21 antigēna ekspresiju un palielinātu M-gradienta līmeni asinīs ($p = 0,022$, $r = +0,21$), kā arī vēlīnākām MM stadijām pēc SDK ($p = 0,013$, $r = +0,22$).

Vāja, negatīva, statistiski ticama korelācija tika atrasta starp biežāku p21 antigēna ekspresiju un samazinātu albumīna līmeni ($p = 0,033$, $r = -0,19$) (3.10. tabula).

Pacientu grupā ar p21 ekspresiju statistiski ticami biežāk konstatē vēlīnākas MM stadijas pēc SDK ($p < 0,0135$) (3.43. attēls).

Pacientu grupā ar p21 antigēna ekspresiju mielomas šūnās statistiski ticami biežāk konstatē zemāku albumīna līmeni (g/L) $38,89 \pm 13,62$ pret $41,33 \pm 22,18$ ($p = 0,0334$) un palielinātu M-gradienta līmeni (g/L) $34,74 \pm 19,86$ pret $25,62 \pm 17,11$ ($p = 0,014$) (3.44. attēls).



3.42. attēls. **p21 antigēna ekspresija mielomas šūnu kodolos**

p21 400× palielinājums. Attēla autors Jurijs Nazarovs.

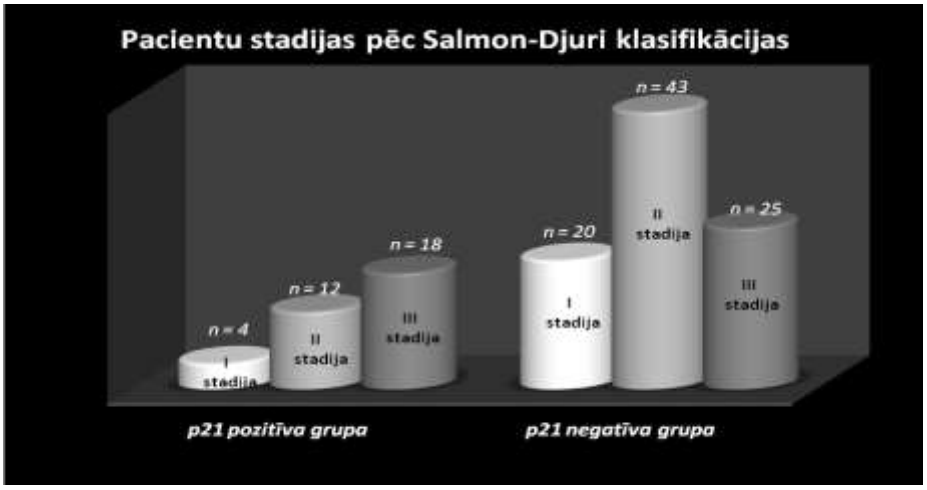
3.10. tabula

Mielomas šūnu p21 antigēna ekspresijas korelācija ar visiem klīniski laboratoriskajiem datiem

Klīniski laboratoriskie dati	Korelācija ar p21 antigēna ekspresiju mielomas šūnās
Albumīna līmenis	Negatīva, vāja ($p = 0,033$, $r = -0,19$)
M-gradienta līmenis	Pozitīva, vāja ($p = 0,022$, $r = +0,21$)
Stadija pēc SDK	Pozitīva, vāja ($p = 0,013$, $r = +0,22$)

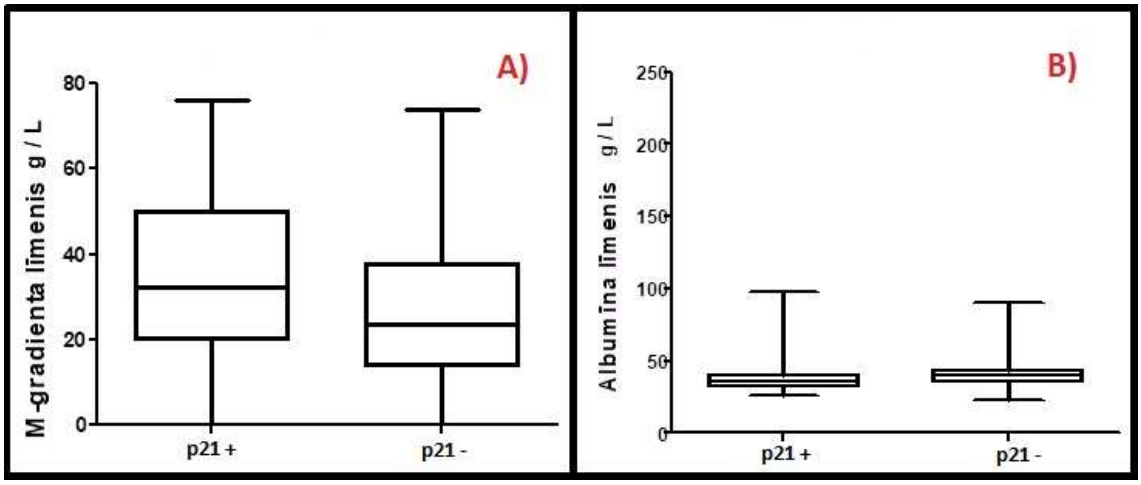
3.10. tabulas turpinājums

Klīniski laboratoriskie dati	Korelācija ar p21 antigēna ekspresiju mielomas šūnās
Vecums	nav atrasta (p > 0,05)
Dzimums	nav atrasta (p > 0,05)
B2MKB līmenis	nav atrasta (p > 0,05)
Laktātdehidrogenāzes līmenis	nav atrasta (p > 0,05)
Kopējā olbaltuma līmenis	nav atrasta (p > 0,05)
Hemoglobīna līmenis	nav atrasta (p > 0,05)
Trombocītu daudzums	nav atrasta (p > 0,05)
Glomerulu filtrācijas ātrums	nav atrasta (p > 0,05)
Kreatinīna līmenis	nav atrasta (p > 0,05)
Rentgenoloģiskie kaulu bojājumi	nav atrasta (p > 0,05)
Kalcija līmenis	nav atrasta (p > 0,05)
CRO	nav atrasta (p > 0,05)
Paraproteinūrija	nav atrasta (p > 0,05)



3.43. attēls. **MM stadijas pēc SDK pētāmo pacientu grupās ar p21 antigēna pozitīvu un negatīvu ekspresiju**

p < 0,0135, Manna–Vitnija U tests.



3.44. attēls. **Pacientu grupu salīdzinājums ar un bez p21 antigēna ekspresijas**

A) M-gradienta līmenis (p = 0,014, divu izlašu t-tests);
B) albumīna līmenis (p = 0,0334, Manna–Vitnija U tests).

4. Diskusija

Izanalizējot publikācijas mums pieejamā pasaules literatūrā un Latvijas statistikas datus, tika secināts, ka pēdējo 10 gadu laikā novēro MM saslimstības pieaugumu. Latvijā saslimstība ir pieaugusi no 4,06 gadījumiem līdz 5,5 gadījumiem uz 100 000 iedzīvotājiem atbilstoši 2008. un 2017. gadā (SPKC). Piecu gadu dzīvildze Latvijā pēdējos gados svārstās no 30 % līdz 50 %, un, pateicoties jaunākajiem ārstēšanas paņēmieniem, pacienti dzīvo 10–20 un pat vairāk gadu pēc diagnozes noteikšanas (Pildava, 2012; Lejniece et al., 2014), tāpēc ļoti aktuāli ir pētījumi par mielomas šūnu histoloģiskām un imūnhistoķīmiskām īpatnībām, kuras ir saistītas ar MM prognozi un individuālās ārstēšanas plānu katram pacientam.

Kaulu smadzeņu celularitāte

Kaulu smadzeņu celularitāte MM gadījumos ir viens no svarīgākajiem un viegli nosakāmajiem nespecifiskajiem histoloģiskajiem parametriem (Stifter, 2010), kam, pēc vairāku autoru domām, ir prognostiska nozīme. Pacientiem ar augstāko celularitāti biežāk konstatē vēlīnākas MM stadijas un īsāku dzīvildzi (Bartl, 1987; Riccardi, 1990; Singhal, 2004; Dass, 2019).

Ņemot vērā to, ka mūsu pētījuma grupas pacientu vidējais vecums pārsniedza 60 gadus, vidējās celularitātes rādītājs pārsniedza vecuma normu (vidēji 57,87 ± 20,64 %). Slimniekiem ar lielāku celularitātes rādītāju kaulu smadzenēs MM asociējas ne tikai ar vēlīnāku MM stadiju pēc SDK, bet arī ar tādiem sliktākiem klīniski laboratoriskajiem prognostiskiem rādītājiem kā palielinātu B2MKB, albumīna, kreatinīna, M-gradienta līmeni, samazinātu trombocītu skaitu un GFĀ. Mūsu pētījumā iegūtie dati sakrīt ar citu autoru (Stifter, 2010; Bartl, 1987; Riccardi,1990; Singhal, 2004; Dass, 2019) datiem, ka, primāri diagnosticējot MM, jau pēc kaulu smadzeņu celularitātes var spriest par slimības prognozi konkrētam pacientam.

Mielomas šūnu daudzums

Vairākos klīniskajos pētījumos tiek norādīts, ka paaugstināts (virs 40–50 % un vairāk) mielomas šūnu daudzums kaulu smadzeņu bioptātos saistīts ar vēlīnākām slimības stadijām un īsāku dzīvildzi (Singhal et al., 2004; Dass et al., 2019). Piemēram, *Subramanian* (2009) ar līdzautoriem, analizējot 55 trepānbiopsijas pacientiem ar MM, secināja, ka sliktāka prognoze un īsākā dzīvildze bija pacientiem ar mielomas šūnu daudzumu virs 50 %, kas saskan arī ar mūsu atradi. Saskaņā ar dažādu pētījumu rezultātiem palielināts CD138 marķēto mielomas šūnu daudzums mehāniski nomāc asinsradi kaulu smadzenēs un tās izdala organismā

citokīnus, interleikīnus, paraproteīnu, kas veicina kaulu un nieru bojājumu, bet nieru patoloģiskās izmaiņas savukārt nomāc eritropoetīna sintēzi un tādējādi padziļinās anēmija (Lokhorst et al., 2002; Musto et al., 1998; Korbet et al., 2006; Akhmetzyanova, 2019).

Mūsu analizētajā pacientu grupā mielomas šūnu daudzums bija vidēji 52,14 ± 21,1 %. Paaugstināts mielomas šūnu daudzums korelēja ar samazinātu albumīna, Hb, kreatinīna līmeni, trombocītu skaitu, GFĀ, bet palielinātu B2MKB un M-gradienta līmeni, vēlīnajām stadijām pēc SDK un biežākiem kaulu bojājumiem. Pazeminātс Hb līmenis, GFĀ un trombocītu skaits korelēja ar kaulu smadzeņu hemopoēzes (mieloīdas, sarkanās u. c.) šūnu aizvietošanu ar mielomas šūnām. Iespējams, tas varētu būt saistīts ar pacientu vecuma blakusslimībām vai arī ar to, ka slimniekiem jau pirms MM attīstības ir bijusi nieru funkcijas pasliktināšanās sakarā ar tādu blakusslimību ietekmi kā arteriālā hipertensija, ateroskleroze vai cukura diabēts.

Mielomas šūnu infiltrācijas tips

Mielomas šūnu infiltrācijas tipam (intersticiāls, fokāls, jaukts (intersticiāls un fokāls) un difūzs) ir svarīga nozīme slimības prognozē, jo tie korelē ar vairākiem klīniski laboratoriskajiem parametriem. Tika konstatēts, ka pacientu grupai ar intersticiālo infiltrāciju statistiski ticami biežāk tika konstatēti labāki laboratoriskie rādītāji, piemēram, zemāks B2MKB un kreatinīna līmenis un augstāks Hb, Tr skaits un agrīnākas MM stadijas, nekā pacientu grupai ar jaukto vai difūzo infiltrācijas tipu, kas sakrīt ar literatūras datiem, kur tika pētīts infiltrācijas tips attiecībā uz dzīvildzi (Sailer et al.,1995; Riccardi et al., 1990).

Intersticiālo infiltrācijas tipu nosacīti var definēt par slimības progresijas sākumfāzi, kas norisinās ar iniciālu vai minimālu kaulu smadzeņu bojājumu, tas tika novērots arī mūsu analizētajā pacientu grupā ar minimālām klīniski laboratoriskajām izmaiņām. Mūsu pētījumā pacientu grupā ar intersticiālo infiltrācijas tipu, salīdzinot ar difūzo vai jaukto infiltrācijas tipu, satistiski ticami biežāk tika konstatēta I stadija pēc SDK, kā arī zems B2MKB, M-gradienta līmenis, kā arī salīdzinoši augstāks Hb līmenis. *Park* (2016) pētījumā par limfomām atklāja, ka mazāk agresīvās limfomas tipos agrīnākās stadijās kaulu smadzenes tiek infiltrētas intersticiāli vai fokāli, kas saskan arī ar mūsu atradi attiecībā uz MM. *Shi* (2015) ar līdzautoriem pētījumā par kaulu smadzeņu bojājumiem limfoproliferatīvu saslimšanu gadījumos rekomendē patohistoloģiskā atzinumā norādīt kaulu smadzeņu infiltrācijas tipu, lai klīnicisti tālāk to varētu izmantot pacientu prognozes izvērtēšanai un terapijas izvēlei.

Mielomas šūnas ar plazmoblastisku diferenciāciju

Plazmoblastiskās diferenciācijas loma MM patoģenēzē vēl pilnībā nav izpētīta, bet augstais mielomas šūnu procentuālais daudzums ar plazmoblastisku diferenciāciju ir viennozīmīgi slikts MM patohistoloģiskais rādītājs, jo vairāki autori savos pētījumos to saista ar sliktāku slimības prognozi un īsāku dzīvildzi (Greipp, 1985, Kuriakose, 1995; Suarez-Londono, 2020). Iespējams, plazmoblasti sintezē citokīnus, kas stimulē mielomas šūnu proliferāciju un slimības progresiju, jo citokīni stimulē arī osteoklastu aktivāciju.

Greipp (1998) ar līdzautoriem, analizējot 600 pacientu kaulu smadzeņu citoloģisko materiālu (t. s. aspirātus), noteica, ka paaugstināts interleikīna-6 daudzums asinīs korelē ar palielinātu plazmoblastu daudzumu MM slimniekiem. Savukārt *Srija* (2014) ar līdzautoriem uzsver, ka MM ar plazmoblastisku diferenciāciju sliktāka prognoze ir saistīta ar biežāku nieru funkcijas bojājumu, kas, visticamāk, saistīts ar mielomas šūnu palielinātu proliferāciju un tam sekojošu patoloģiskā olbaltuma sintēzi, kas arī izraisa nieru parenhīmas bojājumu un īsāku pacientu dzīvildzi. Nieru bojājuma patofizioloģiskais mehānisms MM gadījumā ir skaidrojams ar brīvajām monoklonālajām vieglajām ķēdēm (kapa, lambda), kas zemās molekulu masas dēļ tiek brīvi filtrētas caur nieru glomerulāro aparātu un tad reabsorbējas pārsvarā proksimālajos nieru kanāliņos endocitozes ceļā. Tā kā MM gadījumā ir šo vieglo ķēžu pārprodukcija, tad tiek pārsniegtas proksimālo nieru kanāliņu epitēlijšūnu reabsorbcijas spējas īpaši gadījumos ar palielinātu CD138+ mielomas šūnu daudzumu kaulu smadzenēs vai arī pie augstāka mielomas šūnu procenta ar zemāko diferenciāciju, piemēram, plazmoblastisko diferenciāciju (Srija et al., 2014), rezultātā attīstās tubulointersticiālā nefropātija (Hutchison et al., 2010; Lamb et al., 2013).

Mūsu pētījumā mielomas šūnu daudzums ar plazmoblastisku diferenciāciju bija vidēji 9,87 ± 17,34 % un pacientiem ar lielāku plazmoblastu skaitu tika konstatēts paaugstināts B2MKB, Hb un M-gradienta līmenis, samazināts GFĀ, kā arī biežākas vēlīnākas stadijas pēc SDK.

Kaulaudu mikroosteolītiskie bojājumi

Lai gan pētījumos salīdzinoši reti ir analizēti kaulaudu mikroosteolītiskie bojājumi (Vallet et al., 2018; Silbermann et al., 2013), to atrade mūsu slimnieku trepānbiopsijās statistiski ticami korelē gandrīz ar visiem prognostiski sliktākajiem klīniski laboratoriskajiem parametriem. Kaulaudu trabēkulu mikroosteolītiskie bojājumi relatīvi vienkārši nosakāmi mikropreparātos ar H/E krāsojumu. Tā ir salīdzinoši lēta ikdienā lietojama metode, tāpēc mikroosteolīzes perēklīšu klātiene ir jāfiksē kā MM nelabvēlīgas gaitas izpausmes parametrs. Mūsu pētījumā kaulaudu trabēkulu morfoloģiskie mikroosteolītiskie bojājumi tika konstatēti

78 (64 %) pacientiem, un tas statistiski ticami korelēja ar vairākiem prognostiski nelabvēlīgākiem klīniski laboratoriskajiem parametriem, piemēram, ar paaugstinātu B2MKB, samazinātu GFĀ, kā arī vēlīnākām stadijām pēc SDK.

Mielofibroze

Mūsu pētījumā neapstiprinājās kaulu smadzeņu mielofibrozes pakāpes prognostiskā nozīme MM pacientiem. Kaulu smadzeņu izmeklējumu rezultāti liecina, ka mielofibrozes pakāpe pacientiem ar dažādām SDK stadijām un variabliem laboratoriskajiem prognostiskajiem testiem bija salīdzinoši vienāda. Iespējams, kaulu smadzeņu mielofibrozes pakāpei ir nozīme pacientu novērošanai dinamikā vai izvērtējot ārstēšanas efektivitāti, jo vairākos pētījumos šis parametrs trepānbiopsijās tika salīdzināts dinamikā un aprakstīts kā atbildes reakcija uz saņemto terapiju (Hallgrimsdottir et al., 2013; Pulsoni et al.,1993), kas nebija šī pētījuma darba mērķis un netika izvērtēts.

CD56

CD56 antigēna ekspresija MM šūnās bija salīdzinoši bieža atrade mūsu pētījumā, tā tika diagnosticēta 78 % gadījumu. Šī atrade saskan ar literatūras datiem, kur autori min, ka tā svārstās no 70 % līdz 80 % MM saslimšanas gadījumu (Harada et al., 1993; Harrington et al., 2009).

CD56 antigēna iztrūkums mielomas šūnās mūsu pētījumā, kā arī citu zinātnieku darbos (Hundemer et al., 2007; Chang et al., 2006; Ceran, 2017 et al.; Skerget et al., 2018) korelē ar tādiem prognostiski sliktākiem klīniski laboratoriskajiem parametriem kā augstāks B2MKB līmenis, izteiktāks nieru bojājums (kreatinīna līmenis un GFĀ attiecīgās izmaiņas), trombocitopēnija, kā arī vēlīnākas MM stadijas (Hundemer et al., 2007; Rawstron et al., 1999; Sahara et al., 2002; Chang et al., 2006; Ceran et al., 2017; Skerget et al., 2018). CD56 antigēna sliktāku prognostisku nozīmi varētu saistīt ar neefektīvu ķīmijterapiju un biežāku komplikācijas attīstību, kā, piemēram, nieru mazspēja (Ceran et al., 2017; Skerget et al., 2018). Citi autori (Dunphy et al., 2007) turpretim neatrada korelāciju starp CD56 ekspresiju mielomas šūnās un klīniski prognostiskajiem parametriem, kā arī ar slimnieku dzīvildzi (Durie et al., 1975; Fechtner et al., 2010). Iespējams, ka tas izskaidrojams ar nelielu MM pacientu skaitu minētajos pētījumos vai sakarā ar to, ka tika izmantotas mazāk standartizētas manuālas imūnhistoķīmiskās krāsošanas metodes.

CD56 marķieri ir lietderīgi izmantot diagnostiskos nolūkos gadījumos ar kaulu smadzeņu parciālu infiltrāciju ar mielomas šūnām (10–15 %), lai pierādītu atipiju tajās, kā arī klīnikā – prognostiskā nolūkā, lai noteiktu slimības gaitu un izvēlētās terapijas efektivitāti

(Dass, 2019). CD56 ekspresija mielomas šūnās bez citu morfoloģisko un imūnhistoķīmisko marķieru interpretācijas nevar būt vienīgais MM prognostiskais histopatoloģiskais kritērijs, jo, piemēram, Lietuvas kolēģu pētījumā ar plūsmas citometriju atrada CD56 ekspresiju mielomas šūnās (CD138+ šūnās) veseliem cilvēkiem (Peceliunas, 2011).

BCL2

Nākamais imūnhistoķīmiskais marķieris, kurš tika analizēts mūsu pētījumā, ir BCL2 ģimenes gēns, kas nosaka BCL2 proteīna sintēzi, un tam ir vissvarīgākā loma šūnu apoptozes inaktivācijā (Vaux et al., 1988), kas ir viens no svarīgiem faktoriem ļaundabīgo procesu attīstībā (Huang et al., 2017; Makino et al., 2019; Giotakis et al., 2019).

Pacientiem ar primāri diagnosticētu MM BCL2 proteīna / antigēna ekspresijas biežums mielomas šūnās ir ievērojami lielāks nekā pacientiem ar reaktīvām plazmocitozēm (Miguel-García et al.,1998; Wei et al., 2003). Mūsu pētījumā BCL2 antigēna ekspresija tika konstatēta 118 pacientiem jeb 96,7 %. Ņemot vērā minēto faktu par BCL2 biežu pozitivitāti mielomas šūnās, šo antigēnu var izmantot situācijās, lai diferencētu mielomas šūnas no plazmocītiem bez atipijas, īpaši gadījumos ar nelielu CD138+ plazmocītu daudzumu kaulu smadzenēs, kā arī MM personalizētajā ķīmijterapijā, inaktivējot audzējšūnās BCL2 gēna antiapoptotisko mehānismu, kā, piemēram, preparāts *venetoclax*, kas tiek izmantots arī hroniskās limfoleikozes ārstēšanā, un pētījumi mielomas slimības gadījumā arī norit pēdējos gados (Seymour et al., 2018; Kumar et al., 2019). Arī *Touzeau* (2018) ar līdzautoriem atklāja BCL2 gēna pozitīvu ietekmi uz MM ķīmijterapijas efektivitāti, inducējot kombinācijā ar citiem gēniem, piemēram, BCLXL apoptozi mielomas šūnās.

Ciklīns D1

Mūsu pētījumā ciklīna D1 antigēna ekspresija tika noteikta 50,8 % MM gadījumu. Arī citu zinātnisku laboratoriju pētījumu rezultāti liecina, ka ciklīns D1 mielomas šūnās tiek konstatēts salīdzinoši bieži, līdz 50 % pacientu (Padhi et al., 2013; Markovic et al., 2004; Cook et al., 2006). Saskaņā ar literatūras datiem ekspresija audzēja šūnās saistīta ar t (11;14) translokāciju (Hitomi et al., 1999) un tas ietekmē šūnu cikla regulāciju, aktivējot to attiecīgā posmā (Padhi et al., 2013; de Falco et al., 2004; Alt et al., 2000). Mūsu pētījuma rezultāti pierāda, ka ciklīna D1 ekspresija negatīvi ietekmē slimības prognozi, jo ciklīna D1 ekspresija korelē ar sliktākiem klīniski laboratoriskajiem parametriem un augstāku B2MKB līmeni, biežākiem patoloģiskiem kaulaudu bojājumiem, augstāku kalcija līmeni, kā arī vēlīnākām stadijām pēc SDK. Arī citas zinātnieku grupas pierāda ciklīna D1 korelāciju ar palielinātu mielomas šūnu daudzumu MM diagnostikas brīdī, limfoplazmocitoīdām morfoloģiskajām

pazīmēm un CD20 antigēna ekspresiju (Athanasiou et al., 2001; Cook et al., 2006). Visticamāk, t (11;14) translokācija, kas izpaužas histoloģiski ar ciklīna D1 ekspresiju, aktivē šūnu ciklu audzēja audos, kas MM gadījumā klīniski izpaužas pārsvarā ar osteoklastu aktivāciju, izdalot citokīnus, kuru rezultātā MM pacientiem attīstās osteolītiskas komplikācijas (Wallin et al., 2011; Beason et al., 2013; Hsu et al., 2015). Mūsu pētījumā ciklīna D1 ekspresija statistiski ticami ir galvenais riska faktors osteolītiskas komplikācijas attīstībā MM pacientiem, kas, iespējams, tiks izmantots nākotnes MM terapijā, lai inaktivētu osteoklastu aktivitāti (Hameed et al., 2014; Pawlyn et al., 2019) un pagarinātu slimnieku dzīvildzi (Suarez Anwer et al., 2019).

p53

Literatūras datos, kā arī mūsu pētījumā pacientu grupa ar p53 marķiera ekspresiju mielomas šūnās ir ar augstāku MM komplikācijas risku, jo šiem slimniekiem bieži MM izpaužas ar tādiem sliktākiem klīniski laboratoriskajiem rādītājiem kā palielinātu B2MKB, sliktākiem nieru funkcijas rādītājiem, zemāku Hb līmeni, kā arī ar vēlīnākām stadijām pēc SDK. Iespējams, ka p53 olbaltuma audzēja supresora antigēna, kuru imūnhistoķīmiski konstatē mielomas šūnu kodolos, antionkogēnā ietekme saistīta ar 17. hromosomas (Soussi, 2010; Issaeva, 2019) gēna TP53 (17p13.1) bojājumu. TP53 gēna bojājums, kuru morfoloģiski imūnhistoķīmiski novēro ar p53 antigēna ekspresiju mielomas šūnās, izpaužas ar antionkogēniem regulācijas traucējumiem, kuru rezultātā tiek bloķēti mehānismi, kas ļaundabīgajās šūnās inducē apoptozi, šūnu cikla apstāšanos vai autofāgiju (Fischer, 2017; Efeyan et al., 2007; Nag et al., 2013; Brooks et al., 2010; Hao et al., 2014).

Antionkogēna proteīna p53 ekspresija mielomas šūnās saistīta ar sliktākiem klīniski prognostiskajiem parametriem un īsāku pacientu dzīvildzi (Nag et al., 2013). Arī mūsu pētījums pierādīja, ka pacienti ar proteīna p53 ekspresiju nonāk pie hematologa smagākā stāvoklī un ar vairākām MM mērķorgānu komplikācijām: kaulu, nieru funkcijas un asinsainas izmaiņām.

Teoh (2014) un *Herrero* (2016) ar līdzautoriem konstatē, ka pacientiem ar p53 ekspresiju mielomas šūnās salīdzinoši bieži tiek novērota rezistence pret standarta ķīmijterapiju un tiek rekomendēta agresīvāka ārstēšanas metožu izvēle, lai pagarinātu šīs pacientu grupas dzīvildzi.

p21

p21 proteīna ekspresija saistīta ar šūnu cikla regulāciju, bet literatūrā nav daudz pētījumu par p21 proteīna lomu MM (Ogino et al., 2006; Liu et al., 2013; Maes et al., 2017; Fischer, 2017). DNS bojājums veicina p21 proteīna aktivāciju, kuru vienīgais un galvenais darba uzdevums ir bloķēt šūnu ciklu G1/S fāzē, tātad bloķēt audzējšūnu proliferāciju (Dhyani et al., 2015; Jung et al., 2010). Visticamāk, p21 proteīnam nav tik spēcīgas ietekmes uz audzēja proliferāciju, kā, piemēram, p53 proteīnam, kas var inducēt gan ieprogrammētu šūnu nāvi apoptozi, gan šūnu cikla apstāšanos vai autofāgiju (Nag S. et al., 2013; Brooks et al., 2010; Hao et al., 2014). Mūsu analizētajā MM pacientu grupā p21 ekspresija tika konstatēta 28 % pacientu un korelēja tikai ar dažiem sliktākas prognozes klīniskajiem un laboratoriskajiem parametriem: hiperalbuminēmiju un paraproteinēmiju, kā arī to konstatēja vēlīnākās stadijās (2. un 3.) pēc SDK klasifikācijas.

p21 aktivācija saistīta ar p53 proteīna mijiedarbību šūnu DNS bojājuma gadījumā, kas savukārt nodrošina audzēja šūnu proliferāciju, sliktāku terapijas efektu, nelabvēlīgāku prognozi un īsāku dzīvildzi (Ohata et al., 2005; Kanavaros et al., 2000). Pēdējos gados parādās vairāki pētījumi, kuros autori p21 proteīnu izolētu vai kombinācijā ar p53 vai citiem šūnu cikla regulatoriem, piemēram, Wnt/β-katenīnu, izmanto MM personalizētajā terapijā, kuras rezultātā palēninās audzēja augšana. Tiek inducēti apoptozes mehānismi un novērota audzēja regresija ar minimāliem medikamentu blakusefektiem (Argueta et al., 2017; Mei et al., 2020; Stefka et al., 2020).

Pēdējā gadu desmitā, paplašinoties ķīmijterapijas un monoklonālo antivielu klāstam MM ārstēšanā, arvien aktuālāks ir jautājums par prognostiskajiem marķieriem, kas varētu palīdzēt izvēlēties individualizētu terapiju katram slimniekam. Svarīgs ir arī jautājums hematologiem par to, vai vajag vai, tieši otrādi, nevajag uzsākt "snaudošās" MM terapiju. Un te palīgā nāk morfoloģiskās, imūnhistoķīmiskās mielomas šūnu pazīmes, kā arī molekulāri ģenētiskie izmeklējumi. Tā kā kaulu smadzeņu analīze ir rutīnā diagnostiskā metode MM gadījumos, tad ar histoloģiskām un imūnhistoķīmijas metodēm jau pirmreizējā MM diagnostikas brīdī var spriest par prognozi, komplikāciju risku un pieņemt pamatotu lēmumu par terapijas veidu konkrētam slimniekam. Šis pētījumu virziens nepārtraukti attīstās gan hematoloģisko, gan solīdo audzēju gadījumos, kas liecina, ka histoloģiskie, histoķīmiskie un imūnhistoķīmiskie izmeklējumi tiks kombinēti, kļūs vēl detalizētāki un, jādomā, paplašinās cilvēces zināšanas par audzēju izcelsmi, progresēšanu un ārstēšanu.

Secinājumi

1. Kaulu smadzeņu paaugstināta celularitāte, kaulaudu trabēkulas mikroosteolīzes apvidi, augsts mielomas šūnu skaits, kā arī ievērojams mielomas šūnu procentuāls daudzums ar plazmoblastisku diferenciāciju, mielomas šūnu difūzais un jauktais infiltrācijas tips statistiski ticami korelē ar prognostiski sliktākiem rādītājiem – beta 2 mikroglobulīna, kreatinīna, M-gradienta līmeņa paaugstināšanos un albumīna, hemoglobīna līmeņa, nieru funkcijas samazināšanos, kā arī ar vēlīnākām multiplās mielomas stadijām pēc Salmona–Djurī klasifikācijas.
2. CD56 marķiera ekspresijas izzušana un p53 antigēna pozitivitāte mielomas šūnās statistiski ticami korelē ar prognostiski sliktākiem rādītājiem – B2MKB paaugstināšanos, nieru bojājumu ar kreatinīna paaugstināšanos un GFĀ samazināšanos, kā arī hemoglobīna līmeņa un trombocītu skaita samazināšanos – un ar vēlīnākām MM stadijām pēc SDK.
3. Ciklīna D1 antigēna ekspresija mielomas šūnās statistiski ticami korelē ar prognostiski sliktākiem rādītājiem – B2MKB, kalcija līmeņa paaugstināšanos, biežākiem klīniski radioloģiski pierādītiem kaulu bojājumiem, tostarp patoloģiskiem lūzumiem, un vēlīnākām MM stadijām pēc SDK.
4. Pastāv statistiski ticama korelācija starp p21 antigēna ekspresiju mielomas šūnās un prognostiski sliktākiem rādītājiem – paaugstinātu M-gradienta līmeni, bet samazinātu albumīna līmeni – un vēlīnākām MM stadijām pēc SDK.
5. Tā kā netika konstatēta statistiski ticama korelācija starp MM pacientu epidemioloģiskajiem datiem un visiem mielomas šūnu morfoloģiskajiem parametriem, kā arī sakarā ar to, ka imūnhistoķīmiski noteiktajai BCL 2 antigēna ekspresijai nav korelācijas ar slimnieku klīniski laboratoriskajiem rādītājiem, tad tos nevar izmantot MM gaitas prognozēšanā.

Praktiskās rekomendācijas

Analizējot zinātniskā pētījuma rezultātus par MM pacientu klīniskajiem un morfoloģiskajiem raksturojošiem lielumiem, praktizējošiem patologiem un hematologiem rekomendējam padziļināti izmeklēt trepānbiopsijas un atspoguļot patohistoloģiskajā atzinumā, izmantojot izstrādātu "Kaulu smadzeņu trepānbiopsijas patologhistoloģisko izmeklēšanas protokolu pacientiem ar primāri diagnosticētu multiplo mielomu":

1) morfoloģiskos parametrus, kurus nosaka ar rutīnas histoķīmiskām metodēm – kaulu smadzeņu celularitāti, mielomas šūnu procentuālo daudzumu, mielomas šūnu procentuālo daudzumu ar plazmoblastisku diferenciāciju un mielomas šūnu infiltrācijas tipu;
2) lai noteiktu MM klīniskās gaitas prognozi, iesakām noteikt trepānbiopsijās šādu aberanto un onkogēno imūnhistoķīmisko antigēnu ekspresiju mielomas šūnās – CD56, p53, ciklīns D1.

Publikācijas un ziņojumi par promocijas darba tēmu

Publikācijas starptautiski recenzējamos zinātniskajos izdevumos:

1. **Nazarovs, J.**, Kleina, R., Lejniece, S. 2018. The importance of Cyclin D1, p53, CD56 antigen expression in plasma cells and its correlations with serological and clinical parameters in patients with multiple myeloma // *Proceedings of the Latvian academy of sciences*. Section B, 72, 5 (716): 259–267.
2. **Nazarovs, J.**, Breikša, A., Kleina, R., Lejniece, S., Voicehovska, J., Momekov, G. 2021. Prognostic value of plasmablastic morphology and p21, p53 and Cyclin D1 expression in myeloma cells: retrospective study of 122 patients with newly diagnosed multiple myeloma // *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 35, 1: 1941–1947.
3. **Nazarovs, J.,** Lapse, D., Stūre, G., Soloveičika, M., Jaunozolina, L., Ozoliņa, E., Lejniece, S. 2022. Intracerebral Plasmacytoma in a Patient with HIV-1 Infection and SARS-CoV-2 Superinfection // *Brain Sciences*. 12, 705.

Publikācijas Latvijā recenzējamos zinātniskajos izdevumos:

1. **Nazarovs, J.**, Kleina, R., Lejniece, S. 2014. Morfoloģiski un imūnhistoķīmiski kritēriji un to korelācija ar klīniski laboratoriskiem rādītājiem sekretējošas multiplas mielomas gadījumos // *RSU Zinātniskie raksti*, 242–254.
2. **Nazarovs, J**., Lejniece, S., Breikša, A., Auziņa, D., Kleina, R. 2015. Mielomas šūnu morfoloģisko un imūnhistoķīmisko prognostisko parametru raksturojums un to saistība ar nieru funkcionāliem rādītājiem // *RSU Zinātniskie raksti*, 282–292.

Mutiski ziņojumi starptautiskajās konferencēs:

1. **Nazarovs, J.,** Lejniece, S., Kleina, R. 2016. Morphological Criteria, expression of Cyclin D1 and p53 and beta-2 microglobulin level at different stages of Multiple Myeloma // *10th Baltic Conference of Hematology*. Latvia, Riga, 15.
2. **Nazarovs, J.**, Kleina, R., Lejniece, S., Breikša, A. 2017. Association of Ovarian Carcinoma with Nonsecretory Multiple Myeloma // *24th Baltic-German Symposion for Pathology of the German Division of IAP and 6th Symposium of the Baltic IAP Division*. Latvia, Riga, 20–21.

Tēzes starptautiskajās konferencēs:

1. **Nazarovs, J**., Kleina, R., Lejniece, S. 2013. AL-amyloidosis in patient with myeloma. A case report // *Baltic Morphology VII Scientic Conference*. Riga, 90.
2. Auzina, D., Lejniece, S, Blimheba, I., **Nazarovs, J**. 2014. Hypercalcemia in case of multiple myeloma in Latvia 2009-2013 // *XXXV Wold Congress International Society of Hematology*. Beijing, China.
3. Auzina, D., Lejniece, S., **Nazarovs, J.** 2014. Hypercalcemia in case of multiple myeloma in Latvia 2009–2013 data. *International Conference on Multiple Myeloma*. Greece, Athens.
4. Auzina, D., Lejniece, S., **Nazarovs, J.**, Strele, I. 2015. A population based study of newly diagnosed multiple myeloma patients in Latvia (2007–2009 years) // *European Hematology Association 20th congress*. Vienna, Austria.
5. **Nazarovs, J.**, Kleina, R., Lejniece, S., Auziņa, D. 2015. Bone marrow morphology and immunohistochemistry as a prognostic factor of renal insuffiency in case of multiple myeloma // *27th European Congress of Pathology*. Belgrade, Serbia, S194.
6. Breikša, A., **Nazarovs, J.**, Kleina, R., Lejniece, S. 2015. Expression of cyclin d1 as prognostic factor at different stages of multiple mieloma // *The 8th Baltic Morphology Scientific Conference*. Lithuania, Vilnius.

7. **Nazarovs, J.**, Breikša, A., Kleina, R., Lejniece, S. 2015. Expression of p53 in plasma cells and its correlation with clinical stages of multiple mieloma // *The 8th Baltic Morphology Scientific Conference*. Lithuania, Vilnius.

8. **Nazarovs, J**., Kleina, R., Lejniece, S. 2016. Expression of cyclin D1 and p53 protein as prognostic factor at different stages and beta-2 microglobulin level of multiple myeloma // *The XXXI International Congress of the International Academy of Pathology and the 28th Congress of the European Society of Pathology*. Germany, Cologne, S113.

9. **Nazarovs, J.**, Kleina, R., Lejniece, S. 2017. Characteristic of the bone marrow morphological criteria, Cyclin D1, p53expressions and that correlation with different stages and β-2microglobulin level of patient with Multiple Myeloma // *29th European Congress of Pathology*. Netherlands, Amsterdam, S136.

10. **Nazarovs, J.**, Kleina, R., Lejniece, S. 2018. CD56, Cyclin D1, p53 and p21 antigen expression in plasma cells as a prognostic factor of chronic kidney disease in 122 bone marrow biopsies cases of multiple myeloma // *30th European Congress of Pathology*. Bilbao, Spain, S269.

Tēzes un mutiskie ziņojumi vietēja mēroga konferencēs Latvijā:

1. **Nazarovs, J**., Kleina, R., Lejniece, S. 2014. Kaulu smadzeņu trepānbiopsiju imūnhistoķīmisks raksturojums pacientiem ar dažādām mielomas slimības klīniskām stadijām // *RSU Zinātniskā konference*. Rīga, 278.

2. **Nazarovs, J**., Kleina, R., Lejniece, S., Auziņa, D. 2015. Kaulu smadzeņu rutīnas morfoloģisko diagnostisko kritēriju novērtējums saistībā ar multiplas mielomas klīniski laboratoriskiem rādītājiem // *RSU Zinātniskā konference*. Rīga, 287.

3. **Nazarovs, J.,** Lejniece, S., Kleina, R., Auziņa, D. 2015. Mielomas slimības un cukura diabēta saistības biežums un nozīme saslimšanas prognozē // *RSU Zinātniskā konference*. Rīga, 286.

4. Auziņa, D., Lejniece, S., **Nazarovs, J.** 2015. Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas Ķīmijterapijas un hematoloģijas klīnikā stacionēto mielomas slimnieku datu analīze // *RSU Zinātniskā konference*. Rīga, 265.

5. Auziņa, D., Strēle, I., Lejniece, S., **Nazarovs, J**. 2015. Izdzīvotības analīze pacientiem ar mielomas slimību // *RSU Zinātniskā konference*. Rīga, 264.

6. **Nazarovs, J.,** Kleina, R., Lejniece, S. 2016. p21 antigēna ekspresijas biežuma korelācija ar multiplās mielomas klīniski laboratoriskajiem rādītājiem // *RSU Zinātniskā konference*. Rīga, 184.

7. **Nazarovs, J.,** Breikša, A., Lejniece, S., Kleina, R. 2016. Ķermeņa masas indeksa raksturojums pacientiem ar mielomas slimību // *RSU Zinātniskā konference*. Rīga, 205.

8. **Nazarovs, J.,** Kleina, R., Lejniece, S. 2017. CD56, p53 un ciklīna D1 ekspresijas biežums multiplās mielomas šūnās un tā saistība ar klīniskajiem un laboratoriskajiem saslimšanas rādītājiem // *RSU Zinātniskā konference*. Rīga, 204.

9. **Nazarovs, J.** 2022. Kaulu smadzeņu trepānbiopsijas patologhistoloģiskās izmeklēšanas protokols primāri diagnosticētai multiplai mielomai // Latvijas Hematologu asociācijas sēde. Rīga.

Literatūras saraksts

1. Akhmetzyanova, I., McCarron, M. J., Parekh, S. Chesi M., Bergsagel, P. L. 2019. Dynamic CD138 surface expression regulates switch between myeloma growth and dissemination. *Leukemia.* 34 (1), 245–256.
2. Alao, J. P., Gamble, S. C., Stavropoulou, A., Pomeranz, K. M., Lam, E., Coombes, C., Vigushin, D. M. 2007. The regulation of cyclin D1 degradation: roles in cancer development and the potential for therapeutic invention. *Molecular Cancer.* 6, 24.
3. Alt, J. R., Cleveland, J. L., Hannink, M., Diehl, J. A. 2000. Phosphorylation-dependent regulation of cyclin D1 nuclear export and cyclin D1-dependent cellular transformation. *Genes & Development*. 14 (24), 3102–3114.
4. Anonīms autors. 2017. Different Phases of Cell Cycle and Its Main Events within. Iegūts no: https://blog.creative-bioarray.com/different-phases-of-cell-cycle-and-its-main-events-within/ [skatīts 02.02.2020.].
5. Anonīms autors. 2020. https://www.worldometers.info/demographics/life-expectancy/#countries-ranked-by-life-expectancy [skat. 24.04.2020.].
6. Anonīms autors. 2021. CDKN1A cyclin dependent kinase inhibitor 1A [Homo sapiens(human)] Iegūts no: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db = gene&Cmd = ShowDetailView&Term ToSearch = 1026. [skat. 10.09.2021.].
7. Athanasiou, E., Kaloutsi, V., Kotoula, V., Hytiroglou, P., Kostopoulos, I., Zervas, C., Kalogiannidis, P., Fassas, A., Christakis, J. I., Papadimitriou, C. S. 2001. Cyclin D1 Overexpression in Multiple Myeloma. *American Journal of Clinical Pathology*. 116, 535–542.
8. Bain, B. J., Clark, D. M., Wilkins, B. S. *Bone Marrow Pathology*. Fourth Edition 2010 UK 54–99; 300–420; 421–460 (1 and 6 and 7chapter).
9. Bakhshi A, Jensen J. P., Goldman P., Wright J. J., McBride O.W., Epstein A.L., Korsmeyer S. J. 1985. Cloning the chromosomal breakpoint of t(14;18) human lymphomas: clustering around JH on chromosome 14 and near a transcriptional unit on 18 // *Cell.* 41 (3): 899–906.
10. Bartl, R., Frisch, B., Fateh-Moghadam, A., Kettner, G., Jaeger, K., Sommerfeld, W. 1987. Histologic classification and staging of multiple myeloma. A retrospective and prospective study of 674 cases. *American Journal of Clinical Pathology*. 87 (3): 342–355.
11. Bataille, R., Sany, J. 1981. Solitary myeloma: clinical and prognostic features of a review of 114 cases. *Send to Cancer*. 48 (3), 845–851.
12. Beason, T. S., Chang, S. H., Sanfilippo, K. M., Luo, S., Colditz, G. A., Vij, R., Tomasson, M. H., Dipersio, J. F., Stockerl-Goldstein, K., Ganti, A., Wildes, T., Carson, K. R. 2013. Influence of body mass index on survival in veterans with multiple myeloma. *The Oncologist*. 10 (18), 1074–1079.
13. Benchimol, S. 2001. p53-dependent pathways of apoptosis. *Cell death and Differentiation.* 8 (11), 1049–1051.
14. Bennett, J. M., Orazi, A. 2009. Diagnostic criteria to distinguish hypocellular acute myeloid leukemia from hypocellular myelodysplastic syndromes and aplastic anemia: recommendations for a standardized approach. *Haematologica*. 94 (2), 264–268.
15. Berenson, J. R. 1999. Etiology of multiple myeloma: what's new. *Seminars in Oncology.* 26 (5/13), 2–9.
16. Bergsagel, P., Kuehl W. M. 2001. Chromosome translocations in multiple myeloma. *Oncogene.* 20 (40), 5611–5622.
17. Bhatt K., Feng L., Pabla N., Liu K., Smith S., Dong Z. 2008. Effects of targeted Bcl-2 expression in mitochondria or endoplasmic reticulum on renal tubular cell apoptosis. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 294 (3): F499–507.

18. Blagosklonny M. V., Pardee A. B. 2002. The Restriction Point of the Cell Cycle. *Cell Cycle.* 1: 2, 102–109.

19. Brooks, C. L., Gu, W. 2010. New insights into p53 activation. *Cell Research.* 20 (6), 614–621.

20. Castaneda, O., Baz, R. 2019. Multiple Myeloma Genomics – A Concise Review. *Acta Medica Academica*. 48 (1), 57–67.

21. Ceran F., Falay M., Dağdaş S., Özet G. 2017. The Assessment of CD56 and CD117 Expressions at the Time of the Diagnosis in Multiple Myeloma Patients. *Turkish Journal of Haematology*. 34 (3), 226–232.

22. Chang, H., Yeung, J., Qi C., Xu, W. 2007. Aberrant nuclear p53 protein expression detected by immunohistochemistry is associated with hemizygous P53 deletion and poor survival for multiple myeloma. *British Journal of Haematology*. 138 (3), 324–329.

23. Chang, H., Samiee, S., Yi, Q. L. 2006. Prognostic relevance of CD56 expression in multiple myeloma: a study including 107 cases treated with high-dose melphalan-based chemotherapy and autologous stem cell transplantē. *Leukemia & Lymphoma*, 47 (1), 43–47.

24. Chen, J. 2016. The Cell-Cycle Arrest and Apoptotic Functions of p53 in Tumor Initiation and Progression. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 6 (3), a026104.

25. Chen, M. H., Qi, C. X., Saha, M. N., Chang, H. 2012. p53 nuclear expression correlates with hemizygous TP53 deletion and predicts an adverse outcome for patients with relapsed/refractory multiple myeloma treated with lenalidomide. *American Journal of Clinical Pathology*. 137 (2), 208–212.

26. Chiu W. T., Chang H. A., Lin Y. H., Lin Y. S., Chang H. T., Lin H. H., Huang S. C., Tang M. J., Shen M. R. 2018. Bcl-2 regulates store-operated Ca2+ entry to modulate ER stress-induced apoptosis. *Cell Death Discovery.* 26 (4), 37.

27. Collier, A. E, Spandau, D. F., Wek, R. C. Translational control of a human CDKN1A mRNA splice variant regulates the fate of UVB-irradiated human keratinocytes. 2018. *Molecular Biology of the Cell*. 29 (1): 29–41.

28. Cook, J. R., Hsi, E. D., Worley, S., Tubbs, R. R., Hussein, M. 2006. Immunohistochemical analysis identifies two cyclin D1+ subsets of plasma cell myeloma, each associated with favorable survival. *American Journal of Clinical Pathology*. 125 (4), 615–624.

29. Cotran, R. S., Kumar, V., Collins, T. 1999. Robbins Pathologic Basis of Disease – 6th edition. 188–260.

30. Cozzolino, F. Torcia, M., Aldinucci, D., Rubartelli, A., Miliani, A., Shaw, A. R., Lansdorp, P. M., Di Guglielmo, R. 1989. Production of interleukin-1 by bone marrow myeloma cells. *Blood.* 74 (1), 380–387.

31. Damjanov, 2000. https://medical-dictionary.thefreedictionary.com/MODS [Skatīts 13.06.2020.].

32. Danial, N. N. 2007. BCL-2 family proteins: critical checkpoints of apoptotic cell death. *Clinical Cancer Research.* 5; 13 (24), 7254–7263.

33. Dass J., Arava S., Mishra P. C., Dinda A.K., Pati H. P. 2019. Role of CD138, CD56, and light chain immunohistochemistry in suspected and diagnosed plasma cell myeloma: A prospective study. *South Asian Journal of Cancer*. 8 (1), 60–64.

34. De Falco, M., Fedele, V., de Luca, L., Penta, R., Cottone, G., Cavallotti, I., Laforgia, V., de Luca, A. 2004. Evaluation of cyclin D1 expression and its subcellular distribution in mouse tissues. *Journal of Anatomy.* 205 (5), 405–412.

35. Denier, C., Lozeron, P., Adams, D., Decaudin, D., Isnard-Grivaux, F., Lacroix, C. et al., 2006. Multifocal neuropathy due to plasma cell infiltration of peripheral nerves in multiple myeloma. *Neurology*. 66 (6), 917–918.

36. Dhyani, A., Machado-Neto, J. A, Favaro, P., Saad, S. T O. 2015. ANKHD1 represses p21 (WAF1/CIP1) promoter and promotes multiple myeloma cell growth. *The European Journal of Cancer*. 51 (2), 252–259.

37. Dispenzieri, A., Kyle, R. A. 2005. Neurological aspects of multiple myeloma and related disorders. *Best Practice & Research: Clinical Haematology*. 18 (4), 673–688.

38. Ditlevsen, D. K., Povlsen, G. K., Berezin, V., Bock, E. 2008. NCAM-induced intracellular signaling revisited. *Journal of Neuroscience Research*. 86 (4), 727–743.

39. Donnellan, R., Chetty, R. 1998. Cyclin D1 and human neoplasia. *Molecular Pathology*. 51 (1), 1–7.

40. Dunphy, C. H., Nies, M. K., Gabriel, D. A. 2007. Correlation of plasma cell percentages by CD138 immunohistochemistry, cyclin D1 status, and CD56 expression with clinical parameters and overall survival in plasma cell myeloma. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 15 (3), 248–254.

41. Durie, B. G. M., Salmon, S. E. A. 1975. Clinical staging system for multiple myeloma correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival. *Cancer*. 3 (36), 842–854.

42. Efeyan, A., Serrano, M. 2007. p53: guardian of the genome and policeman of the oncogenes. *Cell Cycle*. 6 (9), 1006–1010.

43. Fischer, M. 2017. Census and evaluation of p53 target genes. *Oncogene*. 36 (28), 3943–3956.

44. Flynt, E., Bisht, K., Sridharan, V., Ortiz, M., Towfic, F., Thakurta, A. 2020. Prognosis, Biology, and Targeting of TP53 Dysregulation in Multiple Myeloma. *Cells*. 9 (2), 287.

45. Flores-Montero, J., de Tute, R., Paiva, B., Perez, J. J., Böttcher, S., Wind, H., Sanoja, L., Puig, N., Lecrevisse, Q., Vidriales, M. B., van Dongen, J. J., Orfao, A. 2016. Immunophenotype of normal vs. myeloma plasma cells: Toward antibody panel specifications for MRD detection in multiple myeloma. *Cytometry Part B Clinical Cytometry*. 90 (1), 61–72.

46. Fonseca, R. Use of genetic markers in multiple myeloma. 2017. *Clinical advances in hematology & oncology*. 15 (6), 446–448.

47. Fridman, J. S., Lowe, S. W.2003. Control of apoptosis by p53. *Oncogene*. 22 (56), 9030–9040.

48. Fujino, M. 2018. The histopathology of myeloma in the bone marrow. *Journal of Clinical and Experimental Hematopathology*. 58 (2), 61–67.

49. Fulciniti, M., Martinez-Lopez, J., Senapedis, W., Oliva, S., Bandi, R. L., Amodio, N., Xu, Y., Szalat, R., Gulla, A., Samur, M. K., Roccaro, A., Linares, M., Cea, M., Baloglu, E., Argueta, C., Landesman, Y., Shacham, S., Liu, S., Schenone, M., Wu, S.-L., Karger, B., Prabhala, R., Anderson, K. C., Munshi, N. C. 2017. Functional role and therapeutic targeting of p21-activated kinase 4 in multiple myeloma. *Blood*. 129 (16), 2233–2245.

50. Gautschi, O., Ratschiller, D., Gugger, M., Betticher, D.C., Heighway, J. 2007. Cyclin D1 in non-small cell lung cancer: a key driver of malignant transformation. *Lung Cancer*. 55 (1), 1–14.

51. Germain, M., Slack, R. S. 2009. Dining in with BCL-2: new guests at the autophagy table. *Clinical Science*. 26; 118 (3), 173–181.

52. Giono, L .E., Manfredi, J. J. 2006. The p53 tumor suppressor participates in multiple cell cycle checkpoints. *Journal of Cellular Physiology*. 209 (1), 13–20.

53. Giotakis, A., Lazaris, A. C, Kataki, A., Kontos, C. K., Giotakis, E. I. 2019. Positive BCL2L12 expression predicts favorable prognosis in patients with laryngeal squamous cell carcinoma.. *Cancer Biomarkers*. 25 (2), 141–149.

54. Gondek, L. P., DeZern, A. E. 2014. I walk the line: how to tell MDS from other bone marrow failure conditions. *Current Hematologic Malignancy Reports*. 9 (4), 389–399.

55. Greipp, P. R., Leong, T., Bennett, J. M., Gaillard, J. P., Klein, B., Stewart, J. A., Oken, M. M., Kay, N. E., Ness, B. V., Kyle, R. A. 1998. Plasmablastic Morphology – An Independent Prognostic Factor with Clinical and Laboratory Correlates: Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) Myeloma Trial E9486 Report by the ECOG Myeloma Laboratory Group. *Blood*. 91 (7), 2501–2507.

56. Greipp, P. R., Raymond, N. M., Kyle, R. A., O'Fallon, W. M. 1985. Multiple Myeloma: Significance of Plasmablastic Subtypein Morphological Classification. *Blood.* 65 (2), 305–310.

57. Greipp, P. R., San Miguel, J., Durie, B. G. M. Crowley, J. J., Barlogie, B., Bladé, J., Boccadoro, M., Child, J. A., Avet-Loiseau, H., Kyle, R. A., Lahuerta, J. J., Ludwig, H., Morgan, G., Powles, R., Shimizu, K., Shustik, C., Sonneveld, P., Tosi, P., Turesson, I., Westin, J. 2005. International Staging System for Multiple Myeloma. *Journal of clinical oncology*. 23 (15), 3412–6281.

58. Grogan, T. M., Van Camp, B., Kyle, R. A., Muller-Hermelink, H. K., Harris, N. L. Plasma cell neoplasms Edited by Elaine S., Jaffe, Harris N. L., H. Stein J. W. Vardiman. *Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. – 1st ed. – Lyon: IARC Press, 2001: 142–154.

59. Hague, A., Moorghen, M., Hicks, D., Chapman, M., Paraskeva, C. 1994. BCL-2 expression in human colorectal adenomas and carcinomas. *Oncogene.* 9 (11), 3367–3370.

60. Hayhoe, F. G, Neuman, Z. 1976. Cytology of myeloma cells. *Journal of Clinical Pathology*. 29 (10), 916–922.

61. Hallgrimsdottir, T., Porwit, A., Björkholm, M., Rossmann, E., Steingrimsdottir, H., Lund, S. H., Kristinsson, S. Y. 2013. Bone Marrow Fibrosis In Patients With Multiple Myeloma: A New Prognostic Factor For Survival?. *Blood.* 122, 1946.

62. Hameed, A, Brady, J. J., Dowling, P., Clynes, M., O'Gorman, P. 2014. Bone Disease in Multiple Myeloma: Pathophysiology and Management. *Cancer Growth Metastasis*. 7, 33–42.

63. Hao, Q., Cho, W. C. 2014. Battle against cancer: an everlasting saga of p53. *International Journal of Molecular Sciences*. 15 (12), 22109–22127.

64. Harrington A. M., Hari P., Kroft S. H. 2009. Utility of CD56 Immunohistochemical Studies in Follow-up of Plasma Cell Myeloma. *American Journal of Clinical Pathology*. 132, 60–66.

65. Heath-Engel H. M., Wang B., Shore G. C. 2012. Bcl2 at the endoplasmic reticulum protects against a Bax/Bak-independent paraptosis-like cell death pathway initiated via p20Bap31. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1823 (2): 335–347.

66. Hernani, D. Cualing, Parul Bhargava, Ramon L. Sandin. 2012. *Non-Neoplastic Hematopathology and Infections*, Canada. 3–30 (chapter 1).

67. Herrero, A. B., Rojas, E. A., Misiewicz-Krzeminska, I., Krzeminski, P., Gutiérrez, N. C. 2016. Molecular Mechanisms of p53 Deregulation in Cancer: An Overview in Multiple Myeloma. *International Journal of Molecular Sciences*. 17 (12), 2003.

68. Hsu, P., Lin, T.-W., Gau, J.-P., Yu, Y.-B., Hsiao, L.-T., Tzeng, C.-H., Po-Min Chen, P.-M., Chiou, T.-J., Liu, J.-H., Liu, Y.-C., Liu, C.-J. 2015. Risk of Early Mortality in Patients with Newly Diagnosed Multiple Myeloma. *Medicine (Baltimore).* 94 (50), e2305.

69. Huang, Q., Li, S., Cheng, P., Deng, M., He, X., Wang, Z., Yang, C.-H., Zhao, X.-Y., Huang, J. 2017. High expression of anti-apoptotic protein Bcl-2 is a good prognostic factor in colorectal cancer: Result of a meta-analysis. *World Journal of Gastroenterology*. 23 (27), 5018–5033.

70. Hundemer, U. Klein, D. Hose, Raab, M. S., Cremer, F. W., Jauch, A., Benner, A., Heiss, C., Moos, M., Ho, A. D., Goldschmidt, H. 2007. Lack of CD56 expression on myeloma cells is not a marker for poor prognosis in patients treated by high-dose chemotherapy and is associated with translocation t(11;14). *Bone Marrow Transplantation.* 40, 1033–1037.

71. Hutchison, C. A, Bridoux, F. 2010. Renal Impairment in Multiple Myeloma: Time Is of the Essence. *Journal of Clinical Oncology*. 29 (11), 312–313.

72. Issaeva, I. 2019. p53 Signaling in Cancers. *Cancers (Basel)*. 11 (3): 332.

73. Ivanyi, B. 1990. Frequency of light chain deposition nephropathy relative to renal amyloidosis and Bence Jones cast nephropathy in a necropsy study of patients with myeloma. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. 114 (9), 986–987.

74. Yan, S., Liu, H., Liu, Z., Peng, F., Jiang, F. et al., (2020) CCN1 stimulated the osteoblasts via PTEN/AKT/GSK3β/cyclinD1 signal pathway in Myeloma Bone Disease. *Cancer Medicine.* 9 (2), 737–744.

75. Jelinek, T., Bezdekova, R., Zatopkova, M., Burgos, L., Simicek, M., Sevcikova, T., Paiva, B., Hajek, R. Current applications of multiparameter flow cytometry in plasma cell disorders. *Blood Cancer Journal*. 20; 7 (10), e617.

76. Jovanović, K. K., Escure, G., Demonchy, J., Willaume, A., Van de Wyngaert, Z., Farhat, M., Chauvet, P., Facon, T., Quesnel, B., Manier, S. 2018. Deregulation and Targeting of TP53 Pathway in Multiple Myeloma. *Frontiers in oncology*. 8: 665.

77. Jung, Y. S., Qian, Y., Chen, X. 2010. Examination of the expanding pathways for the regulation of p21 expression and activity. *Cell Signal*. 22 (7), 1003–1012.

78. Justesen, J., Stenderup, K., Ebbesen, E. N,. Mosekilde, L., Steiniche, T., Kassem, M. 2001. Adipocyte tissue volume in bone marrow is increased with aging and in patients with osteoporosis. *Biogerontology*. 2 (3), 165–171.

79. Kanavaros, P., Stefanaki, K., Vlachonikolis, J., Papalazarou, D., Rontogianni, D., Arvanitis, D., Antonakopoulos, G., Gorgoulis, V., Bai, M., Agnantis, N. J. 2000. Immunohistochemical expression of the p53, p21/Waf-1, Rb, p16 and Ki67 proteins in multiple myeloma. *Anticancer Research*. 20 (6B): 4619–4625.

80. Kanavaros, P., Stefanaki, K., Vlachonikolis, J., Papalazarou, D., Rontogianni, D., Arvanitis, D., Antonakopoulos, G., Gorgoulis, V., Bai, M., Agnantis, N. J. 2000. Immunohistochemical expression of the p53, p21/Waf-1, Rb, p16 and Ki67 proteins in multiple myeloma. *Anticancer Research*. 20 (6B), 4619–4625.

81. Kazandjian, D. 2016. Multiple myeloma epidemiology and survival, a unique malignancy. *Seminars in Oncology*. 43 (6), 676–681.

82. Khalid, M. H., Yagi, N., Hiura, T., Shibata, S. 1998. Immunohistochemical analysis of p53 and p21 in human primary glioblastomas in relation to proliferative potential and apoptosis. *Brain Tumor Pathology*. 15 (2), 89–94.

83. Kyle, R. A., Kuehl, W. M., Harris, N. L., Coupland, R. W., Fend, F. 2017. Plasma cell neoplasms. In: Swerdlow, S., Campo, E., Harris, N., Jaffe, E. S., Pileri, S. A., Stein, H., Thiele, J. eds. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. 5th ed. Lyon: IARC, 202–207.

84. Kyle, R. A. 1975. Multiple myeloma: review of 869 cases. *Mayo Clinic Proceedings.* 50 (1), 29–40.

85. Kyle, R. A., Gertz, M. A., Witzig, T. E., Lust, J. A., Lacy, M. Q., Dispenzieri, A., Fonseca, R., Rajkumar, S. V., Offord, J. R., Larson, D. R., Plevak, M. E., Therneau, T. M., Greipp, P. R. 2003. Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clinic Proceedings*. 78 (1), 21–33.

86. Korbet, S. M. and Schwartz, M. M. 2006. Multiple myeloma. *Journal of the American Society of Nephrology*. (17) 9, 2533–2545.

87. Korsrneyer, S. J. 1992. Bcl-2 Initiates a New Category of Oncogenes: Regulators of Cell Death. *Blood.* 80 (4), 879–886.

88. Krzyzaniak, R. L., Buss, D. H., Cooper, M. R., Wells, H. B. 1998. Marrow fibrosis and multiple myeloma. *American Journal of Clinical Pathology.* 89 (1), 63–68.

89. Kumar, S. K., Callander, N. S., Hillengass, J., Liedtke, M., Baljevic, M., Campagnaro, E., Castillo, J. J., Chandler, J. C., Cornell, R. F., Costello, C., Efebera, Y., Faiman, M., Garfall, A., Godby, K., Holmberg, L., Htut, M., Ann Huff, C., Kang, Y., Landgren, O., Malek, E., Martin, T., Omel, J., Raje, N., Sborov, D., Singhal, S., Stockerl-Goldstein, K., Tan, C., Weber, D., Johnson-Chilla, A., Keller, J., Kumar, R. 2019. NCCN Guidelines Insights: Multiple Myeloma. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 17 (10), 1154–1165.

90. Kumar, S. K., Lu, J., Liu, Y. T., Bittrich, M., Du, J., Goldschmidt, H., Kyriakou, C., Reece, D. E., Kim, K., Mateos, M.-V., Gonzalez, De La Calle, V., Chen, W., Ludwig, H., Merlini, G., Mangiacavalli, S., Dimopoulos, M. A., Kastritis, E., Min, C.-K., Esteves, G., Yee, A. J., Raje, N. S., Rosta, E., Haltner, A., Cameron, C., G.M. Durie, B. 2019. Outcomes of Patients with t(11;14) Multiple Myeloma: An International Myeloma Working Group Multicenter Study. *Blood*. 134 (1), 3066–3066.

91. Kuriakose, P., Das, S., Mani, A. 1995. Bone marrow morphology in multiple myeloma. *Indian Journal of Cancer*. 32 (3), 100–103.

92. Lamb, E. J., Levey, A. S., Stevens, P. E. 2013. The Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) guideline update for chronic kidney disease: evolution not revolution. *Clinical Chemistry*. 59 (3), 462–465.

93. Larsson, S. C. and Wolk, A. 2007. Body mass index and risk of multiple myeloma: A meta-analysis. *International Journal of Cancer*. 121, 2512 – 2516.

94. Lejniece, S., Trociukas, I., Auziņa, D. 2014. Mielomas slimība un pašreizējas ārstēšanas vadlīnijas. *Latvijas Ārsts*. Jūnijs/jūlijs, 27–31.

95. Leung, N., Gertz, M. A., Zeldenrust, S. R. et al., 2008. Improvement of cast nephropathy with plasma exchange depends on the diagnosis and on reduction of serum free light chains. *Kidney International*. 73 (11), 1282–1288.

96. Linet, M. S., Harlow, S. D., McLaughlin, J. K. 1987. A case-control study of multiple myeloma in whites: chronic antigenic stimulation, occupation, and drug use. *Cancer Research*. 47 (11), 2978–2981.

97. Liu, R., Wettersten, H. I., Park, S. H., Weiss, R. H. 2013. Small-molecule inhibitors of p21 as novel therapeutics for chemotherapy-resistant kidney cancer. *Future Medicinal Chemistry*. 5 (9), 991–994.

98. Lokhorst, H. 2002. Clinical features and diagnostic criteria. In *Myeloma* (Mehta J, Singhal S): 151–168. Martin Dunitz Ltd., London.

99. Lonial, S., Durie, B, Palumbo, A., San-Miguel, J. 2016. Monoclonal antibodies in the treatment of multiple myeloma: current status and future perspectives, *Leukemia.* 30 (3), 526–535.

100. Maes, A., Menu, E., Veirman, K., Maes, K., Vand Erkerken, K, De Bruyne, E. 2017. The therapeutic potential of cell cycle targeting in multiple myeloma. *Oncotarget*. 8 (52), 90501–90520.

101. Maia, C., Puig, N., Cedena, M. T., Goicoechea, I., Valdes-Mas, R., Vazquez, I., Chillon, M. C., Aguirre, P., Sarvide, S., Gracia-Aznárez, F. J., Alkorta, G., Calasanz, M. J., Garcia-Sanz, R., Gonzalez, M., Gutierrez, N.C., Martinez-Lopez, J., Perez, J. J., Merino, J., Moreno, C., Burgos, L., Alignani, D., Botta, C., Prosper, F., Matarraz, S., Orfao, A., Oriol, A., Teruel, A.I., de Paz, R., de Arriba, F., Hernandez, M. T., Palomera, L., Martinez, R., Rosiñol, L., Mateos, M. V., Lahuerta, J. J., Blade, J., San Miguel, J. F., Paiva, B. 2020. Biological and clinical significance of dysplastic hemopoiesis in patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Blood.* 135 (26), 2375–2387.

102. Makino, K., Nakamura, H., Shinojima, N., Kuroda, J.-I., Yano, S., Mikami, Y., Mukasa, A. 2018. BCL2 expression is associated with a poor prognosis independent of cellular origin in primary central nervous system diffuse large B-cell lymphoma. *Journal of Neuro-Oncology*. 140 (1), 115–121.

103. Markovic, O., Marisavljevic, D., Cemerikic, V., Suvajdzic, N., Milic, N., Colovic, M. 2004. Immunohistochemical analysis of cyclin D1 and p53 in multiple myeloma: relationship to proliferative activity and prognostic significance. *Medical Oncology.* 21 (1), 73–80.

104. Mei, A. H.-C., Tung, K., Han, J., Perumal, D., Laganà, A., Keats, J., Auclair, D., Chari, A., Jagannath, S., Parekh, S., Cho, H. J. 2020. MAGE-A inhibit apoptosis and promote proliferation in multiple myeloma through regulation of BIM and p21Cip1. *Oncotarget*. 11 (7), 727–739.

105. Miguel-García, A., Orero, T., Matutes, E., Carbonell, F., Miguel-Sosa, A., Linares, M., Tarín, F., Herrera, M., García-Talavera, J., Carbonell-Ramón, F. 1998. Bcl-2 expression in plasma cells from neoplastic gammopathies and reactive plasmacytosis: a comparative study. *Haematologica*. 83 (4), 298–304.

106. Mikhael, J., Ismaila, N., Cheung, M. C., Caitlin Costello, C., Dhodapkar, M. V., Kumar, S., Lacy, M., Lipe, B., Little, R. F., Nikonova, A., Omel, J., Peswani, N., Prica, A., Raje, N., Seth, R., Vesole, D. H., Walker, I., Whitley, A., Wildes, T. M., Wong, S. W., Martin, T. 2019. Treatment of Multiple Myeloma: ASCO and CCO Joint Clinical Practice Guideline. *Journal of Clinical Oncology*. 37, 1228–1263.

107. Møller, H. E., Preiss, B. S., Pedersen, P., Kristensen, I. B., Hansen, C. T., Frederiksen, M., Abildgaard, N., Møller, M. B. 2015. Clinicopathological features of plasmablastic multiple myeloma: a population-based cohort. *APMIS: acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*. 23 (8), 652–658.

108. Moreau, P., San Miguel, Sonneveld, P., Mateos, M. V., Zamagni, E., Avet-Loiseau, H., Hajek, H., Dimopoulos, M. A., Ludwig, H., Einsele, H, Zweegman, S., Facon, T., Cavo, M., Terpos, E., Goldschmidt, H., Attal, M., Buske, C. 2017. Multiple myeloma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. Iegūts no: https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534(19)42145-5/pdf [skat. 01.10.2019.].

109. Mrakovcic, M., Fröhlich, L .F. 2018. p53-Mediated Molecular Control of Autophagy in Tumor Cells. *Biomolecules.* 8 (2), 14.

110. Muller, P. A., Vousden, K. H. 2014. Mutant p53 in cancer: new functions and therapeutic opportunities. *Cancer Cell.* 25 (3), 304–317.

111. Muller, P. A., Vousden, K. H., Norman, J. C. 2011. p53 and its mutants in tumor cell migration and invasion. *Journal of Cell Biology.* 192 (2), 209–218.

112. Munawar, U., Roth, M., Barrio, S., Wajant, H., Siegmund, D., Bargou, R. C., Kortüm, K. M., Stühmer, T. 2019. Assessment of TP53 lesions for p53 system functionality and drug resistance in multiple myeloma using an isogenic cell line model. *Scientific Reports*. 9, 18062.

113. Musto, P. 1998. The role of recombinant erythropoietin for the treatment of anemia in multiple myeloma. *Leukemia & Lymphoma*. 29 (3–4), 283–291.

114. Naeim, F. P. Nagesh, Rao, Sophie, Song, Wayne, W. Grody. *Hematopathology Morphology, Immunophenotype, Cytogenetics and Molecular Approaches*. 2008. UK, 1–55, (1–2 chapter).

115. Nag, S., Qin, J., Srivenugopal, K. S., Wang, M., Zhang, R. 2013. The MDM2-p53 pathway revisited. *Journal of Biomedical Research.* 27 (4), 254–271.

116. Noone, A. M., Howlader, N., Krapcho, M., Miller, D., Brest, A., Yu, M., Ruhl, J., Tatalovich, Z., Mariotto, A., Lewis, D. R., Chen, H. S., Feuer, E. J., Cronin, K. A. 2017. SEER Cancer Statistics Review, 1975–2015. *National Cancer Institute*. Iegūts no: https://seer.cancer.gov/csr/1975_2015/ [skat. 01.10.2020.].

117. O'Hanlon, D. M., Kiely, M., MacConmara, M., Al-Azzawi, R., Connolly, Y., Jeffers, M., Keane, F. B. 2002. An immunohistochemical study of p21 and p53 expression in primary node-positive breast carcinoma. *European Journal of Surgical Oncology.* 28 (2), 103–107.

118. Ogino, S., Kawasaki, T., Kirkner, G. J., Ogawa, A., Dorfman, I., Loda, M., Fuchs, C. S. 2006. Down-regulation of p21 (CDKN1A/CIP1) is inversely associated with microsatellite instability and CpG island methylator phenotype (CIMP) in colorectal cancer. *The Journal of Pathology*. 210 (2), 147–154.

119. Ohata, M., Nakamura, S., Fujita, H., Isemura, M. 2005. Prognostic implications of p21 (Waf1/Cip1) immunolocalization in multiple myeloma. *Biomedical Research.* 26 (3): 91–98.

120. Ong, F., Hermans, J., Noordijk, E. M,, Wijermans, P. W., Kluin-Nelemans, J. C. 1995. Presenting signs and symptoms in multiple myeloma: high percentages of stage III among patients without apparent myeloma-associated symptoms. *Annals of Hematology*. 70 (3), 149–152.

121. Ooi, A., Oyama, T., Nakamura, R., Tajiri, R., Ikeda, H., Fushida, S., Dobashi, Y. 2017. Gene amplification of CCNE1, CCND1, and CDK6 in gastric cancers detected by multiplex ligation-dependent probe amplification and fluorescence in situ hybridization. *Human Pathology*. 61, 58–67.

122. Padhi, S., Varghese, R. G., Ramdas, A. 2013. Cyclin D1 expression in multiple myeloma by immunohistochemistry: Case series of 14 patients and literature review. *Indian Journal of Medical and Paediatric Oncology*. 34 (4), 283–291.

123. Palumbo, A., Anderson, K. 2011. Multiple Myeloma. *The New England Journal of Medicine*. 364, 1046– 1060.

124. Palumbo, A., Avet-Loiseau, H., Oliva, S. Lokhorst, H.M., Goldschmidt, H., Rosinol, L., Richardson, P., Caltagirone, S., Lahuerta, J. J.,Facon, T., Bringhen, S., Gay, F., Passera, R., Spencer, A., Offidani, M., Kumar, S., Musto, P., Lonial, Petrucci, M. T, Orlowski, R. Z, Zamagni, E., Morgan, G., Dimopoulos, M. A, Durie, B.G. M., Anderson, K. C, Sonneveld, P., Miguel, J. S. Cavo, M., Rajkumar, S. V., Moreau, P. 2015. Revised International Staging System for Multiple Myeloma: A Report From International Myeloma Working Group. *Journal of clinical oncology*. 33 (26), 2863–2869.

125. Paraf, F., Gogusev, J., Chretien, Y., Droz, D. 1995. Expression of bcl-2 oncoprotein in renal cell tumours. *The Journal of Pathology*. 177, 247–252.

126. Park, Y., Park, B. B., Jeong, J. Y., Kim, W. Y., Jangn, S., Shin, B. K., Lee, D. S., Han, J. H., Park, C.-J., Suh, C., Kim, I., Chi, H.-S. 2016. Assessment of bone marrow involvement in patients with lymphoma: report on a consensus meeting of the Korean Society of Hematology Lymphoma Working Party. *The Korean Journal of Internal Medicine*. 31 (6), 1030–1041.

127. Pawlyn, C., Davies, F. E. 2019. Toward personalized treatment in multiple myeloma based on molecular characteristics. *Blood*. 133 (7), 660–675.

128. Perri, F., Pisconti, S., Scarpati D.V.G. 2016. P53 mutations and cancer: a tight linkage. *Annals of Translational Medicine*. 4 (24), 522.

129. Pezzella, F., Turley, H., Kuzu, I., Tungekar, M. F., Dunnill, M. S., Pierce, C. B., Harris, A., Gatter, K. C., Mason, D. Y. 1993. Bcl-2 protein in non-small-cell lung carcinoma. *The New England Journal of Medicine*. 329 (2), 690–694.

130. Pildava, S. 2012. Multiplā mieloma. *Doctus.* Iegūts no: http://www.doctus.lv/2012/7/multipla-mieloma [skat. 24.04.2020.].

131. Pulsoni, A., Bianco, P., La Verde, G., Mecarocci, S., Petrucci, M. T., Torromeo C., Avvisati G. 1993. Coexistent multiple myeloma and myelofibrosis. *Leukemia & Lymphoma*. 10 (4–5), 401–403.

132. Rajkumar, S. V., Fonseca, R., Lacy, M. Q., Witzig, T. E., Therneau, T. M., Kyle, R. A., Litzow, M. R., Gertz, M. A., Greipp, P. R. 1999. Plasmablastic morphology is an independent predictor of poor survival after autologous stem-cell transplantation for multiple myeloma. *Journal of Clinical Oncology*. 17 (5), 1551–1557.

133. Ramnani, D. R. 2016. Plasma Cell Myeloma. Iegūts no: https://www.webpathology.com/case.asp?case = 768 [Skatīts 03.03.2020.].

134. Rawstron, A., Barrans, S., Blythe, D., Davies, F., English, A., Pratt, G., Child, A., Morgan, G., Jack, A. 1999. Distribution of myeloma plasma cells in peripheral bloodand bone marrow correlates with CD56 expression. *British Journal of Haematology*. 104, 138–143.

135. Riccardi, A., Gobbi, P. G., Ucci, G., Bertoloni, D., Luoni, R., Rutigliano, L., Ascari, E. 1991. Changing clinical presentation of multiple myeloma. *European Journal of Cancer*. 27 (11), 1401–1405.

136. Riccardi, A., Ucci, U., Luoni, R., Castello, A., Coci, A., Magrini, U. 1990. Bone marrow biopsy in monoclonal gammopathies: correlations between pathological findings and clinical data. The Cooperative Group for Study and Treatment of Multiple Myeloma. *Journal of Clinical Pathology.* 43 (6), 469–475.

137. Sadeghian, M. H., Avval, M. M., Ayatollahi, H., Keramati, M. R., Memar, B., Jamedar, S. A., Sheikhi, M., Shaghayegh, G. 2013. Is There Any Relationship between Human Herpesvirus-8 and Multiple Myeloma?. Iegūts no: https://downloads.hindawi.com/archive/2013/123297.pdf [sk. 02.02.2020.].

138. Sahara, N., Takeshita, A., Shigeno, K., Fujisawa, S., Takeshita, K., Naito, K., Ihara, M., Ono, T., Tamashima, S., Nara, K., Ohnishi, K., Ohno, R. 2002. Clinicopathological and prognostic characteristics of CD56-negative multiple myeloma. *British Journal of Haematology.* 117, 882–885.

139. Sailer, M., Vykoupil, K. F., Peest, D., Coldewey, R., Deicher, H., Georgii, A. 1995. Prognostic relevance of a histologic classification system applied in bone marrow biopsies from patients with multiple myeloma: a histopathological evaluation of biopsies from 153 untreated patients. *European Journal of Haematology*. 54 (3), 137–146.

140. Seymour, J. F., Kipps, T. J., Eichhorst, B., Hillmen, P., D'Rozario, J., Assouline, S., Owen, C., Gerecitano, J., Robak, T., De la Serna, J., Jaeger, U., Cartron, G., Montillo, M., Humerickhouse, R., Punnoose, E. A., Li, Y, Boyer, M., Humphrey, K., Mobasher, M., Kater, A. P. 2018. Venetoclax-Rituximab in Relapsed or Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia. *The New England Journal of Medicine*. 378 (12), 1107–1120.

141. Seo, Y. H., Joo, Y. E., Choi, S. K., Rew, J. S., Park, C. S., Kim, S. J. 2003. Prognostic significance of p21 and p53 expression in gastric cancer. *Korean Journal of Internal Medicine*. 18 (2), 98–103.

142. Sewify, E. M., Afifi, O. A., Mosad, E., Zaki, A. H., El Gammal, S. A. 2014. Cyclin D1 amplification in multiple myeloma is associated with multidrug resistance expression. *Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia*. 14 (3), 215–222.

143. Shi, Y.-F., Li, X.-H., Song, Y.-Q., Song, W.-W., Lai, Y.-M. 2015. Involvement of bone marrow in lymphoma: pathological investigation in a single-center from northern China. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*. 8 (6), 7102–7111.

144. Silbermann, R., Roodman, G. D. 2013. Myeloma bone disease: Pathophysiology and management. *Journal of Bone Oncology*. 2 (2), 59–69.

145. Singhal, N., Singh, T., Singh, Z. N., Shome, D. K., Gaiha, M. 2004. Histomorphology of multiple myeloma on bone marrow biopsy. *Indian Journal of Pathology & Microbiology.* 47 (3), 359–363.

146. Singhal, S., Mehta, J. 2006. Multiple myeloma. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 1 (6), 1322–1330.

147. Skerget M., Skopec B., Zadnik V., Zontar D., Podgornik H., Rebersek K., Furlan T., Cernelc P. 2018. CD56 Expression Is an Important Prognostic Factor in Multiple Myeloma Even with Bortezomib Induction. *Acta Haematologica*. 139 (4), 228–234.

148. SKPS. 2017. Slimību profilakses un kontroles centrs (The Centre for Disease Prevention and Control of Latvia). Iegūts no: https://www.spkc.gov.lv/lv/statistika-un-petijumi/statistika/veselibas-aprupes-statistika1 [skat. 14.04.2019.].

149. Snowdon, L., Gibson, J., Joshua, D. E. 1994. Frequency of infection in plateau-phase multiple myeloma. *Lancet*. 344 (8917), 262.

150. Sonneveld, P., Avet-Loiseau, H., Lonial, S., Usmani, S., Siegel, D., C Anderson, K., Chng, W.-J., Moreau, P., Attal, M., A Kyle, R., Caers, Jo, Hillengass, J., San Miguel, J., W C J van de Donk, J., Einsele, H., Bladé, J., G M Durie, B., Goldschmidt, G., Mateos, M.-V., Palumbo, A., Orlowski, R.. 2016. Treatment of multiple myeloma with high-risk cytogenetics: a consensus of the International Myeloma Working Group. *Blood.* 127, 2955–2962.

151. Soussi, T. 2010. The history of p53. A perfect example of the drawbacks of scientific paradigms. *EMBO Reports*. 11 (11), 822–826.

152. Srija, M., Zachariah, P. P., Unni, V. N., Mathew, A., Rajesh, R., Kurian, G., Neeraj, S., Seethalekshmi, N. V., Smitha, N. V. 2014. Plasmablastic myeloma presenting as rapidly progressive renal failure in a young adult. *Indian Journal of Nephrology*. 24 (1), 41–44.

153. Stamatakos, M., Palla, V., Karaiskos, I., Xiromeritis, K., Alexiou, I., Pateras, I, Kontzoglou K. 2010. Cell cyclins: triggering elements of cancer or not? *World Journal of Surgical Oncology*. 8, 111

154. Stefka, A. T., Johnson, D., Rosebeck, S., Park, J. H., Nakamura, Y., Jakubowiak, A. J. 2020. Potent anti-myeloma activity of the TOPK inhibitor OTS514 in pre-clinical models. *Cancer Medicine*. 9 (1), 324–334.

155. Stifter, S., Babarović, E., Valković, T., Seili-Bekafigo, I., Stemberger, C., Nacinović, A., Lucin, K., Jonjić, N. 2010. Combined evaluation of bone marrow aspirate and biopsy is superior in the prognosis of multiple myeloma. *Diagnostic Pathology*. 5, 30.

156. Strauss, J. H., Strauss, E. G. 2008. Host Defenses against Viral Infection and Viral Counterdefenses. *ScienceDirect*. Iegūts no: https://www.sciencedirect.com/topics/ neuroscience/bcl-2 [skat. 03.10.2020.].

157. Suarez, A. F., Gee, K. M., Iftikhar, A., Baig, M., Russ, A. D. et al., 2019. Future of Personalized Therapy Targeting Aberrant Signaling Pathways in Multiple Myeloma. *Clinical lymphoma, myeloma & leukemia*. 19 (7), 397–405.

158. Suarez-Londono, J. A., Rohatgi, A., Antoine-Pepeljugoski, C., Braunstein, M. J. 2020. Aggressive presentation of plasmablastic myeloma. *BMJ Case Reports*. 13 (4), e234436.

159. Subramanian, R., Basu, D., Dutta, T. K. 2007. Significance of bone marrow fibrosis in multiple myeloma. *Pathology*. 39 (5), 512–515.

160. 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.

161. Sultan, S., Baloch, N., Ahmed, Z. A., Irfan, S. M., Parveen, S. 2018. Pattern of bone marrow involvement in non Hodgkin's lymphoma classified according to WHO classification: Report of a developing country Pakistan. *Journal of Laboratory Physicians*. 10 (1), 17–20.

162. Tamayo, R. R., Perez, J. S., Jimenez-Moleon, J. J., Chaconv, M. J. 2014. Obesity and Multiple Myeloma: What Do the Data Tell Us? *Journal of Leukemia*. Iegūts no: http://www.esciencecentral.org/journals/obesity-and-multiple-myeloma-what-do-the-data-tell-us-2329-6917.1000e109.pdf [skat. 10.08.2020.].

163. Teoh, P. J., Chng, W. J. 2014. p53 abnormalities and potential therapeutic targeting in multiple myeloma. *BioMed Research International*. 14: 717919.

164. Thiele, J., Kvasnicka, H. M., Facchetti, F., Franco, V., van der Walt, J., Orazi, A. 2005. European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity. *Haematologica*. 90, 1128–1132.

165. Thiele, J., Kvasnicka, H.M. 2007. Myelofibrosis – what's in a name? Consensus on definition and EUMNET grading. *Pathobiology*. 74 (2), 89–96.

166. Touzeau, C., Maciag, P., Amiot, M., Moreau, P. 2018. Targeting Bcl-2 for the treatment of multiple myeloma. *Leukemia.* 32 (9): 1899–1907.

167. Tsujimoto Y., Cossman J., Jaffe E., Croce C.M. 1985. Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma. *Science.* 21, 228 (4706), 1440–14433.

168. Vallet, S., Filzmoser, J.-M., Pecherstorfer, M., Podar, K. 2018. Myeloma Bone Disease: Update on Pathogenesis and Novel Treatment Strategies. *Pharmaceutics*. 10 (4), 202.

169. Van Acker, H. H., Capsomidis, A., Smits, E. L., Van Tendeloo, V. F. 2017. CD56 in the Immune System: More Than a Marker for Cytotoxicity? *Frontiers in Immunology*. 24 (8), 892.

170. Vaux, D. L., Cory, S., Adams, J. M. 1988. Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. *Nature.* 29; 335 (6189), 440–442.

171. Villwock, M. de M., Meurer, L., Cavazzola, L. T., Gurski, R. R., Edelweiss, M. I., Schirmer, C. C. 2006. Prevalence of p21 immunohistochemical expression in esophageal adenocarcinoma. *Arquivos de Gastroenterologia*. 43 (3), 212–218.

172. Wade, M., Li, Y.-C., Wahl, G. M. 2013. MDM2, MDMX and p53 in oncogenesis and cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*. 13, 83–96.

178. Wallin, A., Larsson, S. C. 2011. Body mass index and risk of multiple myeloma: A meta-analysis of prospective studies. *European Journal of Cancer*. 47, 1606–1615.

173. Wang N. S., Unkila M. T., Reineks E. Z., Distelhorst C. W. 2001. Transient expression of wild-type or mitochondrially targeted Bcl-2 induces apoptosis, whereas transient expression of endoplasmic reticulum-targeted Bcl-2 is protective against Bax-induced cell death. *Journal of Biological Chemistry*. 23; 276 (47): 44117–44128.

174. Wei, A., Juneja, S. Bone marrow immunohistology of plasma cell neoplasms. 2003. *Journal of Clinical Pathology.* 56 (6), 406–411.

175. White, E. 2016. Autophagy and p53. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 6 (4), a026120.

176. Williams, A. B., Schumacher, B. 2016. p53 in the DNA-Damage-Repair Process. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine.* 6 (5), a026070.

177. Zhou, X., Hao, Q., Lu, H. 2019. Mutant p53 in cancer therapy – the barrier or the path. *Journal of Molecular Cell Biology*. 11 (4), 293–305.

Pateicības

Vissirsnīgākā pateicība manām promocijas darba vadītājām emeritētajai profesorei Regīnai Kleinai un profesorei Sandrai Lejniecei par ideju ģenerāciju, virzību, padomiem, labojumiem un ieteikumiem promocijas darba izstrādē.

Vislielākā pateicība likvidētā bijušā Rīgas Hematoloģijas centra, kā arī Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas Patoloģijas centra biomedicīnas laborantiem un kolēģiem par kvalitatīvu promocijas darba rezultātu sasniegšanu un kvalitatīvu pētījumu datu apstrādi.

Pateicos Rīgas Stradiņa universitātei, īpaši Doktorantūras nodaļas darbiniekiem, par atbalstu un palīdzību promocijas darba virzībā un dažādu tehnisku jautājumu risināšanā.

Paldies Patoloģijas katedras vadītājai profesorei Ilzei Štrumfai par padomiem zinātnisko rakstu sagatavošanā.

Paldies Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas vadībai par zinātniskā darba stimulēšanu un uzmundrinājumu, bet Patoloģijas institūta kolēģiem – par morālu atbalstu.

Pielikumi

1. pielikums

RSU Ētikas komitejas lēmums

Veidlapa Nr. E-9 (2)

24

RSU ĒTIKAS KOMITEJAS LĒMUMS

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

	Komitejas sastāvs	Kvalifikācija	Nodarbošanās
1.	Profesors Olafs Brūvers	Dr.theo.	teologs
2.	Profesore Vija Sīle	Dr.phil.	filozofs
3.	Asoc.prof. Santa Purviņa	Dr.med.	farmakologs
4.	Asoc.prof. Voldemārs Arnis	Dr.biol.	rehabilitologs
5.	Profesore Regīna Kleina	Dr.med.	patalogs
6.	Profesors Guntars Pupelis	Dr.med.	ķirurgs
7.	Asoc.prof. Viesturs Liguts	Dr.med.	toksikologs

Pieteikuma iesniedzējs: **Jurijs Nazarovs, ārsts-patologs**
Medicīnas fakultāte

Pētījuma nosaukums: „Multiplas mielomas morfoloģiskie un imūnhistoķīmiskie prognostiskie faktori un to korelācija ar saslimšanas klīniski-laboratoriskiem rādītājiem".

Iesniegšanas datums: 25.06.2014.

Pētījuma protokols: Izskatot augstāk minētā pētījuma pieteikuma materiālus (protokolu) ir redzams, ka pētījuma mērķis tiek sasniegts izmantojot kaulu smadzeņu biopsijas materiālu no pacientiem ar diagnozi MM. Plānotais daudzums – 60-100. Kontrolēm tiks izmantots pacientu operācijas materiāls no mugurkaula ar diagnozi nespecifisks spondilīts; kā arī tiek veikta pacientu medicīniskās dokumentācijas datu vākšana un izpēte. Minētājā pētījumā tiek izmantots RAKUS Hematoloģijas klīnikas diagnostiskais materiāls.Personu (pacientu, dalībnieku) datu aizsardzība un konfidencialitāte tiek nodrošināta. Līdz ar to pieteikums atbilst biomedicīniskā pētījuma ētikas prasībām.

Izskaidrojamas formulārs: nav nepieciešams

Piekrišana piedalīties pētījumā: nav nepieciešama

Komitejas lēmums: **piekrist** pētījumam

Komitejas priekšsēdētājs Olafs Brūvers Tituls: Dr. miss., prof.

Paraksts

RIGAS STRADIŅA UNIVERSITĀTE ĒTIKAS KOMITEJA

Ētikas komitejas sēdes datums: 27.06.2014.

2. pielikums

Kaulu smadzeņu trepānbiopsijas patologhistoloģiskais izmeklēšanas protokols pacientiem ar primāri diagnosticētu multiplo mielomu

Veicot zinātnisko darbu un pēc pētijuma rezultātu, multiplās miemlomas pacientu klīnisko un morfoloģisko datu analīzes tika secināts, ka praktizējošiem patologiem un hematologiem var rekomendēt padziļināti izmeklēt kaulu smadzeņu trepānbiopsijas un patohistoloģiskajā azinumā norādīt sekojošo:

Morfoloģiskais un imūnhistoķimiskais parametrs	**Nosakāmais parametra lielums (vienība)**	**Parametra loma multiplās mielomas prognozē**
Kaulu smadzeņu cellularitāte	1) hipocelulāras (%) 2) normocelulāras (%) 3) hipercelulāras (%)	Sliktāka prognoze ir pacientiem ar augstāku cellularitāti (hipercellulāras)
Mielomas šūnu daudzums, CD138+	Nosaka procentos pret visām nukleārām hemopoēzes šūnām	Sliktāka prognoze ir pacientiem ar augstāku CD138+ daudzumu
Mielomas šūnu monoklonalitāte	Kapa (κ) : Lambda (λ) attiecība	Diagnostiskais parametrs
Mielomas šūnu infiltrācijas tips	1) intersticiāls 2) fokāls 3) jaukts *(intersticiāls + fokāls)* 4) difūzs	Sliktāka prognoze ir pacientiem ar jauktu un difūzu infiltrācijas tipu
Mielomas šūnu procentuālais daudzumu ar plazmoblastisku diferenciāciju	1) ir konstatēts, nosaka procentos pret visām mielomas šūnām 2) nav konstatēts	Sliktāka prognoze ir pacientiem ar konstatētu plazmoblastisku diferenciāciju
Kaulaudu trabēkulu mikroskopisks mikroosteolītisks bojājums	1) ir konstatēts 2) nav konstatēts	Sliktāka prognoze ir pacientiem ar konstatētu kaulaudu trabēkulas mikroskopisku mikroosteolītisku bojājumu
Ciklīns D1	1) pozitīvs (≥10%) 2) negatīvs (<10%)	Sliktāka prognoze ir pacientiem ar POZITĪVU (+) ciklīna D1 antigēna ekspresiju mielomas šūnās
CD56	1) pozitīvs (≥ 10 %) 2) negatīvs (< 10 %)	Sliktāka prognoze ir pacientiem ar NEGATĪVU (−) CD56 antigēna ekspresiju mielomas šūnās
p53	1) pozitīvs (≥ 10 %) 2) negatīvs (< 10 %)	Sliktāka prognoze ir pacientiem ar POZITĪVU (+) p53 antigēna ekspresiju mielomas šūnās
p21	1) pozitīvs (≥ 10 %) 2) negatīvs (< 10 %)	Sliktāka prognoze ir pacientiem ar POZITĪVU (+) p21 antigēna ekspresiju mielomas šūnās
BCL2	1) pozitīvs (≥ 10 %) 2) negatīvs (< 10 %)	Diagnostiskais parametrs