



**Резюме на проект по Фонд „Наука“ № 19009 – Конкурсна сесия 2019:
„Нови молекулни биомаркери за оценка на костна болест при мултиплен
миелом“**

Ръководител: Проф. Бистра Цанева Галунска-Калчева, дф

Мултиплиеният миелом (ММ) е злокачествено заболяване, характеризиращо се с инфилтрация на костния мозък от малигнено трансформирани плазматични клетки със съпътстваща костна деструкция. Над 80% от пациентите с ММ са с остеолитични лезии при поставяне на диагнозата. Ефективното им лечение и подобряване качеството на живот е свързано с познаване на патогенетичните механизми на костна деструкция и разкриване на нови биомаркери и таргети за лечение. Към момента проучванията върху костното засягане при ММ са насочени главно към разкриване на биомаркери, имащи отношение само към остеокластната функция, без да се разглежда костното ремоделиране като интегриран процес между 3 основни типа клетки (остеокласти, остеобласти и остеоцити).

Поставеният научен проблем в предлагания проект е актуален и иновативен, не само за България, но и в световен мащаб, предвид нарастващата заболеваемост и нуждата от нови специфични и надеждни молекулни биомаркери за установяване и мониториране на най-честото усложнение при ММ – костната болест.

Цел: Да се оцени в динамика прогностичната и предиктивна стойност на нови костни биомаркери, характеризиращи остеокластна, остеобластна и остеоцитна функция при пациенти с ММ в различен стадий на заболяването.

Основните **задачи** включват: определяне в динамика нивата на периостин, остеопонтин, sRANKL, dickkopf-протеин -1, склеростин, витамин Д статус и на В-клетъчните рецептори CD229 и CXCR4 при болни с ММ при диагнозата, на 4-ти и 8-ми месец след химиотерапия и автоложна трансплантация; изследване на взаимовръзки между новите биомаркери, утвърдени лабораторни параметри и образни изследвания

Пациенти и методи: Предложеното проспективно проучване с продължителност 3 години ще включва 60 души с доказан ММ според критериите на IMWG и селектирани според критериите на включване, определени от изследователския екип.

В проектното предложение ще бъде използвана иновативна и оригинална комбинация от методи – клинични, биохимични, имунохимични, флоуцитометрични и статистически за установяване надеждността на редица белтъци, регулиращи функцията не само на остеокласти, но и на остеобласти и остеоцити, като потенциални

молекулни биомаркери за мониториране на костните промени и ефекта от лечението при ММ. Костните биомаркери ще бъдат изследвани с ELISA-методи, експресията на CD229 и CXCR4 с флоуцитометрия, а витамин Д със съвременен хроматографски метод.

Очаквани резултати: Ще бъдат получени нови данни за нивата на костни биомаркери, оценяващи не само остеокластна, но и остеобластна и остеоцитна функция, витамин Д статуса, както и експресията на CD229 и CXCR4, недостатъчно изследвани при ММ. Проучване на промените им в динамика според стадия на заболяването и провежданата терапия, ще позволи да се оцени тяхната прогностична и предиктивна стойност. Посредством статистическо моделиране ще бъде изяснена диагностичната надеждност на предлаганите биомаркери и на витамин Д статуса при болни с ММ. В дългосрочен план, разкриването на нови и надеждни биомаркери за оценка на костните лезии при ММ е предпоставка за адекватното им лечение и подобряване на качеството на живот.

Постигнати резултати:

Мултиплиеният миелом (ММ) е хематологично неопластично заболяване, характеризиращо се с натрупване на клонални плазматични клетки в костния мозък. Съществена характеристика на клинично проявения ММ е наличието на костни лезии, дължащи се на дисбаланс между остеокластна и остеобластна диференциация и активност.

В настоящото проучване се проследяват в динамика промените в sRANKL, периостин и остеопонтин като фактори, стимулиращи остеокластите и инхибиращи остеобластната функция, Dkk-1 и склеростин като инхибитори на остеобластогенезата, както и витамин Д статуса при новодиагностицирани пациенти с мултиплен миелом (НДММ). Изследвани са техните взаимовръзки с клинични показатели за хода и тежестта на заболяването.

1. При пациенти с НДММ преди лечението, при поставяне на диагнозата се установяват статистически значимо по-високи стойности се на диккопф-1 протеин (DKK-1) и склеростин ($p < 0,0001$) в сравнение с контролите. Тези два показателя показват ясна зависимост от стадия на заболяването (склеростин: $p < 0,0012$; DKK-1: $p < 0,025$).
2. Тежестта на остеолитичните лезии е съпроводена със значимо повишение както в серумните нива на склеростин ($p < 0,0001$), така и на DKK-1 ($p < 0,05$).
3. В хода на терапията и двата параметъра постепенно намаляват, като снижението е по-изразено след автоложна стволово-клетъчна трансплантация.
4. Във всеки етап от лечението се наблюдава статистически значимо намаление на DKK-1 и склеростин в сравнение с изходното им ниво ($p < 0,0001$).
5. Статистически значимо по-ниски стойности на серумните склеростин ($p < 0,01$) и DKK-1 ($p < 0,05$) са установени при пациентите с пълен и много добър частичен

отговор на лечението в сравнение с тези с частичен отговор, стабилно или прогресиращо заболяване.

Извод: Серумният склеростин и DKK-1 при НДММ отразяват тежестта на костното заболяване и ефекта от терапията.

6. При поставяне на диагнозата серумните нива на sRANKL, периостин и остеопонтин са значимо по-високи при пациентите с НДММ в сравнение с контролите ($p < 0,0001$), като корелират със стадия на заболяването, тежестта на костната болест и инфилтрацията на костния мозък с клонални плазматични клетки.
7. В хода на терапията серумните нива на sRANKL, периостин и остеопонтин намаляват, най-изразено след автоложна трансплантация на стволови клетки ($p < 0,0001$).
8. Статистически значимо намаление в серумните нива на sRANKL, периостин и остеопонтин се установява при пациенти, постигнали пълен и много добър частичен отговор, в сравнение с останалите групи болни ($p < 0,05$).

Извод: серумните нива на sRANKL, периостин и остеопонтин отразяват тежестта на костната болест при мултиплен миелом и биха могли да бъдат обещаващи маркери за мониториране на хода на костната болест при мултиплен миелом и ефекта от лечението.

9. Установяват се понижени серумни нива на 25-хидроксид витамин Д при пациентите с НДММ спрямо тези при контролите (43,55 nmol/L спрямо 57,08 nmol/L, $p < 0,01$) и при болните с моноклонална гамопатия с неопределено значение (MGUS) (43,55 nmol/L спрямо 53,03 nmol/L, $p = 0,4266$).
10. Честотното разпределение на пациентите с НДММ според техния витамин D статус е по-лошо от това на контролите ($\chi^2 = 10,28$, $p = 0,0163$).
11. При пациентите в ISS-3 се установяват значимо по-ниски стойности на 25-хидроксид витамин Д в сравнение с тези при пациентите в ISS-2 (24,03 nmol/L спрямо 53,13 nmol/L, $p = 0,0003$) и в ISS-1 (63,21 nmol/L, $p < 0,0001$).
12. Пациентите с повече от 3 остеолитични лезии и/или патологични фрактури (G2) имат по-ниски нива на 25-хидроксид витамин Д в сравнение с пациентите с липсващи или не повече от 3 остеолитични лезии (G1) (33,14 nmol/L спрямо 60,05 nmol/L, $p = 0,0288$) и с контролите (57,08 nmol/L, $p = 0,0010$).

Извод: Пациентите с по-лоши клинични характеристики имат значимо по-ниски серумни нива на 25-хидроксид витамин Д. Недостигът/дефицитът на витамин D може да предизвика вторичен хиперпаратиреоидизъм, като по този начин да увеличи броя на остеокластите. Това допълнително би могло да повлияе на нарушения процес на костно ремоделиране, наблюдаван в патогенезата на ММ. Суплементирането с витамин D би могло да има благоприятен ефект поне върху симптоми като умора, мускулна слабост и болки в костите.