

Received: 2014.10.08
Accepted: 2015.01.19
Published: 2015.04.22

Rola mikrośrodowiska szpiku kostnego w patogenezie szpiczaka plazmocytoowego

The role of the bone marrow microenvironment in the pathogenesis of multiple myeloma

Artur Jurczyszyn¹, Joanna Gdula-Argasińska², Agata Kosmaczewska³,
Aleksander B. Skotnicki¹

¹Katedra i Klinika Hematologii, Collegium Medicum Uniwersytet Jagielloński, Kraków

²Zakład Radioligandów, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków

³Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. L. Hirszfelda, Polska Akademia Nauk, Wrocław

Streszczenie

Szpiczak plazmocytoowy (multiple myeloma, MM) jest jednym z najczęstszych złośliwych nowotworów hematologicznych. Pozostaje nadal chorobą nieuleczalną. Od dziesięcioleci podstawą leczenia była niecelowana terapia z zastosowaniem leków cytostatycznych i immunosupresyjnych. Ponieważ szpiczak najczęściej występuje w populacji pacjentów w podeszłym wieku źle tolerujących agresywną terapię, nieswoiste podejścia lecznicze prowadziły często do skrócenia przeżywalności pacjentów. Intensywne badania nad MM, umożliwiły identyfikację oddziaływań międzycząsteczkowych zachodzących między komórkami MM, a szpikowym mikrośrodowiskiem nowotworu, odpowiedzialnych za rozwój choroby i powiązanych z nią powikłań, takich jak osteolityczne zmiany kostne. Poznanie molekularnych mechanizmów działania cząsteczek adhezyjnych, cytokin i szlaków sygnałowych, uczestniczących w rozwoju i progresji MM, doprowadziło do opracowania nowoczesnych, celowanych terapii, poprawiających jakość życia pacjentów i znacznie wydłużających medianę czasu przeżycia. Omówiono stan wiedzy dotyczący molekularnych mechanizmów patogenetycznych sprzyjających progresji nowotworu i prowadzących do niszczenia tkanki kostnej, ze szczególnym uwzględnieniem znaczenia oddziaływań ze szpikowym mikrośrodowiskiem nowotworu.

Słowa kluczowe:

szpiczak plazmocytoowy • mikrośrodowisko komórkowe • angiogeneza • komórki śródbłonna

Summary

Multiple myeloma (MM) is one of the most common hematologic malignancies. It remains an incurable disease, so far. The mainstay of treatment for decades was pointless therapy with cytostatic agents and immunosuppressant's. Because myeloma is most common in the elderly population, vulnerable to aggressive therapy, non-specific treatment approaches led to poor patient survival. Intensive study of MM, allowed identification of the molecular interactions between myeloma cells and bone marrow tumour microenvironment, responsible for the development of the disease and associated complications, such as osteolytic bone lesions. Understanding the molecular mechanisms of action of adhesion molecules, cytokines and signalling pathways involved in the development of myeloma, has led to develop of novel, targeted therapies to improve the quality of patients life and significantly prolong the median survival time. This paper discusses the current state of knowledge of signalling pathways involved in the progression of cancer and the destruction of bone tissue, with particular emphasis on interactions with the bone marrow microenvironment of the tumour.

Keywords:

multiple myeloma • cells microenvironment • angiogenesis • endothelial cells

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1150216>

Word count: 8994
Tables: –
Figures: 1
References: 119

Adres autora: dr med. Artur Jurczyszyn, Oddział Kliniczny Hematologii, Szpital Uniwersytecki, ul. Kopernika 17, 31-501 Kraków; e-mail: mmjurczy@cyf-kr.edu.pl

Wykaz skrótów: **AA** – kwas arachidonowy, **ALCAM** – cząsteczka adhezyjna zaktywowanych leukocytów, **Ang-1** – angiopoetyna 1, **BM** – szpik kostny, **BMSC** – komórki zrębowe szpiku, **CEC** – krążące komórki śródbłonna, **EPC** – śródbłonkowe komórki progenitorowe, **FA** – kwasy tłuszczowe, **FAS** – syntaza kwasów tłuszczowych, **FACS** – aktywowana fluorescencja sortowania komórek, **FGF-2** – czynnik wzrostu fibroblastów 2, **FVIII-RA** – antygen związany z czynnikiem VIII, **G-CSF** – czynnik wzrostu kolonii granulocytów, **HGF** – czynnik wzrostu hepatocytów, **HSC** – krwiotwórcze komórki hematopoetyczne, **Ig** – immunoglobuliny, **IGF-1** – insulinopodobny czynnik wzrostu 1, **ICAM** – międzycząsteczkowa cząsteczka adhezyjna, **IL** – interleukina, **IL-R** – receptor interleukinowy, **JAK** – wewnątrzkomórkowa tyrozynowa kinaza Janusowa, **LFA-1** – antygen związany z czynnością limfocytów-1, **MCP-1** – białko chemotaktyczne dla monocytów 1, **MEKK** – kinaza białkowa aktywowana mitogenami, **MGUS** – monoklonalna gammopatia o nieokreślonym znaczeniu, **MIP1-α** – makrofagowe białko zapalne 1α, **MM** – szpiczak plazmocytowy, **MMP** – metaloproteinaza macierzy zewnątrzkomórkowej, **MSC** – mezenchymalne komórki macierzy/zrębu, **MUC-1** – antygen mucyny 1, **NCAM** – cząsteczka adhezyjna komórek nerwowych, **OPG** – osteoprotegeryna, **PDGFRβ** – receptor beta płytkopochodnego czynnika wzrostu, **PI3K** – szlak kinazy fosfoinozitolowej 3, **PkB/Akt** – szlak kinazy białkowej B, **PUFA** – wielonienasycone kwasy tłuszczowe, **RANKL** – ligand receptora aktywatora czynnika jądrowego κB, **SCID** – zespół ciężkiego niedoboru odporności, **SDF-1α** – czynnik z komórek zrębowych 1α, **STAT3** – sygnałowy szlak transkrypcyjny 3, **TGF-β** – transformujący czynnik wzrostu beta, **TNF** – czynnik wzrostu nowotworu, **TNF-R** – receptor czynnika wzrostu nowotworu, **VCAM-1** – naczyniowa cząsteczka adhezyjna 1, **VLA-4** – antygen bardzo późnej aktywacji 4.

WPROWADZENIE

Zgodnie z najnowszymi badaniami szpiczak plazmocytowy (MM) stanowi 1% wszystkich nowotworów, ze stwierdzonymi 33 400 nowymi przypadkami oraz 20 300 przypadkami zgonów w Unii Europejskiej w 2012 r. [36]. MM występuje głównie u pacjentów starszych, 71% przypadków rozpoznawanych jest u osób w wieku 65 lat i starszych. Bardzo niewielką liczbę przypadków zdiagnozowano u chorych poniżej 40 lat. Nowotwór ten występuje dwa razy częściej u osób rasy czarnej w porównaniu z osobami rasy kaukaskiej lub Azjatami [16,17].

MM jest nieuleczalną, złośliwą chorobą terminalnie zróżnicowanych limfocytów B (plazmocytoz), charakteryzującą się ich klonalną ekspansją w szpiku kostnym (bone marrow, BM) i wydzielaniem przez nie monoklonalnej immunoglobuliny (Ig), obecnej w krwi i/lub moczu oraz destrukcją tkanki kostnej [101]. Typowy obraz kliniczny pacjentów obejmuje nawrotowe zakażenia i niedokrwistość wynikające z zajęcia szpiku, rozwój niewydolności nerek, zaburzenia w układzie kostnym, głównie bardzo nasilone dolegliwości bólowe, liczne złamania kości i hiperkalcemie.

MIKROŚRODOWISKO SZPIKU KOSTNEGO A SZPICZAK MNOGI

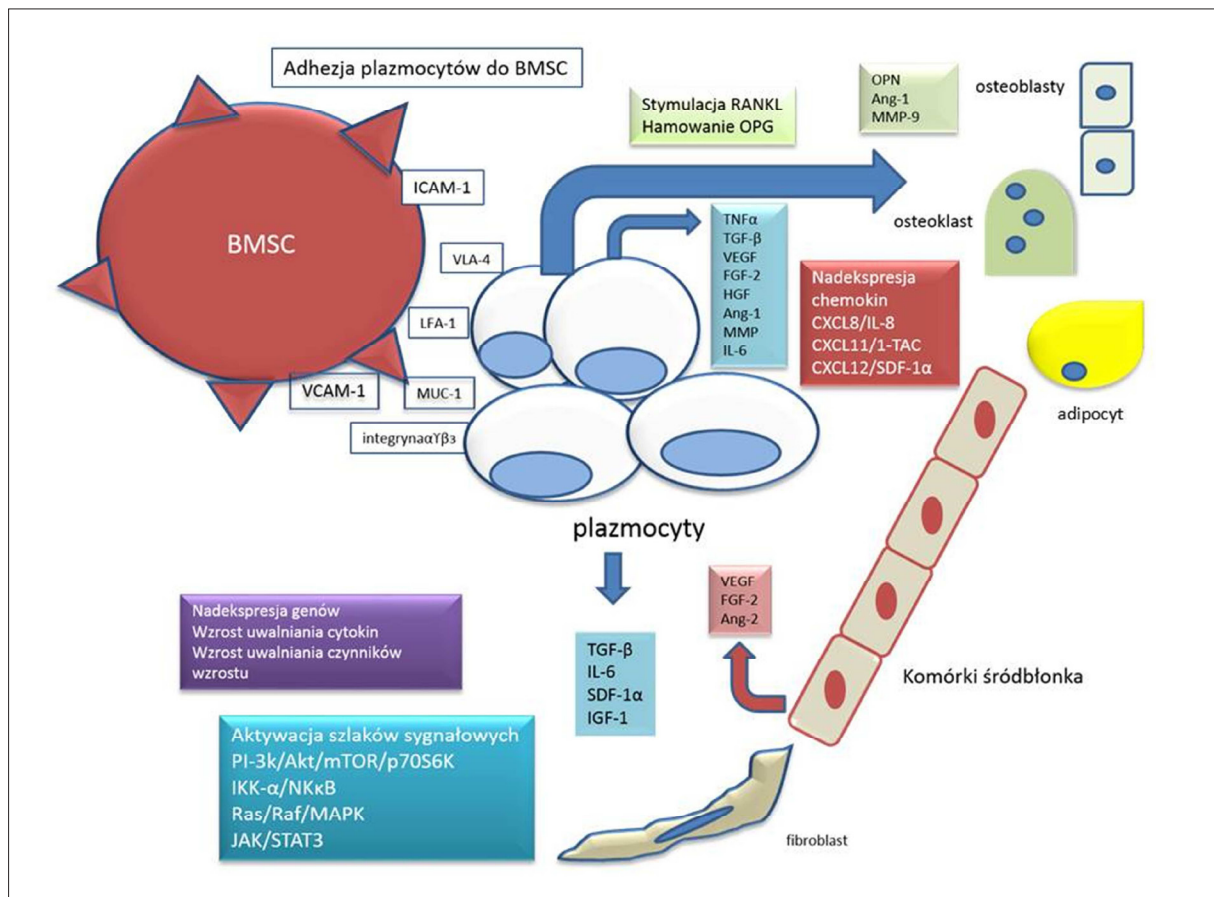
Mikrośrodowisko szpiku kostnego (podścielisko), regulujące i podtrzymujące wzrost i różnicowanie komórek krwiotwórczych, jest utworzone przez macierz zewnątrzkomórkową (extracellular matrix, ECM) zawierającą głównie kolagen oraz elementy komórkowe, takie jak mezenchymalne komórki macierzyste/podścieliska (mesenchymal stem/stromal cells, MSC), osteoklasty, osteoblasty, limfocyty, fibroblasty i komórki śródbłonna naczyniowego. Komórki MSC są pluripotenne, zdolne do różnicowania w wiele linii komórek mezenchymalnych, w tym adipocyty, fibroblasty, chondrocyty i osteoblasty. Ponieważ nie istnieje swoisty marker dla komórek MSC, są one identyfikowane na podstawie profilu immunofenotypowego, charakterystycznej morfologii oraz zdolności do adhezji do plastiku [76,80,109,118]. Badania dowodzą, że komórki MSC charakteryzują zdolność do stymulowania wzrostu nowotworowych plazmocytoz. Komórki te uczestniczą w aktywacji limfocytów T i komórek NK stanowiących elementy odpowiedzi przeciwnowotworowej, co wskazuje na ich właściwości immunomodulujące [25].

W przebiegu MM interakcje z komórkami mikrośrodowiska determinują przeżywalność, migrację i proliferację nowotworowych plazmacytów oraz ich oporność na leczenie. Zatem środowisko podścieliska odgrywa istotną rolę w promowaniu wzrostu i progresji nowotworu [90] (ryc. 1). Rozwój technik molekularnych umożliwił częściową identyfikację patomechanizmu rozwoju MM. Wykazano, że głównymi czynnikami w tym procesie (poza złośliwymi plazmacytami) są komórki stromalne/zrębowe (podścieliska) szpiku kostnego (bone marrow stromal cell, BMSC), komórki śródbłonka, a zwłaszcza znajdujące się na ich powierzchni cząsteczki adhezyjne, których wzajemne interakcje indukują szlaki sygnałowe proliferacji i przeżycia komórek MM, co jest realizowane z udziałem cytokin syntetyzowanych przez komórki BMSC i/lub MM.

BUDOWA SZPIKU KOSTNEGO

Interakcje między poszczególnymi komponentami mikrośrodowiska szpikowego kształtują proces proliferacji, rozprzestrzeniania się i żywotności plazmacytów, a także procesy wykształcenia się oporności lekowej i nawrotu choroby [3,29,95]. We wzajemnych oddziaływaniach międzykomórkowych uczestniczą: antygen bardzo późnej aktywacji 4 (very late activating antigen, VLA-4), antygen związany z czynnością leukocytów

(leukocyte function-associated antigen, LFA-1), antygen mucyny 1 (MUC-1), oraz integryna $\alpha_v\beta_3$, ulegające ekspresji na plazmacytach, a także cząsteczka adhezji komórkowej naczyń 1 (vascular cell adhesion molecule, VCAM-1) i cząsteczka adhezji międzykomórkowej (intercellular adhesion molecule, ICAM-1), ulegające ekspresji na powierzchni komórek BMSC. Powyższe interakcje nasilają indukcję genów oraz syntezę i uwalnianie wielu cytokin, jak również czynników wzrostu niezbędnych do rozwoju i proliferacji plazmacytów w przebiegu MM [52]. Wykazano, że nowotworowe plazmacyty mają zdolność do nadmiernej sekrecji cytokin, m.in. czynnika martwicy nowotworów alfa (tumor necrosis factor alpha, TNF- α), transformującego czynnika wzrostu beta (transforming growth factor beta, TGF- β), czynnika wzrostu nabłonka naczyń (vascular endothelial growth factor, VEGF), czynnika wzrostu fibroblastów 2 (fibroblast growth factor-2, FGF-2), czynnika wzrostu hepatocytów (hepatocyte growth factor, HGF) [12,63], angiopoetyny 1 (Ang-1) i metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (matrix metalloproteinases, MMP) [50,51,52,111]. Ponadto adhezja plazmacytów do komórek BMSC uruchamia transkrypcję genu i wydzielanie interleukiny 6 (IL-6) [10], insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (insulin-like growth factor, IGF-1), VEGF, a także CXCL12/czynnika z komórek zrębowych 1 α (stromal cell derived factor, SDF-1 α) [37,43,46], pośredniczących w procesach



Ryc. 1. Mikrośrodowisko szpiku i wzajemne interakcje komórek istotne dla rozwoju i progresji MM

wzrostu, przeżywalności i rozwoju oporności lekowej plazmocytozów oraz w procesie angiogenezy w obrębie szpiku kostnego.

Nisza naczyniowa jest zbudowana z naczyń krwionośnych tworzących kanał umożliwiający komórkom MM zarówno opuszczenie niszy osteoblastycznej, jak i przedostanie się do układu naczyniowego za pośrednictwem transmigracji śródbłonkowej, a tym samym powrót do szpiku kostnego w mechanizmie zasiedlenia organu pochodzenia. W tym kontekście komórki śródbłonka, perycyty i komórki mięśni gładkich tworzą mikrośrodowisko rekrutujące komórki progenitorowe: śródbłonka (epithelial progenitor cells EPC), mezenchymalne (MSC) i krwiotwórcze (HSC). Nisza naczyniowa stanowi istotny ośrodek do różnicowania i dojrzewania komórek HSC, zarówno przez syntezę i uwalnianie wielu cytokin i czynników wzrostu, jak również w wyniku bezpośredniego kontaktu międzykomórkowego. Natomiast komórki HSC wydłużają przeżycie komórek śródbłonka szpiku kostnego przez wydzielanie czynników wzrostu komórek śródbłonka [28,29,69,88]. W niszach osteoblastycznych istnieje ścisły związek między osteoblastami a komórkami HSC, prowadzący do uwalniania czynników wzrostu, w tym liganda receptora aktywatora jądrowego czynnika kappą B (RANKL) i aktywacji szlaku Notch. Komórki HSC odłączają się od niszy osteoblastycznej i migrują do niszy naczyniowej, gdzie mają styczność z komórkami śródbłonka w celu wznowienia procesu krwiotworzenia [33,113]. Główną rolę w patogenezie zmian kostnych i progresji MM odgrywa zaburzenie równowagi między osteoblastami a osteoklastami [18]. Szpiczakowe plazmocyty stymulują wydzielanie RANKL i hamują ekspresję osteoprotegeryny (OPG; receptor konkurujący o ligand RANKL) w osteoblastach i komórkach BMSC, indukując w ten sposób osteoklastogenezę i resorpcję kości [9].

ROLA KOMÓREK ŚRÓDBŁONKA

Komórki śródbłonkowe szpiku kostnego, zajętego przez patologiczny naciek nowotworu, wykazują nasiloną ekspresję określonych czynników angiogennych oraz ich receptorów, takich jak VEGF i jego receptor 2 (VEGFR-2), FGF-2 i jego receptor 2 (FGF-2R-2), Ang-2 i Tie-2, co wyraźnie zwiększa aktywność angiogenną wykazaną w badaniach *in vitro* oraz *in vivo* [6,78,87]. Ponadto w komórkach śródbłonka chorych na MM wykazano nadekspresję mRNA oraz wzmoczoną syntezę chemokin (CXC): CXCL8/IL-8, CXCL11/indukowanego interferonem chemoatraktantu dla limfocytów T alfa (1-TAC), CXCL12/SDF-1 α i CCL2/białka chemotaktycznego dla monocytów 1 (monocyte chemoattractant protein, MCP-1). W plazmocytach MM stwierdzono natomiast ekspresję receptorów swoistych dla tych chemokin, co wskazuje na możliwość transmisji parakrynej z udziałem CXC i ich receptorów między komórkami śródbłonka, a plazmocydami MM. Chemokiny pośredniczą również w indukowaniu proliferacji, chemotaksji i rozprzestrzenianiu się plazmocytozów [63,88].

W komórkach śródbłonka izolowanych od pacjentów z MM wykazano również ekspresję receptora beta płytkopochodnego czynnika wzrostu (platelet-derived growth factor receptor beta, PDGFR β) i pp60-Src, pełniących rolę konstytutywnych kinaz tyrozynowych [24,52,104,109,119]. Szlak sygnałowy kinaz PDGF-BB/PDGFR β promuje rozwój naczyń krwionośnych w MM przez aktywację ERK1-2, AKT oraz transkrypcję genów dla VEGF i IL-8 z następowym uwalnianiem powyższych czynników w komórkach śródbłonka. Kaskada sygnałowa jest indukowana selektywnie przez VEGF, zaś transfekcja komórek niskocząsteczkowym interferującym (si)RNA potwierdziła, że pp60c-Src jest efektem pętli sygnalizacyjnej VEGF, podstawowej do przeżycia komórki śródbłonka w MM, rozprzestrzeniania się nowotworu i angiogenezy. Wykonano porównawcze profilowanie ekspresji genów komórek śródbłonka pochodzących od pacjentów z MM i pacjentów z monoklonalną gammopatią o nieokreślonym znaczeniu (monoclonal gammopathy of undetermined significance, MGUS) [93]. W komórkach MM stwierdzono różnice w ekspresji 22 genów (zmniejszenie ekspresji 14 genów i nadekspresję 8 genów). Produkty genów o zmienionej ekspresji uczestniczyły głównie w tworzeniu macierzy zewnątrzkomórkowej oraz przebudowie kości, adhezji komórkowej, chemotaksji/rozprzestrzenianiu się komórek, angiogenezie, oporności na apoptozę oraz regulacji cyklu komórkowego. Zwrócono uwagę na geny *DIRAS3*, *SERPINF1*, *SRPX*, *BNIP3*, *IER3* i *SEPW1*, dla których uprzednio nie istniały funkcjonalne korelacje z angiogennym fenotypem komórek śródbłonka. Interferencja trzech genów o zwiększonej ekspresji (*BNIP3*, *IER3*, *SEPW1*) z siRNA wykazała inhibicję proliferacji, adhezji, rozprzestrzeniania się komórek śródbłonka (i tworzenia włóściwek) oraz ich apoptozę [21,93].

ROLA KRĄŻĄCYCH KOMÓREK ŚRÓDBŁONKA I KOMÓREK PROGENITOROWYCH ŚRÓDBŁONKA

Zaobserwowano, że krążące komórki śródbłonka (circulating endothelial cells, CEC) i komórki EPC w krwi obwodowej osiągają u pacjentów z MM stężenia nawet sześciokrotnie wyższe niż w grupie kontrolnej [119]. Wykazano również dodatnią korelację ze stężeniem białka M i β 2-mikroglobuliny w surowicy. Ponadto komórki EPC charakteryzowały się późnym formowaniem/rozrostem kolonii komórkowych i tworzeniem sieci typu włóściwego na podłożu Matrigel (symulującym macierz zewnątrzkomórkową); procesy te były hamowane przez dodanie talidomidu. Komórki EPC w przebiegu MM wykazywały także koekspresję VEGFR-2 i CD133, natomiast podwyższone stężenia mRNA dla VEGFR-2 były skorelowane z surowiczym stężeniem białka M [91].

Komórki EPC są ściśle związane z komórkami HSC, a ich typowy fenotyp obejmuje ekspresję cząsteczek CD133, CD34 i VEGFR-2 [91,110,117,119]. U pacjentów z aktywnym MM, plazmocyty i komórki zrębowe w mikrośrodowisku szpiku kostnego rekrutują komórki

HSC i indukują ich transformację do dojrzałych komórek śródbłonka [87]. Podczas inkubacji pobranych od pacjentów komórek HSC z VEGF, FGF-2 i IGF, komórki te ulegały różnicowaniu do komórek śródbłonkowopodobnych z ekspresją typowych markerów śródbłonkowych, takich jak antygen związany z czynnikiem VIII (factor VIII-related antigen, FVIII-RA), VEGFR-2 i VE-cadheryna, z tworzeniem sieci typu włóścikowego *in vitro* [87,94,110].

ROLA MAKROFAGÓW I MASTOCYTÓW

Makrofagi szpiku kostnego pobrane od pacjentów z MM i poddane działaniu VEGF i FGF-2 mogą ulegać transformacji do komórek przypominających sparowane komórki śródbłonka, tworząc w ten sposób sieć typu włóścikowego, zachodzącą na sieć komórek śródbłonka [95,96]. Wykazano również, że makrofagi przypominające komórki śródbłonka oraz typowe makrofagi w znacznym stopniu przyczyniają się do tworzenia ścian nowych naczyń u pacjentów w aktywnej fazie MM (tj. z MM w chwili rozpoznania, nawrotu lub w fazie odpornej na leczenie) [96]. Przeprowadzone analizy z wykorzystaniem metody cytometrii przepływowej (fluorescent activated cell sorting, FACS) wykazały w wyizolowanych od pacjentów z MM jednojądrzastych komórkach szpiku obecność większego odsetka komórek CD14⁺/CD68⁺ w porównaniu do pacjentów w nieaktywnym stadium choroby (tzn. z całkowitą/częściową remisją) i pacjentów z MGUS. Ponadto w biopsjach szpiku kostnego chorych z aktywnym MM w ścianach mikro naczyń stwierdzano obecność makrofagów o właściwościach zarówno przypominających komórki śródbłonka (tj. CD68⁺/FVIII-RA⁺), jak i typowe makrofagi (tj. CD68⁺/FVIII-RA⁻). Powyższe dane wskazują, że w aktywnym MM makrofagi uczestniczą w procesie neowaskularyzacji za pośrednictwem waskulogenezy. Chen i wsp. wykazali, że monocytów hodowane z pobranym od pacjentów z MM szpikiem kostnym wykazującym ekspresję plejotrofiny, indukują ekspresję genów komórek śródbłonka naczyniowego i przyczyniają się do wytworzenia ich rurkowatych struktur [21]. Działanie to jest specyficznie blokowane przez przeciwciała przeciwko plejotrofinie. Po wstrzyknięciu myszom z wrodzonym zespołem ciężkiego niedoboru odporności (severe combined immunodeficiency, SCID) monocytów ludzkich wraz z ludzkimi komórkami MM, stwierdzono w budowywanie monocytów do naczyń krwionośnych guza oraz ekspresję genów i białek ludzkich komórek śródbłonka, hamowaną podaniem monoklonalnych przeciwciał przeciwko plejotrofinie [21].

U pacjentów z nieaktywnym lub aktywnym MM, a także u pacjentów z MGUS wykazano korelację między nasileniem procesu angiogenezy w szpiku kostnym, a liczbą mastocytów. W przypadkach aktywnego MM oba parametry ulegają równoległemu zwiększeniu [95]. W biopsjach szpiku, na poziomie ultrastruktury naczyń, stwierdza się obecność mastocytów w postaci licznych i mających nieregularne kształty granulek o dużej gęsto-

ści elektronowej. Dodatkowo grube komórki śródbłonka, zawierające pęcherzyki endocytowe i niezawierające granulek, połączone były z mastocytami wyścielającymi ściany naczyń [83]. Powyższe obserwacje dotyczące ultrastruktury naczyń potwierdzono w badaniach z wykorzystaniem laserowej mikroskopii konfokalnej z użyciem monoklonalnych przeciwciał przeciwko tryptazie (używanych do znakowania mastocytów) oraz przeciwko FVIII-RA (stosowanych do znakowania komórek śródbłonka). W naczyniach krwionośnych pozyskanych w czasie biopsji od pacjentów z MM stwierdzono obecność regionów znakowanych FVIII-RA, występujących naprzemiennie z regionami wybarwionymi tryptazą i FVIII-RA. W biopsjach u chorych z MGUS naczyń były równomiernie znakowane wyłącznie przeciwciałami przeciwko FVIII-RA, natomiast tryptazododatnie mastocyty obserwowano wyłącznie wokół naczyń krwionośnych [83]. Podsumowując, uzyskane dane wskazują, że również mastocyty uczestniczą w neowaskularyzacji szpiku kostnego chorych na MM.

ROLA FIBROBLASTÓW

Do elementów mikrośrodowiska nowotworowego, mających istotne znaczenie dla rozwoju nowotworu, należą również fibroblasty. Komórki te uczestniczą w transmisji sygnału w wyniku wydzielania czynników wzrostu i cytokin, indukując tworzenie zmienionej macierzy zewnątrzkomórkowej, a tym samym wysyłając dodatkowe sygnały do rozpoczęcia procesu onkogenezy, nasilające proliferację i rozprzestrzenianie się komórek nowotworowych. Fibroblasty pozostają funkcjonalnie powiązane z komórkami nowotworowymi we wszystkich stadiach progresji choroby, promując wzrost nowotworu, angiogenezę oraz proces tworzenia przerzutów [23].

Frassanito i wsp. wykazali istotne zwiększenie odsetka fibroblastów w szpiku kostnym chorych z aktywnym MM w porównaniu z pacjentami w remisji oraz z MGUS [38]. Komórki te charakteryzował wzbudzony fenotyp oraz zdolność do nadmiernej syntezy TGF- β , IL-6, SDF-1 α i IGF-1. Ponadto komórki te charakteryzowały różnice fenotypowe wynikające z ich zróżnicowanego pochodzenia – od fibroblastów w macierzy zewnątrzkomórkowej, komórek śródbłonka i/lub komórek HSC w procesie przemiany nabłonkowo-mezenchymalnej oraz od komórek MSC, w procesie przemiany mezenchymalnej. Obie przemiany są indukowane zarówno przez fibroblasty, jak i przez nowotworowe plazmocytów. Aktywne fibroblasty szpiku chorych na MM sprzyjają procesowi chemotaksji, adhezji, proliferacji i rozwojowi oporności na apoptozę komórek MM przez wydzielanie cytokin i bezpośredni kontakt międzykomórkowy (hamowany przez blokowanie CXCR4, niektórych integryn i fibronektyny). Badania w modelach z udziałem syngenicznych myszy 5T33MM oraz myszy z ksenograftami MM wykazały, że komórki MM indukują rekrutację i ekspansję fibroblastów, które sprzyjają zapoczątkowaniu tworzenia guza, a następnie jego progresji i angiogenezie [38].

ROLA OSTEOLASTÓW I OSTEOKLASTÓW

W osteoblastach stwierdza się ekspresję proangiogennej osteopontyny (OPN) oraz Ang-1, wymaganych do zachodzącego za pośrednictwem osteoblastów podtrzymania czynności komórek HSC [6]. Ponadto Ang-1 ulega ekspresji w plazmocytach szpiczaka i ma związek z nadekspresją swojego receptora Tie-2 na powierzchni komórek śródbłonna szpikowego oraz z nasileniem angiogenezy [43].

Badania wykazały, że hamowanie aktywności osteoklastów spowalnia proces angiogenezy i wzrost nowotworu u pacjentów z MM [27]. Osteoklasty wydzielają OPN działającą synergistycznie z VEGF w plazmocytach MM i niezwykle istotną w nasilaniu angiogenezy i indukowaniu aktywności osteoklastogennej w komórkach śródbłonna [103]. Ponadto OPN wraz z IL-6 nasila wzrost plazmacytów MM [1,32,48,100,107]. Myszy pozbawione genu kodującego OPN wykazują minimalną resorpcję kości oraz osłabione wiązanie osteoklastów na powierzchni kości w porównaniu z myszami typu dzikiego [8]. Natomiast wydzielana przez osteoklasty MMP-9 nasila angiogenezę przez uwalnianie VEGF z macierzy zewnątrzkomórkowej [15].

CZĄSTECZKI ADHEZYJNE

Patogeneza MM jest złożona i obejmuje udział różnych rozpuszczalnych czynników molekularnych (cytokin, czynników wzrostu) oraz cząsteczek adhezyjnych, umożliwiających interakcje między komórkami MM, a BMSC i innymi komórkami mikrośrodowiska szpiku kostnego, w wyniku czego następuje aktywacja przepływowanych szlaków sygnałowych w komórce MM [15], a także indukcja procesu osteoklastogenezy [77] i angiogenezy [33].

Na powierzchni komórek MM stwierdza się nadekspresję cząsteczek adhezyjnych m.in. LFA-1/CD18 [4], VLA-4/CD49d [28] i cząsteczki adhezyjnej komórek nerwowych (neural cell adhesion molecule, NCAM/CD56) [112]. Cząsteczki te wiążą się ze współpracującymi receptorami/cząsteczkami adhezyjnymi na powierzchni komórek MSC. CD54 jest ligandem dla CD18, zaś CD106 jest ligandem dla CD49d. Tym samym cząsteczki te odgrywają istotną rolę w interakcjach między komórkami MM a komórkami podścieliska szpiku obserwowanych w warunkach *in vitro* oraz *in vivo* [104]. Adhezja komórek MM do komórek MSC aktywuje liczne szlaki sygnałowe, prowadzące m.in. do dysregulacji cyklu komórkowego, a także uczestniczące w syntezie białek antyapoptycznych w komórkach MM [116]. Szlaki obejmujące kaskadę PI-3K/Akt/mTOR/p70S6K, szlak IKK- α /NF- κ B, szlaki Ras/Raf/MAPK i JAK/STAT3 mogą również ulegać indukcji pod wpływem zwiększonej koncentracji cytokin wydzielanych zarówno przez komórki MM, jak i przez komórki MSC [5,20,84].

Wykorzystując model myszy, Michigami i wsp. stwierdzili, że zachodzące za pośrednictwem VCAM-1 interakcje

między komórkami MM, a komórkami MSC zwiększały osteoklastogenną aktywność komórek MM [77]. Wiele cząsteczek adhezyjnych ulegających ekspresji w komórkach MM aktywuje szlak sygnałowy jądrowego czynnika transkrypcji NF- κ B, odgrywającego ważną rolę w przeżyciu i proliferacji komórek MM [82]. Szlak NF- κ B chroni komórkę przed apoptozą poprzez aktywację antyapoptycznych genów z rodziny *Bcl-2* i *A1* [66] oraz może również promować wzrost i różnicowanie komórek przez aktywowanie ekspresji cykliny D1 [47]. Aktywacja NF- κ B powoduje również nadekspresję cząsteczek adhezyjnych uczestniczących w oporności lekowej komórek MM. Wykazano, że w opornych na melfalan komórkach MM, wyselekcjonowanych w wyniku przewlekłej ekspozycji na ten lek, zachodziła podwyższona ekspresja CD49d [28]. Wykazano również, że szlak NF- κ B stymuluje angiogenezę poprzez indukowanie ekspresji czynnika wzrostu nabłonka naczyńowego (VEGF) [56].

CYTOKINY I SZLAKI SYGNAŁOWE

Cytokiny i czynniki wzrostu syntetyzowane przez komórki MM lub komórki BMSC w wyniku interakcji międzykomórkowych, przyczyniają się do proliferacji i aktywności osteoklastów oraz wzrostu/przeżycia komórek MM i angiogenezy. Należy tu wymienić IL-1 β [26], IL-3 [71], IL-6 [67,97], TNF- α i TNF- β [30,75], VEGF [92] oraz makrofagowe białko zapalne 1 α (MIP1- α) [72]. Interleukina 6 jest pleiotropową cytokiną uwalnianą w wyniku działania czynników pro- i przeciwzapalnych. Rola IL-6 jako zasadniczego czynnika wzrostu i przeżycia komórek MM została dobrze udokumentowana. Cytokina ta odgrywa główną rolę w progresji MM poprzez wpływ na regulację wzrostu i przeżywalności komórek nowotworowych [62]. Interleukina 6 jest syntetyzowana przez osteoblasty, monocyty, makrofagi i komórki MSC. Wiąże się z receptorem IL-6 (IL-6R) [96]. Jurczynszyn i wsp. wykazali, że stężenia HGF, b-FGF, IL-6 oraz sIL-6R w osoczu były istotnie wyższe u pacjentów z MM w porównaniu do grupy kontrolnej. Terapia antynowotworowa, w zależności od czasu trwania, spowodowała obniżenie stężenia HGF, IL-6, sIL-6R oraz TGF- β 1 u pacjentów z MM [59].

Po związaniu IL-6 do sprzężonego z GP130 receptora IL-6R, aktywacji ulega wewnątrzkomórkowa kinaza tyrozynowa Jan (JAK), fosforylująca i aktywująca przekaznik i aktywatory sygnałowe szlaku transkrypcyjnego 3 (STAT3) [78]. Po aktywacji czynniki STAT3 są przenoszone do jądra komórkowego, w którym inicjują transkrypcję genów reagujących na ekspresję IL-6. Jednym z takich genów jest gen *BCL2L1*, kodujący białko Bcl-XL hamujące apoptozę komórek krwiotwórczych [33]. Bcl-XL działa poprzez inhibicję uwalniania proapoptycznych białek z mitochondriów [78].

Catlett-Falcone i wsp. przez eksperymentalne blokowanie apoptozy komórek MM w wyniku inhibicji szlaku JAK/STAT wykazali, że aktywowane czynniki STAT3 przyczyniają się do progresji MM, a tym samym

zahamowania ekspresji Bcl-XL [19]. Interleukina 6 aktywuje również szlak kinazy fosfoinozytolowej 3 (phosphoinositol 3 kinase, PI3K) oraz kinazy białkowej B (protein kinase B, PkB/Akt). W wyniku aktywacji PI3K/PkB/Akt jest uruchamiany szlak antyapoptotyczny, czemu towarzyszy nasiloną proliferacją komórek MM [7]. Szlak ten reguluje proces apoptozy w plazmocytach MM przez inaktywację proapoptotycznych białek kontrolujących uwalnianie cytochromu C z mitochondriów [85].

Uwalnianie cytochromu C ma podstawowe znaczenie dla rozpoczęcia apoptozy komórki, bowiem aktywuje torę sygnałową kaspaz w cytosolu [13]. Po aktywacji tego szlaku następuje indukowanie ekspresji białek proapoptotycznych zapoczątkowujące śmierć komórki [73]. Interleukina 6 aktywuje także szlak sygnałowy zależny od białka Ras i promuje jego przeniesienie do błony plazmatycznej, gdzie następuje aktywacja Raf, kinazy białkowej aktywowanej mitogenami (mitogen-activated protein kinase kinase, MEKK) i MAPK, co prowadzi do nasilenia proliferacji komórek MM [55].

Interleukina 6 promuje również proces osteolizy indukując syntezę liganda receptora aktywatora czynnika jądrowego κ B ligand (RANKL), obecnego na powierzchni komórek MM, BMSC i osteoblastów [84]. RANKL oddziałuje ze współpracującym z nim receptorem RANK na powierzchni dojrzałych osteoklastów, powodując aktywację komórek oraz hamując różnicowanie progenitorów osteoklastów. W prawidłowo funkcjonującym organizmie jest to ściśle regulowany mechanizm, w którym osteoblasty wydzielają osteoprotegerynę (OPG) konkurującą o ligand RANKL z receptorami RANK, a tym samym zmniejszając wytwarzanie osteoklastów [99]. OPG jest czynnikiem hamującym rozwój osteoklastów zarówno *in vitro*, jak i *in vivo* [99].

Doświadczenia z wykorzystaniem myszy transgenicznymi udowodniły znaczenie systemu OPG/RANKL/RANK w prawidłowej przebudowie kości. U myszy z dysfunkcją genu RANKL oraz myszy z nadekspresją OPG odkryto zmniejszone różnicowanie osteoklastów i nadmierną akumulację tkanki kostnej. Schorzenie to jest określane mianem osteopetrozy [68]. U myszy z deficytem OPG wykazano rozwój osteoporozy spowodowanej wzmoczoną proliferacją i czynnością osteoklastów [14,79].

W przebiegu MM złośliwe plazmocyty stymulują osteoklastogenezę przez zwiększanie ekspresji RANKL i zmniejszanie ilości OPG [106]. Mechanizmy molekularne nie są dotychczas wyjaśnione, jednak badanie Standal i wsp. wykazało, że OPG jest wiązana, internalizowana i rozkładana w komórkach MM przez CD138 (Syndekan 1, transbłonowe białko kontrolujące wzrost i różnicowanie komórki) [102]. Ponadto komórki MM wykazują działanie antyapoptotyczne względem osteoklastów przez wydzielanie dużych ilości M-CSF [102]. W wyniku zaburzonej równowagi RANKL/OPG u pacjentów z MM, wzmoczone wiązanie RANKL z recep-

torem RANK dramatycznie nasila resorpcję kości. Abe i wsp. [2] stwierdzili, że wzrost i przeżycie komórek MM jest znacząco ułatwiony w wyniku oddziaływania między komórkami MM, a osteoklastami oraz że mechanizm ten jest częściowo zależny od IL-6 i osteopontyny (białka występującego w osteoblastach). Ponadto stwierdzono, iż IL-3 odgrywa rolę w procesie niszczenia kości w przebiegu MM, zarówno przez stymulowanie osteoklastów, jak i pośrednie hamowanie różnicowanie osteoblastów *in vitro* [35].

W komórkach MM świeżo izolowanych od pacjentów z nasiloną osteolizą kostną wykazano wysoki poziom sekrecji białka MIP-1 α ; białko to indukuje tworzenie osteoklastów niezależnie od RANKL [22]. MIP-1 α nasila również indukującą osteoklasty aktywność RANKL i IL-6 [48]. Terpos i wsp. zauważyli, że poziom MIP-1 α w surowicy pacjentów z MM jest skorelowany z nasileniem zmian kostnych, poziomem markerów resorpcji kości oraz poziomem RANKL [106]. Badacze zaobserwowali również, że prawdopodobieństwo przeżycia 3 lat z MM malało wraz ze wzrostem stężenia MIP-1 α [106]. Ponadto wykazano, że MIP-1 α indukuje aktywację szlaku AKT/PKB i MAPK, a tym samym może również pośrednio wpływać na komórkowe szlaki sygnalizacyjne oddziałujące na wzrost, przeżywalność i migrację komórek MM [72]. Przywrócenie równowagi między RANKL, a OPG poprzez działania terapeutyczne nie tylko zatrzymuje resorpcję kości, ale również hamuje wzrost i przeżycie komórek MM. Wszystkie z wymienionych cytokin, a także interakcje wynikające z adhezji komórek MM do komórek BMSC, tworzą pętlę sprzężenia zwrotnego pomiędzy wzrostem resorpcji kości, a wzrostem nowotworu.

MET jest przezbłonową glikoproteiną o wielkości 190 kDa, dla której naturalnym ligandem jest czynnik wzrostu hepatocytów (hepatocyte growth factor; HGF). Obecność receptora MET została potwierdzona w 100% komórek MM, zarówno na poziomie mRNA, jak i białka [64]. Wśród wielu czynników aktywujących komórki MM, jednym z ważniejszych jest HGF, który działając poprzez receptor MET stymuluje ich proliferację oraz hamuje apoptozę [54]. Z przeprowadzonych do tej pory badań wynika, iż komórki MM mogą również wytwarzać HGF. Ponieważ HGF jest wydzielany także przez komórki BMSC, możliwa jest zarówno auto- jak i parakryna stymulacja komórek nowotworowych. HGF stymuluje wydzielanie wielu białek przez komórki MM, w tym IL-11, która działa osteolitycznie [40]. Dysregulacja sygnału transdukowanego przez receptor MET wiąże się z gorszym rokowaniem dla pacjentów z MM. MET jest współodpowiedzialny za przerzutowanie komórek nowotworowych przez zwiększenie ich migracji, sekrecji enzymów proteolitycznych, zdolności do przeżycia w naczyniach krwionośnych oraz zdolności do zatrzymania w łożysku kapilarnym [58,59]. Razem z innymi czynnikami mitogennymi, w tym osi SDF-1-CXCR4, bierze udział w zasiedlaniu odległych tkanek przez komórki nowotworowe i stymuluje ich wzrost w obcym dla nich

mikrośrodowisku [11]. Doniesienia dotyczące roli osi HGF-MET zachęcają do badań nad wykorzystaniem jej inhibitorów w terapii MM. Obniżenie ekspresji receptora MET może stanowić element strategii leczenia przeciwnowotworowego; takie oddziaływanie wykazuje geldanamycyna i jej analogi [64,73].

PRZEBUDOWA KOŚCI W SZPICZAKU PLAZMOCYTOWYM

Oprócz zwiększonej aktywności osteoklastów i resorpcji kości w MM występuje osłabienie procesu tworzenia tkanki kostnej w wyniku zahamowania osteoblastów [53]. Gilbert i wsp. wykazali, że TNF- α hamuje różnicowanie osteoblastów *in vitro* [42]. Osteoblasty różnicują się z komórek progenitorowych MSC w okresach aktywnego tworzenia tkanki kostnej. Szlak, w którym komórki progenitorowe osteoblastów ulegają różnicowaniu do dojrzałych osteoblastów nazywa się kanonicznym szlakiem Wnt. Ujmując to zagadnienie w skrócie, Wnt to wydzielane glikoproteiny bogate w reszty cysteinowe, wiążące receptor Frizzled oraz białko związane z receptorem lipoprotein o niskiej gęstości (low-density lipoprotein receptor-related protein, LRP-5/6) i indukujące w ten sposób kanoniczny szlak Wnt. Szlak kanoniczny wpływa na funkcjonowanie komórek przez regulację stężenia β -kateniny, a tym samym jej transportu do jądra komórkowego. Regulacja genów docelowych prowadzi do różnych skutków, w tym do indukcji różnicowania i proliferacji osteoblastów [70].

Edwards i wsp., wykorzystując myszy model *in vivo*, wykazali, że nasilenie sygnalizacji Wnt w mikrośrodowisku szpiku kostnego może zapobiegać rozwojowi osteolitycznych zmian kostnych przez zwiększanie liczby osteoblastów i zmniejszanie liczby osteoklastów [34]. Myszy, którym podawano chlorek litu (LiCl), będący inhibitorem enzymu GSK-3 β , wykazywały zwiększoną ekspresję β -kateniny w osteoblastach, co wskazywało, że LiCl hamuje rozwój zmian osteolitycznych przez nasilenie sygnalizacji Wnt w osteoblastach. W rozwoju MM stwierdzono udział pozakomórkowych antagonistów Wnt hamujących szlak Wnt/ β -katenina, a tym samym proces tworzenia osteoblastów [34].

Tian i wsp. analizowali szpik kostny pacjentów z nowo zdiagnozowanym MM, stwierdzając wzrost stężenia białka Dickkopf-1 (Dkk1) w surowicy tych pacjentów [109]. Autorzy zasugerowali, że Dkk1 może hamować różnicowanie BMSC do osteoblastów. Zauważono również, że nasilenie zmian kostnych było skorelowane z podwyższonym u nich stężeniem Dkk1. Obserwacja dotycząca istnienia rozpuszczalnego czynnika wytwarzanego przez komórki MM i hamującego różnicowanie osteoblastów jest istotna, choć niecałkowicie wyjaśnia brak gojenia się szpiczakowych zmian kostnych, nawet u pacjentów z całkowitą remisją hematologiczną. Nie można wykluczyć, że długotrwałe zmiany w mikrośrodowisku szpiku kostnego hamują zdolność prekursorów osteoblastów do różnicowania nawet bez obecności w nim komórek MM [109].

Po opublikowaniu obserwacji poczynionych przez Tiana i wsp. [109], Kaiser i wsp. [65] donieśli o istnieniu korelacji między stężeniem Dkk1 w surowicy a skalą litycznych zmian kostnych. Ponieważ szlak Dkk1/Wnt uczestniczy w rozwoju nowotworu i patofizjologii kości, a interakcja między komórkami nowotworowymi, a mikrośrodowiskiem szpikowym ma podstawowe znaczenie dla progresji MM, Dkk1 może stanowić potencjalny punkt uchwytu terapii.

W odniesieniu do czynników hamujących różnicowanie osteoblastów, Silvestris i wsp. wykazali, że osteoblasty pobrane od pacjentów z MM znajdują się w stanie czynnościowego wyczerpania i ulegają natychmiastowej apoptozie w obecności komórek szpiczakowych pobranych od pacjentów z zaawansowanymi zmianami kostnymi [99].

Wykazano, że czynnik transkrypcyjny Runx2 odgrywa główną rolę w stymulowaniu różnicowania komórek MSC, a hamowanie tego czynnika w znacznym stopniu przyczynia się do supresji osteoblastów w przebiegu MM. Giuliani i wsp. zaobserwowali, że bezpośredni i pośredni kontakt komórek MM z osteoblastami z udziałem czynników rozpuszczalnych przyczynia się do blokowania osteoblastogenezy *in vitro* [44]. Badacze wykazali, że we wspólnej hodowli progenitorów osteoblastów i komórek MM w obecności blokującego przeciwciała skierowanego przeciwko CD49d dochodzi do osłabienia hamującego działania względem Runx2, co sugeruje, że za blokowanie osteoblastogenezy pod wpływem komórek MM może odpowiadać oddziaływanie CD49d/CD106 [44].

ROLA KWASÓW TŁUSZCZOWYCH W PATOGENIEZIE SZPICZAKA

Podścielisko szpiku kostnego, jako element mikrośrodowiska hematopoetycznego, jest jednym z podstawowych czynników warunkujących prawidłowy przebieg krwiotworzenia. Osteoblasty i śródbłonek stanowią nisze funkcyjne, które wspierają hematopoetyczne komórki macierzyste w szpiku kostnym. Wykazano, że szpik kostny zawiera również adipocyty (komórki mające zdolność do syntezy i magazynowania tłuszczów), których liczba koreluje odwrotnie z krwiotwórczą aktywnością szpiku. Dane uzyskane przez Naveiras i wsp. [81] wskazują na adipocyty, jako przeważnie negatywne regulatory mikrośrodowiska szpiku.

Zapalenie w mikrośrodowisku guza zostało uznane za jedną z charakterystycznych cech raka. Wykazano, że niezwykle istotną rolę w stanach zapalnych i chorobie nowotworowej pełnią endogennie syntetyzowane eikozanoidy, działające lokalnie mediatory lipidów, wskazując na możliwą rolę metabolizmu tłuszczów w ich patogenezie [45].

Tworzenie nowych błon biologicznych w proliferujących komórkach nowotworowych skutkuje hipermetaboliem kwasów tłuszczowych (fatty acids, FA), obserwowanym w wielu typach nowotworów, w tym w MM

[60,61]. Nadmierna podaż tłuszczu w diecie, szczególnie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych szeregu n-6 (omega-6) oraz endogenne metabolizmy FA mogą przyczynić się do rozwoju nowotworów w związku z nadmiernym metabolizmem kwasu arachidonowego i jego pochodnych o działaniu prozapalnym [45,98]. Eikozanoidy, syntetyzowane z kwasu arachidonowego (arachidonic acid, AA), biorą udział w procesach karcynogenezy i są istotne zarówno w rozwoju, jak i progresji nowotworu [30,45]. Uważa się, że odpowiednie proporcje pomiędzy kwasami tłuszczowymi szeregu n-3 i n-6, zawartymi w diecie mogą być czynnikiem chroniącym przed rozwojem choroby nowotworowej [60,61,108,114]. Transformacja nowotworowa wymaga aktywności torów metabolicznych glukozy i lipidów. Lipogeneza jest wynikiem aktywności syntazy kwasów tłuszczowych (fatty acid synthase, FAS), zwiększoną ekspresję FAS obserwowano w różnych komórkach nowotworowych [60,89]. Wydaje się, że synteza kwasów tłuszczowych *de novo* odgrywa ważną rolę w procesie nowotworzenia. W dużym badaniu kliniczno-kontrolnym, prowadzonym przez Fritschi i wsp. [39] wykazano ochronny wpływ spożycia ryb na rozwój szpiczaka. Kwas eikozapentaenowy (EPA) i kwas dokozaheksaenowy (DHA) to główne tłuszcze rybne, będące prekursorami mediatorów przeciwwzapalnych wygaszających zapalenie [39]. Implikacje związane z profilem kwasów tłuszczowych w błonach biologicznych i w osoczu, a stopniem ryzyka rozwoju czy progresji MM nie są dobrze poznane [60,61]. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe (polyunsaturated fatty acids, PUFA) biorą udział w szeregu procesów biologicznych, w tym syntezie eikozanoidów, fizjologii błon komórek, sygnalizacji komórkowej, zapaleniu, regulacji ekspresji genów [30,41,45,60,98,108].

Postuluje się, iż zaburzenie równowagi w syntezie pro- i przeciwzapalnych cytokin, spowodowanych zmianami proporcji n-3/n-6 PUFA w błonach biologicznych, jest jednym z czynników, które mogą promować wzrost i przeżycie komórek nowotworowych. Badania prowadzone przez Jurczyszyna i wsp. wykazały odmienny profil kwasów tłuszczowych w błonach erytrocytów i w osoczu u pacjentów z MM w porównaniu do osób zdrowych [60,61]. Wykazano niewielki odsetkowy udział kwasów tłuszczowych n-3 oraz wysoką zawartość kwasów n-6, szczególnie kwasu arachidonowego u osób ze szpiczakiem [60,61]. Erytrocyty nie mają zdolności do syntezy kwasów tłuszczowych *de novo*, a wymiana kwasów tłuszczowych z lipoproteinami osocza zachodzi w niewielkim stopniu. Powyższe badania dostarczają dodatkowych spostrzeżeń na temat potencjalnej roli metabolizmu FA w rozwoju i progresji MM oraz sugerują, że egzogenne, jak i endogenne FA mogą mieć wpływ nie tylko na mikrośrodowisko nowotworowe, ale również na odpowiedź immunologiczną chorych [60]. Różnice w profilu kwasów tłuszczowych u pacjentów z MM w porównaniu z osobami zdrowymi, a zwłaszcza zaburzony stosunek n-3/n-6, mogą być związane z ograniczoną podażą kwasów n-3 w diecie, przewlekłym stanem zapalnym lub związaną z nim obecnością prozapal-

nych aktywnych pochodnych kwasu arachidonowego. Kwasy omega-6 wpływają na procesy zapalne, głównie poprzez syntezę eikozanoidów i zmiany transdukcji sygnału. Dwie hipotezy próbują określić te mechanizmy molekularne. Pierwsza wskazuje, że wielonienasycone kwasy n-6 regulują transkrypcję genów komórek zapalnych przez zwiększenie aktywności czynnika jądrowego NF- κ B, zmiany w poziomie ekspresji receptorów adhezyjnych i chemokin. Druga hipoteza zakłada, że AA konkuruje z kwasami tłuszczowymi n-3, jako substrat dla cyklooksygenazy (COX-1 i COX-2) [30,45,98,108,114].

Kwasy n-3 PUFA mogą być stosowane jako «nutraceutyki» w celu modyfikacji składu kwasów tłuszczowych w błonach biologicznych. Wykazano, że kwasy tłuszczowe n-3 hamują wzrost i indukują apoptozę w różnych liniach komórek nowotworowych. Ostatnie wyniki wskazują, że n-3 PUFA działają synergistycznie z chemioterapeutykami. Ponadto kwasy te działają jako ligandy dla receptorów jądrowych (PPAR), które hamują transkrypcję genów zależnych od NF- κ B. Być może rozwój nowych metod leczenia w połączeniu z odpowiednią dietą bogatą w n-3 FA, działających w charakterze mediatorów lipidowych lub ligandów dla czynników transkrypcyjnych PPAR i NF- κ B może przyczynić się do wydłużenia czasu życia pacjentów z MM [39,60,108].

Wiązanie plazmocytów do komórek zrębu szpiku kości (BMSCs) wywołuje ekspresję cząsteczek adhezyjnych i wydzielanie interleukiny-6 (IL-6), promuje wzrost, żywotność i migrację komórek MM, a także powoduje lekooporność [59]. Stwierdzono, że ekspresja PPARy oraz jego ligandów silnie hamuje wzrost komórek MM indukowany przez IL-6. Wang i wsp. [114] wykazali, że 15-D-PGJ2 oraz troglizaton, agoniści PPARy hamują zdolność do adhezji komórek MM i BMSCs oraz hamują ekspresję i sekrecję cząsteczek adhezyjnych, w tym IL-6. Mechanizm działania agonistów PPARy polega prawdopodobnie na hamowaniu aktywności czynników transkrypcyjnych NF- κ B oraz C/EBP β [114].

Wykazano również, że wielonienasycone kwasy tłuszczowe chronią komórki przed stresem oksydacyjnym aktywując czynnik transkrypcyjny Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2) [30,41,57,86,98].

Aktywacja Nrf2 prowadzi do uruchomienia kaskady sygnałów, mających na celu zabezpieczenie komórki przed uszkodzeniem, któremu towarzyszy stres oksydacyjny. W pracy Hyeon i wsp. [57] wykazano, że obniżona ekspresja Nrf2 w komórkach BMMs wyizolowanych od myszy, indukuje stres oksydacyjny, jak również wpływa na różnicowanie się osteoklastów poprzez indukowaną przez RANKL aktywację szlaków sygnałowych kinaz białkowych (MAPKs, c-Jun N-terminal), ekspresję c-Fos i in. [57]. Z kolei Park i wsp. wykazali, że Nrf2 jest ważnym regulatorem metabolizmu kości. W modelu *in vitro* (komórki BMMs) oraz w modelu mysim (Nrf2 knock-out) autorzy potwierdzili, że Nrf2 obniża zdolność różnicowania się komórek BMMs do osteoklastów poprzez

hamowanie czynników transkrypcyjnych NF- κ B, c-Fos oraz NFATc1 [86].

WNIOSKI

W pracy omówiono czynniki związane z plazmocytami MM lub mikrośrodowiskiem nowotworu prowadzące do progresji MM i procesu niszczenia kości. Znaczący

postęp w badaniach nad biologią tej ciągle nieuleczalnej choroby i wykazanie niezwykle istotnej roli mikrośrodowiska szpiku kostnego w rozwoju i progresji MM doprowadziły do opracowania nowych celowanych form terapii skierowanych na określone białka i szlaki sygnałowe, co znacznie poprawiło perspektywy dla poprawy jakości życia i wydłużenia czasu przeżycia pacjentów z MM.

PIŚMIENICTWO

- [1] Abe M.: Targeting the interplay between myeloma cells and the bone marrow microenvironment in myeloma. *Int. J. Hematol.*, 2011; 94: 334-343
- [2] Abe M., Hiura K., Wilde J., Shioyasono A., Moriyama K., Hashimoto T., Kido S., Oshima T., Shibata H., Ozaki S., Inoue D., Matsumoto T.: Osteoclasts enhance myeloma cell growth and survival via cell-cell contact: a vicious cycle between bone destruction and myeloma expansion. *Blood*, 2004; 104: 2484-2491
- [3] Adams G.B., Scadden D.T.: The hematopoietic stem cell in its place. *Nat. Immunol.*, 2006; 7: 333-337
- [4] Ahsmann E.J., Lokhorst H.M., Dekker A.W., Bloem A.C.: Lymphocyte function-associated antigen-1 expression on plasma cells correlates with tumor growth in multiple myeloma. *Blood*, 1992; 79: 2068-2075
- [5] Ara Y., DeClerck Y.A.: Interleukin-6 in bone metastasis and cancer progression. *Eur. J. Cancer*, 2010; 46: 1223-1231
- [6] Arai F., Hirao A., Ohmura M., Sato H., Matsuoka S., Takubo K., Ito K., Koh G.Y., Suda T.: Tie2/angiopoietin-1 signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence in the bone marrow niche. *Cell*, 2004; 118: 149-161
- [7] Arden N., Betenbaugh M.J.: Life and death in mammalian cell culture: strategies for apoptosis inhibition. *Trends Biotechnol.*, 2004; 22: 174-180
- [8] Asou Y., Rittling S.R., Yoshitake H., Tsuji K., Shinomiya K., Nifuji A., Denhardt D.T., Noda M.: Osteopontin facilitates angiogenesis, accumulation of osteoclasts, and resorption in ectopic bone. *Endocrinology*, 2001; 142: 1325-1332
- [9] Bataille R., Chappard D., Marcelli C., Dessauw P., Sany J., Baldet P., Alexandre C.: Mechanisms of bone destruction in multiple myeloma: the importance of an unbalanced process in determining the severity of lytic bone disease. *J. Clin. Oncol.*, 1989; 7: 1909-1914
- [10] Bataille R., Jourdan M., Zhang X., Klein B.: Serum levels of interleukin 6, a potent myeloma cell growth factor, as a reflect of disease severity in plasma cell dyscrasias. *J. Clin. Invest.*, 1989; 84: 2008-2011
- [11] Børset M., Hjorth-Hansen H., Seidel C., Sundan A., Waage A.: Hepatocyte growth factor and its receptor c-met in multiple myeloma. *Blood*, 1996; 88: 3998-4004
- [12] Børset M., Seidel C., Hjorth-Hansen H., Waage A., Sundan A.: The role of hepatocyte growth factor and its receptor c-met in multiple myeloma and other blood malignancies. *Leuk. Lymphoma*, 1999; 32: 249-256
- [13] Brady H.J.: Apoptosis methods and protocols. London: Springer, 2004: 169-177
- [14] Bucay N., Sarosi I., Dunstan C.R., Morony S., Tarpley J., Capparelli C., Scully S., Tan H.L., Xu W., Lacey D.L., Boyle W.J., Simonet W.S.: *Osteoprotegerin*-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev.*, 1998; 12: 1260-1268
- [15] Cackowski F.C., Anderson J.L., Patrene K.D., Choksi R.J., Shapiro S.D., Windle J.J., Windle J.J., Blair H.C., Roodman G.D.: Osteoclasts are important for bone angiogenesis. *Blood*, 2009; 115: 140-149
- [16] Cancer Research UK. Myeloma incidence statistics. [www.cancerresearchuk.org/cancer-info/cancerstats/types/myeloma/incidence/\(12.12.2014](http://www.cancerresearchuk.org/cancer-info/cancerstats/types/myeloma/incidence/(12.12.2014)
- [17] Cancer Research UK. Myeloma survival statistics. www.cancerresearchuk.org/cancer-info/cancerstats/types/myeloma/survival/#1_5_10_3rr_survival (12.12.2014)
- [18] Carlesso N., Cardoso A.A.: Stem cell regulatory niches and their role in normal and malignant hematopoiesis. *Curr. Opin. Hematol.*, 2010; 17: 281-286
- [19] Catlett-Falcone R., Landowski T.H., Oshiro M.M., Turkson J., Levitzki A., Savino R., Ciliberto G., Moscinski L., Fernández-Luna J.L., Nuñez G., Dalton W.S., Jove R.: Constitutive activation of Stat3 signaling confers resistance to apoptosis in human U266 myeloma cells. *Immunity*, 1999; 10: 105-115
- [20] Chatterjee M., Honemann D., Lentzsch S., Bommert K., Sers C., Herrmann P., Mathas S., Dörken B., Bargou R.C.: In the presence of bone marrow stromal cells human multiple myeloma cells become independent of the IL-6/gp130/STAT3 pathway. *Blood*, 2002; 100: 3311-3318
- [21] Chen H., Campbell R.A., Chang Y., Li M., Wang C.S., Li J., Sanchez E., Share M., Steinberg J., Berenson A., Shalitin D., Zeng Z., Gui D., Perez-Pinera P., Berenson R.J., Said J., Bonavida B., Deuel T.F., Berenson J.R.: Pleiotrophin produced by multiple myeloma induces transdifferentiation of monocytes into vascular endothelial cells: a novel mechanism of tumor-induced vasculogenesis. *Blood*, 2009; 113: 1992-2002
- [22] Choi S.J., Cruz J.C., Craig F., Chung H., Devlin R.D., Roodman G.D., Alsina M.: Macrophage inflammatory protein 1-alpha is a potential osteoclast stimulatory factor in multiple myeloma. *Blood*, 2000; 96: 671-675
- [23] Cirri P., Chiarugi P.: Cancer-associated fibroblasts and tumor cells: a diabolic liaison driving cancer progression. *Cancer Metastasis Rev.*, 2012; 31: 195-208
- [24] Coluccia A.M.L., Cirulli T., Neri P., Mangieri D., Colanardi M.C., Gnoni A., Di Renzo N., Dammacco F., Tassone P., Ribatti D., Gambacorti-Passerini C., Vacca A.: Validation of PDGFR β and c-Src tyrosine kinases as tumor/vessel targets in patients with multiple myeloma: preclinical efficacy of the novel, orally available inhibitor dasatinib. *Blood*, 2008; 112: 1346-1356
- [25] Corre J., Mahtouk K., Attal M., Gadelorge M., Huynh A., Fleury-Cappellesso S., Danho C., Laharrague P., Klein B., Rème T., Bourin P.: Bone marrow mesenchymal stem cells are abnormal in multiple myeloma. *Leukemia*, 2007; 21: 1079-1088
- [26] Cozzolino F., Torcia M., Aldinucci D., Rubartelli A., Miliani A., Shaw A.R., Lansdorp P.M., Di Guglielmo R.: Production of interleukin-1 by bone marrow myeloma cells. *Blood*, 1989; 74: 380-387
- [27] Croucher P.I., De Hendrik R., Perry M.J., Hijzen A., Shipman C.M., Lippitt J., Green J., Van Marck E., Van Camp B., Vanderkerken K.: Zole-

dronic acid treatment of 5T2MM-bearing mice inhibits the development of myeloma bone disease: evidence for decreased osteolysis, tumor burden and angiogenesis and increased survival. *J. Bone Miner. Res.*, 2003; 18: 482-492

[28] Damiano J.S., Cress A.E., Hazlehurst L.A., Shtil A.A., Dalton W.S.: Cell adhesion mediated drug resistance (CAM-DR): role of integrins and resistance to apoptosis in human myeloma cell lines. *Blood*, 1999; 93: 1658-1667

[29] Dankbar B., Padro T., Leo R., Feldmann B., Kropff M., Mesters R.M., Serve H., Berdel W.E., Kienast J.: Vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in paracrine tumor stromal cell interactions in multiple myeloma. *Blood*, 2000; 95: 2630-2636

[30] Davidson J., Rotondo D., Rizzo M.T., Leaver H.A.: Therapeutic implications of disorders of cell death signaling membranes, micro-environment, and eicosanoid and docosanoid metabolism. *Br. J. Pharmacol.* 2012; 166: 1193-1210

[31] Davies F.E., Rollinson S.J., Rawstron A.C., Roman E., Richards S., Drayson M., Child J.A., Morgan G.J.: High-producer haplotypes of tumor necrosis factor alpha and lymphotoxin alpha are associated with an increased risk of myeloma and have an improved progression-free survival after treatment. *J. Clin. Oncol.*, 2000; 18: 2843-2851

[32] Dib I.E., Gressier M., Salle V., Mentaverri R., Brazier M., Kamel S.: Multiple myeloma cells directly stimulate bone resorption in vitro by down-regulating mature osteoclast apoptosis. *Leuk. Res.*, 2008; 32: 1279-1287

[33] Di Raimondo F., Azzaro M.P., Palumbo G.A., Bagnato S., Giustolisi G., Florida P., Sortino G., Giustolisi R.: Angiogenic factors in multiple myeloma: higher levels in bone marrow than in peripheral blood. *Haematologica*, 2000; 85: 800-805

[34] Edwards C.M., Edwards J.R., Lwin S.T., Esparza J., Oyajobi B.O., McCluskey B., Munoz S., Grubbs B., Mundy G.R.: Increasing Wnt signalling in the bone marrow microenvironment inhibits the development of myeloma bone disease and reduces tumour burden in bone *in vivo*. *Blood*, 2008; 111: 2833-2842

[35] Ehrlich L.A., Chung H.Y., Ghobrial I., Choi S.J., Morandi F., Colla S., Rizzoli V., Roodman G.D., Giuliani N.: IL-3 is a potential inhibitor of osteoblast differentiation in multiple myeloma. *Blood*, 2005; 106: 1407-1414

[36] Ferlay J., Steliarova-Foucher E., Lortet-Tieulent J., Rosso S., Coebergh J.W., Comber H., Forman D., Bray F.: Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur. J. Cancer*, 2013; 49: 1374-1403

[37] Ferlin M., Noraz N., Hertogh C., Brochier J., Taylor N., Klein B.: Insulin-like growth factor induces the survival and proliferation of myeloma cells through an interleukin-6 independent transduction pathway. *Br. J. Haematol.*, 2000; 111: 626-634

[38] Frassanito M.A., Rao L., Moschetta M., Ria R., Di Marzo L., De Luisi A., Racanelli V., Catacchio I., Berardi S., Basile A., Menu E., Ruggeri S., Nico B., Ribatti D., Fumarolo R., Dammacco F., Vanderkerken K., Vacca A.: Bone marrow fibroblasts parallel multiple myeloma progression in patients and mice: in vitro and in vivo studies. *Leukemia*, 2014; 28: 904-916

[39] Fritschi L., Ambrosini G.L., Kliewer E.V., Johnson K.C., Canadian Cancer Registries Epidemiologic Research Group: Dietary fish intake and risk of leukaemia, multiple myeloma, and non-hodgkin lymphoma. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2004; 13: 532-537

[40] Gahrton G.: New therapeutic targets in multiple myeloma. *Lancet*, 2004; 364: 1648-1649

[41] Gdula-Argasińska J., Garbaciak A., Tyszcza-Czochara M., Woźniakiewicz M., Paśko P., Czepiel J.: Identification of lipid derivatives in Hep G2 cells. *Acta Biochim. Pol.*, 2013; 60, 811-815

[42] Gilbert L., He X., Farmer P., Boden S., Kozłowski M., Rubin J., Nanes M.S.: Inhibition of osteoblast differentiation by tumor necrosis factor- α . *Endocrinology*, 2000; 141: 3956-3964

[43] Giuliani N., Colla S., Lazzaretti M., Sala R., Roti G., Mancini C., Bonomini S., Lunghi P., Hojden M., Genestreti G., Svaldi M., Coser P., Fattori P.P., Sammarelli G., Gazzola G.C. i wsp.: Proangiogenic properties of human myeloma cells: production of angiopoietin-1 and its potential relationship to myeloma-induced angiogenesis. *Blood*, 2003; 102: 638-645

[44] Giuliani N., Colla S., Morandi F., Lazzaretti M., Sala R., Bonomini S., Grano M., Colucci S., Svaldi M., Rizzoli V.: Myeloma cells block *RUNX2/CBFA1* activity in human bone marrow osteoblast progenitors and inhibit osteoblast formation and differentiation. *Blood*, 2005; 106: 2472-2483

[45] Greene E.R., Huang S., Serhan C.N., Panigrahy D.: Regulation of inflammation in cancer by eicosanoids. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.*, 2011; 96: 27-36

[46] Gupta D., Treon S.P., Shima Y., Hideshima T., Podar K., Tai Y.T., Lin B., Lentzsch S., Davies F.E., Chauhan D., Schlossman R.L., Richardson P., Ralph P., Wu L., Payvandi F., Muller G., Stirling D.I., Anderson K.C.: Adherence of multiple myeloma cells to bone marrow stromal cells upregulates vascular endothelial growth factor secretion: therapeutic applications. *Leukemia*, 2001; 15: 1950-1961

[47] Guttridge D.C., Albanese C., Reuther J.Y., Pestell R.G., Baldwin A.S.Jr.: NF- κ B controls cell growth and differentiation through transcriptional regulation of cyclin D1. *Mol. Cell. Biol.*, 1999; 19: 5785-5799

[48] Han J., Choi S.J., Kurihara N., Koide M., Oba Y., Roodman G.D.: Macrophage inflammatory protein-1 α is an osteoclastogenic factor in myeloma that is independent of receptor activator of nuclear factor κ B ligand. *Blood*, 2001; 97: 3349-3353

[49] Hazlehurst L.A., Damiano J.S., Buyuksal I., Pledger W.J., Dalton W.S.: Adhesion to fibronectin via β 1 integrin regulates p27^{kip1} levels and contributes to cell adhesion mediated drug resistance (CAM-DR). *Oncogene*, 2000; 19: 4319-4327

[50] Hazlehurst L.A., Enkemann S.A., Beam C.A., Argilagos R.F., Painter J., Shain K.H., Saporta S., Boulware D., Moscinski L., Alsina M., Dalton W.S.: Genotypic and phenotypic comparisons of de novo and acquired melphalan resistance in an isogenic multiple myeloma cell line model. *Cancer Res.*, 2003; 63: 7900-7906

[51] Hideshima T., Nakamura N., Chauhan D., Anderson H.C.: The role of tumor necrosis factor α in the pathophysiology of human multiple myeloma: therapeutic applications. *Oncogene*, 2001; 20: 4519-4527

[52] Hideshima T., Podar K., Chauhan D., Anderson K.C.: Cytokines and signal transduction. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.*, 2005; 18: 509-524

[53] Hjorth-Hansen H., Seifert M.F., Borset M., Aarset H., Ostlie A., Sundan A., Waage A.: Marked osteoblastopenia and reduced bone formation in a model of multiple myeloma bone disease in severe combined immunodeficiency mice. *J. Bone Miner. Res.*, 1999; 14: 256-263

[54] Hov H., Holt R.U., Rø T.B., Fagerli U.M., Hjorth-Hansen H., Baykov V., Christensen J.G., Waage A., Sundan A., Børset M.: A selective c-met inhibitor blocks an autocrine hepatocyte growth factor growth loop in ANBL-6 cells and prevents migration and adhesion of myeloma cells. *Clin. Cancer Res.*, 2004; 10: 6686-6694

[55] Hu L., Shi Y., Hsu J., Gera J., Van Ness B., Lichtenstein A.: Downstream effectors of oncogenic ras in multiple myeloma cells. *Blood*, 2003; 101: 3126-3135

[56] Huang S., Pettaway C.A., Uehara H., Bucana C.D., Fidler I.J.: Blockade of NF- κ B activity in human prostate cancer cells is associated with suppression of angiogenesis, invasion, and metastasis. *Oncogene*, 2001; 20: 4188-4197

[57] Hyeon S., Lee H., Yang Y., Jeong W.: Nrf2 deficiency induces oxidative stress and promotes RANKL-induced osteoclast differentiation. *Free Radic. Biol. Med.*, 2013; 65: 789-799

[58] Jiang W., Hiscox S., Matsumoto K., Nakamura T.: Hepatocyte growth factor/scatter factor, its molecular, cellular and clinical implications in cancer. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 1999; 29: 209-248

- [59] Jurczyszyn A., Czepiel J., Biesiada G., Gdula-Argasińska J., Cibor D., Owczarek D., Perucki W., Skotnicki A.B.: HGF, sIL-6R and TGF- β 1 play a significant role in the progression of multiple myeloma. *J. Cancer*, 2014; 5: 518-524
- [60] Jurczyszyn A., Czepiel J., Gdula-Argasińska J., Czapkiewicz A., Biesiada G., Drózd M., Perucki W., Castillo J.J.: Erythrocyte membrane fatty acids in multiple myeloma patients. *Leuk. Res.*, 2014; 38: 1260-1265
- [61] Jurczyszyn A., Czepiel J., Gdula-Argasińska J., Pasko P., Czapkiewicz A., Librowski T., Perucki W., Butrym A., Castillo J.J., Skotnicki A.B.: Plasma fatty acids profile in multiple myeloma patients. *Leuk. Res.*, 2014, 39: 400-405
- [62] Jurczyszyn A., Wolska Smoleń T., Skotnicki A.B.: Mechanizmy patogenetyczne warunkujące nowe sposoby terapii szpiczaka mnogiego. Znaczenie cytokin. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2005, 14: 137-143
- [63] Jurczyszyn A., Wolska-Smoleń T., Skotnicki A.B.: Czynniki wzrostu hepatocytów: od diagnostyki do zastosowań klinicznych. *Przeegl. Lek.*, 2003; 60: 425-434
- [64] Jurczyszyn A., Zebzda A., Czepiel J., Perucki W., Bazan-Socha S., Cibor D., Owczarek D., Majka M.: Geldanamycin and its derivatives inhibit the growth of myeloma cells and reduce the expression of the MET receptor. *J. Cancer*, 2014; 5: 480-490
- [65] Kaiser M., Mieth M., Liebis P., Oberländer R., Rademacher J., Jakob C., Kleeberg L., Fleissner C., Braendle E., Peters M., Stover D., Sezer O., Heider U.: Serum concentrations of DKK-1 correlate with the extent of bone disease in patients with multiple myeloma. *Eur. J. Haematol.*, 2008; 80: 490-494
- [66] Karin M., Lin A.: NF- κ B at the crossroads of life and death. *Nat. Immunol.*, 2002; 3: 221-227
- [67] Klein B., Zhang X.G., Jourdan M., Content J., Houssiau F., Aarden L., Piechaczyk M., Bataille R.: Paracrine rather than autocrine regulation of myeloma-cell growth and differentiation by interleukin-6. *Blood*, 1989; 73: 517-526
- [68] Kong Y.Y., Yoshida H., Sarosi I., Tan H.L., Timms E., Capparelli C., Morony S., Oliveira-dos-Santos A.J., Van G., Itie A., Khoo W., Wakeham A., Dunstan C.R., Lacey D.L., Mak T.W., Boyle W.J., Penninger J.M.: OPG is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature*, 1999; 397: 315-323
- [69] Koop H.G., Avezilla S.T., Hooper A.T., Rafii S.: The bone marrow vascular niche: home of HSC differentiation and mobilization. *Physiology*, 2005; 20: 349-356
- [70] Krishnan V., Bryant H.U., MacDougald O.A.: Regulation of bone mass by Wnt signaling. *J. Clin. Invest.*, 2006; 116: 1202-1209
- [71] Lee J.W., Chung H.Y., Ehrlich L.A., Jelinek D.F., Callander N.S., Roodman G.D., Choi S.J.: IL-3 expression by myeloma cells increases both osteoclast formation and growth of myeloma cells. *Blood*, 2004; 103: 2308-2315
- [72] Lentzsch S., Gries M., Janz M., Bargou R., Dorken B., Mapara M.Y.: Macrophage inflammatory protein 1-alpha (MIP-1 α) triggers migration and signaling cascades mediating survival and proliferation in multiple myeloma (MM) cells. *Blood*, 2003; 101: 3568-3573
- [73] Lesko E., Majka M.: The biological role of HGF-MET axis in tumor growth and development of metastasis. *Front. Biosci.*, 2008; 13: 1271-1280
- [74] Liang J., Slingerland J.M.: Multiple roles of P13K/PKB (AKT) pathway in cell cycle progression. *Cell Cycle*, 2003; 2: 339-345
- [75] Lichtenstein A., Berenson J., Norman D., Chang M.P., Carlile A.: Production of cytokines by bone marrow cells obtained from patients with multiple myeloma. *Blood*, 1989; 74: 1266-1273
- [76] Miao Z., Jin J., Chen L., Zhu J., Huang W., Zhao J., Qian H., Zhang X.: Isolation of mesenchymal stem cells from human placenta: comparison with human bone marrow mesenchymal stem cells. *Cell Biol. Int.*, 2006; 30: 681-687
- [77] Michigami T., Shimizu N., Williams P.J., Niewolna M., Dallas S.L., Mundy G.R., Yoneda T.: Cell-cell contact between marrow stromal cells and myeloma cells via VCAM-1 and α β 1-integrin enhances production of osteoclast-stimulating activity. *Blood*, 2000; 96: 1953-1960
- [78] Mitsiades C.S., Mitsiades N.S., Munshi N.C., Richardson P.G., Anderson K.C.: The role of the bone microenvironment in the pathophysiology and therapeutic management of multiple myeloma: interplay of growth factors, their receptors and stromal interactions. *Eur. J. Cancer*, 2006; 42: 1564-1573
- [79] Mizuno A., Amizuka N., Irie K., Murakami A., Fujise N., Kanno T., Sato Y., Nakagawa N., Yasuda H., Mochizuki S., Gomibuchi T., Yano K., Shima N., Washida N., Tsuda E., Morinaga T., Higashio K., Ozawa H.: Severe osteoporosis in mice lacking osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1998; 247: 610-615
- [80] Nakamizo A., Marini F., Amano T., Khan A., Studeny M., Gumin J., Chen J., Hentschel S., Vecil G., Dembinski J., Andreeff M., Lang F.F.: Human bone marrow derived mesenchymal stem cells in the treatment of gliomas. *Cancer Res.*, 2005; 65: 3307-3318
- [81] Naveiras O., Nardi V., Wenzel P.L., Hauschka P.V., Fahey F., Daley G.Q.: Bone-marrow adipocytes as negative regulators of the haematopoietic microenvironment. *Nature*, 2009; 460: 259-263
- [82] Ni H., Ergin M., Huang Q., Qin J.Z., Amin H.M., Martinez R.L., Saeed S., Barton K., Alkan S.: Analysis of expression of nuclear factor κ B (NF- κ B) in multiple myeloma: down-regulation of NF- κ B induces apoptosis. *Br. J. Haematol.*, 2001; 115: 279-286
- [83] Nico B., Mangieri D., Crivellato E., Vacca A., Ribatti D.: Mast cells contribute to vasculogenic mimicry in multiple myeloma. *Stem Cells Dev.*, 2008; 17: 19-22
- [84] Ogata A., Chauhan D., Teoh G., Treon S.P., Urashima M., Schlossman R.L., Anderson K.C.: IL-6 triggers cell growth via the ras-dependent mitogen-activated protein kinase cascade. *J. Immunol.*, 1997; 159: 2212-2221
- [85] Osaki M., Oshimura M., Ito H.: PI3K-Akt pathway: its functions and alterations in human cancer. *Apoptosis*, 2004; 9: 667-676
- [86] Park C.K., Lee Y., Kim K.H., Lee Z.H., Joo M., Kim H.H.: Nrf2 is a novel regulator of bone acquisition. *Bone*, 2014; 63: 36-46
- [87] Peichev M., Naiyer A.J., Pereira D., Zhu Z., Lane W.J., Williams M., Oz M.C., Hicklin D.J., Witte L., Moore M.A., Rafii S.: Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34⁺ cells identifies a population of functional endothelial precursors. *Blood*, 2000; 95: 952-958
- [88] Pellegrino A., Ria R., Di Pietro G., Cirulli T., Surico G., Pennisi A., Morabito F., Ribatti D., Vacca A.: Bone marrow endothelial cells in multiple myeloma secrete CXC-chemokines that mediate interactions with plasma cells. *Br. J. Haematol.*, 2005; 129: 248-256
- [89] Rashid A., Pizer E.S., Moga M., Milgraum L.Z., Zahurak M., Pasternack G.R., Kuhajda F.P., Hamilton S.R.: Elevated expression of fatty acid synthase and fatty acid synthetic activity in colorectal neoplasia. *Am. J. Pathol.*, 1997; 150: 201-208
- [90] Reagan M.R., Ghobrial I.M.: Multiple myeloma mesenchymal stem cells: characterization, origin and tumor promoting effects. *Clin. Cancer Res.*, 2012; 18: 342-349
- [91] Ria R., Piccoli C., Cirulli T., Falzetti F., Mangialardi G., Guidolin D., Tabilio A., Di Renzo N., Guarini A., Ribatti D., Dammacco F., Vacca A.: Endothelial differentiation of hematopoietic stem and progenitor cells from patients with multiple myeloma. *Clin. Cancer Res.*, 2008; 14: 1678-1685
- [92] Ria R., Roccaro A.M., Merchionne F., Vacca A., Dammacco F., Ribatti D.: Vascular endothelial growth factor and its receptors in multiple myeloma. *Leukemia*, 2003; 17: 1961-1966
- [93] Ria R., Todoerti K., Berardi S., Coluccia A.M.L., De Luisi A., Mattioli M., Ronchetti D., Morabito F., Guarini A., Petrucci M.T., Dammacco F., Ribatti D., Neri A., Vacca A.: Gene expression profiling of

- bone marrow endothelial cells in patients with multiple myeloma. *Clin. Cancer Res.*, 2009; 15: 5369-5378
- [94] Ribatti D.: Bone marrow vascular niche and the control of tumor growth in hematological malignancies. *Leukemia*, 2010; 24: 1247-1248
- [95] Ribatti D., Vacca A., Nico B., Quondamatteo F., Ria R., Minischetti M., Marzullo A., Herken R., Roncali L., Dammacco F.: Bone marrow angiogenesis and mast cell density increase simultaneously with progression of human multiple myeloma. *Br. J. Cancer*, 1999; 79: 451-455
- [96] Scavelli C., Nico B., Cirulli T., Ria R., Di Pietro G., Mangieri D., Bacigalupo A., Mangialardi G., Coluccia A.M., Caravita T., Molica S., Ribatti D., Dammacco F., Vacca A.: Vasculogenic mimicry by bone marrow macrophages in patients with multiple myeloma. *Oncogene*, 2008; 27: 663-674
- [97] Scheller J., Rose-John S.: Interleukin-6 and its receptor: from bench to bedside. *Med. Microbiol. Immunol.*, 2006; 195: 173-183
- [98] Serhan S.N., Petasis N.A.: Resolvins and protectins in inflammation resolution. *Chemical Rev.*, 2011; 111: 5922-5943
- [99] Silvestris F., Cafforio P., Tucci M., Grinello D., Dammacco F.: Upregulation of osteoblasts apoptosis by malignant plasma cells: a role in myeloma bone disease. *Br. J. Haematol.*, 2003; 122: 39-52
- [100] Simonet W.S., Lacey D.L., Dunstan C.R., Kelley M., Chang M.S., Lüthy R., Nguyen H.Q., Wooden S., Bennett L., Boone T., Shimamoto G., DeRose M., Elliott R., Colombero A., Tan H.L. i wsp.: Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*, 1997; 89: 309-319
- [101] Singhal S., Mehta J.: Multiple myeloma. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, 2006; 1: 1322-1330
- [102] Standal T., Seidel C., Hjertner O., Plesner T., Sanderson R.D., Waage A., Borset M., Sundan A.: Osteoprotegerin is bound, internalized, and degraded by multiple myeloma cells. *Blood*, 2002; 100: 3002-3007
- [103] Tanaka Y., Abe M., Hiasa M., Oda A., Amou H., Nakano A., Takeuchi K., Kitazoe K., Kido S., Inoue D., Moriyama K., Hashimoto T., Ozaki S., Matsumoto T.: Myeloma cell-osteoclasts interaction enhances angiogenesis together with bone resorption: a role for vascular endothelial cell growth factor and osteopontin. *Clin. Cancer Res.*, 2007; 13: 816-823
- [104] Tatsumi T., Shimazaki C., Goto H., Araki S., Sudo Y., Yamagata N., Ashihara E., Inaba T., Fujita N., Nakagawa M.: Expression of adhesion molecules on myeloma cells. *Jpn. J. Cancer Res.*, 1996; 87: 837-842
- [105] Terpos E., Dimopoulos M.A.: Myeloma bone disease: pathophysiology and management. *Ann. Oncol.*, 2005; 16: 1223-1231
- [106] Terpos E., Politou M., Szydło R., Goldman J.M., Apperley J.F., Rahemtulla A.: Serum levels of macrophage inflammatory protein-1 alpha (MIP-1 α) correlate with the extent of bone disease and survival in patients with multiple myeloma. *Br. J. Haematol.*, 2003; 123: 106-109
- [107] Terpos E., Szydło R., Apperley J.F., Hatjiharissi E., Politou M., Meletis J., Viniou N., Yataganas X., Goldman J.M., Rahemtulla A.: Soluble receptor activator of nuclear factor κ B ligand-osteoprotegerin ratio predicts survival in multiple myeloma: proposal for a novel prognostic index. *Blood*, 2003; 102: 1064-1069
- [108] Terry P.D., Rohan T.E., Wolk A.: Intakes of fish and marine fatty acids and the risks of cancers of the breast and prostate and of other hormone-related cancers: a review of the epidemiological evidence. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2003; 77: 532-543
- [109] Tian E., Zhan F., Walker R., Rasmussen E., Ma Y., Barlogie B., Shaughnessy J.D. Jr.: The role of the Wnt-signaling antagonist Dkk1 in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma. *N. Engl. J. Med.*, 2003; 349: 2483-2494
- [110] Vacca A., Ria R., Semeraro F., Merchionne F., Coluccia M., Boccarelli A., Scavelli C., Nico B., Gernone A., Battelli F., Tabilio A., Guidolin D., Petrucci M.T., Ribatti D., Dammacco F.: Endothelial cells in the bone marrow of patients with multiple myeloma. *Blood*, 2003; 102: 3340-3348
- [111] Vacca A., Ribatti D., Presta M., Minischetti M., Iurlaro M., Ria R., Albini A., Bussolino F., Dammacco F.: Bone marrow neovascularization, plasma cell angiogenic potential, and matrix metalloproteinase-2 secretion parallel progression of human multiple myeloma. *Blood*, 1999; 93: 3064-3073
- [112] van Camp B., Durie B.G., Spier C., De Waele M., Van Riet I., Vela E., Frutiger Y., Richter L., Grogan T.M.: Plasma cells in multiple myeloma express a natural killer cell-associated antigen: CD56 (NKH-1;Leu-19). *Blood*, 1990; 76: 377-382
- [113] Wallace S.R., Oken M.M., Lunetta K.L., Panoskaltis-Mortari A., Maselli A.M.: Abnormalities of bone marrow mesenchymal cells in multiple myeloma patients. *Cancer*, 2001; 91: 1219-1230
- [114] Wang L.H., Yang X.Y., Zhang X., Farrar W.L.: Inhibition of adhesive interaction between multiple myeloma and bone marrow stromal cells by PPAR γ cross talk with NF- κ B and C/EBP β . *Blood*, 2007; 110: 4373-4384
- [115] Wendel M., Heller A.R.: Anticancer actions of omega-3 fatty acids – current state and future perspectives. *Anticancer Agents Med. Chem.*, 2009; 9: 457-470
- [116] Yang H.H., Ma M.H., Vescio R.A., Berenson J.R.: Overcoming drug resistance in multiple myeloma: the emergence of therapeutic approaches to induce apoptosis. *J. Clin. Oncol.*, 2003; 21: 4239-4247
- [117] Yin A.H., Miraglia S., Zanjani E.D., Almeida-Porada G., Ogawa M., Leary A.G., Olweus J., Kearney J., Buck D.W.: AC133, a novel marker for human hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood*, 1997; 90: 5002-5012
- [118] Yin T., Li L.: The stem cell niches in bone. *J. Clin. Invest.* 2006; 116: 1195-1201
- [119] Zhang H., Vakil V., Braunstein M., Smith E.L., Maroney J., Chen L., Dai K., Berenson J.R., Hussain M.M., Klueppelberg U., Norin A.J., Akman H.O., Ozçelik T., Batuman O.A.: Circulating endothelial progenitor cells in multiple myeloma: implications and significance. *Blood*, 2005; 105: 3286-3294

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.