

**Lek. Barbara Bikowska-Opalach**

**Analiza ekspresji  $\beta$ -kateniny i LLT1 w szpiczaku plazmocytowym**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu  
w dyscyplinie nauki medyczne

**Promotor: Prof. dr hab. n med. Bogna Ziarkiewicz-Wróblewska**

**Katedra i Zakład Patomorfologii**

**Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego**



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2020

*Bikowska-Opalach*  
*Bogna Ziarkiewicz*

## Streszczenie

### Wstęp

Szpiczak plazmocytowy (ang. *plasma cell myeloma*) stanowi około 1% ogółu nowotworów złośliwych na świecie. Istotą choroby jest wieloogniskowy rozrost klonalnych komórek plazmatycznych w szpiku kostnym, prowadzący do rozwoju szeregu objawów między innymi niedokrwistości, bólu kostnego oraz niewydolności nerek.

Mimo ogromnego postępu, jaki został poczyniony na przestrzeni ostatnich lat w zrozumieniu mechanizmów choroby i wprowadzeniu schematów postępowania, w codziennej praktyce wciąż spotyka się wątpliwości diagnostyczne i prognostyczne. Poszukiwanie nowych markerów pomocnych w różnicowaniu plazmocytów prawidłowych od nowotworowych oraz nowych czynników rokowniczych jest więc zagadnieniem aktualnym.

Na podstawie przeglądu literaturowego, wytypowano dwa białka, możliwe do oznaczenia w rutynowej praktyce, będące atrakcyjnymi kandydatami na nowe czynniki diagnostyczne i prognostyczne w szpiczaku plazmocytowym:  $\beta$ -kateninę i lektyno-podobny transkrypt 1 (ang. *lectin-like transcrip 1*, LLT1).

### Cel pracy

Celem pracy było określenie ekspresji  $\beta$ -kateniny i LLT1 metodą immunohistochemiczną w plazmocytach prawidłowych i nowotworowych oraz zbadanie czy ocena ekspresji obu białek w trepanobiopsjach szpiku kostnego może być pomocna w diagnostyce szpiczaka plazmocytoowego oraz prognozowaniu przebiegu choroby.

### Material i metody

Oceniono w sposób retrospektywny 93 trepanobiopsje szpiku kostnego pobrane od 80 chorych ze szpiczakiem plazmocytowym. Trzy grupy kontrolne stanowiło: 28 prawidłowych trepanobiopsji bez nacieku szpiczaka, 5 biopsji pozaszpikowych, zawierających nacieki nowotworowych plazmocytów i 6 biopsji tkanek bogatych w nienowotworowe plazmocyty.

Biopsje poddawano standardowemu postępowaniu histopatologicznemu, a następnie oceniano obraz morfologiczny szpiku w barwieniu podstawowym HE oraz ekspresję wybranych markerów immunohistochemicznych: CD138, CD56, cykliny D1, kappa, lambda oraz LLT1 i  $\beta$ -kateniny, zarówno jakościowo, jak i metodą półilościową, przy użyciu zmodyfikowanej skali IRS (ang. *Immuno-Reactive Score*) wg Remmele.

W grupie badanej przeprowadzono retrospektywną analizę danych klinicznych z uwzględnieniem szeregu parametrów dotyczących przebiegu choroby oraz stwierdzanych nieprawidłowości w badaniach dodatkowych.

W następnym etapie zbadano związek wybranych parametrów kliniczno-morfologicznych z ekspresją  $\beta$ -kateniny i LLT1.

Wyniki badań opracowano statystycznie za pomocą programu Statistica 13.3, używając testów statystycznych odpowiednich dla rodzaju danych źródłowych oraz celu analizy. Dla wszystkich zastosowanych testów przyjęto poziom istotności statystycznej wynoszący 0,05.

### **Wyniki**

Immunohistochemicznie stwierdzono zróżnicowaną ekspresję  $\beta$ -kateniny i LLT1 w plazmocytach prawidłowych i nowotworowych. Ekspresja  $\beta$ -kateniny miała unikalną formę i prezentowała się jako agregaty cytoplazmatyczne położone w bezpośrednim sąsiedztwie jądra komórkowego. LLT1 wykazywało rozlaną ekspresję cytoplazmatyczną, w części przypadków dodatkowo obserwowano agregaty.

U 13 chorych zbadano dwie, różnoczasowo pobrane trepanobiopsje; stwierdzono, że ekspresja obu białek zmieniała się w czasie, choć zmiany te nie osiągnęły istotności statystycznej.

Nowotworowe plazmocyty tworzące nacieki pozaszpikowe charakteryzowały się tendencją do niższej ekspresji  $\beta$ -kateniny niż plazmocyty zlokalizowane w szpiku kostnym. Ekspresja LLT1 była porównywalna w biopsjach szpiku kostnego i naciekach pozaszpikowych.

Stwierdzono niewielkie różnice w ekspresji badanych białek pomiędzy plazmocydami prawidłowymi i nowotworowymi. W przypadku  $\beta$ -kateniny, poszczególne plazmocyty odczynowe znacznie bardziej niż plazmocyty monoklonalne różniły się między sobą intensywnością odczynu. W przypadku LLT1, plazmocyty odczynowe częściej niż nowotworowe zawierały agregaty cytoplazmatyczne. Różne rodzaje komórek szpiku kostnego również wykazywały ekspresję badanych białek – w przypadku LLT1 były to komórki linii granulocytarnej, w przypadku  $\beta$ -kateniny – megakariocyty i niedojrzałe komórki linii mieloidalnej.

W przypadkach z niską ekspresją  $\beta$ -kateniny stwierdzono gorszą odpowiedź na leczenie oraz zaobserwowano trend do krótszego przeżycia wolnego od progresji i przeżycia całkowitego. Niższą ekspresję  $\beta$ -kateniny stwierdzono też u chorych z plazmoblastyczną morfologią komórek nowotworowych i utratą ekspresji CD56.

Wyższa ekspresja LLT1 korelowała z wyższym stężeniem kreatyniny w surowicy oraz niższą liczbą erytrocytów w morfologii krwi. W przypadkach ze średnią i wysoką ekspresją LLT1 zaobserwowano trend do krótszego przeżycia całkowitego. Wyższą ekspresję LLT1 stwierdzono też u chorych z niedojrzałą i plazmoblastyczną morfologią komórek nowotworowych oraz tych, u których zastosowano już co najmniej 2 linie leczenia.

### **Wnioski**

1. Stwierdzono zróżnicowaną ekspresję  $\beta$ -kateniny i LLT1 w plazmocytach nowotworowych i odczynowych, zarówno w szpiku kostnym jak i naciekach pozaszpikowych oraz w obrębie części prawidłowego utkania krwiotwórczego.
2. Nie stwierdzono przydatności oceny ekspresji  $\beta$ -kateniny i LLT1 w różnicowaniu zmian odczynowych i nowotworowych w naciekach plazmocytnych w szpiku kostnym ani w lokalizacjach pozaszpikowych.
3. Ocena ekspresji badanych białek wykazuje potencjał rokowniczy: niska ekspresja  $\beta$ -kateniny oraz wysoka ekspresja LLT1 wydają się być niekorzystnymi czynnikami prognostycznymi w szpiczaku plazmocytowym.