

ZÁPALOVÉ A PROTIZÁPALOVÉ CYTOKÍNY PRI ZHUBNÝCH HEMATOLOGICKÝCH OCHORENIACH

PROINFLAMMATORY AND ANTIINFLAMMATORY CYTOKINES IN MALIGNANT HAEMATOLOGIC DISEASES

SAKALOVÁ A.¹, ŠKULTÉTYOVÁ D.³, BUCOVÁ M.⁴, HOLOMÁŇOVÁ D.¹, ŠKULTÉTY J.², LIPŠIC T.¹, POKORNÁ G.¹, MISTRÍK M.¹, ŠTERUŠKÁ M.¹, BOJTÁROVÁ E.¹, DESSER L.⁵, DEDÍK L.⁶

¹ KLINIKA HEMATOLÓGIE A TRANSFUZIOLÓGIE FN, SZU a LFUK BRATISLAVA

² I. CHIRURGICKÁ KLINIKA FN BRATISLAVA

³ SLOVENSKÝ ÚSTAV SRDCOVÝCH A CIEVNYCH CHORÔB BRATISLAVA

⁴ ÚSTAV IMUNOLÓGIE LFUK BRATISLAVA

⁵ INŠTITÚT EXPERIMENTÁLNEJ ONKOLOGIE VIEDENĚ

⁶ SLOVENSKÁ TECHNICKÁ UNIVERZITA BRATISLAVA

Súhrn: *Východisko:* Cytokíny majú dôležitú úlohu v regulácii tvorby a funkcie buniek imunitného systému ale aj ostatných buniek nášho tela. Významnou mierou sa podieľajú na zabezpečení rovnováhy vnútorného prostredia. Ukazuje sa, že hladina cytokínov sa za rôznych patologických okolností mení. *Typ štúdie a súbor:* Cieľom našej práce bolo zistiť vzťah medzi hodnotami koncentrácie nami stanovovaných cytokínov a ďalších ukazovateľov aktivity choroby, odpoveďou na liečbu a rizikom rozvoja komplikácií. Vyšetřili sme 265 pacientov s diagnózou mnohopočetný myelóm (MM), 81 pacientov s pravou polycytémiou (PV), 23 s primárnou osteomyelofibrózou a 45 pacientov s leukémiou (AML, ALL, CML). *Metódy a výsledky:* V sérach pacientov sme stanovovali koncentráciu cytokínov: TNF, solubilných TNF receptorov p55 a p75, IL-6, TgF- β_1 a porovnávali s hladinou CRP a β_2 -mikroglobulínu (β_2m). Pacienti s MM mali v II. a III. štádiu choroby významne zvýšené hladiny TNF, receptorov p55, p75 a β_2m . Medzi koncentraciami TNF a β_2m v sérach pacientov a štádiom pokročilosti procesu sa pozorovala lineárna závislosť. Po liečbe a dosiahnutí remisie hladiny uvedených cytokínov významne poklesli v III. štádiu. Signifikantný vzostup hladín CRP, IL-6 a TgF- β_1 koreloval síce s aktivitou choroby ale nezistili sme súvislosť týchto parametrov so štádiom procesu. Vysoká hladina CRP (> 10,000 ng/ml) odrážala oseálne, kardiogénne, renálne a infekčné komplikácie. Pacienti s PV a OMF mali pred liečbou zvýšené hladiny TNF, TgF- β_1 , IL-6, CRP a β_2m avšak po liečbe v remisii nastal signifikantný pokles uvedených hodnôt. Vzostup vyšetrovaných parametrov u pacientov s leukémiou v potransplantačnom období môže upozorniť na prebiehajúcu GvH reakciu alebo infekciu. *Závery:* Monitorovanie zápalových a protizápalových cytokínov môže prispieť pre prognostické a terapeutické kontrolovanie hematologických malignít.

Kľúčové slová: Faktor nekrotizujúci nádory (TNF), IL-6, faktor transformujúci rast buniek (TgF- β_1), TNF receptory, hematologické malignity

Summary: *Backgrounds:* Cytokines play an important role in regulation of production and the functions of immune systems and other cells as well. They also regulate the immune system balance. In pathological conditions the cytokine levels change. *Design and subjects:* The aim of our study was to investigate the relations among cytokine concentrations and other disease activity markers in several malignant hematological diseases. The cytokine levels were studied during treatment response and exploited for risk assessment of disease complications. Patients: 265 multiple myelomas (MM), 81 polycythemia vera (PV), 23 primary osteomyelofibrosis (OMF) and 45 leukemias (AML, ALL, CML). *Methods and results:* The following cytokine concentrations were followed in patients sera: TNF, soluble TNF receptors, p55 and p75, IL-6 and TgF- β_1 and compared also with CRP and β_2 -microglobulin (β_2m) levels. In MM patients stage II and III significant increase of TNF, TNF soluble receptors and β_2m was observed. A linear correlation between TNF receptors, β_2m concentrations and the tumorous mass was observed as well. After treatment and remission achievement cytokine levels in stage III significantly decreased. A significant increase of IL-6, CRP and TgF- β_1 also correlated with disease activity. No correlations of these parameters with the tumorous mass were found. An increased CRP level (above 10 000 ng/ml) reflected osseous, cardiogenic, renal or infectious complications. Untreated PV and OMF patients manifested increased TgF- β_1 , IL-6 and CRP levels, which in remission significantly dropped. Increase of these parameters in posttransplant period leukemia patients reflected GvH (graft versus host) reaction or infection. *Conclusions:* Monitoring of proinflammatory and antiinflammatory cytokines can be helpful for prognostic and therapeutic controls of malignant haematologic diseases.

Key words: Tumor necrosis factor (TNF), IL-6, Transforming growth factor (TgF- β_1), TNF receptors, hematologic malignancies

Úvod

Tvorba a vyzrievanie hematopoetických buniek je zložitý proces, ktorý vyžaduje vzájomnú interakciu stromových, endotelových a mezenchymových buniek. Do interakcií sa zapája veľké množstvo cytokínov a adhezívnych molekúl. Kostná dreň predstavuje „mikroprostredie“ pre normálnu hematopézu, v ktorom nezrelé bunky dozrievajú adhérenciou na kostné trávce (3,20).

Cytokíny sú proteíny alebo glykoproteíny s nízkou molekulovou hmotnosťou, ktoré svoju biologickú aktivitu uplatňujú prostredníctvom väzby na špecifický receptor (ligand). Afinita väzby medzi cytokínmi a ich receptormi je veľmi vysoká, vďaka čomu už nanogramové množstvá cytokínov postačujú na navodenie biologického efektu (2). Cytokíny sú produkované nielen bunkami imunitného systému ale aj bunkami iných tkanív a orgánov. Napríklad interleukín-6 (IL-6) môžu produkovať takmer

všetky bunky nášho organizmu. Právom sa tak považuje za určitú SOS molekulu – poplachový cytokín, na ktorý musí organizmus v prípade nutnosti reagovať (13). Ďalšou dôležitou vlastnosťou cytokínov je ich pleiotropné pôsobenie, čo znamená, že jeden cytokín ovplyvňuje aktivitu viacerých typov buniek, pričom v rôznych typoch buniek vyvolá odlišnú reakciu, čo súvisí s funkčnou špecializáciou buniek (1). Takýmto spôsobom napr. IL-6 navodí v pečeni tvorbu proteínov akútnej fázy (APP), najmä C-reaktívneho proteínu (CRP), kým v makrofágoch a v lymfocytoch po ich aktivácii vedie k tvorbe celej palety cytokínov. Vylúčené cytokíny sa vo svojej aktivite vzájomne ovplyvňujú a to buď synergicky, inhibične alebo antagonisticky, z čoho vyplýva, že aktuálny účinok cytokínov je daný celým komplexom súčasne vylúčených a vzájomne sa kontaktujúcich molekúl tvoriacich tzv. „cytokínovú sieť“ – akýsi dorozumievací jazyk medzi bunkami (2). Ďalšou mimoriadne dôležitou vlastnosťou cytokínov je rozdiel medzi ich lokálnym a celkovým pôsobením. Kým pri lokálnom pôsobení sa prejavuje predovšetkým ich pozitívny protizápalový efekt, pri celkovom pôsobení v miernom zvýšených koncentráciách cytokínov alebo ich dlhotrvajúcej produkcii môžu viesť k rozvoju rôznych patologických stavov (zápal, šok, trombóza) (5).

Tvorba a aktivita cytokínov je starostlivo kontrolovaná jednak samotnými cytokínmi navzájom (prozápalové – protizápalové, imunosupresívne), prostredníctvom cytokínových antagonistov, prostredníctvom ich solubilných receptorov (TNF – TNF receptory) ako aj prostredníctvom proteínov akútnej zápalovej fázy, ktorých tvorba je vlastne prejavom snahy organizmu zvládnuť patologický proces na systémovej úrovni (1,2,5,6,7).

Sledovanie cytokínov a proteínov akútnej fázy sme práve z týchto dôvodov vybrali pre výskum prognostických faktorov pri maliných hematologických procesoch.

Metódy

V sérach pacientov s hematologickými malignitami sme vyšetrovali koncentráciu TNF (faktor nekrotizujúci nádory) a jeho solubilných receptorov (p55, p75), IL-6, (interleukín-6), CRP (C reaktívny proteín) a TGF-β₁ (faktor transformujúci rast). Séra pacientov odobraté v rôznych štádiách ochorenia boli uchovávané pri teplote –20 stC. Cytokíny, ich receptory ako aj hladinu CRP sme vyšetrovali imunochemicky metódami immunoassay (pre TNF, IL-6, TGF-β₁ súpravy Biomedica, Rakúsko, Quantikine, USA) Pre dôkaz p55, p75 a β₂m sme použili ELISA testy (Immunotech, Francija).

Pacientom sme odobrali krv jednak pred liečbou a v intervaloch dvoch až troch mesiacov po liečbe. V prípade transplantovaných pacientov sa krv odoberala v dobe remisie – pred a po transplantácii krvotvorných buniek (TKB) v intervaloch 1-6 mesiacov. Hladiny cytokínov sa porovnávali s koncentráciou CRP a β₂m.

Pacienti

Pre výskum boli vybrané nasledovné skupiny: 265 chorých s diagnózou mnohopočetný myelóm (MM), 81 pacientov s pra-

vou polycytémiou (PV), 23 pacientov s primárnou osteomyelofibrózou (OMF) a 45 pacientov s leukémiami – akútna myeloblastová leukémia (AML), akútna lymfoblastová leukémia (ALL) a chronická myelocytová leukémia (CML). Kontrolnú skupinu tvorilo 47 zdravých dobrovoľníkov.

V skupine pacientov s MM bolo 30 chorých v I. štádiu choroby, 145 v II. štádiu a 90 chorých v III. štádiu pokročilosti (Durie, Salmon) (tab.1). Skupina 99 pacientov s MM dostávala chemoterapiu MOCCA v dvoj až trojmesačných prestávkach (metylprednizolón, vinkristín, cyklofosfamid, CCNU a alkeran (CH) až po dosiahnutí remisie. Druhá skupina 166 pacientov s MM dostávala okrem chemoterapie imunomodulačne pôsobiace proteolytické enzýmy – zmes trypsinu, chymotrypsínu a papaínu (Wobe Mugas, MUCOS Pharma, SRN). Pacienti s PV boli liečení buď hydroxyureou (Litalir) alebo kombináciou hydroxyurey a uvedeného enzýmového preparátu. Pacienti s leukémiou (CML – 21 pacientov, AML – 13 pacientov, ALL – 11 pacientov) boli liečení podľa štandard-

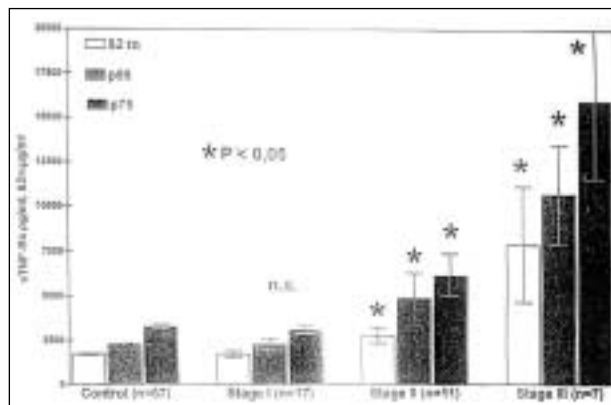
Tab. 1. Charakteristika a liečba 265 chorých liečených na pracovisku pre mnohopočetný myelóm.

	Chemoterapia* n (%)	Chemoterapia + proteolytické enzýmy** n (%)
Počet pacientov	99 (37,4)	166 (62,6)
vek (roky) priemerne (SD)	66,1	62,4
Štádium (Durie, Salmon)		
I.	11 (11,1)	19 (11,4)
II.	52 (52,5)	93 (56,1)
III.	36 (36,4)	54 (32,5)

* Chemoterapia – (MOCCA, VBMCP – kombinácia metylprednizolónu (M), vinkristínu (O), cyklofosfamidu (C), nitrosurea (C,B), melfalan (A, M)

** CH+WM – tá istá chemoterapia v kombinácii s proteolytickými enzýmami (Wobe Mugas = papaín, trypsin, chymotrypsín) (Germany)

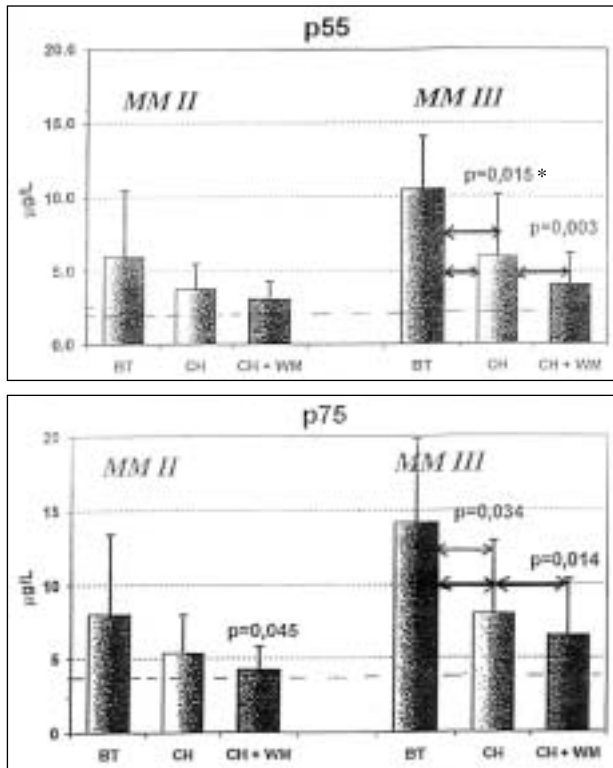
Obr. 1: Porovnávanie aktivít solubilných receptorov TNF p55 a p75 s β₂-mikroglobulínom.



Tab. 2. Hladiny vyšetovaných ukazovateľov v sérach s mnohopočetným myelómom.

Vyšetované ukazovatele	Ref. hodnoty	Štádium I. bez liečby		Štádium II.			Štádium III.			
		pred liečbou	< p	po liečbe	< p	pred liečbou	< p	po liečbe	< p	
TNF (pg/ml)	12±21	59±89	66,1±6	0,05	11,2±5,5	0,05	55,3±5,2	0,05	5,6±1,0	0,05
p 55 (pg/ml)	2,242±800	2,293±317	4,931±1,487	0,01	3,833±3,430	n.s.	10,780±2,761	0,01	4,716±8,140	0,015
p 75 (pg/ml)	3,288±1,220	3,127±218	6,272±1,217	n.s.	5,161±3,890	0,045	14,970±4,372	0,01	6,052±1,151	0,034
IL-6 (pg/ml)	15,0±3,5	15,9±2,1	23,0±1,4	n.s.	16,1±4,0	n.s.	18,9±1,2	n.s.	18,1±1,8	n.s.
CRP (ng/ml)	2,000±2,500	2,320±2,500	6,401±3,200	0,05	3,664±2,400	0,05	6,428±4,400	0,001	3,385±2,500	0,001
β ₂ m (ng/ml)	1,734±410	1,750±170	2,850±436	0,05	2,690±1,700	0,05	8,000±3,210	0,001	5,197±1,337	0,001
TGF-β ₁ (latent – ng/ml)	31,699±12,695	32,300±10,000	51,775±12,600	0,05	54,161±1,830	n.s.	47,691±2,560	n.s.	40,684±9,100	n.s.

Obr. 2: Pokles TNF receptorov po liečbe mnohopočetného myelómu v III. štádiu (staging podľa Durieho a Salmona, 1975).



* t-test two tail, BT – before therapy

ných protokolov. Vyšetrenia sa vykonávali v dobe remisie (pred transplantáciou krvotvorných buniek z drene alebo z periférnej krvi) a počas 1-6 mesiacov po transplantácii.

Výsledky boli štatisticky spracované: Man – Whitneyov U test pre výpočet mediánov a smerodajných odchýliek. Kruskal – Wallisov a Willcoxonov test bol použitý pre výpočet významnosti (15).

Štúdia bola vykonávaná so súhlasom etickej komisie.

Výsledky

V súbore chorých na MM v I. štádiu sme zistili oproti kontrolnej skupine nasledovné hodnoty: TNF = 59,0 ± 89 pg/ml, solubilní receptory pre TNF p55 = 2,293 ± 317 pg/ml, p75 = 3,127 ± 218 pg/ml, IL-6 = 15,9 ± 2,1 pg/ml, CRP = 2,320 ± 2,500 ng/ml, β₂m = 1,750 ± 170 ng/ml, TGF-β₁ = 32,300 ± 10 000 ng/ml.

Zistené hodnoty s výnimkou TNF v tomto štádiu sa nelíšili významne od referenčných hodnôt (TNF = 12 ± 21 pg/ml, p55 = 2,242 ± 800 pg/ml, p75 = 3,288 ± 1,220 pg/ml, IL-6 = 15,0 ± 3,5 pg/ml, CRP 2,000 ± 2,500 ng/ml, β₂m = 1,734 ± 410 ng/ml, TGFβ₁ = 31,699 ± 12,695 ng/ml) (tab.2).

Chorí v I. štádiu neboli liečení. Medzi receptormi p55, p75, β₂m a štádiami MM bola lineárna korelácia (obr.1).

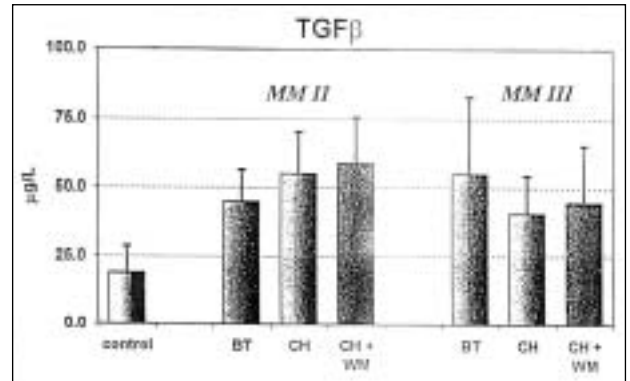
V II. štádiu pred liečbou boli mediány hodnôt oproti referenčným hodnotám zvýšené pre TNF = 66,1 ± 6 pg/ml, p55 = 4,931 ± 1,487 pg/ml, CRP 6,401 ± 3,200 ng/ml, pre β₂m = 2,850 ± 436 ng/ml, pre TGF β₁ = 51,775 ± 12,600 ng/ml. Po chemoterapii, resp. po chemo + enzymoterapii nastal nevýznamný pokles receptorov p55, IL-6, TGF β₁ ale bol významný pokles TNF, p75, CRP a β₂m.

V III. štádiu MM boli hodnoty v porovnaní s referenčnými hodnotami významne zvýšené už pred liečbou (tab.2): TNF = 55,3 ± 5,2 pg/ml, p55 = 10,780 ± 2,761 pg/ml, p75 = 14,970 ± 4,372 pg/ml, β₂m = 8,000 ± 3,210 ng/ml, CRP = 6,428 ± 4,400 ng/ml. Hladiny IL-6 = 18,9 ± 1,2 pg/ml a TGF β₁ = 47,691 ± 2,560 ng/ml neukázali významnosť.

Tab. 3. Hodnoty cytokínov v období klinickej progresie a remisie pri pravej polycytémii.

Cytokíny	Kontroly	Pred liečbou	Po liečbe	Významnosť (po liečbe) < p
TNF α (pg/ml)	12 ± 21,0	53,0 ± 39,4	21,2 ± 23,0	0,05
p55 (pg/ml)	2,242 ± 800	6,387 ± 3,556	4,287 ± 1,889	0,05
p75 (pg/ml)	3,288 ± 1,200	8,787 ± 4,974	5,351 ± 1,795	0,01
IL-6 (pg/ml)	15,0 ± 3,5	31,0 ± 26,0	16,5 ± 9,9	0,05
CRP (ng/ml)	2,000 ± 2,500	6,690 ± 7,450	1,772 ± 1,443	0,01
β ₂ m (ng/ml)	1,734 ± 410	7,225 ± 4,450	4,013 ± 1,886	0,05
TGFβ ₁ (ng/ml)	31,699 ± 12,695	85,100 ± 14,000	50,000 ± 10,000	0,01

Obr. 3: Aktivita TgF-β₁ po liečbe mnohopočetného myelómu.



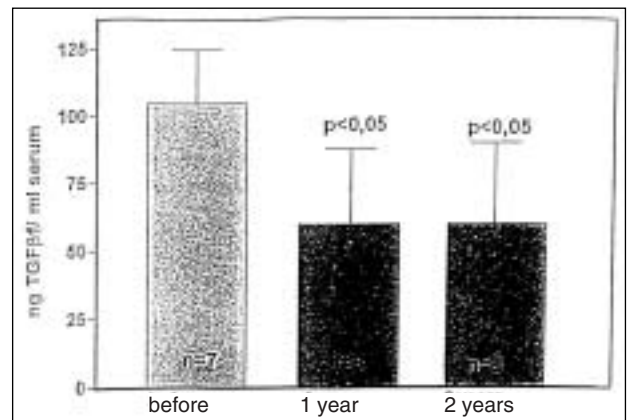
BT – before therapy

Tab. 4. Hladiny vyšetovaných ukazovateľov v sérach leukemických pacientov v období pred a po transplantácii hemopoetických buniek.

Ukazovateľ:	Ref. hodnoty	Autotransplantácia (ALL, AML)		Alotransplantácia (CML)	
		pred 1-3 mes.	po 1-3 mes.	pred 1-3 mes.	po 1-3 mes.
TNFα pg/ml	0,5-1,0*	0,5 (0-1,0)	0,5 (0,1-5,0)	0,7 (0,1-8,0)	0,8 (0,5-4,5)
IL-6 pg/ml	0,5-1,0*	3,3 (1,2-10,1)	6,8 (3,3-12,0)	27,7 (3,3-29,0)	15,5 (4,5-20,0)
CRP ng/ml	2000 (1500-4500)	2100 (1091-2774)	6700 (1994-8900)	1800 (1400-5300)	2800 (1200-10000)

* iné referenčné hodnoty pre TNF a IL-6 od výrobcu setov

Obr. 4: Pokles TgF-β₁ pri primárnej osteomyelofibróze počas 1-2 ročného pozorovania.



Po liečbe nastalo významné zníženie aktivít TNF, receptorov p55, p75, CRP a β₂m (tab.2), (obr.2).

Na rozdiel od koncentrácie TNF IL-6 a TGF-β₁ v sére nekorelovali s tumoróznou masou a štádiom choroby ale s cytologickou diferencovanosťou a proliferáčnou aktivitou maligného pro-

cesu (v dreni bol zistený zvýšený počet lymfoplazmocytov a plazmoblastov).

Zaujímavé bolo sledovanie dynamiky CRP. Vysoké koncentrácie CRP v sérach asi u 30% pacientov pretrvávali aj po poklese paraproteínu v sére a plazmocytózy v kostnej dreni. Vysoké hladiny CRP boli dôvodom kontrolného prešetrenia týchto chorých. Zistili sme u nich kostné, kardiologické, renálne, resp. infekčné komplikácie.

TGF- β_1 javil po liečbe u pacientov v III. štádiu MM síce nevýznamný pokles (obr.3), ale bez korelácie s aktivitou TNF a β_2m .

Pacienti s PV mali pred liečbou zvýšené hladiny IL-6, CRP a TGF- β_1 , pričom najvýraznejší vzostup zaznamenal TGF- β_1 . Po liečbe nastal významný pokles sledovaných parametrov (tab. 3).

Pokles TGF- β_1 po liečbe Litalirom sa pozoroval u chorých s OMF aj po 1-2 rokoch liečby (obr.4).

U pacientov s leukémiami (AML, ALL), nastal v období po transplantácii mierny vzostup hladín IL-6 a CRP, hodnoty TNF sa nezmenili. V skupine CML po alotransplantácii pokles IL-6 môže súvisieť s remisiou základného procesu ale hodnoty stanovovaných parametrov v období pred a po transplantácii neboli štatisticky významné (tab.4).

Diskusia

Mnohopočetný myelóm (MM) a ne Hodgkinov lymfóm predstavujú v súčasnosti najčastejšie hemoblastózy s chronickým priebehom avšak možnosťou predĺženia prežívania aj kvality života chorých nad 10 rokov u približne jednej tretiny pacientov v prípade, že sa diagnostikujú vo včasnom štádiu a zabezpečí sa ich komplexná liečba. Práve z tohoto hľadiska je potrebné mať k dispozícii okrem cytologických metód aj moderné imunologické metódy, umožňujúce na jednej strane presnú diagnózu (imunofenotypizácia membránových znakov, imunochemické vyšetrenie bielkovín, nádorové markery) a na druhej strane aj imunologické monitorovanie aktivity procesu v rôznych fázach choroby (14,15).

V našich práci sme sa preto zamerali na zisťovanie hladín vybraných cytokínov, ktoré majú význam v regulácii zápalových a imunitných reakcií pri zhubných ochoreniach krvotvorby. V nami vyšetrovanej skupine chorých s MM sme zistili zvýšené sérové hladiny TNF a solubilných receptorov p55 a p75. Ich zvýšené koncentrácie vykazovali lineárnu závislosť s nádorovou masou (5).

Pokles koncentrácií uvedených receptorov v období remisie je preto možné hodnotiť ako priaznivý prognostický znak (9). Podobne sme zistili pred liečbou v súvislosti so zvýšenou proliferáčnou aktivitou nádoru aj zvýšené koncentrácie β_2m v sére s následným poklesom hodnôt po liečbe (3).

Sledovania hladín IL-6 a CRP v sére pacientov dopĺňajú naše informácie predovšetkým o stupni nezrelosti bunkového klónu a jeho zápalovej, resp. osteolytickej aktivite. Morfológicky je síce možné rozpoznať nezrelý bunkový klón ale touto metódou nezískame informácie o funkčnej aktivite buniek. Na význam prognostického sledovania hladín IL-6 v sére sú protichodné názory vyplývajúce do určitej miery z rozdielnych výsledkov, ktoré by mohli súvisieť s použitím odlišných metód pri jeho stanovovaní (12,18).

Dôležitým faktom je, že IL-6 má význam pre diferenciaciu nezrelých buniek v kostnej dreni (najviac ho tvoria stromové

bunky) a pre aktiváciu tvorby CRP a ďalších proteínov akútnej fázy v hepatocytoch. Protichodné zistenia rôznych autorov týkajúce sa hodnôt IL-6 by mohli súvisieť aj so skutočnosťou, že IL-6 okrem svojej známej prozápalovej aktivity môže mať imunopresívnu aktivitu (13,14).

Z našich výsledkov ako aj z literárnych údajov vyplýva, že v prípade zvýšených sérových koncentrácií IL-6 a CRP pri súčasne fyziologických hladinách β_2m a TNF, je potrebné hľadať príčinu ich zvýšenia, či už v progresii kostných lézií alebo v pridruženej infekcii (10,17,18,19,20).

Kolísanie TGF- β_1 ukazuje na imunodeficientný stav organizmu po chemoterapii alebo na metastatické šírenie procesu. TGF- β_1 je významným cytokínom z hľadiska jeho protizápalového (pokles NK buniek), fibrotizačného, avšak nepriaznivého účinku na metabolizmus kostí (degradácia kolagénu). Z troch izoforiem najmä zložka β_1 sa zúčastňuje na patologickej remodelácii kostí, na neovaskularizácii a metastázovaní.

Pravá polycytémia ako chronické myeloproliferatívne ochorenie so stúpajúcim trendom výskytu je z hľadiska imunologickej situácie zaujímavá tým, že leukocytóza a trombocytóza by sa síce mohli podieľať na zvýšených koncentráciách cytokínov v sére, avšak najväčší podiel na ich zvýšenej tvorbe majú sekundárne zápalové najmä trombotické komplikácie. Podobná situácia je aj pri primárnej osteomyelofibróze. Výrazne zvýšené hladiny β_2m a CRP pri chronickom procese sú nielen odrazom vysokého obratu proliferácie v kostnej dreni ale aj ukazovateľom aktivity zápalových reakcií, niekedy latentných z klinického hľadiska. Orálna liečba proteolytickými enzýmami (Phlogenzym) vedie ku významnému poklesu produkcie TGF- β_1 a jeho zrýchlenej eliminácii väzbou na α_2 -makroglobulín, čo potvrdzujú aj naše výsledky. Tým je možné vysvetliť priaznivý podporný účinok systémovej enzýmovej terapie pri liečbe pri PV, OMF (2,8).

Nedostatočná cytokínová odpoveď u autotransplantovaných pacientov s AML, ALL by sa dala vysvetliť funkčnou neschopnosťou všetkých buniek hematopoézy. V skupine CML po alotransplantácii naopak pokles IL-6 v období 1-3 mesiacov po transplantácii by mohol súvisieť s nástupom hematologickej remisie. Zvýšené hodnoty CRP môžu súvisieť s GVH (reakciou štepu proti hostiteľovi) alebo infekčnou komplikáciou. Pretože rozdiely neboli štatisticky významné, je potrebné ich overenie na väčšom súbore.

Napriek nízkym hladinám cytokínov bolo možné u štyroch pacientov s akútnou leukémiou v neutropenickej fáze uskutočniť urgentný operačný výkon (apendektómia, hemikolektómia) v podmienkach intenzívnej podpornej liečby (transfúzie, trombocytové koncentráty, rastové faktory, antibiotiká). Záverom sa domnievame, že naše súčasné diagnostické algoritmy by sa mali doplniť imunoanalýzami cytokínov a ďalších parametrov imunity v širšom rozsahu ako dotiaľ. Pri nejasnom zvýšení ich hodnôt nutia klinika hľadať príčinu v komplikáciách, ktoré môžu byť niekedy latentné alebo fatálne aj pri známkach hematologickej remisie (infekčné, skeletové, vaskulárne, event. orgánová amyloidóza).

Podobne ako sa imunofenotypizácia a dôkaz iných nádorových markerov stali súčasťou včasnej onkologickej diagnostiky, zavedením monitorovania hladín cytokínov, by sa doplnili a prehĺbili naše diagnostické aj prognostické možnosti.

Literatúra

1. Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pober, J.S.: Cellular and molecular immunology. 3rd edition, Ed.: W.B. Sanders Company, 1997, s.494.
2. Goldsby, R.A., Kindt, T.J., Osborne, B.A.: Kuby immunology, 4th edition, Ed.: W.M. Freeman and Company, 2000, s.670.
3. Bačovský, J., Ščudla, V.: Cytokinová sieť u mnohotného myelomu. Vnitřní lék. 1994, 40, č.8, s. 517-520.

4. Blobel, G.C., Schiemann, W.P., Lodish, H.F.: Role of transforming growth factor in human disease. N.Engl.J.Med. 342, 2000, s.274-279.
5. Bucová, M.: Chemokíny, rast nádorov a angiogénéza. Bratisl. Lek Listy, 102, 2001, s. 22-27.
6. Bucová, M.: Úloha cytokínov v rozvoji lokálneho a systémového zápalu a septického šoku. Vnitřní lék 48, 2002, č.7 (v tlačí).
7. Delves, P.J., Roitt, I.M.: Encyclopedia of immunology. Second edition.

- Academic Press. Harcourt Brace @ Company Publishers. San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto., 1998, s.1869-2516.
8. Desser, L., Holomáňová, D., Zavadová, E., Sakalová, A., Mohr, T.: Oral therapy with proteolytic enzymes decreases TGF- β levels in human blood. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 47, 2001, s. 10-16.
 9. Desser, L., Sakalová, A., Zavadová, E., Holomáňová, D., Mohr, T.: Concentrations of soluble tumor necrosis factor receptors, β 2-microglobulin, IL-6 and TNF in serum of multiple myeloma patients after chemotherapy and after combined enzyme – chemotherapy. *Int. J. Immunotherapy XIII*, 1997, 3/4, s. 121-130.
 10. Gebauer, F., Michael, B., Stauder, G., Ransberger, K., Kunze, R.: Proteolytic enzymes modulate the adhesion molecule CD44 on malignant cells in vitro. *Int.J.Immunother* 13, 1997, s. 111-121.
 11. Kushner, I.: C-reactive protein elevation can be caused by conditions other than inflammation and may reflect biologic aging. *Cleveland Clinic Journal*, 68, 2001, s. 535-537.
 12. Montes-Borinaga, A.: Interleukin-6 is a cofactor for the growth of myeloid cells from human bone marrow aspirates but does not affect the clonogenicity of myeloma cells in vitro. *Brit.J.Haematol*, 76, 1990, s. 476-483.
 13. Tilg, H., Dinarello, A.CH., Mier, J.V.: IL-6 and APPs: anti-inflammatory and immunosuppressive mediators. *Immunol Today*, 18, 1997, s. 428-432.
 14. Sakalová, A., Vaňásek, J., Bláha, M., Tichý, M., Zadák, Z.: Multiple myeloma and paraproteinemias. *SAP Bratislava*, 1995, s.173.
 15. Sakalová, A., Bock, P.R., Dedík, L., Hanisch, J., Schiess, W., Gažová, S., Chabroňová, I., Holomáňová, D., Mistrík, M., Hrubíško, M.: Retrolective cohort study of an additive therapy with oral enzyme preparation in patients with multiple myeloma. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2001, 47, Suppl., s. 38-44.
 16. Sakalová, A., Desser, L., Bucová, M., Stauder, G., Ransberger, K.: Recent immunological approaches and therapy of multiple myeloma. *J of Health Management and Public Health*, 3, 1998, s. 47-53.
 17. Zhang, X.G., Klein, B., Bataille, R.: Interleukin 6 is a potent myeloma cell growth factor in patients with aggressive multiple myeloma. *Blood*, 74, 1989, s. 11-13.
 18. Ščudla, V., Kubalová, D., Bačovský, J., Lukeš, J., Vavrdová, V.: Příspěvek k vyšetření solubilního receptoru interleukinu- 6 v séru u mnohopočetného myelomu. *Čas. Lek. Čes.*, 135, 1996, s. 719-722.
 19. Ščudla, V., Budíková, M., Bačovský, J., Ordeltová, M., Opíchalová, D.: Vztah hladin solubilních cytoadhezivních molekul VCAM-1 a ICAM-1 k vybraným ukazatelům mnohočetného myelomu. *Vnitř. Léč.* 45, 1999, s. 583-590.
 20. Sakalová, A., Chabroňová, I., Gažová, S., Škultétyová, D., Škultéty, J., Mistrík, M., Hrubíško, M.: Kostné zmeny pri mnohopočetnom myelóme - súčasné etiopatogenetické, diagnostické a liečebné aspekty. *Vnitř. Léč.* 48, 2002, s.642-648.