

Значение β_2 -микροглобулина в прогнозировании течения и выборе терапии хронического лимфолейкоза

Загоскина Т.П., Куликова М.М., Малых О.В.

Value of β_2 -microglobulin in prediction of current and choice of therapy of chronic lymphoid leukaemia

Zagoskina T.P., Kulikova M.M., Malykh O.V.

Кировский НИИ гематологии и переливания крови, г. Киров

© Загоскина Т.П., Куликова М.М., Малых О.В.

Введение

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) — неоднородное заболевание с разнообразной клинической картиной, длительностью течения и ответом на терапию. Продолжительность жизни больных очень вариабельна: от нескольких месяцев до десятков лет. В 15–20% случаев заболевание протекает бессимптомно, и пациенты в течение многих лет не нуждаются в каком-либо лечении, у других болезнь быстро прогрессирует, несмотря на интенсивную терапию [1].

В последние годы достигнут значительный прогресс в терапии ХЛЛ. Это связано с внедрением в клиническую практику новых препаратов аналогов пурина и моноклональных анти-CD20-, анти-CD52-антител. Повышение интенсивности терапевтических программ способствует увеличению эффективности, с одной стороны, и развитию тяжелых осложнений на фоне миелосупрессии — с другой, и поэтому является оправданной не во всех случаях. Диапазон возможных для применения методов лечения ХЛЛ колеблется от первично сдерживающей терапии лейкокераном до аллогенной трансплантации костного мозга [2–4]. Для выбора оптимальной тактики необходимо с наибольшей долей вероятности предвидеть успех лечения, что невозможно без определения точного прогноза для каждого конкретного пациента.

Существуют две общепринятые классификации ХЛЛ, базирующиеся на наличии лимфаденопатии, органомегалии (увеличение печени и селезенки), анемии, тромбоцитопении и демонстрирующие корреляцию между стадией и выживаемостью [5]. Эти две системы описывают клинические симптомы, представляют развитие болезни и используются в клинической практике для выбора терапии. Но прогностическое значение каждой стадии не одинаково, и используемые системы стадирования, к сожалению, не различают быстро прогрессирующую и индолентную формы ХЛЛ. Особенно гетерогенны больные, имеющие стадии А и В. Именно в этих группах для выделения больных высокого риска необходимы дополнительные прогностические критерии. В настоящее время кроме стадии выделяют ряд прогностических факторов, одним из которых является β_2 -микροглобулин [6–8].

β_2 -Микροглобулин (β_2 -МГ) — это низкомолекулярный белок с молекулярной массой 11,8 кДа, представляющий одиночную цепь из 100 аминокислот с одной дисульфидной связью. β_2 -МГ идентичен легкой цепи антигенов HLA-системы 1-го класса и имеет выраженную гомологию с СН₃-регионом молекулы иммуноглобулина G. β_2 -МГ является не только структурным компонентом комплекса гистосовместимости, но играет центральную роль в транспортировке его продуктов из эндоплазматического ретикулума на мембрану клетки и в биогенезе. β_2 -МГ, нековалентно соединяясь с α_1 - и α_2 -доменами, создает третич-

ную крестообразную структуру главного комплекса гистосовместимости, без которой невозможна презентация фрагментов иммуноглобулинов Т-клеточными рецепторами. Он способствует также взаимодействию домена α_3 с $CD8$ Т-клетками, формируя тем самым Т-клеточный рецепторный комплекс, необходимый для проведения сигнала и активации клеток. Кроме того, β_2 -МГ индуцирует апоптоз посредством активации Fas -рецепторов [9].

Биосинтез β_2 -МГ осуществляется практически всеми клетками организма, однако наиболее высокой способностью обладают лимфоциты (50% от общего количества синтезируются лимфоцитами) и опухолевые клетки. Вследствие постоянной регенерации мембранных белков происходит деградация молекул комплекса HLA . Большая часть β_2 -МГ (98%) присутствует в жидкостях организма в свободной форме, и лишь 2% его связаны с модифицированной молекулой HLA . В низкой концентрации белок выявляется во многих биологических жидкостях: в сыворотке крови, моче, слюне, цереброспинальной, амниотической. Он свободно проходит через мембрану почечных клубочков, а затем реабсорбируется в проксимальном отделе почечных канальцев. Уровень β_2 -МГ в крови контролируется двумя процессами: скоростью его синтеза и секрецией клетками, а также скоростью выделения. Выделение из организма осуществляется посредством почечного клиренса и зависит от скорости гломерулярной фильтрации.

Повышенное количество β_2 -МГ тормозит регулируемую роль главного комплекса гистосовместимости по принципу обратной связи и возможность активации Т-клеток, редуцируя количество антигенпродуцирующих клеток. Высокий уровень β_2 -МГ способствует увеличению экспрессии ИЛ-6 и ИЛ-10, что стимулирует рост и продолжительность выживаемости опухолевых клеток. При увеличении β_2 -МГ ингибируется MAP -киназа, что приводит к задержке дифференцировки дендритных клеток и подавлению иммунитета, снижая тем самым противоопухолевый эффект Т-клеток. Границы нормы β_2 -МГ в сыворотке крови колеблются в пределах 0,8–2,5 мг/л [7].

Уровень β_2 -МГ возрастает при ряде онкогематологических заболеваний, в том числе при неходжкинских лимфомах, множественной миеломе, различных аутоиммунных заболеваниях, нарушениях клеточного иммунитета (при СПИДе), состояниях после трансплантации органов. Причины повышения β_2 -МГ при гематологических заболеваниях окончательно не ясны.

Хотя прогностическое значение β_2 -МГ при опухолевых заболеваниях подтверждено рядом авторов, использование этого маркера как прогностического фактора для больных ХЛЛ, особенно с ранними стадиями, ограничено. Необходимо оценить прогностическую роль β_2 -МГ при современных режимах терапии.

Цель настоящего исследования — оценить прогностическое значение уровня сывороточного β_2 -МГ у больных ХЛЛ при различных видах терапии.

Материал и методы

В исследование включено 202 больных ХЛЛ (мужчин 123 (61%), женщин 79 (39%)); в стадии А 10 (5%) больных, в стадии В — 113 (56%), в стадии С — 79 (39%). Возраст пациентов колебался от 36 до 76 лет (медиана 59 лет). Общая характеристика больных ХЛЛ представлена в табл. 1.

Таблица 1
Общая характеристика больных ХЛЛ

Показатель	Количество больных	
	абс.	%
Всего больных	202	100
Возраст, лет:		
до 60	98	49
старше 60	103	51
Пол:		
мужчины	123	61
женщины	79	39
Стадия заболевания (по Binnet):		
А	10	5
В	113	56
С	79	39
Уровень β_2 -МГ:		
менее 5 мг/л	112	55
более 5 мг/л	90	45

Диагноз ХЛЛ установлен на основании общепринятых критериев [10], а именно: общего анализа крови, иммунофенотипирования клеток периферической крови и костного мозга, миело-

граммы пунктата грудины, биоптата лимфатического узла с иммуногистохимией, трепано-биопсии подвздошной кости. Обязательным условием назначения терапии было отсутствие признаков трансформации заболевания в более агрессивную гистологическую форму.

Содержание β_2 -МГ в сыворотке крови определяли методом радиоиммунологического анализа. Исследования выполняли перед началом терапии и после ее завершения. Изучение сывороточного β_2 -МГ в качестве прогностического фактора течения ХЛЛ проводилось у больных с нормальным уровнем креатинина, с отсутствием признаков аутоиммунной патологии и заболеваний почек.

Для оценки прогностической значимости уровня β_2 -МГ при ХЛЛ больные были разделены на три группы в зависимости от вида получаемой химиотерапии. В 1-ю группу вошли 45 больных, которым назначалась стандартная терапия хлорамбуцилом (лейкеран). Две другие группы получали флударабинсодержащие программы: 2-я группа (79 больных) — флударабин, циклофосфан (FC), 3-я группа (78 больных) — ритуксимаб, флударабин и циклофосфан (RFC).

Курс FC включал флударабин 25 мг/м² площади тела внутривенно в 1—3-й дни, циклофосфан 300 мг/м² площади тела внутривенно в 1—3-й дни. RFC: мабтера 375 мг/м² площади тела внутривенно в 1-й день, флударабин 25 мг/м² площади тела внутривенно во 2—4-й дни, циклофосфан 300 мг/м² площади тела внутривенно во 2—4-й дни. Курсы FC и RFC проводились каждые 4 нед до максимального эффекта, но не более 8 курсов (медиана 6). Не менее 6 курсов получили 87% пациентов.

Кроме того, больные были разделены на две подгруппы в зависимости от уровня β_2 -МГ. В первую подгруппу отнесены пациенты, у которых отмечалось повышение содержания β_2 -МГ не более чем на 100% от верхней границы нормы, т.е. от 2,5 до 5 мг/л. Вторую подгруппу составили больные, имеющие повышенный β_2 -МГ более чем в 2 раза (более 5 мг/л).

По данным исследования, средние значения нормального уровня β_2 -МГ у 70 здоровых лиц

(первичные доноры) составили $(2,19 \pm 0,087)$ мг/л.

При проведении сравнительного анализа эффективности различных программ терапии использовался χ^2 -тест, а также показатели времени общей и безрецидивной выживаемости, которые анализировались с помощью метода Каплана–Майера. Кривые сравнивали по значению log-rank.

Результаты и обсуждение

Первой задачей данной работы было изучение влияния концентрации сывороточного β_2 -МГ на течение заболевания и эффективность лечения в группе больных, получивших стандартную терапию лейкераном. Среди 45 больных 1-й группы у 28 (62%) пациентов определялся уровень β_2 -МГ менее 5 мг/л, у 17 (38%) более 5 мг/л. Больные с различным уровнем β_2 -МГ существенно не различались по содержанию гемоглобина, тромбоцитов, ЛДГ и стадии заболевания ($p > 0,05$). Вместе с тем была выявлена корреляция высокого уровня β_2 -МГ с количеством лейкоцитов ($p = 0,018$), степенью инфильтрации зрелыми лимфоцитами костного мозга ($p = 0,034$) и большой опухолевой массой ($p = 0,005$). Ответ на терапию лейкераном заключался в основном в стабилизации опухолевого процесса (62%). У 13 (29%) пациентов лечебный эффект отсутствовал, и это были преимущественно пациенты с высоким уровнем β_2 -МГ (табл. 2). Наряду с этим установлено, что показания для начала химиотерапии у больных 1-й группы появлялись в разные сроки в зависимости от уровня β_2 -МГ. Так, медиана времени до начала лечения в группе больных с β_2 -МГ менее 5 мг/л составляла 13,6 мес, тогда как у пациентов с высоким уровнем β_2 -МГ — 4,1 мес ($p = 0,02$). Медиана общей выживаемости у пациентов, имеющих уровень β_2 -МГ менее 5 мг/л, не достигнута за 68 мес наблюдения, а у больных с уровнем β_2 -МГ более 5 мг/л составила 32 мес ($p = 0,01$). Медиана бессобытийной выживаемости при наличии незначительного повышения уровня β_2 -МГ составила 10,5 мес, при наличии высокого уровня — 3,2 мес ($p = 0,02$).

Таблица 2

Эффективность терапии лейкераном больных ХЛЛ в зависимости от уровня сывороточного β_2 -МГ, абс. (%)

Эффективность	Уровень β_2 -МГ		p
	<5 мг/л	>5 мг/л	
Общая эффективность	3 (11)	1 (5)	0,99
Полная ремиссия	1 (4)	0 (0)	0,799
Частичная ремиссия	2 (7)	1 (5)	—
Стабилизация	18 (64)	10 (58)	0,161
Без ответа	3 (11)	10 (58)	0,002

Среди пациентов, получивших лечение FC, 42 (53%) человека имели уровень β_2 -МГ менее 5 мг/л, 37 (47%) — более 5 мг/л. Больные 2-й группы с различным содержанием β_2 -МГ, так же как и больные 1-й группы, значительно не отличались между собой по уровню гемоглобина, тромбоцитов, ЛДГ и стадии заболевания. Вместе с тем выраженная лимфоидная инфильтрация костного мозга (85—100%) и большая опухолевая масса значительно чаще встречалась у больных, имеющих высокий уровень β_2 -МГ ($p = 0,03$; $p = 0,004$). В процессе исследования во 2-й группе, так же как и у больных 1-й группы, была выявлена взаимосвязь между уровнем β_2 -МГ и ответом на терапию FC. Так, у лиц с уровнем β_2 -МГ менее 5 мг/л полная ремиссия (ПР) была достигнута в 17 (40%) случаях, частичная ремиссия (ЧР) — в 22 (52%). Отсутствие эффекта на терапию наблюдалось у 3 (7%) пациентов (табл. 3).

У этих больных медиана общей выживаемости не достигнута за период наблюдения 68 мес. Медиана бессобытийной выживаемости составила 37 мес за данный период наблюдения. В то же время у больных с высоким уровнем β_2 -МГ на программе FC удалось получить ПР лишь у 5 (14%) больных, ЧР — у 9 (51%) больных, ответ на терапию отсутствовал у 13 (35%) пациентов. Медиана общей выживаемости составила 59 мес, медиана бессобытийной выживаемости — 24 мес.

Таблица 3

Эффективность терапии по программе FC больных ХЛЛ в зависимости от уровня сывороточного β_2 -МГ, абс. (%)

Эффективность	Уровень β_2 -МГ		p
	<5 мг/л	>5 мг/л	
Общая эффективность	39 (92)	24 (65)	0,005

Полная ремиссия	17 (40)	5 (14)	0,016
Частичная ремиссия	22 (52)	9 (51)	0,839
Без ответа	3 (7)	13 (35)	0,005

В результате проведения исследований установлено, что подгруппы больных с различным содержанием β_2 -МГ отличаются по ответу на терапию лейкераном и режимом FC. У больных с высоким содержанием β_2 -МГ достоверно чаще отсутствовал эффект на лечение. При применении программы FC у больных с уровнем β_2 -МГ более 5 мг/л значительно реже развивались полные ремиссии и был более низкий коэффициент общего ответа на лечение по сравнению с пациентами, имеющими β_2 -МГ менее 5 мг/л.

Следующим этапом настоящего исследования явился анализ уровня β_2 -МГ у больных, получавших иммунохимиотерапию по программе RFC. Среди пациентов данной группы β_2 -МГ был определен у 78 больных, из них 42 (54%) имели уровень β_2 -МГ менее 5 мг/л и 36 (46%) более 5 мг/л.

Таблица 4

Эффективность терапии по программе RFC больных ХЛЛ в зависимости от уровня сывороточного β_2 -МГ, абс. (%)

Эффективность	Уровень β_2 -МГ		p
	<5 мг/л	>5 мг/л	
Общая эффективность	42 (100)	33 (92)	0,188
Полная ремиссия	31 (74)	23 (64)	0,484
Частичная ремиссия	11 (26)	10 (28)	0,922
Без ответа	0 (0)	3 (8)	0,188

Данные, полученные в ходе исследования, показали, что эффект на терапию RFC не зависел от содержания β_2 -МГ в сыворотке крови, и у всех больных коэффициент ответа был достоверно выше, чем у пациентов 1-й и 2-й групп ($p = 0,001$). Медиана общей выживаемости не достигнута за 68 мес наблюдения, медиана бессобытийной выживаемости составила 46 мес.

Таким образом, представленные результаты свидетельствуют о том, что повышенный уровень β_2 -МГ в значительной степени влияет на прогноз ХЛЛ. Это выражается в отрицательном воздействии высокого уровня β_2 -МГ (более 5 мг/л) как на непосредственный эффект лечения, т.е. на достижение ПР или ЧР, так и на отдаленные результаты — общую и бессобытийную выживаемость.

мость. Следовательно, сывороточный β_2 -МГ можно рассматривать как дополнительный прогностический фактор, исследование которого весьма целесообразно для определения течения ХЛЛ и подбора адекватной терапии как в ранних, так и в продвинутых стадиях заболевания. Современная терапия с включением флударабина и моноклональных анти-CD20-антител позволяет преодолеть отрицательное влияние данного биологического опухолевого маркера на непосредственный эффект лечения, хотя бессобытийная выживаемость при наличии высокого уровня β_2 -МГ сокращается. Комбинация RFC по сравнению с режимом FC в большей степени преодолевает негативное влияние β_2 -МГ на терапевтический ответ и может использоваться в качестве программы выбора в терапии ХЛЛ.

Литература

1. Волкова М.А. Клиническая онкогематология. М.: Медицина, 2007.
2. Eichhorst B.F., Busch R., Hopfinger G. et al. Fludarabine

- plus cyclophosphamide versus fludarabine alone in first line therapy of younger patients with chronic lymphocytic leukemia // *Blood*. 2006. V. 107. P. 885—891.
3. Abbott B.L. Chronic Lymphocytic Leukemia: Recent Advances in Diagnosis and Treatment // *Oncologist*. 2006. V. 11 (1). P. 21—30.
4. Keating M., O'Brien S., Albitar M. et al. Early results of chemoimmunotherapy regimen of fludarabine, cyclophosphamide and rituximab as initial therapy for chronic lymphocytic leukemia // *J. Clin. Oncol.* 2005. V. 23. P. 2979—1088.
5. Binet J.L., Caligaris-Cappio F., Catovsky D. et al. Perspectives on the use of new diagnostic tools in the treatment of chronic lymphocytic leukemia // *Blood*. 2006. V. 107 (3). P. 859—861.
6. Shanafelt T.D., Geyer S.M., Kay N.E. Prognosis at diagnosis: integrating molecular biologic insights into clinical practice for patients with CLL // *Blood*. 2004. V. 103 (4). P. 1202—1210.
7. Desablens B., Garidi R., Fernandes J. et al. Serum LDH and β_2 m in B-CLL: analysis on 315 patients // *Leukemia*. 2000. Program and abstract book. P. 62. Abstr. P. 69.
8. Montserrat E. New Prognostic Markers in CLL // *Hematology*. 2006. V. 2006 (1). P. 279—284.
9. Molica S., Levato D., Cascavilla N. et al. Clinico-prognostic implications of simultaneous increased serum levels of soluble CD23 and beta2 microglobulin in B-cell chronic lymphocytic leukemia // *Eur. J. Haematol.* 1999. V. 62. P. 117—122.
10. Cheson B.D., Bennett J.M., Grever M. et al. National Cancer Institute-sponsored Working Group guidelines for chronic lymphocytic leukemia: revised guidelines for diagnosis and treatment // *Blood*. 1996. V. 87. P. 4990—4997.