

ЗНАЧЕНИЕ СЫВОРОТОЧНОЙ ТИМИДИНКИНАЗЫ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ОТВЕТА НА ТЕРАПИЮ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ

Тамара Павловна ЗАГОСКИНА¹, Екатерина Николаевна ЗОТИНА¹,
Мария Геннадьевна КРЮКОВА¹, Виктор Иванович ШАРДАКОВ¹,
Ирина Владимировна ГРИШИНА²

¹ ФГБУН Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА России
610027, г. Киров, ул. Красноармейская, 72

² ГБОУ ВПО Кировская ГМА Минздрава России
610027, г. Киров, ул. Карла Маркса, 112

Проведена оценка прогностического значения содержания сывороточной тимидинкиназы у 230 больных хроническим лимфолейкозом при различных видах современной терапии. Активность тимидинкиназы в сыворотке крови определяли радиоэнзимным методом. Установлено, что эффективность лечения пациентов различными программами химио- и иммунохимиотерапии коррелирует с содержанием фермента в сыворотке крови. Показано, что иммунохимиотерапия комбинацией RFC нивелирует негативное прогностическое значение тимидинкиназы как опухолевого маркера в отношении непосредственного эффекта лечения и продолжительности ответа. Определение содержания тимидинкиназы в сыворотке крови больных хроническим лимфолейкозом можно рекомендовать не только в качестве дополнительного прогностического фактора течения заболевания и ответа на терапию, а также и для подбора адекватной программы лечения.

Ключевые слова: хронический лимфолейкоз, тимидинкиназа, прогноз эффективности терапии.

В последние годы достигнут значительный прогресс в терапии хронического лимфолейкоза (ХЛЛ), который связан с использованием аналогов пурина, моноклональных анти-CD20, анти-CD52 антител, а также иммуномодуляторов и аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток [1]. С помощью новых технологий у большинства пациентов удается получить длительные полные ремиссии. Вместе с тем современные программы химио- и иммунохимиотерапии, к сожалению, не решили проблему полного излечения ХЛЛ. Традиционным подходом к началу терапии по-прежнему остается тактика «наблюдай и жди» [5]. В то же время возрастает интенсивность первой линии терапии в связи с возможностью достижения молекулярных ремиссий и удлинения продолжительности жизни больных. Известно, что повышение интенсивности терапевтических программ способствует, с одной стороны, увеличению их эффективности, но с другой – развитию тяжелых осложнений на фоне миелосупрессии,

поэтому оправдано не во всех случаях [6]. Для выбора оптимальной тактики необходимо с наибольшей долей вероятности предвидеть успех лечения, что невозможно без определения точного прогноза для каждого конкретного пациента.

В настоящее время стратификацию больных ХЛЛ в основном проводят по классификациям J.L. Binet и K. Rai, в основу которых положены стадии заболевания. Стадии ХЛЛ до сих пор остаются самым сильным предиктором течения опухолевого процесса и демонстрируют прямую корреляцию с беспрогрессивной и общей выживаемостью больных [1, 8]. Определение стадии ХЛЛ осуществляют с учетом размера опухоли, степени ее распространения и костно-мозговой недостаточности. Классификации J.L. Binet и K. Rai описывают клинические симптомы, представляют развитие болезни и используются в клинической практике для выбора терапии. Но прогностическое значение каждой стадии неодинаково, и используемые системы

Загоскина Т.П. – к.м.н., доцент, рук. гематологической клиники, e-mail: zagoskina@blood.kirov.ru

Зотина Е.Н. – младший научный сотрудник гематологической клиники, e-mail: enzotina@mail.ru

Крюкова М.Г. – к.м.н., научный сотрудник лаборатории иммунологии лейкозов

Шардаков В.И. – д.м.н., проф., рук. лаборатории иммунологии лейкозов

Гришина И.В. – к.м.н., доцент кафедры внутренних болезней

стадирования, к сожалению, не различают быстропрогрессирующую и индолентную формы ХЛЛ. Для выделения пациентов высокого риска прогрессирования заболевания необходимы дополнительные критерии прогноза. Значительная роль в этом отводится аспектам взаимодействия лейкоэмических клеток, отражающих их пролиферацию, выживание и резистентность к действию проапоптотических сигналов. Известно, что особенности клинического течения онкогематологических заболеваний зависят от пролиферативной активности опухолевых клеток [3]. Вследствие этого показатели пролиферации вызывают большой интерес в качестве факторов прогноза неоплазий. К сожалению, при ХЛЛ пролиферативный компонент до последнего времени в полной мере не дооценивался, поскольку особое внимание в биологии данного опухолевого процесса уделялось блокаде апоптоза и другим патогенетическим механизмам. Тем не менее совсем недавно была доказана роль пролиферации в онкогенезе ХЛЛ. Одним из факторов, отражающих пролиферативную активность опухоли и характеризующих биохимические свойства клеток, особенно при их переходе из фазы покоя в фазу деления, является тимидинкиназа (ТК). Данный фермент обычно отсутствует в здоровых неделящихся клетках и появляется в них только перед началом митоза. При нормальном процессе деления ТК не выходит во внеклеточное пространство, так как здоровая клетка снабжена специальным механизмом разрушения белка, в котором она больше не нуждается. Поэтому у здоровых людей количество ТК в сыворотке крови обычно очень незначительное и, согласно собственным данным и сведениям литературы, не превышает 10 Ед/л [11]. Содержание ТК в сыворотке крови значительно повышается в случае непосредственного контакта малигнизированных клеток с такими биологическими жидкостями, как кровь, лимфа, серозные выпоты, поэтому наиболее значимо оно изменяется при системных заболеваниях крови [4, 9, 11]. Содержание ТК в сыворотке крови служит мерой злокачественной пролиферации и агрессивности опухоли. При ряде злокачественных опухолей повышение уровня ТК свидетельствует о высоком риске прогрессирования заболевания [2, 7, 10]. Однако изменение ферментативной активности ТК при ХЛЛ с учетом проводимого лечения остается до сих пор не изученным. Учитывая широкий диапазон возможных вариантов терапии ХЛЛ, основной задачей на современном этапе становится установление оптимальных комбинированных персонализированных режимов и определение их

роли в лечении заболевания в зависимости от прогностических факторов, имеющих отношение к патогенезу опухолевого процесса.

Целью настоящего исследования явилась оценка прогностического значения уровня сывороточной ТК у больных ХЛЛ при различных видах современной терапии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включено 230 больных ХЛЛ. Из них мужчин – 140 (61 %), женщин – 90 (39 %); в стадии А – 11 (5 %), в стадии В – 129 (56 %) и в стадии С – 90 (39 %) больных. Возраст пациентов колебался от 36 до 79 лет, медиана возраста составила 59 лет. Общий соматический статус больных в момент постановки диагноза оценивался по шкале ECOG и у 138 (60 %) человек был < 2 баллов, у 92 (40 %) – ≥ 2 баллов. Общая характеристика больных ХЛЛ представлена в табл. 1.

Диагноз ХЛЛ верифицирован согласно общепринятым критериям [5], включавшим общий анализ крови, данные миелограммы, иммунофенотипирование лимфоидных элементов периферической крови и костного мозга, гистологическое исследование биоптата лимфоузла и трепанобиоптата задней ости подвздошной кости с иммуногистохимией. Кроме того, проводились ЭХО-кардиоскопия, рентгенография органов грудной клетки, ультразвуковое исследование или компьютерная томография органов брюшной полости и забрюшинного пространства.

Таблица 1

Общая характеристика больных ХЛЛ

Показатель	Количество больных	
	абсолютное	%
Всего больных	230	100
Возраст:		
< 60 лет	113	49
≥ 60 лет	117	51
Пол:		
мужчины	140	61
женщины	90	39
Стадия заболевания (по Binet):		
А	11	5
В	129	56
С	90	39
Общее состояние по ECOG:		
< 2 баллов	138	60
≥ 2 баллов	92	40
Уровень ТК:		
< 20 Ед/л	127	55
≥ 20 Ед/л	103	45

Активность ТК в сыворотке крови больных ХЛЛ определяли радиоэнзимным методом с использованием коммерческих наборов фирмы «IMMUNOTECH» (Чехия). Счет радиоактивности осуществляли на установке для радиоиммунохимического анализа «Гамма НТ-Наркотест». Исследование выполняли в момент постановки диагноза до начала специфической терапии. Ответ на терапию оценивали по достижению полной (ПР) и частичной (ЧР) ремиссии, стабилизации процесса и отсутствию эффекта. В качестве контрольной группы были обследованы 50 первичных доноров крови.

Для установления возможности использования ТК в качестве фактора, предсказывающего ответ на лечение, пациенты были разделены на 3 группы в зависимости от вида получаемой химиотерапии. В 1-ю группу включено 36 больных, которым назначалась терапия лейкераном или по схеме СНОР (циклофосфан, адриабластин, винкристин, преднизолон). Пациенты двух других групп получали программы, содержащие флударабин: 2-я группа (96 человек) – FC (флударабин, циклофосфан), 3-я группа (98 человек) – лечение комбинацией RFC (ритуксимаб, флударабин, циклофосфан).

Оценивая ответ на терапию у больных ХЛЛ в зависимости от содержания сывороточной ТК, мы использовали в качестве ее порогового значения уровень, равный 20 Ед/л.

Статистическую обработку данных проводили с помощью анализа таблиц сопряженности (критерий χ^2 Пирсона) и анализа выживаемости (метод Каплана–Майера). Кривые выживаемости сравнивали по значению логрангового критерия. Различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$ для всех критериев.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования была изучена связь концентрации сывороточной ТК с течением заболевания и эффективностью лечения в группе больных, получивших терапию СНОР или лейкераном, способными лишь сдерживать опухолевый рост. У 20 пациентов 1-й группы (56 %) определялся уровень ТК < 20 Ед/л, у 16 (44 %) – ≥ 20 Ед/л. Больные с различным уровнем ТК существенно не различались по содержанию гемоглобина, тромбоцитов, лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и стадии заболевания ($p > 0,05$). Ответ на паллиативную терапию заключался в основном в стабилизации опухолевого процесса. У 25 человек лечебный эффект отсутствовал, и это были преимущественно пациенты с высоким уровнем ТК (табл. 2).

Наряду с этим нами установлено, что показания для начала химиотерапии у больных 1-й группы появлялись в разные сроки в зависимости от уровня ТК. Так, медиана времени до начала лечения в группе больных с ТК < 20 Ед/л составляла 11,3 мес., тогда как у пациентов с высоким уровнем ТК – 3,8 мес. ($p = 0,02$).

Медиана общей выживаемости у пациентов, получивших режим СНОР или лейкеран и имеющих уровень ТК < 20 Ед/л, не достигнута за 68 мес. наблюдения, а у больных с уровнем ТК ≥ 20 Ед/л составила 31 мес. ($p = 0,041$). Медиана времени до прогрессии заболевания при незначительном повышении содержания ТК составила 7 мес., при наличии высокого уровня – 2,7 мес. ($p = 0,023$).

Среди пациентов, получивших лечение FC, 55 (57 %) больных имели уровень ТК < 20 Ед/л, 41 (43 %) ≥ 20 Ед/л. Больные 2-й группы с различным содержанием ТК, так же как и больные 1-й группы, имели сходный уровень гемоглобина, тромбоцитов, ЛДГ и стадию заболевания. Вместе с тем выраженная инфильтрация костного мозга лимфоидными элементами (85–100 %) и большая опухолевая масса значительно чаще встречались у пациентов с высоким содержанием ТК ($p = 0,02$ и $p = 0,003$ соответственно). В процессе исследования так же, как и у больных 1-й группы, была выявлена взаимосвязь между уровнем ТК и ответом на терапию FC. Так, у лиц с концентрацией ТК < 20 Ед/л ПР была достигнута в 22 (40 %) случаях, ЧР – в 29 (53 %). Отсутствие эффекта на терапию наблюдалось у 4 (7 %) пациентов. В то же время у больных с высоким содержанием ТК, получивших лечение по программе FC, удалось достигнуть ПР лишь у 7 (17 %) больных, ЧР – у 16 (39 %) больных, ответ на терапию отсутствовал у 18 (44 %) пациентов (табл. 3).

Проведенные исследования показали, что подгруппы больных с различным содержанием

Таблица 2

Эффективность терапии лейкераном и СНОР у больных ХЛЛ в зависимости от содержания ТК

Эффективность	Количество пациентов		<i>p</i>
	Содержание ТК < 20 Ед/л	Содержание ТК ≥ 20 Ед/л	
Общая эффективность	9 (45 %)	2 (13 %)	0,004
Полная ремиссия	2 (10 %)	0 (0 %)	0,362
Частичная ремиссия	7 (35 %)	2 (13 %)	0,023
Без ответа	11 (55 %)	14 (87 %)	0,0001

Таблица 3

Эффективность терапии FC у больных ХЛЛ
в зависимости от содержания ТК

Эффективность	Количество пациентов		P
	Содержание ТК < 20 Ед/л	Содержание ТК ≥ 20 Ед/л	
Общая эффективность	51 (93 %)	23 (56 %)	0,0001
Полная ремиссия	22 (40 %)	7 (17 %)	0,028
Частичная ремиссия	29 (53 %)	16 (39 %)	0,261
Без ответа	4 (7 %)	18 (44 %)	0,0001

ТК отличаются по ответу на терапию режимом СНОР, лейкераном и комбинацией FC. При применении программы FC у больных с уровнем ТК ≥ 20 Ед/л значительно реже развивались полные ремиссии, и был более низкий общий ответ на лечение по сравнению с пациентами, в сыворотке крови которых содержание ТК было менее 20 Ед/л. Кроме того, у больных с высоким содержанием ТК достоверно чаще отсутствовал лечебный эффект.

При оценке выживаемости больных, получивших терапию FC, в зависимости от уровня ТК установлено, что медиана общей выживаемости не достигнута за период наблюдения 68 мес., при этом безрецидивная выживаемость составила 37 мес., тогда как у пациентов с высоким содержанием ТК соответствующие значения составили 56 ($p = 0,015$) и 17 мес. ($p = 0,048$). Медиана времени до прогрессии также зависела от уровня ТК. Так, у больных с низким содержанием этого фермента она соответствовала 28 мес., а с высоким уровнем – 18 мес. ($p = 0,028$).

Наряду с этим изучено содержание ТК в сыворотке крови больных, получивших иммунохимиотерапию по программе RFC. Среди пациентов данной группы ТК была определена у 98 больных, из них 54 (55 %) имели уровень ТК < 20 Ед/л (1-я подгруппа) и 44 (45 %) ≥ 20 Ед/л (2-я подгруппа). Установлено, что эффект на терапию RFC не зависел от содержания ТК в сыворотке крови (табл. 4), и у всех больных коэффициент ответа был достоверно выше, чем у пациентов 1-й и 2-й групп ($p = 0,001$). Кроме того, у больных были проанализированы отдаленные результаты иммунохимиотерапии в зависимости от содержания ТК. Медианы общей выживаемости больных 1-й и 2-й подгрупп не достигнуты за 68 мес. наблюдения ($p = 0,367$). Медиана безрецидивной выживаемости у пациентов, имеющих ТК < 20 Ед/л, не достигнута, а у больных с ТК ≥ 20 Ед/л составила 42 мес. ($p = 0,121$). Медиана времени до прогрессии

Таблица 4

Эффективность терапии RFC у больных ХЛЛ
в зависимости от содержания ТК

Эффективность	Количество пациентов		P
	Содержание ТК < 20 Ед/л	Содержание ТК ≥ 20 Ед/л	
Общая эффективность	52 (96 %)	41 (93 %)	0,814
Полная ремиссия	41 (76 %)	28 (64 %)	0,270
Частичная ремиссия	11 (20 %)	13 (29 %)	0,415
Без ответа	2 (4 %)	3 (7 %)	0,814

у больных 1-й подгруппы равнялась 60 мес., тогда как у больных 2-й подгруппы – 44 мес. ($p = 0,156$).

Таким образом, на основании полученных данных установлено, что ответ на терапию больных ХЛЛ, лечившихся различными программами химио- и иммунохимиотерапии, коррелировал с содержанием ТК в сыворотке крови. У пациентов с высоким уровнем ТК (≥ 20 Ед/л) количество полученных полных и частичных ремиссий было значительно меньше, чем у больных, у которых содержание изучаемого фермента было ниже 20 Ед/л. Высокая концентрация ТК ассоциируется не только с непосредственными результатами терапии (после окончания 6 курсов химио- или иммунохимиотерапии), но и с отдаленными результатами лечения – общей и беспрогрессивной выживаемостью, которые были значительно короче у пациентов, имеющих уровень ТК ≥ 20 Ед/л. У больных ХЛЛ при применении паллиативной терапии лейкераном и программы СНОР, а также режима FC содержание ТК в сыворотке крови сохраняет свое прогностическое значение. В то же время иммунохимиотерапия комбинацией RFC нивелирует негативное прогностическое значение ТК как опухолевого маркера в отношении непосредственного эффекта лечения и продолжительности ответа. Использование уровня сывороточной тимидинкиназы в качестве дополнительного критерия опухолевой прогрессии может позволить начинать лечение у больных ХЛЛ в стадии А в более ранние сроки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Клиническая онкогематология: руководство для врачей / Ред. М.А. Волкова. М.: Медицина, 2007. 1120 с.
2. Chen Y., Ying M., Chen Y. et al. Serum thymidine kinase 1 correlates to clinical stages and clinical reactions and monitors the outcome of therapy of

1. 247 cancer patients in routine clinical settings // *Int. J. Clin. Oncol.* 2010. 15. (4). 359–368.
3. Chiorazzi N. Cell proliferation and death: forgotten features of chronic lymphocytic leukemia B cells // *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 2007. 20. 399–413.
4. Goryainova N., Tretyak N., Kyselova O., Mironova O. Prognosis of induction chemotherapy results to thymidine kinase content in blood serum at diagnosis in the patients with acute myeloid leukemia // *Ann. Hematol.* 2006. 85. (1). 22–23.
5. Hallek M., Cheson B.D., Catovsky D. et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute–Working Group 1996 guidelines // *Blood.* 2008. 111. (12). 5446–5456.
6. Hallek M., Pflug N. State of the art treatment of chronic lymphocytic leukaemia // *Blood Rev.* 2011. 25. 1–9.
7. He E., Xu X.H., Guan H. et al. Thymidine kinase 1 is a potential marker for prognosis and monitoring the response to treatment of patients with breast, lung, and esophageal cancer and non-Hodgkin's lymphoma // *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* 2010. 29. (4–6). 352–358.
8. Moreno C., Montserrat E. New prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia // *Blood Rev.* 2008. 22. (4). 211–219.
9. Pan Z.L., Ji X.Y., Shi Y.M. et al. Serum thymidine kinase 1 concentration as a prognostic factor of chemotherapy-treated non-Hodgkin's lymphoma patients // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2010. 136. (8). 1193–1199.
10. Von Euler H., Eriksson S. Comparative aspects of the proliferation marker thymidine kinase 1 in human and canine tumour diseases // *Vet. Comp. Oncol.* 2011. 9. (1). 1–15.
11. Xu W., Shen Q.D., Yu H. et al. Lipoprotein lipase and serum thymidine kinase level in chronic lymphocytic leukemia and their correlations with other prognostic factors // *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi.* 2009. 30. (1). 8–12.

SIGNIFICANCE OF SERUM THYMIDINE KINASE IN PREDICTION OF THE RESPONSE TO THERAPY IN PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

**Tamara Pavlovna ZAGOSKINA¹, Ekaterina Nikolaevna ZOTINA¹,
Mariya Gennadyevna KRYUKOVA¹, Viktor Ivanovich SHARDAKOV¹,
Irina Vladimirovna GRISHINA²**

¹ Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion
610027, Kirov, Krasnoarmeiskaya str., 72

² Kirov State Medical Academy of Minzdrav of Russia
610027, Kirov, Karl Marks str., 112

The prognostic value of serum thymidine kinase was evaluated in 230 patients with chronic lymphocytic leukemia under different types of modern therapy. Thymidine kinase activity in serum was assessed using radioenzyme methods. It is found that the efficiency of the treatment of patients with chronic lymphocytic leukemia using different chemotherapy and immunochemotherapy's programs correlates with the content of thymidine kinase in serum. It was demonstrated that the combination of immunochemotherapy RFC eliminates the negative effect of thymidine kinase as a tumor marker from the direct effect of the treatment and the duration of response. The determination of thymidine kinase in the serum among patients with chronic lymphocytic leukemia can be recommended not only as an additional predictor of the disease and response to the therapy, but also for the selection of adequate treatment programs.

Key words: chronic lymphocytic leukemia, thymidine kinase, the prognosis of the therapy's efficiency.

Zagoskina T.P. – candidate of medical sciences, assistant professor, head of hematology clinic,
e-mail: zagoskina@blood.kirov.ru

Zotina E.N. – junior researcher of hematology clinic, e-mail: enzotina@mail.ru

Kryukova M.G. – candidate of medical sciences, researcher of the laboratory of immunology of leukemia

Shardakov V.I. – doctor of medical sciences, professor, head of the laboratory of immunology of leukemia

Grishina I.V. – candidate of medical sciences, assistant professor of the chair of internal diseases