

¹ГУ «Национальный научный центр радиационной медицины
Национальной академии медицинских наук Украины», Киев

²Национальный институт рака, Киев

РОЛЬ ЛИПИДОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЛЕЙКОЗА



И. В. Абраменко¹, Н. И. Билоус¹,
И. А. Крячок²

Адрес:

Абраменко Ирина Викторовна
04050, Киев, ул. Мельникова, 53
ГУ «Национальный научный центр
радиационной медицины НАМН Украины»
Тел.: (044) 452-00-24
E-mail: nbilous@yahoo.com

42

В статье представлены современные данные о взаимосвязи между нарушениями липидного обмена и развитием хронического лимфолейкоза. Рассмотрены эпидемиологические данные; механизмы влияния липидов на процессы сигнальной трансдукции в лейкоэмических клетках; подходы к терапии больных, основанные на блокаде ключевых молекул липидного обмена.

В последнее время нарушения липидного обмена при хроническом лимфолейкозе (ХЛЛ) привлекают все большее внимание исследователей. Накопленные данные свидетельствуют о возможном промоторном влиянии дислипидемии на развитие заболевания и участии в активации сигнальных путей трансдукции в лейкоэмических клетках, что открывает перспективы воздействия на ключевые аспекты липидного внутриклеточного обмена в терапевтических целях (новые мишени для таргетной терапии).

АССОЦИАЦИЯ ДИСЛИПИДЕМИИ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ХЛЛ

Известно, что ХЛЛ — наиболее распространенная форма лейкемии в странах Европы и США и диагностируется преимущественно у лиц зрелого возраста. Средний возраст заболевших составляет 72 года, а в 70% случаев заболевание развивается у лиц старше 65 лет [1–3]. Согласно данным T. D. Shanafelt и соавторов, 71–75% первичных больных ХЛЛ имеют по крайней мере одно коморбидное заболевание, среди которых наиболее частые — артериальная гипертензия (26%) и дислипидемия (32–34%) [4].

В исследовании S. Chow и соавторов 75% первичных больных ХЛЛ имели повышенный уровень холестерина и/или липопротеинов низкой плотности [5]. Без учета пациентов с наличием делеции 17p в лейкоэмических клетках период до необходимости начала терапии (ТТТ) был более длительным у больных, принимающих препараты, снижающие уровень липидов (статины), — 57,5 мес по сравнению с 36 мес в отсутствие применения статинов.

В популяционном исследовании, проведенном в Канаде, включавшем 2124 больных ХЛЛ и 7935 лиц контрольной группы, стратифицированных по возрасту и полу, показано, что наличие дислипидемии (соотношение шансов — odds ratio [OR] 1,26; 95% доверительный интервал — confidence interval [CI] 1,11–

1,44; $p=0,001$) и гипертензии (OR 1,12; 95% CI 1,01–1,25; $p=0,03$) достоверно повышает риск развития ХЛЛ [6]. Прием статинов в данном исследовании был ассоциирован с более высокими показателями общей выживаемости больных (соотношение рисков — hazard ratio [HR] 0,53; 95% CI 0,47–0,61; $p=0,001$).

Косвенные данные о вероятном влиянии дислипидемии на развитие ХЛЛ получены при исследовании структуры В-клеточного рецептора лейкоэмических клеток. Известно, что более чем у 20% больных структура вариативных участков тяжелых цепей иммуноглобулинов (IGHV) сходна. Случаи ХЛЛ с идентичными IGHV последовательностями объединены в отдельные кластеры, количество которых в настоящее время превышает 600 [7]. Значительная часть рецепторов направлена против эпитопов окисленных липопротеинов низкой плотности и фрагментов апоптотических клеток, появление которых типично для атеросклероза [8–10]. Предполагается, что антигенный стимул является пусковым моментом для пролиферации определенного клона В-лимфоцитов, которые в последующем подвергаются злокачественной трансформации [11].

Интересны также данные о повышении риска развития ХЛЛ у гомозигот минорного аллеля (GG генотип) полиморфизма одного нуклеотида (SNP) rs6449182 гена *CD38* [12, 13]. Данный полиморфизм расположен в регуляторной области первого интрона, и связывание транскрипционного фактора E2A при наличии G аллеля более выраженное, что приводит к повышенной экспрессии молекулы CD38 у носителей генотипа GG [14]. Белок CD38 является одновременно рецептором клеточной мембраны и ферментом, гидролизующим никотинамидадениндинуклеотид (NAD). Тем самым CD38 участвует во многих внутриклеточных процессах, включая и обмен липидов [15]. Установлено, что экспрессия CD38 необходима для развития ожирения у мышей в эксперименте [16, 17]. В этой

Ключевые слова: хронический лимфолейкоз, липиды, липопротеинлипаза, STAT3.

связи обсуждается роль rs6449182 гена *CD38* при ХЛЛ в аспекте влияния на липидный обмен [18]. Примечательно, что распределение генотипов у больных ХЛЛ в нашем исследовании совпадало с таковым у лиц без онкогематологической патологии с наличием признаков дислипидемии, но значительно отличалось от показателей у практически здоровых лиц без признаков дислипидемии [13].

Возможное влияние липидов на развитие лейкемических клеток при ХЛЛ может реализоваться посредством различных механизмов. Первый из них — как антигенный стимул, запускающий каскад активационных сигналов через В-клеточный рецептор. Второй механизм — усиление активационного сигнала, передаваемого посредством цитокинов, за счет изменения липидного состава плазматической мембраны и взаимного расположения лиганд-рецепторных комплексов по отношению к ингибиторным молекулам (фосфатазам). Кроме этого, после расщепления липопротеинов в лизосомах свободные жирные кислоты, холестерин и витамин Е могут служить источником биоактивных липидных молекул, вызывать стресс эндоплазматического ретикулума и ассоциированные с этим каскады сигналов [19].

ЭКСПРЕССИЯ ФЕРМЕНТОВ ОБМЕНА ЛИПИДОВ ПРИ ХЛЛ

Одной из особенностей клеток при ХЛЛ, по сравнению с В-лимфоцитами периферической крови здоровых лиц, является повышенная экспрессия рецепторов, активируемых пероксисомными пролифераторами (peroxisome proliferator-activated receptors — PPARs), а именно PPAR α и PPAR δ . Они принадлежат к семейству ядерных рецепторов, активируются свободными жирными кислотами, эйкозаноидами и после связывания с лигандами активируют транскрипцию ряда генов, участвующих в β -окислении жирных кислот [20]. К генам-мишеням PPAR относятся, в частности, гены карнитин-пальмитоилтрансферазы 1 и 2 (CPT-1, 2), которые опосредуют транспорт жирных кислот через мембраны митохондрий и инициируют их окисление; разобщающие белки митохондрий UCP-1, UCP-2, UCP-3; липопротеинлипаза (ЛПЛ); антиген CD36, являющийся рецептором окисленных липопротеинов. В клетках ХЛЛ найдена повышенная экспрессия CPT-1, UCP-2 [21], CD36 [22], ЛПЛ.

Наиболее изученной является экспрессия ЛПЛ. Это фермент класса гидролаз (EC 3.1.1.34), гидролизующий триглицериды в свободные жирные кислоты. В норме ЛПЛ синтезируется в основном адипоцитами, миоцитами, кардиомиоцитами, макрофагами. В лимфоцитах периферической крови активность ЛПЛ в норме не определяется. В то же время для лейкемических клеток при ХЛЛ характерна aberrantная экспрессия ЛПЛ.

Экспрессия ЛПЛ более высокая у больных мужского пола, с немутированным статусом *IGHV* генов, наличием высокой экспрессии антигенов ZAP-70 и CD38. Больные с высокой экспрессией ЛПЛ имеют значительно более низкие показатели длительности периода до необходимости начала терапии (36 мес против 144 мес; $p=0,002$) и общей выживаемости (136 мес против 258 мес; $p=0,001$) [23]. Отмечена корреляция экспрессии ЛПЛ с наличием мутаций гена *NOTCH1*, однако у больных с отсутствием мутаций гена *NOTCH1* и высокой экспрессией ЛПЛ прогноз заболевания также неблагоприятен [24]. Ввиду выявленного прогностического значения, и поскольку экспрессия ЛПЛ отсутствует или находится на низком уровне в других клетках крови (нет необходимости исследовать чистую популяцию лейкемических клеток), ее исследование предложено использовать в качестве суррогатного маркера определения мутационного статуса *IGHV* генов [25]. В этом отношении ЛПЛ превосходит другой маркер, ассоциированный с мутационным статусом *IGHV* генов, — антиген ZAP-70, поскольку данная киназа также присутствует в рецидуальных Т-лимфоцитах, что мешает интерпретации результатов анализа при исследовании цельной популяции мононуклеаров периферической крови.

Хотя ЛПЛ непосредственно принимает участие в липидном обмене, ее функция при ХЛЛ окончательно не выяснена. Есть данные о низкой ферментативной активности ЛПЛ при ХЛЛ (возможно, это связано с нахождением фермента в виде мономера, тогда как более активен гомодимер). Поэтому дискутируется неферментативная функция ЛПЛ: как рецептора или кофактора, облегчающего взаимодействие лейкемических клеток с микроокружением; модулятора интенсивности и длительности передачи внутриклеточного сигнала при активации В-клеточного рецептора или сигналов при взаимодействии других рецепторов с лигандами [26].

Как установлено U. Rozovski и соавторами, экспрессия ЛПЛ связана с активностью транскрипционного фактора STAT3, который конституционно активирован при ХЛЛ (фосфорилирован по остатку серина 727) посредством действия комплекса казеинкиназы 2 (CK2) с линкерным белком В-клеток (BLNK) и антигеном CD5 [27, 28].

ВОЗДЕЙСТВИЕ НА ЛИПИДНЫЙ ОБМЕН КАК ПОДХОД К ТЕРАПИИ ПРИ ХЛЛ

Установлено, что по высокому уровню использования жиров в качестве источника энергии клетки при ХЛЛ соответствуют клеткам мышечной и жировой ткани. В этой связи воздействие на липидный обмен представляется перспективным.

Одними из первых при ХЛЛ начали использовать статины. Они показали свою эффективность к индукции апоптоза лейкемических клеток *in vitro*, однако при применении в качестве монотерапии на протяжении года у небольшой группы первичных больных ХЛЛ (10 человек) не оказали существенного влияния на размер опухолевого клона [29]. В уже цитированных исследованиях [5, 6], опубликованных в 2016 г., в значительно больших когортах пациентов систематический прием статинов существенно удлинял период до начала терапии и повышал показатели выживаемости. Однако при стратификации пациентов на группы риска эффективность статинов была определена только у больных группы низкого риска [19]. Это соответствует имеющимся данным о том, что по мере прогрессирования ХЛЛ зависимость от экзогенных липидов снижается, а в энергетическом обмене лейкемических клеток возрастает доля гликолиза, что характерно для большинства злокачественных новообразований [21].

Новым в применении статинов является их комбинация с известными химиотерапевтическими средствами при ХЛЛ. Появились данные, что статины повышают чувствительность к различным препаратам через угнетение экспрессии Р-гликопротеина, продукта гена *MDR1* [30]. Транскрипционный контроль *MDR1* осуществляется через активность киназных сигнальных путей Ras/Erk1-2 RhoA/RhoA, которые активируются продуктами биосинтеза мевалоновой кислоты (геранилгеранила пирофосфатом). Статины угнетают этот биохимический сигнальный путь, что снижает экспрессию гена *MDR1* и повышает чувствительность к химиопрепаратам. Группа исследователей Онкологического центра Андерсона (MD Anderson Cancer Center), США, опубликовала результаты ретроспективного анализа терапии 280 больных с рецидивом ХЛЛ или рефрактерностью к терапии, получавших лечение по схеме флударабин + циклофосфамид + ритуксимаб. Часть пациентов также принимали статины ($n=17$), ацетилсалициловую кислоту ($n=21$), статины и ацетилсалициловую кислоту ($n=58$) по показаниям, не связанным с основным заболеванием. Установлено, что наилучший ответ на терапию (100% эффективность, 40% полных ремиссий), более длительная безрецидивная (медиана 6,1 года) и общая выживаемость (медиана 9,2 года) были в группе больных, получавших дополнительно статины и ацетилсалициловую кислоту. В группе пациентов, которые не принимали ни статины, ни ацетилсалициловую кислоту, эти показатели составили 72%, 1,6 и 3,7 года соответственно. При мультивариантном анализе, включавшем стадию заболевания, наличие цитогенетических аномалий, количество курсов предшествующей терапии, рефрактерность к флударабину,

мутационный статус *IGHV* генов, уровень β_2 -микроглобулина, лактатдегидрогеназы, креатинина, прогностическая значимость позитивного влияния комбинации статины + ацетилсалициловая кислота на течение заболевания сохранялась ($p=0,001$) [31].

В качестве других возможных терапевтических мишеней липидного обмена при ХЛЛ также рассматривают:

- PPAR α . Предклинические испытания низкомолекулярных ингибиторов PPAR α NXT629 и MK886 показали высокую эффективность как индуктора апоптоза лейкемических В-клеток при низкой токсичности в отношении нормальных В-лимфоцитов периферической крови доноров [32, 33]. Особенно целесообразно их применение в комбинации с кортикостероидами. Кортикостероиды снижают экспрессию пируваткиназы M2, уровень пирувата и его метаболитов, но одновременно повышают экспрессию PPAR α и окисление жирных кислот, что позволяет клетке компенсировать потери энергии от угнетения гликолиза и обуславливает резистентность к терапии у ряда больных. Сочетание кортикостероидов с ингибиторами PPAR α приводит к значительному усилению клеточной гибели *in vitro* и резко снижает эффективность пересадки лейкемических клеток больных ХЛЛ мышам [34];
- карнитин-пальмитилтрансферазы — ключевые ферменты транспорта жирных кислот в митохондрии для последующего окисления. Выявлено выраженное цитотоксическое действие на клетки больных ХЛЛ *in vitro* и *in vivo* (на модели трансгенных мышей) известного в кардиологии препарата пергексиллин (ингибитор преимущественно CPT-1) [35];
- STAT3 как фактор транскрипции, активирующий метаболизм жирных кислот. Антисмысловые олигонуклеотидные ингибиторы STAT3 разработаны, проходят предклинические испытания и I фазу клинических испытаний (25 больных немелкоклеточным раком легкого и рефрактерными формами не-

ходжкинских злокачественных лимфом) [36].

Таким образом, в литературе появляются данные о важной роли липидного обмена в патогенезе ХЛЛ, охарактеризованы возможные механизмы влияния липидов на инициацию и промоцию опухолевого клона. Воздействие на ключевые аспекты липидного обмена при ХЛЛ имеет определенные перспективы в лечении пациентов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Howlader N., Noone A., Krapcho M. et al. (2011) SEER cancer statistics review, 1975–2009 (vintage 2009 populations). National Cancer Institute, Bethesda. 107 p.
2. Siegel R., DeSantis C., Virgo K. et al. (2012) Cancer treatment and survivorship statistics, 2012. CA Cancer J. Clin., 62(4): 220–241.
3. Xie Y., Davies S.M., Xiang T. et al. (2003) Trends in leukemia incidence and survival in the United States (1973–1998). Cancer, 97(9): 2229–2235.
4. Shanafelt T.D., Bowen D., Venkat C. et al. (2007) Quality of life in chronic lymphocytic leukemia: an international survey of 1482 patients. Brit. J. Haemat., 139: 255–264.
5. Chow S., Buckstein R., Spaner D.E. (2016) A link between hypercholesterolemia and chronic lymphocytic leukemia. Leuk. Lymphoma, 57(4): 797–802.
6. Mozassohn L., Earle C., Spaner D. et al. (2016) The association of dyslipidemia with chronic lymphocytic leukemia: a population-based study. J. Natl. Cancer Inst., 109(3): in press.
7. Agathangelidis A., Darzentas N., Hadzidimitriou A. et al. (2012) Stereotyped B-cell receptors in one-third of chronic lymphocytic leukemia: a molecular classification with implications for targeted therapies. Blood, 119(19): 4467–4475.
8. Que X., Widhopf G.F. 2nd, Amir S. et al. (2013) IGHV1-69-encoded antibodies expressed in chronic lymphocytic leukemia react with malondialdehyde-acetaldehyde adduct and an immunodominant oxidation-specific epitope. PLoS One, 8(6): e65203.
9. Rarp M., Giannopoulos K. (2013) Antigen stimulation in the development of chronic lymphocytic leukemia. Postep. Hig. Med. Dosw, 67: 1204–1213.
10. Lanemo Myhrinder A., Hellqvist E., Sidorova E. et al. (2008) A new perspective: molecular motifs on oxidized LDL, apoptotic cells, and bacteria are targets for chronic lymphocytic leukemia antibodies. Blood, 111: 3838–3848.
11. Hatzl K., Cattera R., Moreno Atanasio C. et al. (2016) Chronic lymphocytic leukemia immunoglobulins display bacterial reactivity that converges and diverges from auto-/poly-reactivity and IGHV mutation status. Clin. Immunol., 172: 44–51.
12. Jamrozik K., Szemraj Z., Grzybowska-Lzydorczyk O. et al. (2009) CD38 gene polymorphisms contribute to genetic susceptibility to B-cell chronic lymphocytic leukemia: evidence from two case-control studies in Polish Caucasians. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., 18(3): 945–953.
13. Abramenko I.V., Bilous N.I., Pleskach G.V. et al. (2012) CD38 gene polymorphism and risk of chronic lymphocytic leukemia. Leuk. Res., 36(10): 1237–1240.
14. Saborit-Villarroya I., Vaisitti T., Rossi D. et al. (2011) E2A is a transcriptional regulator of CD38 expression in chronic lymphocytic leukemia. Leukemia, 25: 479–488.
15. Aksoy P., White T.A., Thompson M., Chini E.N. (2006) Regulation of intracellular levels of NAD: a novel role for CD38. Biochem. Biophys. Res. Commun., 345(4): 1386–1392.
16. Drew J.E., Farquharson A.J., Horgan G.W., Williams L.M. (2016) Tissue-specific regulation of sirtuin and

nicotinamide adenine dinucleotide biosynthetic pathways identified in C57Bl/6 mice in response to high-fat feeding. J. Nutr. Biochem., 37: 20–29.

17. Haffner C.D., Becherer J.D., Boros E.E. et al. (2015) Discovery, synthesis, and biological evaluation of thiazoloquin(az)olin(on)s as potent CD38 inhibitors. J. Med. Chem., 58(8): 3548–3571.
18. Jamrozik K., Tukiendorf A. (2012) Variants of CD38 gene and lipid metabolism: a link in chronic lymphocytic leukemia? Leuk. Res., 36(10): 1227–1228.
19. McCaw L., Shi T., Wang G. et al. (2017) Low density lipoproteins amplify cytokine-signaling in chronic lymphocytic leukemia cells. Ebio Medicine, 15: 24–35.
20. Fu J., Gaetani S., Oveisi F. et al. (2003) Oleylethanolamide regulates feeding and body weight through activation of the nuclear receptor PPAR-alpha. Nature, 425(6953): 90–93.
21. Marignac V.M., Smith S., Toban N. et al. (2013) Resistance to Dasatinib in primary chronic lymphocytic leukemia lymphocytes involves AMPK-mediated energetic re-programming. Oncotarget, 4(12): 2550–2566.
22. Rutella S., Rumi C., Puggioni P. et al. (1999) Expression of thrombospondin receptor (CD36) in B-cell chronic lymphocytic leukemia as an indicator of tumor cell dissemination. Haematologica, 84(5): 419–424.
23. Matrai Z., Andriukovics H., Azilvasi A. et al. (2017) Lipoprotein lipase as a prognostic marker in chronic lymphocytic leukemia. Pathol. Oncol. Res., 23(1): 165–171.
24. Kristensen L., Kristensen T., Abildgaard N. et al. (2016) LPL gene expression is associated with poor prognosis in CLL and closely related to NOTCH1 mutations. Eur. J. Hematol., 97(2): 175–182.
25. Hartman M.L., Kilianska Z.M. (2012) Lipoprotein lipase: a new prognostic factor in chronic lymphocytic leukaemia. Contemp. Oncol. (Pozn), 16(6): 474–479.
26. Rombout A., Verhasselt B., Philippé J. (2016) Lipoprotein lipase in chronic lymphocytic leukaemia: function and prognostic implications. Eur. J. Haematol., 97(5): 409–415.
27. Rozovski U., Grgurevic S., BuesopRamoss C. et al. (2015) Aberrant LPL expression, driven by STAT3, mediates free fatty acid metabolism in CLL cells. Mol. Cancer Res., 13(5): 944–953.
28. Rozovski U., Harris D.M., Li P. et al. (2017) Constitutive phosphorylation of STAT3 by CK2-BLNK-CD5 complex. Mol. Cancer Res. (in press).
29. Vitols S., Angelin B., Juliusson G. (1997) Simvastatin impairs mitogen-induced proliferation of malignant B-lymphocytes from humans — *in vitro* and *in vivo* studies. Lipids, 32(3): 255–262.
30. Rigoni M., Riganti C., Vitale C. et al. (2015) Simvastatin and downstream inhibitors circumvent constitutive and stromal cell-induced resistance to doxorubicin in IGHV unmutated CLL cells. Oncotarget, 6(30): 29833–29846.
31. Chae YK., Trinh L., Jain P. et al. (2014) Statin and aspirin use is associated with improved outcome of FCR therapy in relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia. Blood, 123(9): 1424–1426.
32. Messmer D., Lorrain K., Stebbins R. et al. (2015) A selective novel peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)- α antagonist induces apoptosis and inhibits proliferation of CLL Cells *in vitro* and *in vivo*. Mol. Med., 21: 410–419.
33. Spaner D.E., Lee E., Shi Y. et al. (2013) PPAR-alpha is a therapeutic target for chronic lymphocytic leukemia. Leukemia, 27(5): 1090–1099.
34. Tung S., Shi Y., Wong K. et al. (2013) PPAR α and fatty acid oxidation mediate glucocorticoid resistance in chronic lymphocytic leukemia. Blood, 122(6): 969–980.
35. Liu P.P., Liu J., Jiang W.Q. et al. (2016) Elimination of chronic lymphocytic leukemia cells in stromal micro-environment by targeting CPT with an antiangiogenic drug perhexiline. Oncogene, 35(43): 5663–5673.
36. Hong D., Kurzrock R., Kim Y. et al. (2015) AZD9150, a next-generation antisense oligonucleotide inhibitor of STAT3 with early evidence of clinical activity in lymphoma and lung cancer. Sci. Transl. Med., 7(314): 314ra185.

Роль ліпідів у патогенезі хронічної лімфоцитарної лейкемії

I.V. Abramenko¹, N.I. Bilous¹, I.A. Kriachok²

¹ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України», Київ
²Національний інститут раку, Київ

Резюме. У статті наведені сучасні дані щодо взаємозв'язку між порушеннями ліпідного обміну та розвитком хронічної лімфоцитарної лейкемії. Розглянуто епідеміологічні дані; механізми впливу ліпідів на шляхи сигнальної трансдукції в лейкемічних клітинах; підходи до терапії хворих, що засновані на блокуванні ключових молекул ліпідного обміну.

Ключові слова: хронічний лімфолейкоз, ліпіди, ліпопротеїналіпаза, STAT3.

Lipids in pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia

I.V. Abramenko¹, N.I. Bilous¹, I.A. Kriachok²

¹SI «National Research Center of Radiation Medicine, National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv
²National Cancer Institute, Kyiv

Summary. The paper is devoted to revealed associations between development of chronic lymphocytic leukemia and alterations of lipid metabolism. Epidemiological data, mechanisms of lipid's influence on the cellular signaling pathways and new approaches to therapy of chronic lymphocytic leukemia patients based on inhibition of the key molecules of lipid metabolism are discussed.

Keywords: chronic lymphocytic leukemia, lipids, lipoprotein lipase, STAT3.