

ЛИМФОИДНЫЕ ОПУХОЛИ

LYMPHOID TUMORS

<https://doi.org/10.21320/2500-2139-2025-18-1-65-72>

<https://doi.org/10.21320/2500-2139-2025-18-1-65-72>

Прогностическое значение экспрессии галектина-1 опухолевыми плазматическими клетками и концентрации некоторых сывороточных цитокинов (IL-2, IL-6, TNF) у пациентов с моноклональной гаммапатией неопределенного значения и множественной миеломой

The Prognostic Value of the Galectin-1 Expression by Tumor Plasma Cells and the Concentration of Some Serum Cytokines (IL-2, IL-6, TNF) in Patients with Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance and Multiple Myeloma

Ж.М. Козич¹, В.Н. Мартинков¹, Д.А. Зиновкин^{1,2}, Ж.Н. Пугачева¹, Н.Н. Климович³

Zh.M. Kozich¹, V.N. Martinkov¹, D.A. Zinovkin^{1,2}, Zh.N. Pugacheva¹, N.N. Klimkovich³

¹ ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», ул. Ильича, д. 290, Гомель, Республика Беларусь, 246040

¹ Republican Scientific and Practical Center for Radiation Medicine and Human Ecology, 290 Ilicha ul., Gomel, Republic of Belarus, 246040

² УО «Гомельский государственный медицинский университет», ул. Ланге, д. 5, Гомель, Республика Беларусь, 246000

² Gomel State Medical University, 5 Lange ul., Gomel, Republic of Belarus, 246000

³ УО «Белорусский государственный медицинский университет», Институт повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения, ул. П. Бровки, д. 3, корп. 3, Минск, Республика Беларусь, 220013

³ Belarus State Medical University, Institute for Advanced Training and Retraining of Health Personnel, 3 korp. 3 P. Brovki ul., Minsk, Republic of Belarus, 220013

РЕФЕРАТ

ABSTRACT

ЦЕЛЬ. Изучить прогностическое значение экспрессии галектина-1 опухолевыми плазматическими клетками (ПК) костного мозга (КМ) и концентрации сывороточных цитокинов (интерлейкинов [IL-2, IL-6], фактора некроза опухоли [TNF]) у пациентов с моноклональной гаммапатией неопределенного значения (МГНЗ) и множественной миеломой (ММ).

AIM. To study the prognostic value of the galectin-1 expression by bone marrow (BM) tumor plasma cells (PCs) and the concentration of serum cytokines (interleukins [IL-2, IL-6] and tumor necrosis factor [TNF]) in patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and multiple myeloma (MM).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. В исследование включено 129 пациентов: 77 с впервые диагностированной ММ (медиана возраста 64 года) и 52 с МГНЗ (медиана возраста 62,5 года), наблюдавшихся в ГУ РНПЦ РМ и ЭЧ в период с 2018 по 2023 г. Всем пациентам выполнены общеклинические обследования, а также цитологическое исследование аспирата КМ с подсчетом миелограммы и трепанобиопсия подвздошной кости с иммуногистохимическим (ИГХ) исследованием биоптата КМ.

MATERIALS & METHODS. The trial enrolled 129 patients: 77 patients with newly diagnosed MM (median age 64 years) and 52 patients with MGUS (median age 62.5 years) followed-up at the Republican Scientific and Practical Center for Radiation Medicine and Human Ecology from 2018 to 2023. All patients underwent general clinical examination as well as BM aspirate cytology with myelogram and iliac BM core biopsy with immunohistochemical (IHC) analysis of BM biopsy.

РЕЗУЛЬТАТЫ. При ИГХ-исследовании в биоптате КМ выявлено статистически значимое повышение уровня экспрессии галектина-1 (оцененного по числу экспрес-

RESULTS. In the BM biopsy, the IHC analysis revealed a significant increase of galectin-1 expression (measured by expressing tumor PC count) in MM vs. MGUS patients ($p < 0.001$). Galectin-1 expression defined as expressing tu-

сирующих опухолевых ПК) у пациентов с ММ в сравнении с группой МГНЗ ($p < 0,001$). Показатель экспрессии галектина-1, определяемый как число экспрессирующих опухолевых ПК, был статистически значимо выше у пациентов с прогрессированием МГНЗ в сравнении с группой без признаков прогрессирования в ММ ($p < 0,001$). Медиана уровня экспрессии галектина-1 при отсутствии признаков прогрессирования МГНЗ составила 8,5 % (Q25 0,2 %; Q75 15,7 %), а при наличии признаков прогрессирования — 37,4 % (Q25 24,7 %; Q75 64,0 %). При ММ статистически значимых изменений у пациентов с прогрессированием опухоли и без таковой не выявлено. При ИГХ-исследовании трепанобиоптата КМ у пациентов с ММ высокий уровень экспрессии галектина-1 ПК ассоциировался с выраженной сосудистой сетью и не был связан с развитием фиброзных изменений, отмечалось повышение концентрации IL-2 и TNF в сыворотке, а также прямая корреляция с уровнем β 2-микроглобулина. При прогрессировании МГНЗ в ММ обнаруживалась прямая корреляция между уровнем экспрессии галектина-1 и М-протеином сыворотки. Повышение концентрации IL-2 регистрировалось только при прогрессировании МГНЗ в ММ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Результаты настоящего исследования свидетельствуют о высоком уровне экспрессии галектина-1 опухолевыми ПК при ММ. Повышение экспрессии галектина-1 клональными ПК в КМ при МГНЗ было связано с прогрессированием заболевания. Экспрессия галектина-1 клональными ПК в КМ вполне может использоваться в клинике в качестве маркера прогрессирования МГНЗ в ММ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: галектин-1, интерлейкин-2, интерлейкин-6, фактор некроза опухолей, моноклональная гаммапатия неопределенного значения, множественная миелома, прогрессирование, прогноз.

Получено: 1 августа 2024 г.

Принято в печать: 30 ноября 2024 г.

Для переписки: Жанна Михайловна Козич, канд. мед. наук, ул. Ильича, д. 290, Гомель, Республика Беларусь, 246040; тел.: 8(0232)38-97-51; e-mail: jannakozi@rambler.ru

Для цитирования: Козич Ж.М., Мартинков В.Н., Зиновкин Д.А., Пугачева Ж.Н., Климович Н.Н. Прогностическое значение экспрессии галектина-1 опухолевыми плазматическими клетками и концентрации некоторых сывороточных цитокинов (IL-2, IL-6, TNF) у пациентов с моноклональной гаммапатией неопределенного значения и множественной миеломой. Клиническая онкогематология. 2025;18(1):65–72. doi: 10.21320/2500-2139-2025-18-1-65-72.

mor PC count was significantly higher in patients with progressing MGUS compared to progression-free MM patients ($p < 0.001$). The median galectin-1 expression level was 8.5 % (Q25 0.2 %; Q75 15.7 %) in progression-free MGUS patients and 37.4 % (Q25 24.7 %; Q75 64.0 %) in progressing MGUS patients. Among MM patients, no significant differences were identified either in those with and without tumor progression. The IHC analysis of BM core biopsies in MM patients showed that high galectin-1 expression level is associated with pronounced vasculature but not with fibrotic changes, it also identified an increase in serum concentrations of IL-2 and TNF as well as a direct correlation with β 2-microglobulin level. With MGUS progression into MM, there was a direct correlation between galectin-1 expression level and serum M-protein. An increase of IL-2 concentration was registered only when MGUS progressed into MM.

CONCLUSION. The results of this study indicate the evidence of a high level of galectin-1 expression by tumor PCs in MM. In MGUS, an increase of galectin-1 expression by clonal BM PCs was associated with the disease progression. Galectin-1 expression by clonal BM PCs can well be clinically used as a marker for MGUS progression into MM.

KEYWORDS: galectin-1, interleukin-2, interleukin-6, tumor necrosis factor, monoclonal gammopathy of undetermined significance, multiple myeloma, progression, prognosis.

Received: August 1, 2024

Accepted: November 30, 2024

For correspondence: Zhanna Mikhailovna Kozich, MD, PhD, 290 Ilich ul., Gomel, Republic of Belarus, 246040; Tel.: 8(0232)38-97-51; e-mail: jannakozi@rambler.ru

For citation: Kozich Zh.M., Martinkov V.N., Zinovkin D.A., Pugacheva Zh.N., Klimkovich N.N. The Prognostic Value of the Galectin-1 Expression by Tumor Plasma Cells and the Concentration of Some Serum Cytokines (IL-2, IL-6, TNF) in Patients with Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance and Multiple Myeloma. Clinical oncohematology. 2025;18(1):65–72. (In Russ). doi: 10.21320/2500-2139-2025-18-1-65-72.

ВВЕДЕНИЕ

Множественная миелома (ММ) и предшествующие ей состояния, такие как тлеющая миелома (ТМ) и моноклональная гаммапатия неопределенного значения (МГНЗ), относятся к плазматическим пролиферациям, в основе развития которых лежат

молекулярно-генетические изменения, приводящие к увеличению количества клональных опухолевых плазматических клеток (ПК) в костном мозге (КМ), продуцирующих моноклональный иммуноглобулин (М-протеин).

МГНЗ и ТМ прогрессируют до ММ с частотой около 1 и 10 % в год соответственно [1]. В этой связи одной из важных клинических проблем остается прогно-

зирование времени до прогрессирования, которое индивидуально в каждом конкретном наблюдении и зависит от множества факторов.

Немаловажную роль в развитии и прогрессировании при плазмноклеточных пролиферациях играет микроокружение опухоли в КМ. Реактивное микроокружение опухоли при ММ состоит из различных клеточных элементов (эндотелиальных, клеток стромы, остеокластов, остеобластов, иммунных клеток и др.), внеклеточных фракций (факторов роста, цитокинов и хемокинов) и внеклеточного матрикса [2]. Взаимодействие опухолевых ПК с различными компонентами микроокружения и факторами среды влияет на течение и прогноз заболевания. В связи с этим целесообразно использование гистологического и иммуногистохимического (ИГХ) исследований, что дает возможность не только выявить объем и тип инфильтрации КМ, но и обнаружить экспрессию дополнительных маркеров, позволяющих прогнозировать клиническое течение заболевания.

В последнее десятилетие в литературе широко обсуждается вопрос о роли галектинов в прогрессировании опухолей. Галектины представляют собой растворимые белки, которые экспрессируются различными типами клеток и выполняют свои функции как внутриклеточно, так и внеклеточно. К настоящему времени у человека идентифицировано 17 галектинов [3]. Высокая экспрессия некоторых из них может служить независимым неблагоприятным прогностическим фактором прогрессирования заболевания при различных видах опухолей [4]. Наиболее широко при злокачественных новообразованиях изучена роль галектинов-1, -3, -9. Однако роль галектина-1 в прогрессировании при плазмноклеточных пролиферациях до настоящего времени нуждается в уточнении. Галектин-1 — это лектин, относящийся к семейству белков галектинов с широким спектром биологической активности. Он экспрессируется различными опухолевыми клетками, а также компонентами стромы, включая фибробласты, нейтрофилы, макрофаги, дендритные клетки и Т-лимфоциты [5, 6]. По данным S. Abgoun и соавт. [7], галектин-1 также экспрессируется в микроокружении КМ у пациентов с ММ [7].

Цитокины представляют собой сигнальные молекулы, секретируемые различными типами клеток в виде растворимых белков, которые, взаимодействуя со специфическими рецепторами на поверхности клеток-мишеней, запускают различные клеточные программы [8]. По данным F.-T. Liu и соавт. [9], галектины и цитокины взаиморегулируемы. Цитокины могут регулировать экспрессию и влиять на функцию галектинов, однако возможно регулирующее воздействие галектинов на выработку и функцию цитокинов [9]. Кроме того, было показано, что галектин-1 модулирует воспалительные программы путем противодействия синтезу провоспалительных цитокинов и иммунных клеток [10].

Учитывая роль галектина-1 и цитокинов в прогрессировании многих опухолей, представляется актуальным их исследование при МГНЗ и ММ.

Цель настоящей работы — изучить прогностическое значение экспрессии галектина-1 опухолевыми

ПК в КМ и концентрации сывороточных цитокинов (IL-2, IL-6, TNF) у пациентов с МГНЗ и ММ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 129 пациентов: 77 с впервые диагностированной ММ (медиана возраста 64 года) и 52 с МГНЗ (медиана возраста 62,5 года), наблюдавшихся в ГУ РНПЦ РМ и ЭЧ в период с 2018 по 2023 г. Диагноз ММ и МГНЗ поставлен согласно международным критериям [11].

Всем пациентам после подписания информированного согласия были выполнены общеклинические исследования: общий клинический анализ крови, биохимический анализ крови, общий анализ мочи, определение уровня моноклонального белка в сыворотке с использованием метода иммунофиксации. Поверхностную экспрессию антигенов CD138, CD56, CD19, CD81, CD27, CD45, CD33, CD20, CD200, CD117, CD95 на клональных клеточных линиях определяли методом проточной цитометрии (двухлазерный проточный цитофлюориметр FACSCalibur, Becton Dickinson, США) с использованием программного обеспечения CellQwest. Оценка интенсивности экспрессии антигенов проводилась по параметру средней интенсивности флюоресценции, выраженной в условных единицах. Клональные ПК были идентифицированы на основе изучения экспрессии CD138 и CD38, а также отсутствия экспрессии CD19.

Уровень галектина-1 в сыворотке определяли с использованием набора ELISA Human Galectin-1 Quantikine (R&D Systems, США) согласно инструкции. Уровень интерлейкина-2 (IL-2), интерлейкина-6 (IL-6) и фактора некроза опухолей (TNF) в сыворотке оценивали с использованием наборов ELISA (R&D Systems, США) в соответствии с инструкциями производителя.

Кроме того, всем пациентам выполнена пункция КМ с иммунофенотипическим исследованием и трепанобиопсия подвздошной кости с гистологическим и ИГХ-исследованиями КМ. ИГХ-исследование проводилось трехшаговым авидин-биотин-пероксидазным методом в срезах с парафиновых блоков толщиной 5 мкм по стандартному протоколу на иммуногистостейнере Roche Ventana BenchMark Ultra (США) с применением системы OptiView DAB IHC и с использованием моноклональных антител к CD138, CD56, легким цепям иммуноглобулинов κ и λ , галектину-1. Сосуды определяли окрашиванием эндотелия CD34. Морфометрическая оценка проводилась в 3 неперекрывающихся полях зрения при увеличении в 400 раз. Количество мегакариоцитов, клеток CD138+, CD56+ и CD34+ оценивалось как среднее значение числа данных клеток в неперекрывающихся полях зрения. ИГХ-окрашивание антителом к галектину-1 было выполнено для обнаружения экспрессии этого белка клональными ПК в КМ. Экспрессия легких (κ , λ) цепей иммуноглобулинов галектина-1 определялась как относительное число DAB-позитивных клеток в процентах к общему их количеству в поле зрения. Фиброз стромы КМ оценивался полуколичественным методом как наличие либо отсутствие данных морфологических изменений. Количество сосудов изме-

рялось в участках наибольшего их скопления («hot spot»). Морфометрические исследования проводились с применением пакета программ ImageJ (NIH, США).

Все пациенты с ММ получали стандартную противоопухолевую терапию на основе бортезомиба (VCD, PAD, VD, VMP), согласно протоколу лечения для каждой возрастной группы. Прогрессирование ММ оценивалось на различных этапах течения болезни.

К признакам прогрессирования МГНЗ относили появление одного из CRAB-критериев (анемии, гиперкальциемии, лабораторных признаков поражения почек, появления очагов деструкции в костях).

Статистический анализ

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием пакета программ STATISTICA v.6.1. Значимость различий оценивалась с помощью критерия Манна—Уитни и критерия χ^2 . Корреляционные связи выявляли с использованием критерия Спирмена (r). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследуемые группы МГНЗ и ММ не отличались по возрасту пациентов. В группе МГНЗ преобладали лица женского пола. Группы пациентов различались по иммунохимическому варианту опухоли ($p = 0,005$). При ММ чаще встречались пациенты с секрецией IgG, IgA, IgM и легких цепей иммуноглобулинов, а при МГНЗ отмечалась секреция IgG и легких цепей иммуноглобулинов (табл. 1).

По данным ИГХ-исследования в биоптатах КМ у пациентов с ММ в большинстве случаев преобладал диффузный со скоплениями или диффузный без скоплений тип инфильтрации опухолевыми ПК CD138+ (рис. 1).

При МГНЗ в трепанобиоптате чаще встречались единичные клональные ПК или диффузный тип инфильтрации КМ. Следует отметить, что увеличение количества клональных ПК CD138+ по данным ИГХ-исследования биоптата КМ отмечалось у 26 из 52 пациентов с МГНЗ.

У пациентов с ММ выявлено статистически значимое повышение числа опухолевых ПК, экспрессирующих галектин-1, — в 8 раз в сравнении с группой МГНЗ ($p < 0,001$) (рис. 2).

При МГНЗ в трепанобиоптате определялись единичные скопления опухолевых клеток с плазмочитовой морфологией, экспрессирующих галектин-1 (рис. 3, А). У части пациентов с ММ отмечалась диффузная инфильтрация КМ преимущественно опухолевыми ПК, активно экспрессирующими галектин-1 (рис. 3, Б). Уровень экспрессии галектина-1 по числу экспрессирующих клональных ПК у пациентов с ММ был несколько выше при диффузном со скоплениями ПК типе инфильтрации КМ в сравнении с диффузным типом без скоплений ПК ($p = 0,004$).

За время наблюдения прогрессирование МГНЗ до ММ зафиксировано у 13,5% (7/45) пациентов. При прогрессировании МГНЗ отмечались рост стромы и повышение васкуляризации КМ (CD34+), особенно в очагах

Таблица 1. Характеристика пациентов с МГНЗ и ММ ($n = 129$)

Показатель	ММ ($n = 77$)	МГНЗ ($n = 52$)
Возраст*, лет	64 (57;70)	62,5 (58;66)
Мужской/женский пол, n	44/33 (57,1/42,9 %)	18/34 (34,6/65,4 %)
ИГХ-вариант, n		
IgG	37 (48,1 %)	28 (53,8 %)
IgA	18 (23,4 %)	3 (5,8 %)
IgM	1 (1,3 %)	5 (9,6 %)
Легкие цепи иммуноглобулинов (к, л)	17 (22,1 %)	8 (15,4 %)
Несекретирующая миелома	2 (2,6 %)	1 (1,9 %)
Число клональных ПК в аспирате КМ*, %	15,0 (8,1;36,0)	1,55 (0,8;4,3)
Число клональных ПК в биоптате КМ*, %	65,7 (46,8;93,6)	9,9 (3,4;15,9)
Число клональных ПК, экспрессирующих галектин-1, в биоптате КМ*, %	79,7 (57,8;96,4)	9,9 (4,5;17,8)
Концентрация в сыворотке*		
Галектин-1, нг/мл	7,6 (4,6;17,0)	9,9 (4,6;22,1)
IL-2, пг/мл	2,9 (2,2;3,8)	2,7 (1,8;3,6)
IL-6, пг/мл	4,1 (2,7;10,5)	3,5 (2,1;4,7)
TNF, пг/мл	4,8 (3,8;6,4)	4,6 (3,5;7,8)
ЛДГ > 280 ЕД/л, n	9 (11,7 %)	4 (7,7 %)
β 2-микроглобулин > 3 мг/л, n	59 (76,6 %)	19 (36,5 %)
М-градиент > 15 г/л, n	41 (61,2 %)	10 (19,6 %)
Тип инфильтрации КМ CD138+ ПК, n		
Диффузный со скоплениями ПК	54 (70,1 %)	10 (19,2 %)
Диффузный без скоплений ПК	19 (24,7 %)	20 (38,5 %)
Очаговый	4 (5,2 %)	7 (13,5 %)
Единичные клональные ПК	0 (0 %)	15 (28,8 %)
Поражение костей скелета, n	69 (89,6 %)	7 (13,5 %)

IL — интерлейкин; TNF — фактор некроза опухолей; ИГХ — иммуногистохимический; КМ — костный мозг; ЛДГ — лактатдегидрогеназа; МГНЗ — моноклональная гаммапатия неопределенного значения; ММ — множественная миелома; ПК — плазматические клетки.

* Данные представлены в виде медианы (25-го;75-го квартилей).

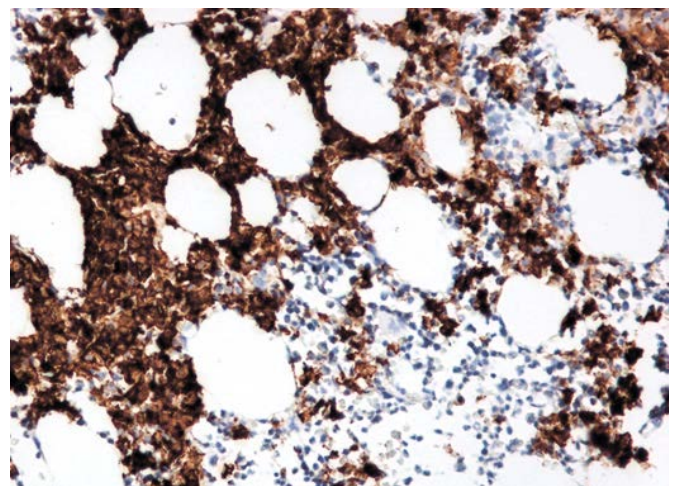


Рис. 1. Множественная миелома. Трепанобиоптат костного мозга. Плотная диффузная инфильтрация костного мозга опухолевыми плазматическими клетками CD138+. Контр-окрашивание гематоксилином Майера, $\times 100$

Fig. 1. Multiple myeloma. Bone marrow core biopsy sample. Dense diffuse bone marrow infiltration by CD138+ tumor plasma cells. Mayer's hematoxylin counterstaining, $\times 100$

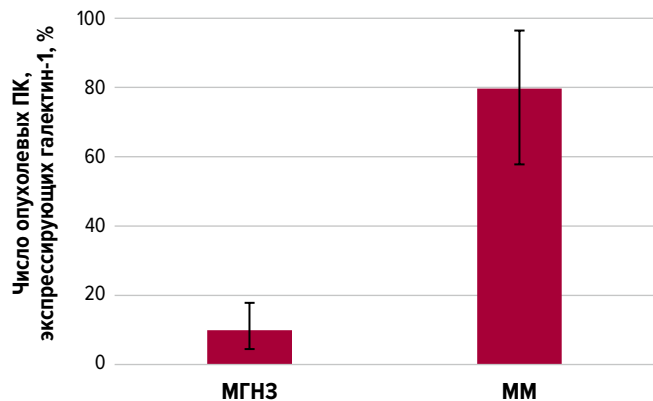


Рис. 2. Экспрессия галектина-1 опухолевыми плазматическими клетками в биоптате костного мозга при МГНЗ и ММ: медиана 9,9 (25-й и 75-й квартили — 4,5 и 17,8 %) и 79,7 % (25-й и 75-й квартили — 57,8 и 96,4 %) соответственно

МГНЗ — моноклональная гаммапатия неопределенного значения; ММ — множественная миелома; ПК — плазматические клетки.

Fig. 2. Galectin-1 expression by tumor plasma cells in bone marrow biopsy in MGUS and MM: median of 9.9 % (quartile 25 and quartile 75 are 4.5 % and 17.8 %) and 79.7 % (quartile 25 and quartile 75 are 57.8 % and 96.4 %), respectively

МГНЗ — monoclonal gammopathy of undetermined significance; ММ — multiple myeloma; ПК — plasma cells.

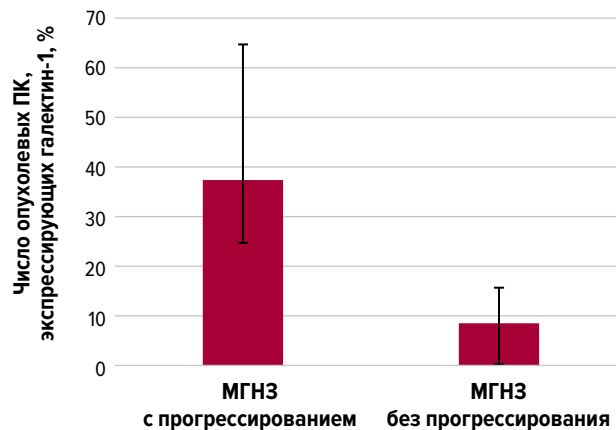


Рис. 4. Уровень экспрессии галектина-1 опухолевыми плазматическими клетками при МГНЗ с прогрессированием в ММ и без такового: медиана 37,4 (25-й и 75-й квартили — 24,7 и 64,7 %) и 8,5 % (25-й и 75-й квартили — 0,2 и 15,7 %) соответственно

МГНЗ — моноклональная гаммапатия неопределенного значения; ПК — плазматические клетки.

Fig. 4. The level of galectin-1 expression by tumor plasma cells in MGUS with and without progression into MM: median of 37.4 % (quartile 25 and quartile 75 are 24.7 % and 64.7 %) and 8.5 % (quartile 25 and quartile 75 are 0.2 % and 15.7 %), respectively

МГНЗ — monoclonal gammopathy of undetermined significance; ПК — plasma cells.

скопления ПК. При этом уровень экспрессии галектина-1 в КМ по числу экспрессирующих ПК у пациентов с прогрессированием МГНЗ в ММ был значимо выше и составил 37,4 % (25-й и 75-й квартили — 24,7 и 64,7 %) в сравнении с пациентами, у которых сохранялось стабильное состояние (8,5 %; 25-й и 75-й квартили — 0,2 и 15,7 % (отношение шансов 1,19; 95%-й доверительный интервал 1,04–1,36; $p < 0,001$) (рис. 4).

В процессе наблюдения прогрессирование ММ отмечалось у 39 % (30/77) пациентов. При анализе экспрессии галектина-1 клональными ПК в КМ не выявлено значимых различий у пациентов с прогрессированием ММ и без такового ($p = 0,534$).

Однако у пациентов с прогрессированием ММ в сравнении с группой без прогрессирования обнаружено статистически значимое повышение концентрации ИЛ-2 (3,4 vs 2,7 пг/мл; диапазон 2,6–4,5 vs 1,8–3,5 пг/мл; $p = 0,022$) и TNF (5,5 vs 4,4 пг/мл; диапазон 4,4–10,7 vs 3,4–5,5 пг/мл; $p = 0,007$) в сыворотке. Значимых различий в уровне сывороточных интерлейкинов у пациентов с МГНЗ в группах с прогрессированием и без такового не установлено.

Выявлена прямая корреляция между экспрессией галектина-1 и концентрацией β 2-микроглобулина

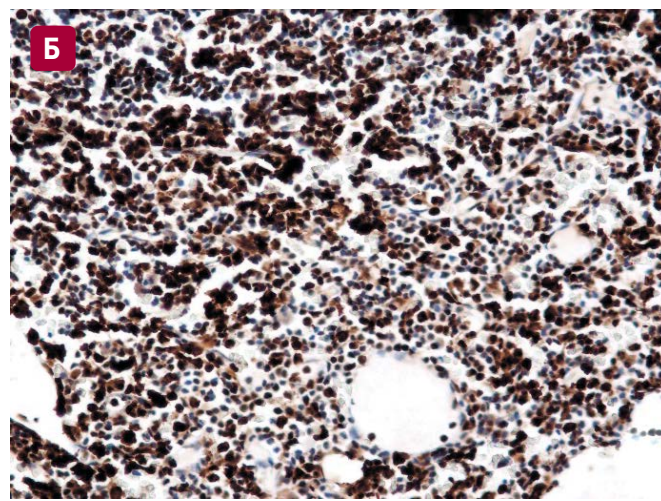
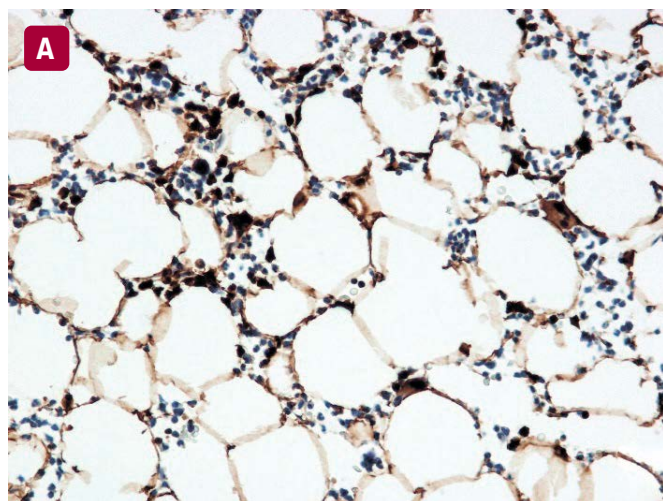


Рис. 3. Трепанобиоптат костного мозга. Контр-окрашивание гематоксилином Майера, $\times 100$:

А — единичные галектин-1-положительные плазматические клетки в костном мозге при МГНЗ; Б — плотная диффузная инфильтрация костного мозга клональными плазматическими клетками с выраженной экспрессией галектина-1 при ММ

Fig. 3. Bone marrow core biopsy sample. Mayer's hematoxylin counterstaining, $\times 100$:

А — single galectin-1-positive bone marrow plasma cells in MGUS; Б — dense diffuse bone marrow infiltration by clonal tumor plasma cells with pronounced galectin-1 expression in MM

при ММ ($r = 0,29$; $p = 0,010$), а также между экспрессией галектина-1 и количеством М-протеина в сыворотке при МГНЗ ($r = 0,28$; $p = 0,044$). Кроме того, определена значимая обратная корреляция между экспрессией галектина-1 и экспрессией иммунофенотипического маркера апоптоза CD95 как при МГНЗ ($r = -0,39$; $p = 0,005$), так и при ММ ($r = -0,36$; $p = 0,001$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на то что доказана роль галектина-1 в ангиогенезе, метастазировании при многих злокачественных опухолях, его значение при плазмноклеточных новообразованиях пока изучено недостаточно.

В настоящем исследовании получены новые данные о выраженности экспрессии галектина-1 клональными ПК в КМ при плазмноклеточных опухолях.

Показано, что высокая экспрессия галектина-1, оцененная по числу экспрессирующих опухолевых ПК, отмечалась чаще у пациентов с ММ, чем при МГНЗ. Кроме того, экспрессия галектина-1 была выше у пациентов с МГНЗ, имеющих признаки прогрессирования в ММ, в сравнении с группой без прогрессирования, что подтверждает факт экспрессии галектина-1 клетками опухоли.

I. Samby и соавт. показали, что неблагоприятный прогноз, связанный с экспрессией опухолевыми клетками галектина-1, в основном сопряжен с галектин-опосредованным апоптозом [5]. A. Anginot и соавт. предположили, что высокий уровень внутриклеточного галектина-1 защищает клетки ММ от апоптоза [12]. В ранее опубликованной нами работе при исследовании уровня экспрессии CD95, маркера апоптотической активности, на опухолевых ПК было показано, что у пациентов с МГНЗ, имеющих признаки трансформации в ММ, отмечалось значимое его снижение. Это подтверждало тот факт, что при прогрессировании МГНЗ опухолевые клетки менее подвержены апоптозу [13]. Повышенная экспрессия галектина-1 клональными ПК связана со снижением уровня экспрессии CD95 в КМ. Это свидетельствует о повышении жизнеспособности опухолевых ПК при прогрессировании МГНЗ.

Согласно данным D.O. Croci и соавт., галектин-1 позволяет распознать гликозилированные рецепторы на эндотелиальных клетках, например нейропиплин-1. При этом запускаются клеточные сигнальные пути, которые индуцируют пролиферацию, миграцию и активацию эндотелиоцитов [14]. При ММ отмечается усиление ангиогенеза, увеличение плотности микрососудов КМ, которое коррелирует с неблагоприятным прогнозом [15]. В результате исследования была обнаружена прямая корреляция между экспрессией галектина-1 и клетками CD34+ эндотелия сосудов, что подтверждает связь галектина-1 с неоангиогенезом при ММ.

Пациенты с повышенной экспрессией галектина-1 имели более выраженную инфильтрацию КМ клетками CD138+ как при ММ, так и при МГНЗ с последующей трансформацией в ММ. При этом содержание клеток CD138+ в биоптате КМ по результатам ИГХ-исследования статистически значимо коррелировало

с экспрессией галектина-1 как при МГНЗ с последующей трансформацией в ММ ($r = 0,9$; $p < 0,001$), так и при ММ ($r = 0,84$; $p < 0,001$). Это свидетельствует о высоком уровне экспрессии галектина-1 при прогрессировании МГНЗ, что может служить фактором неблагоприятного прогноза у этой категории пациентов.

Полученные нами данные согласуются с результатами исследования P. Storti и соавт. [16]. При ИГХ-анализе трепанобиоптатов, полученных из 12 образцов при ММ, 9 — ТМ, 9 — МГНЗ и 3 — при плазмноклеточном лейкозе, выявлен высокий уровень экспрессии галектина-1 опухолевыми клетками ММ, а также эндотелием сосудов у всех обследованных пациентов [16]. Однако J. Muller и соавт. представили результаты работы, в которой авторы на экспериментальной модели ММ показали увеличение инфильтрации и резорбции костной ткани при снижении экспрессии галектина-1 [17].

Отсутствие взаимосвязи между уровнем галектина-1 в сыворотке и опухолевой пролиферацией продемонстрировано M.N. Andersen и соавт. [18]. В нашей работе также не обнаружено взаимосвязи между концентрацией галектина-1 в сыворотке и уровнем его экспрессии клональными ПК в КМ ($p = 0,17$). Кроме того, нами не отмечено взаимосвязи экспрессии галектина-1 опухолевыми ПК с уровнем ЛДГ в сыворотке. Однако у пациентов с ММ выявлена корреляция с концентрацией $\beta 2$ -микроглобулина, а у пациентов с МГНЗ подтверждена прямая корреляция с М-протеином сыворотки. У пациентов с высоким содержанием клеток CD138+ в КМ, диффузным без скопления и диффузным со скоплениями ПК типами инфильтрации в биоптате обнаружено увеличение количества клональных ПК, экспрессирующих галектин-1 ($p = 0,039$). Это подтверждает взаимосвязь экспрессии галектина-1 с опухолевой пролиферацией.

Различные цитокины могут оказывать влияние на развитие и течение плазмноклеточных опухолей. Цитокины способны регулировать экспрессию и функцию галектинов. Несмотря на повышение уровня интерлейкинов в периферической крови при ММ и у пациентов с МГНЗ с последующим прогрессированием в ММ, в настоящем исследовании не выявлено взаимосвязи с концентрацией IL-6 в сыворотке. Однако обнаружена взаимосвязь с уровнем IL-2 и TNF. По данным метаанализа M. Zhang и соавт., повышенный уровень IL-2 в сыворотке связан с увеличением пролиферативной активности опухолевых ПК. Таким образом, IL-2 играет важную роль при широком спектре В-клеточных опухолей, включая плазмочитарные [19]. Мы установили значимое превышение уровня IL-2 в сыворотке у пациентов с МГНЗ и выраженную его корреляцию с экспрессией галектина-1 при прогрессировании МГНЗ в ММ.

S. Jasrotia и соавт. в своем исследовании продемонстрировали, что семейство цитокинов TNF участвует в росте и выживании клеток ММ, а также в их миграции и развитии лекарственной устойчивости за счет активации специфических сигнальных путей [20]. T. Hideshima и соавт. отметили существенную роль TNF- α в росте опухоли и ангиогенезе при ММ [21]. Повышение уровня TNF в сыворотке и его взаимосвязь с экспрессией галектина-1 выявлены и в нашей работе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вопросы, связанные с прогрессированием плазмноклеточных опухолей, привлекают внимание исследователей и остаются предметом постоянного изучения. В настоящей работе установлено, что высокий уровень экспрессии галектина-1, оцененного по числу экспрессирующих опухолевых ПК в КМ, имеет место как у пациентов с ММ, так и при МГНЗ с признаками прогрессирования в ММ. Кроме того, было обнаружено, что превышение концентрации IL-2 и TNF в сыворотке ассоциировалось с прогрессированием как ММ, так и МГНЗ в ММ.

В настоящем исследовании установлены прямые и обратные корреляционные связи между уровнем экспрессии галектина-1 по числу экспрессирующих опухолевых ПК и клинико-лабораторными параметрами, отражающими активность заболевания. Это снижение уровня экспрессии маркера апоптоза CD95 в аспирате КМ, высокий уровень β 2-микроглобулина, степень опухолевой плазмноклеточной инфильтрации КМ при ММ и уровень М-протеина при МГНЗ.

Представленные в нашей работе данные свидетельствуют о роли галектина-1 в прогрессировании МГНЗ и ММ. Оказалось, что галектин-1 вполне может рассматриваться в качестве прогностического маркера вероятности развития ММ при прогрессировании МГНЗ.

Таким образом, нами выделена группа пациентов с МГНЗ, имеющих высокий риск прогрессирования в ММ. Результаты настоящего исследования прогностического значения экспрессии галектина-1 клональными ПК и концентрации некоторых сывороточных цитокинов (IL-2, TNF) вполне могут использоваться в клинике при выборе оптимального времени персонализированного противоопухолевого лечения.

УВЕДОМЛЕНИЯ / ACKNOWLEDGMENT

ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ.

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

DISCLOSURE. Authors declare no conflicts of interest.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ. Исследование не имело спонсорской поддержки.

FUNDING. This study received no external financial support.

ВКЛАД АВТОРОВ. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства, согласно международным критериям ICMJE. При этом наибольший вклад распределен следующим образом.

Концепция и дизайн: Ж.М. Козич, Н.Н. Климович.

Сбор и обработка данных: Ж.М. Козич, Д.А. Зиновкин, В.Н. Мартинков.

Предоставление материалов исследования: Д.А. Зиновкин, Ж.Н. Пугачева.

Анализ и интерпретация данных: Ж.М. Козич, В.Н. Мартинков, Ж.Н. Пугачева.

Подготовка рукописи: Ж.М. Козич, Н.Н. Климович.

Окончательное одобрение рукописи: все авторы.

AUTHOR CONTRIBUTION. All authors meet the ICMJE criteria for authorship and declare their special contribution as follows:

Conception and design: Zh.M. Kozich, N.N. Klimkovich.

Data collection and processing: Zh.M. Kozich, D.A. Zinovkin, V.N. Martinkov.

Research materials provision: D.A. Zinovkin, Zh.N. Pugacheva.

Data analysis and interpretation: Zh.M. Kozich, V.N. Martinkov, Zh.N. Pugacheva.

Manuscript writing: Zh.M. Kozich, N.N. Klimkovich.

Final approval of manuscript: all authors.

СОГЛАСИЕ НА ПУБЛИКАЦИЮ. От всех пациентов получено письменное информированное согласие на публикацию.

CONSENT FOR PUBLICATION. Written informed consent for publication was obtained from all patients.

ЭТИЧЕСКОЕ ОДОБРЕНИЕ. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека» 09.01.2019 г. (протокол № 1).

ETHICS APPROVAL. This study was approved by the local Ethics Committee of the Republican Scientific and Practical Center for Radiation Medicine and Human Ecology 09.01.2019 (protocol #1).

ORCID

Ж.М. Козич — <https://orcid.org/0000-0002-3488-6650>

В.Н. Мартинков — <https://orcid.org/0000-0001-7029-5500>

Д.А. Зиновкин — <https://orcid.org/0000-0002-3808-8832>

Ж.Н. Пугачева — <https://orcid.org/0000-0002-0310-5532>

Н.Н. Климович — <https://orcid.org/0000-0001-7645-3952>

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Rajkumar SV. Multiple myeloma: 2014 update on diagnosis, risk-stratification, and Management. *Am J Hematol.* 2014;89(10):998–1009. doi: 10.1002/ajh.23810.
2. Hinshaw DC, Shevde LA. The tumor microenvironment innately modulates cancer progression. *Cancer Res.* 2019;79(18):4557–66. doi: 10.1158/0008-5472.can-18-3962.
3. Nakahara S, Raz A. Biological modulation by lectins and their ligands in tumor progression and metastasis. *Anti-Cancer Agents Med Chem.* 2008;8(1):22–36. doi: 10.2174/187152008783330833.
4. Wdowiak K, Spychalowicz W, Fajkis M, Wojnar J. Galectins in hematological malignancies – role, functions and potential therapeutic targets. *Postepy Hig Med Dosw.* 2016;70:95–103. doi: 10.5604/17322693.1194808.
5. Camby I, Le Mercier M, Lefranc F, Kiss R. Galectin-1: A small protein with major functions. *Glycobiology.* 2006;16(11):137R–157R. doi: 10.1093/glycob/cwl025.
6. Thijssen VL, Heusschen R, Caers J, Griffioen AW. Galectin expression in cancer diagnosis and prognosis: A systematic review. *Biochim Biophys Acta.* 2015;1855(2):235–47. doi: 10.1016/j.bbcan.2015.03.003.
7. Abroun S, Otsuyama K, Shamsasenjan K, et al. Galectin-1 supports the survival of CD45RA(-) primary myeloma cells in vitro. *Br J Haematol.* 2008;142(5):754–65. doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07252.x

8. Opendakker G, Rudd PM, Wormald M, et al. Cells regulate the activities of cytokines by glycosylation. *FASEB J.* 1995;9(5):453–7. doi: 10.1096/fasebj.9.5.7896019.
9. Liu F-T, Rabinovich GA. Galectins: Regulators of acute and chronic inflammation. *Ann NY Acad Sci.* 2010;1183(1):158–82. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.05131.x
10. Sundblad V, Morosi LG, Geffner JR, Rabinovich GA. Galectin-1: A jack-of-all-trades in the resolution of acute and chronic inflammation. *J Immunol.* 2017;199(11):3721–30. doi: 10.4049/jimmunol.1701172.
11. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2014;15(12):e538–48. doi: 10.1016/s1470-2045(14)70442-5.
12. Anginot A, Espeli M, Chasson L, et al. Galectin 1 modulates plasma cell homeostasis and regulates the humoral immune response. *J Immunol.* 2013;190(11):5526–33. doi: 10.4049/jimmunol.1201885.
13. Козич Ж.М., Мартинков В.Н., Пугачева Ж.Н. и др. Роль экспрессии CD95, CD56 и иммуногистохимического маркера CD138 в опухолевой прогрессии у пациентов с моноклональной гаммапатией неуточненного значения и солитарной плазмцитомой у жителей гомельского региона Беларуси. Медико-биологические проблемы жизнедеятельности. 2020;2(24):96–101. [Kozich Z.M., Martinkov V.N., Pugacheva Z.N., et al. The role of CD95, CD56 expression, immunohistochemical marker CD138 in tumor progression in patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance and solitary plasmacytoma in residents of the Gomel region, Belarus. *Medical and Biological Problems of Life Activity.* 2020;2(24):96–101. (In Russ)]
14. Croci DO, Cerliani JP, Dalotto-Moreno T, et al. Glycosylation-dependent lectin-receptor interactions preserve angiogenesis in anti-VEGF refractory tumors. *Cell.* 2014;156(4):744–58. doi: 10.1016/j.cell.2014.01.043.
15. Bieghs L, Johnsen HE, Maes K, et al. The insulin-like growth factor system in multiple myeloma: Diagnostic and therapeutic potential. *Oncotarget.* 2016;7(30):48732–52. doi: 10.18632/oncotarget.8982.
16. Storti P, Donofrio G, Marchica V, et al. Galectin-1 is highly expressed by myeloma cells and the bone marrow microenvironment and its suppression delineates a new therapeutic in vitro and in vivo strategy in multiple myeloma. *Blood.* 2014;124(21):3373. doi: 10.1182/blood.v124.21.3373.3373.
17. Muller J, Duray E, Lejeune M, et al. Loss of stromal galectin-1 enhances multiple myeloma development: Emphasis on a role in osteoclasts. *Cancers.* 2019;11(2):261. doi: 10.3390/cancers11020261.
18. Andersen MN, Ludvigsen M, Abildgaard N, et al. Serum galectin-1 in patients with multiple myeloma: Associations with survival, angiogenesis, and biomarkers of macrophage activation. *Onco Targets Ther.* 2017;10:1977–82. doi: 10.2147/ott.s124321.
19. Zhang M, Tan X, Huang J, et al. Association between two interleukin-2 gene polymorphisms and cancer susceptibility: A meta-analysis. *Onco Targets Ther.* 2016;9:2181. doi: 10.2147/ott.s94761.
20. Jasrotia S, Gupta R, Sharma A, et al. Cytokine profile in multiple myeloma. *Cytokine.* 2020;136:155271. doi: 10.1016/j.cyto.2020.155271.
21. Hideshima T, Chauhan D, Schlossman R, et al. The role of tumor necrosis factor α in the pathophysiology of human multiple myeloma: Therapeutic applications. *Oncogene.* 2001;20(33):4519–27. doi: 10.1038/sj.onc.1204623.

