

Clinico-hematological and molecular genetic variability of acute myeloid leukemia with CD7 expression on blasts cells

S.V. Gritsayev¹, Z.V. Chubukina¹, I.S. Martynkevich¹, I.I. Kostroma¹, T.V. Glazanova¹, Ye.V. Petrova¹, L.S. Martynenko¹, S.A. Tiranova¹, N.A. Potikhonova¹, I.S. Zyuzgin², L.N. Bubnova¹, and K.M. Abdulkadyrov¹

ABSTRACT

The objective of the study was to evaluate the heterogeneity of patients with acute myeloid leukemia with CD7 aberrant expression. The retrospective analysis of 31 AML patients' laboratory and clinical data was performed. Marked morphological, cytogenetic, and molecular heterogeneity of AML with CD7 coexpression was established. Also, it was found that these patients could be stratified into groups by overall survival. Four patients with t(8;21) or t(15;17) translocations or inv(16) inversion were followed-up for 53, 33, 11, and 10 months, respectively. The median of OS was not reached among the patients with t(8;21), t(15;15), and inv(16). The median OS among 10 patients with normal karyotype with no *FLT3-ITD* mutation was 17 months. The median OS among 17 patients with other genetic abnormalities including 7 patients with normal karyotype and *FLT3-ITD* mutation was 8 months; $p = 0.033$. We conclude that CD7 expression on AML blast cells is not an independent prognostic factor.

Keywords: acute myeloid leukemia, myeloblasts, CD7 coexpression, karyotype, *FLT3-ITD* mutation.

¹ Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, FMBA 191024, ul. 2 Sovetskaya, d. 16, St. Petersburg, Russian Federation

² Leningrad Regional Hospital

194291, Pr. Lunacharskogo, 45-49, St. Petersburg, Russian Federation

S.V. Gritsayev, DSci, Principal scientific worker, Clinical division of chemotherapy for hematological malignancies, hematopoiesis depression, and bone marrow transplantation
gritsaevsv@mail.ru

Z.V. Chubukina, PhD, Chief scientific worker

I.S. Martynkevich, DSci, Head of Laboratory of molecular genetics

I.I. Kostroma, Junior scientific worker, Clinical division of chemotherapy for hematological malignancies, hematopoiesis depression, and bone marrow transplantation

T.V. Glazanova, DSci, Principal scientific worker, Laboratory of immunohematology

Ye.V. Petrova, Scientific worker, Laboratory of molecular genetics

L.S. Martynenko, Scientific worker, Laboratory of molecular genetics

S.A. Tiranova, PhD, Medical officer, Clinico-diagnostic laboratory

N.A. Potikhonova, PhD, Head of clinico-diagnostic laboratory

I.S. Zyuzgin, PhD, Head of Oncohematology department #2

L.N. Bubnova, DSci, Head of Laboratory of immunohematology

K.M. Abdulkadyrov, DSci, professor, Head of Division of division of chemotherapy for hematological malignancies and hematopoiesis depression

Correspondence should be sent to S.V. Gritsayev

191024, ul. 2 Sovetskaya, d. 16, St. Petersburg, Russian Federation
Tel.: +7 (812) 7175468

Корреспондентский адрес:

С.В. Грицаев
191024, ул. 2 Советская, д. 16, Санкт-Петербург, Российская Федерация
Тел.: +7 (812) 7175468

Принято в печать: 23 сентября 2013 г.

Клинико-гематологическая и молекулярно-генетическая гетерогенность острых миелоидных лейкозов с экспрессией CD7 на бластных клетках

С.В. Грицаев¹, Ж.В. Чубукина¹, И.С. Мартынкевич¹, И.И. Кострома¹, Т.В. Глазанова¹, Е.В. Петрова¹, Л.С. Мартыненко¹, С.А. Тиранова¹, Н.А. Потихонова¹, И.С. Зюзгин², Л.Н. Бубнова¹, К.М. Абдулкадыров¹

РЕФЕРАТ

Цель — охарактеризовать острые миелоидные лейкозы (ОМЛ) с коэкспрессией поверхностного антигена CD7 на бластных клетках. Проведен ретроспективный анализ результатов обследования и лечения 31 больного ОМЛ. Установлена выраженная гетерогенность ОМЛ с aberrантной экспрессией CD7 по морфологическим, цитогенетическим и молекулярно-генетическим параметрам, клиническому течению и степени экспрессии антигена. Показано, что больных ОМЛ с коэкспрессией CD7 можно стратифицировать на группы риска по возрасту (моложе и старше 50 лет), а также по характеру молекулярно-генетических повреждений. Время наблюдения 4 больных с транслокациями t(8;21), t(15;17) и инверсией inv(16) составило 53, 33, 11 и 10 мес. соответственно. Медиана общей выживаемости 10 больных с нормальным кариотипом без мутации *FLT3-ITD* оказалась равной 17 мес. У остальных 17 больных, в т. ч. 7 пациентов с нормальным кариотипом и мутацией *FLT3-ITD*, медиана выживаемости была 8 мес. ($p = 0,033$). Заключение: aberrантная экспрессия CD7 на бластных клетках не является самостоятельным фактором прогноза у больных ОМЛ.

Ключевые слова:

острые миелоидные лейкозы, миелобласты, коэкспрессия CD7, кариотип, мутация *FLT3-ITD*.

ВВЕДЕНИЕ

Имунофенотипирование бластных клеток наряду с морфоцитохимическим анализом костного мозга (КМ) и крови, а также цитогенетическим и молекулярно-генетическим исследованиями — обязательные элементы алгоритма диагностики острых лейкозов [1–3]. Анализ качественного и количественного состава экспрессируемых поверхностных и внутриклеточных антигенов бластных клеток позволяет идентифицировать природу лейкозных клеток: миелоидная, лимфоидная или

смешанно-линейная. Кроме того, с помощью иммунофенотипирования можно определять резидуальные клетки с целью оценить объем остаточной болезни [4, 5]. Результаты иммунофенотипирования дают возможность достаточно уверенно диагностировать вариант острого лейкоза, определить вид цитостатической терапии и ее интенсивность в постремиссионный период, включая такое решение принципиального вопроса, как целесообразность выполнения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.

¹ ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерально-го медико-биологического агентства»

191024, ул. 2 Советская, д. 16, Санкт-Петербург, Российская Федерация

² Ленинградская клиническая областная больница

194291, Пр. Луначарского, 45-49, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Доступность и широкое внедрение метода проточной цитометрии в клиническую практику служат основанием для реализации привлекательной идеи использования уникальной фенотипической характеристики бластных клеток для прогнозирования течения болезни. Речь идет, в частности, о феномене aberrантной экспрессии, примером которой может быть коэкспрессия лимфоидных антигенов на поверхности бластных клеток у больных острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ). Как было продемонстрировано в многочисленных исследованиях, такой вариант aberrантного иммунофенотипа сопряжен с неблагоприятным прогнозом [6–10].

К наиболее частым вариантам aberrантного иммунофенотипа относится коэкспрессия Т-клеточного антигена CD7 у 28–50 % больных ОМЛ [7, 11–15]. Случаи с экспрессией CD7 на миелобластах характеризуются низкой частотой полных ремиссий (ПР) и короткой продолжительностью жизни [15–18]. Причиной данного клинического феномена может быть связь aberrантного иммунофенотипа с экспрессией гена множественной лекарственной устойчивости *MDR1* [19].

Совокупность лабораторных данных и особенностей клинического течения позволила некоторым авторам высказать предположение, что ОМЛ с коэкспрессией CD7 — самостоятельный вариант заболевания [17, 20, 21]. Предполагается, что агрессивное течение обусловлено возникновением лейкозного клона из ранних гемопоэтических предшественников. Основанием для такого заключения служит одновременная с CD7 экспрессия таких антигенов, как CD34, HLA-DR и TdT [12, 19].

Вместе с тем негативное влияние aberrантной экспрессии CD7 на течение ОМЛ подтверждено не всеми исследователями [22]. Не исключено, что более значимыми для прогноза могут быть другие клинико-лабораторные параметры, нежели иммунофенотипическая характеристика бластных клеток, и прежде всего молекулярно-генетические повреждения. Подтверждением данного предположения может быть связь между кариотипом и иммунофенотипом. Так, у больных с транслокацией $t(8;21)$ на поверхности миелобластов достаточно часто обнаруживается экспрессия антигенов CD34, CD56 и CD7, в случаях с трисомией хромосомы 8 — CD56, а при инверсии $inv(16)$ — CD34 [8]. Aberrантная экспрессия CD7 характерна преимущественно для больных ОМЛ с промежуточными и неблагоприятными прогностическими вариантами нарушений кариотипа [8, 18, 23].

Вопрос о прогностическом значении aberrантного иммунофенотипа остается неясным. Является ли экспрессия CD7 на бластных клетках при ОМЛ самостоятельным фактором риска или случайной находкой, сопряженной с другими показателями? Может ли обнаружение коэкспрессии CD7 служить основанием для интенсификации цитостатической терапии или необходимы дополнительные исследования для более корректного определения прогноза течения ОМЛ?

Целью настоящего исследования стало изучение клинико-лабораторной variabilityности ОМЛ с aberrантной экспрессией CD7. Проведен ретроспективный анализ историй болезней с решением следующих задач:

- оценить особенности клинико-гематологических параметров;
- изучить молекулярно-генетические характеристики ОМЛ с коэкспрессией CD7;

- определить прогностическое значение выявленных факторов и их влияние на течение заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Условия включения в исследование: 1) выполнение морфологических, иммунологических и молекулярно-генетических исследований в лабораториях ФГБУ РНИИГТ ФМБА; 2) отбор историй болезни в три этапа.

На **первом этапе** по базе данных лаборатории иммуногематологии был составлен список больных ОМЛ с экспрессией антигена CD7 не менее чем на 20 % бластных клеток КМ.

На **втором этапе** из этого списка были выбраны пациенты с известными результатами цитогенетического и молекулярно-генетического анализов.

На **последнем этапе** условием отбора была доступность информации о результатах лечения и состоянии больного в течение не менее 6 мес. после начала противоопухолевой терапии.

Диагноз ОМЛ устанавливался согласно классификации опухолей кроветворной и лимфоидной тканей ВОЗ [1] после дифференцированного подсчета не менее 500 клеток в препаратах КМ, окрашенных по методу Паппенгейма.

Для иммунофенотипирования бластных клеток КМ использовался пятицветный анализ на лазерном проточном цитофлюориметре Cytomics FC 500 (Beckman Coulter, США) с использованием панели моноклональных антител (Beckman Coulter, США), меченных разными флуорохромами (FITC, PE, ECD, Pc-5, Pc-7), к поверхностным и внутриклеточным дифференцировочным антигенам миеломоноцитарного и лимфоидного рядов кроветворения: CD45, CD34, HLA-DR, CD38, CD117, CD33, CD13, CD11c, CD9, CD14, CD64, CD15, CD16, CD56, CD1a, CD2, CD3, CD5, CD7, CD4, CD8, CD10, CD19, CD20, CD22, CD79a, MPO, TdT.

Для исследования кариотипа был использован стандартный GTG-метод. При отсутствии хромосомных aberrаций у больных ОМЛ с созреванием бластных клеток дополнительно проводили FISH-исследование (флуоресцентную гибридизацию *in situ*) на наличие слитного транскрипта *RUNX1/RUNX1T1*.

Изучение мутационного статуса генов *FLT3* и *NPM1* осуществляли методом полимеразной цепной реакции тотальной геномной ДНК [24].

Индукционная химиотерапия «7+3» включала внутривенное введение цитарабина (Ага-С) по 100 мг/м² 2 раза в сутки с 1-го по 7-й день в комбинации с даунорубицином 45 или 60 мг/м²/сут либо идарубицином 12 мг/м²/сут в первые 3 дня. Больные ОМЛ с транслокацией $t(15;17)$ дополнительно получали полностью транс-ретиноевую кислоту (АТРА) в дозе 45 мг/сут. АТРА назначалась сразу после предположения о «промиелоцитарной» природе бластных клеток по результатам морфологического анализа препаратов КМ. Дазатиниб в ежедневной дозе 140 мг был добавлен к лечению больного с транслокацией $t(9;22)$ после получения результатов цитогенетического исследования.

При назначении схемы НАМ больные получали Ага-С по 3 г/м² в виде 3-часовой инфузии 2 раза в сутки в 1, 3 и 5-й дни и митоксантрон 10 мг/м² внутривенно в 4, 5 и 6-й дни курса.

Децитабин назначался в дозе 20 мг/м² в виде 1-часовой инфузии однократно в течение 5 последовательных дней каждые 28 дней.

В случае применения малых доз Ага-С препарат вводился подкожно по 20 мг/м² 2 раза в сутки в течение не менее 14 дней.

Все больные в период индукционной и высокодозной химиотерапии принимали аллопуринол, а также препараты с целью деконтаминации кишечника. Заместительная гемотранфузионная терапия осуществлялась согласно протоколам, утвержденным в гематологических клиниках ФГБУ РНИИГТ ФМБА и ЛОКБ.

Результаты лечения оценивались в соответствии с критериями международной рабочей группы [25].

Рецидивы, развившиеся в срок до 6 мес. после констатации ПР, считались ранними. При сроке ПР, превышающем 6 мес., рецидив расценивали как поздний.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программных пакетов Excel и Statistica. Различия между исследуемыми показателями считались статистически значимыми при значении $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

После 3-этапного отбора информации из базы данных лаборатории иммуногематологии, содержащей результаты иммунофенотипирования бластных клеток 132 больных ОМЛ, в анализ были включены данные 31 (23,5 %) больного.

Среди больных было 14 мужчин и 17 женщин. Медиана возраста составила 55 лет (диапазон 22–76 лет). Возраст 10 больных был 60 лет и старше.

У 21 больного был установлен *de novo* ОМЛ. В анамнезе остальных 10 больных до установления диагноза ОМЛ имели место следующие миелоидные опухоли: миелодиспластический синдром (МДС; $n = 7$), хроническое миелопролиферативное заболевание ($n = 2$) и хронический миеломоноцитарный лейкоз (ХММЛ; $n = 1$). Больным ОМЛ с предшествующими миелоидными опухолями в анамнезе иммунофенотипирование бластных клеток было выполнено только при трансформации в ОМЛ, т. к. в ранее исследованных препаратах КМ их количество не превышало 5 %.

Распределение ОМЛ по вариантам, выделенным в классификации ВОЗ-2008, было следующим:

- ОМЛ с повторяющимися цитогенетическими аномалиями:
 - $t(8;21)(q22;q22)$, $n = 1$;
 - $inv(16)(q13;q22)$, $n = 1$;
 - $t(15;17)(q22;q12)$, $n = 2$;
- ОМЛ с признаками дисплазии ($n = 8$). В анамнезе имеются указания на МДС или ХММЛ с обнаружением в препаратах костного мозга не менее 50 % клеток с диспластическими изменениями.
- Другие варианты ОМЛ ($n = 19$):
 - без созревания ($n = 3$);
 - с созреванием ($n = 10$);
 - миеломоноцитарный ($n = 3$);
 - монобластный ($n = 2$);
 - мегакариобластный ($n = 1$).
- Острый лейкоз с транслокацией $t(9;22)(q34;q11)$. Не соответствовал критериям острого лейкоза со сме-

шанным иммунофенотипом ни по шкале EGIL [3], ни по классификации ВОЗ [1].

При цитогенетическом исследовании у 17 больных был нормальный кариотип. У 11 пациентов имели место одиночные aberrации в виде транслокации, инверсии, трисомии, делеции или дополнительного генетического материала на одной из хромосом. У 2 человек были выявлены две независимые aberrации. У 1 из 2 больных с $t(15;17)$ обнаружены комплексные аномалии кариотипа.

При молекулярно-генетическом исследовании мутации были выявлены у 14 больных: *FLT3-ITD* ($n = 9$), *FLT3-TKD* ($n = 2$) и в гене *NPM1* ($n = 3$). Следует отметить, что мутация *FLT3-ITD* имела место у 7 (41,2 %) из 17 пациентов с нормальным кариотипом. В одном из этих наблюдений имелась одновременно и мутация в гене *NPM1*.

Интенсивность экспрессии антигена CD7 на поверхности миелобластов варьировала от 20 до 97,7 %. Средний показатель составил $70,4 \pm 19,7$ %. Экспрессия ниже среднего уровня имела место у 13 больных, а выше среднего — у 18.

Уровень экспрессии антигена CD34 был в диапазоне 0,1–99 %. Только у 20 больных более 20 % бластных клеток КМ были CD34-позитивными.

Основные характеристики больных ОМЛ в группах по степени экспрессии CD7 относительно среднего показателя представлены в табл. 1. При сравнительном анализе значимое различие было выявлено только в разных возрастных группах. Больные с экспрессией CD7 > 70 % были старше пациентов с более низкой экспрессией: медиана возраста составила 57,5 и 44 года соответственно ($p = 0,011$). Не установлено различий степени экспрессии CD7 в группах с различным кариотипом, наличием мутации *FLT3-ITD* и экспрессией антигена CD34. По интенсивности противоопухолевой терапии больные были распределены в три группы.

Таблица 1. Характеристика больных острыми миелоидными лейкозами с разной экспрессией CD7

Показатель	Экспрессия CD7 на бластных клетках		<i>p</i>
	< 70 %	≥ 70 %	
Число больных	13	18	
Медиана (диапазон) возраста, лет	44 (22–71)	57,5 (34–76)	0,011
ОМЛ <i>de novo</i>	8	13	
ОМЛ с предшествующими миелоидными заболеваниями в анамнезе	5	5	
Варианты кариотипа			
Нормальный	7	10	
$t(8;21)$	1	—	
$inv(16)$	1	—	
$t(15;17)$	1	1	
+8	1	1	
+21	—	1	
$del(8)(q24)$	—	1	
$del(9)(q22)$	—	1	
$del(11)(q23)$	1	1	
$add(14)(q10)$	—	1	
$t(9;22)(q34;q11)$, +8	1	—	
–8; $i(8)(q10)$	—	1	
Мутация <i>FLT3-ITD</i>	3	6	
CD34+ (M ± m)	$50,0 \pm 36,3$	$46,3 \pm 30,9$	0,460

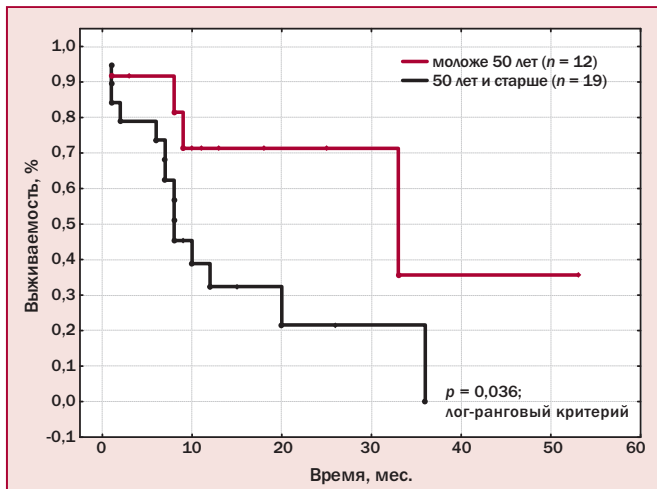


Рис. 1. Общая выживаемость больных острыми миелоидными лейкозами в разных возрастных группах

1-я группа: $n = 25$ (80,6 %), медиана возраста 52 года, индукционная терапия по схеме «7+3». У 16 (64 %) больных получена ПР. Эффекта не было у 7 (28,0 %) больных. В период постцитостатической аплазии КМ умерло 2 (8 %) пациента. Из 7 больных, не ответивших на первый курс «7+3», трем в возрасте 23, 51 и 52 лет соответственно был проведен повторный индукционный курс по схеме НАМ, который оказался эффективным только у одного из них. С учетом соматического статуса и индекса коморбидности 2 пациента были переведены на терапию низкой интенсивности (малыми дозами Ага-С и децитабином). Терапия низкой интенсивности сопровождалась кратковременным улучшением показателей периферической крови и снижением числа бластных клеток в КМ. При повторном назначении курса «7+3» 2 больных умерли в период цитопении.

2-я группа: $n = 3$, индукционная терапия децитабином. Ответ был зарегистрирован у 1 пациента, которому на следующий день после завершения курса децитабина дополнительно вводился идарубицин 12 мг/м² в течение 3 дней подряд. В остальных случаях монотерапия децитабином и последующее лечение были неэффективными.

3-я группа: $n = 3$, возраст старше 70 лет (диапазон 71–76 лет), сдерживающее лечение гидроксимочевинной, меркаптопурином или малыми дозами Ага-С.

В целом клинико-гематологическая ПР была достигнута у 17 (54,8 %) из 31 больного.

Медиана наблюдения за больными с ответом на индукционные курсы составила 11 мес. За это время 12 больным были проведены курсы консолидации с введением Ага-С в разовой дозе 1 г/м² и более.

Рецидивы ОМЛ развились у 8 больных: у 5 — ранние и у 3 — поздние, в срок от 11 до 31 мес. У 2 больных одновременно с повышением числа бластных клеток в КМ был диагностирован нейрорлейкоз.

Для определения показателей, влияющих на выживаемость, были использованы данные всех больных, включенных в настоящее исследование. При однофакторном анализе была установлена зависимость общей выживаемости от возраста и молекулярно-генетических повреждений.

Значение возраста было установлено в группах больных моложе и старше 50 лет. Медиана выживаемости

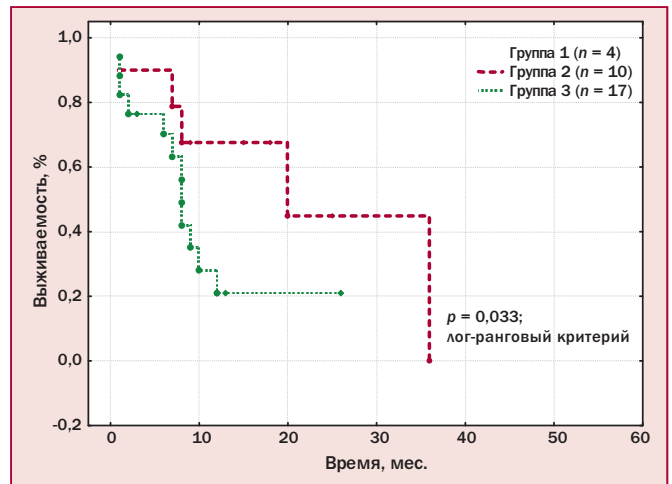


Рис. 2. Общая выживаемость больных острыми миелоидными лейкозами в группах с различными цитогенетическими и молекулярно-генетическими нарушениями

* Время наблюдения больных группы 1 составило 53, 33, 11 и 10 мес.

составила 23,3 и 8 мес. соответственно ($p = 0,036$) (рис. 1). Данная зависимость может быть обусловлена следующими причинами. Во-первых, в группу из 12 больных моложе 50 лет включено 4 пациента с благоприятными хромосомными aberrациями: транслокациями $t(8;21)$, $t(15;17)$ и инверсией $inv(16)$. Во-вторых, среди молодых больных было меньше случаев ОМЛ из предшествующих миелоидных заболеваний, а также с мутацией *FLT3-ITD*, ассоциированной с нормальным кариотипом: 25 и 16,7 % соответственно против 36,8 и 26,3 % в группе из 19 больных 50 лет и старше. Наконец, схема «7+3» была выбрана в качестве индукционной терапии для лечения 91,7 % пациентов моложе 50 лет и только 73,7 % — в возрасте 50 лет и старше. Этот вид терапии оказался эффективным у 72,7 и 57,1 % больных соответственно.

Для определения роли цитогенетических и молекулярно-генетических повреждений больные были стратифицированы на три группы:

- 1) 4 пациента с транслокациями $t(8;21)$ и $t(15;17)$, а также инверсией хромосомы 16;
- 2) 10 пациентов с нормальным кариотипом без мутации *FLT3-ITD*;
- 3) 7 пациентов с нормальным кариотипом + мутация *FLT3-ITD* и 10 пациентов с другими, нежели в двух предыдущих группах, вариантами кариотипа.

Медиана выживаемости больных в первой группе не была достигнута, а в двух других группах составила 17 и 8 мес. соответственно ($p = 0,033$) (рис. 2).

При многофакторном анализе не подтверждено значение возраста и молекулярно-генетических повреждений как независимых факторов прогноза: $p = 0,363$ и $p = 0,084$ соответственно. Тем не менее полученные данные позволяют прогнозировать ухудшение выживаемости больных ОМЛ с коэкспрессией антигена CD7 при нормальном кариотипе, ассоциированным с мутацией *FLT3-ITD*, или при обнаружении цитогенетических аномалий, не относящихся к группе относительно благоприятных.

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно рекомендациям European LeukemiaNet, для определения природы бластных клеток методом иммуно-

фенотипирования используется панель моноклональных антител к дифференцировочным антигенам клеток-предшественниц (CD34, CD38, HLA-DR, CD117, CD133), клеток миеломоноцитарного ряда (CD13, CD33, CD15, CD16, CD65, цитоплазматическая миелопероксидаза [сМРО], CD11c, CD14, CD64, лизоцим, CD4, CD11b, CD36). Кроме того, панель должна включать маркеры мегакариоцитов CD41 (гликопротеид Пб/IIIa), CD61 (гликопротеид IIIa) и CD42 (гликопротеид Ib), а также маркеры эритроидных клеток CD235a (гликофорин А) [2].

Необходимо подчеркнуть, что иммунофенотипирование представляется незаменимым инструментом при идентификации диагностически сложных вариантов ОМЛ с минимальной дифференцировкой, мегакариобластного и эритробластного вариантов.

Не менее важна для клиницистов и возможность верифицировать смешанные острые лейкозы. Смешанные лейкозы — гетерогенная группа, которая объединяет острые недифференцированные лейкозы, характеризующиеся отсутствием каких-либо маркеров линейной принадлежности, и острые лейкозы со смешанным фенотипом, когда на поверхности бластных клеток экспрессированы антигены, специфичные более чем для одной линии кроветворения.

Следует отметить, что острые лейкозы со смешанно-линейным иммунофенотипом редки [26, 27]. По данным лаборатории иммуногематологии ФГБУ РНИИГТ ФМБА, за период с 2009 по 2013 г. только у 1 больного из 132 обследованных была выявлена коэкспрессия миелоидных и лимфоидных антигенов (неопубликованные данные). При этом спектр экспрессированных антигенов соответствовал критериям острого лейкоза со смешанно-линейным фенотипом и по классификации EGIL [3], и по классификации ВОЗ [1].

Между тем в клинической практике часто обнаруживается aberrантная экспрессия отдельных антигенов, которая не отвечает требованиям, предъявляемым к идентификации лейкоза со смешанно-линейным фенотипом. Это, тем не менее, имеет важное практическое значение, т. к. нередко противоопухолевая терапия у таких пациентов сопровождается плохим ответом. Таким образом, панель моноклональных антител, используемая для идентификации миелоидной природы бластных клеток, обязательно включает маркеры В- и Т-лимфоидных клеток. Чаще всего это CD7 (маркер Т-клеток), внутриклеточный CD79a (маркер В-клеток) и CD56 (маркер НК-клеток), хотя миелобласты достаточно часто экспрессируют и другие лимфоидные антигены: CD2, CD3, CD5, CD8, CD19 и TdT.

Коэкспрессия антигена CD56 выявляется у 15 % больных ОМЛ. Аберрантный иммунофенотип бывает более частой находкой при вариантах M1 и M5 FAB-классификации, а также при t(8;21), трисомии хромосомы 8, повреждениях хромосом 5 и 7. В качестве возможной причины низких показателей выживаемости CD56-позитивных больных ОМЛ рассматривается биологический иммунофенотип лейкозных клеток, характеризующийся экспрессией гена *MDR1* или S-изоформы химерного гена *PML-RARa* в случае транслокации t(15;17) [8, 22, 28–30].

Аберрантная экспрессия В-клеточного антигена CD79b, так же как и CD56, встречается преимущественно на бластных клетках больных ОМЛ с трансло-

кациями t(8;21) и t(15;17) [13, 31–33]. Прогностическое значение антигена CD79b остается неопределенным. В большинстве исследований была установлена низкая эффективность лечения больных ОМЛ с коэкспрессией CD79b.

Антиген CD7 — гликопротеид с молекулярной массой 40 кДа, относящийся к суперсемейству иммуноглобулинов, экспрессируется на клетках-предшественниках, Т- и НК-клетках и принимает непосредственное участие в процессах активации и пролиферации, продукции цитокинов и адгезии [34–36]. Несмотря на то что CD7 является пан-Т/НК-ассоциированным маркером, его экспрессия часто обнаруживается на поверхности бластных клеток при ОМЛ. Это объясняет тот факт, что в генезе лейкоза лежит не только блок клеточной дифференцировки, но и нарушение созревания и пролиферации, запускающее экспрессию антигенов, которые в норме отсутствуют.

В ряде исследований показано, что aberrантная экспрессия CD7 обнаруживается преимущественно на миелобластах у молодых пациентов мужского пола с лейкоцитозом, гепатомегалией и нейрорлейкозом [15, 16, 23]. Другая важная находка — связь коэкспрессии CD7 с геном *MDR1*, неблагоприятными хромосомными aberrациями, мутацией *FLT3-ITD* [8, 18, 20, 23, 37]. Случаи ОМЛ с aberrантным иммунофенотипом характеризуются низкой частотой и короткой длительностью ПР, частыми рецидивами, ухудшением показателей общей выживаемости, выживаемости в ремиссии и без болезни [15, 18]. Имеющиеся данные позволяют некоторым исследователям включать CD7 в состав группы антигенов, связанных с плохим прогнозом [23]. Вместе с тем значение коэкспрессии CD7 как независимого фактора риска у больных ОМЛ сомнительно.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют прежде всего о выраженной гетерогенности ОМЛ с экспрессией антигена CD7.

Аберрантная экспрессия Т-клеточного антигена CD7 была обнаружена у больных ОМЛ *de novo* и из предшествующих миелоидных неоплазий независимо от морфологических и цитогенетических характеристик бластных клеток. При этом лейкозные клетки в зависимости от варианта ОМЛ были представлены миелобластами, монобластами, эритробластами и мегакариобластами. Хромосомные aberrации характеризовались наличием одиночных транслокаций, инверсий, делеций, трисомий или различных комбинаций. Необходимо подчеркнуть, что цитогенетические аномалии относились к благоприятным, промежуточным и неблагоприятным вариантам кариотипа. У 1/3 больных была обнаружена мутация *FLT3-ITD*.

Другая принципиальная находка — стратификация больных ОМЛ с коэкспрессией CD7 на прогностические группы по возрасту и молекулярно-генетическим изменениям. Среди пациентов разного возраста различалась и степень экспрессии CD7. Тот факт, что экспрессия антигена CD7 была обнаружена на бластных клетках практически у всех больных старшей (≥ 50 лет) возрастной группы, расценивается как случайная находка ввиду небольшой выборки пациентов и отсутствия связи с другими параметрами. Вместе с тем нельзя исключить, что избыточная экспрессия CD7 отражает особенности биологического фенотипа лейкозных клеток у пожилых

больных ОМЛ [38, 39], в частности уровень поражения гемопоэтических клеток и/или механизмы возникновения и развития патологического клона, например, из предшествующих миелоидных заболеваний. Тем не менее ретроспективный анализ исследования и небольшое число наблюдений требуют взвешенной интерпретации полученных результатов, и в первую очередь определения пограничного возраста в 50 лет.

Известно, что возраст служит самостоятельным фактором риска у больных ОМЛ [40]. Влияние возраста на результаты лечения и выживаемость обусловлено биологическим фенотипом лейкозных клеток (повышение частоты неблагоприятных хромосомных aberrаций и мутаций) и состоянием больного (увеличение количества сопутствующих заболеваний), которые значительно ограничивают возможности терапии. Несмотря на то что молодые пациенты, включенные в данное исследование, имели более благоприятные варианты ОМЛ и получали более интенсивное лечение, ранее по результатам анализа данных 214 больных ОМЛ *de novo* было установлено значимое различие в выживаемости в группах до и старше 60 лет [40].

Наибольший интерес представляют данные о различии в выживаемости больных с разными вариантами молекулярно-генетических повреждений. Иными словами, среди больных ОМЛ, объединенных по aberrантной экспрессии CD7, представляется возможным выделить группы с разным прогнозом. Важно отметить, что критерии, использованные для стратификации пациентов, в целом соответствуют рекомендованным European LeukemiaNet: три варианта кариотипа (благоприятный, промежуточный и неблагоприятный) и мутационный статус гена *FLT3* [2].

При обследовании 31 больного ОМЛ *de novo* с нормальным кариотипом V. Rausei-Mills и соавт. [41] обнаружили коэкспрессию CD7 у 11 (73 %) из 15 больных с мутацией *FLT3-ITD* и только у 1 (6 %) из 16 — без этой мутации. Связь мутации *FLT3-ITD* с экспрессией CD7 у больных ОМЛ с нормальным кариотипом была подтверждена P.S. Chauhan и соавт. [42]. Несмотря на отсутствие значимого различия в частоте летальных исходов в течение первого года (67 vs против 36 %; $p = 0,11$), по мнению V. Rausei-Mills и соавт. [41], одновременное обнаружение экспрессии CD7 и мутации *FLT3-ITD* сопряжено с неблагоприятным прогнозом. В то же время P.S. Chauhan и соавт. [42] не поддерживают данный вывод, т. к. в подобных ситуациях у 66 % больных была получена ПР после стандартной индукционной терапии «7+3».

Дизайн исследования не предполагал сравнительного анализа результатов лечения больных с и без коэкспрессии CD7. Тем не менее полученные данные позволяют сделать заключение, отличающееся от выводов других авторов: aberrантная экспрессия CD7 на бластных клетках не влияет на прогноз больных ОМЛ. Течение заболевания зависит прежде всего от цитогенетических и молекулярно-генетических характеристик лейкозных клеток. Таким образом, обнаружение на миелобластах экспрессии CD7, так же как и дополнительных хромосомных aberrаций [43], не должно быть поводом для отказа от стандартных протоколов лечения больных ОМЛ с t(8;21), t(15;17) и inv(16). Такой подход распространяется и на пациентов с нормальным кариотипом при

отсутствии мутации *FLT3-ITD*. Следует подчеркнуть, что данный тезис, несомненно, требует подтверждения на большем числе клинических наблюдений.

Вывод, вытекающий из работы, ни в коей мере не исключает значение aberrантной экспрессии дифференцировочных антигенов как маркеров риска. Прогностическая ценность коэкспрессии нескольких антигенов на поверхности миелобластов может быть существенно выше, чем одного. С другой стороны, связь aberrантной экспрессии антигена(-ов) с мутационным статусом гена(-ов) может существенно упростить процесс ранней стратификации больных ОМЛ [8, 44, 45].

Таким образом, экспрессия CD7 на миелобластах не представляется признаком самостоятельного варианта ОМЛ с характерными морфологическими, цитогенетическими, молекулярными и/или клиническими признаками. Течение ОМЛ с коэкспрессией CD7 на бластных клетках может быть различным. Выживаемость больных ОМЛ с aberrантной экспрессией CD7 определяется прежде всего прогностическими вариантами кариотипа и молекулярно-генетическими aberrациями.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы подтверждают отсутствие скрытых конфликтов интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Vardiman J.W., Thiele J., Arber D.A. et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2008; 114(5): 937–51.
2. Dohner H., Estey T.Y., Amadori S. et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 2010; 115(3): 453–74.
3. Bene M.C., Castoldi G., Knapp W. et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia* 1995; 9(10): 1783–6.
4. Macedo A., Orfao A., Vidriales M.D. et al. Characterization of aberrant phenotypes in acute myeloblastic leukemia. *Ann. Hematol.* 1995; 70(4): 189–94.
5. Al-Mawali A., Gillis D., Lewis I. The role of multiparameter flow cytometry for detection of minimal residual disease in acute myeloid leukemia. *Am. J. Clin. Pathol.* 2009; 131(1): 16–26.
6. Legrand O., Perrot J.Y., Baudard M. et al. The immunophenotype of 177 adults with acute myeloid leukemia: proposal of a prognostic score. *Blood* 2000; 96(3): 870–7.
7. Bahia D.M., Yamamoto M., Chauffaille M.L. et al. Aberrant phenotypes I acute myeloid leukemia: a high frequency and its clinical significance. *Haematologica* 2001; 86(8): 801–6.
8. Chang H., Salma F., Yi Q.L. et al. Prognostic relevance of immunophenotyping in 379 patients with acute myeloid leukemia. *Leuk. Res.* 2004; 28(1): 43–8.
9. Bene M.C. Immunophenotyping of acute leukaemias. *Immunol. Lett.* 2005; 98(1): 9–21.
10. Plesa C., Chelghoum Y., Plesa A. et al. Prognostic value of immunophenotyping in elderly patients with acute myeloid leukemia. A single-institution experience. *Cancer* 2008; 112(3): 572–80.
11. Bradstock K., Matthews J., Benson E. et al. Prognostic value of immunophenotyping in acute myeloid leukemia. Australian Leukaemia Study Group. *Blood* 1994; 84(4): 1220–5.
12. Venditti A., Del Poeta G., Buccisano F. et al. Prognostic relevance of the expression of Tdt and CD7 in 335 cases of acute myeloid leukemia. *Leukemia* 1998; 12(7): 1056–63.
13. Cruse J.M., Lewis R.E., Pierce S. et al. Aberrant expression of CD7, CD56, and CD79a antigens in acute myeloid leukemias. *Exp. Mol. Pathol.* 2005; 79(1): 39–41.
14. Lewis R.E., Cruse J.M., Sanders C.M. et al. Aberrant expression of T-cell markers in acute myeloid leukemia. *Exp. Mol. Pathol.* 2007; 83(3): 462–3.
15. Chang H., Yeung J., Brandwein J., Yi Q.-L. CD7 expression predicts poor disease free survival and post-remission survival in patients with acute myeloid leukemia and normal karyotype. *Leuk. Res.* 2007; 31(2): 157–62.
16. Kita K., Miwa H., Nakase K. et al. Clinical importance of CD7 expression in acute myelocytic leukemia. The Japan Cooperative Group of Leukemia/Lymphoma. *Blood* 1993; 81(9): 2399–405.

17. Saxena A., Sheridan D.P., Card R.T. et al. Biologic and clinical significance of CD7 expression in acute myeloid leukemia. *Am. J. Hematol.* 1998; 58(4): 278–84.
18. Ogata K., Yokose N., Shioi Y. et al. Reappraisal of the clinical significance of CD7 expression in association with cytogenetics in de novo acute myeloid leukaemia. *Br. J. Haematol.* 2001; 115(3): 612–5.
19. Miwa H., Kita K., Nishii K. et al. Expression of MDR1 gene in acute leukemia cells: association with CD7+ acute myeloblastic leukemia/acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1993; 82(11): 3445–51.
20. Eto T.A., Harada K., Shibuya M. et al. Biological characteristics of CD7 positive acute myelogenous leukemia. *Br. J. Haematol.* 1992; 82(3): 508–14.
21. Shimamoto T., Ohyashiki J.H., Ohyashiki K. et al. Clinical and biologic characteristics of CD7+ acute myeloid leukemia. Our experience and literature review. *Cancer Genet. Cytogen.* 1994; 73(1): 69–74.
22. Dang H., Jiang A., Kamel-Reid S. et al. Prognostic value of immunophenotyping and gene mutations in elderly patients with acute myeloid leukemia with normal karyotype. *Hum. Pathol.* 2013; 44(1): 55–61.
23. Li X., Li J., Du D. et al. Relevance of immunophenotypes to prognostic subgroups of age, WBC, platelet count, and cytogenetics in de novo acute myeloid leukemia. *APMIS* 2010; 119(1): 76–84.
24. Мартынкевич И.С., Грицаев С.В., Москаленко М.В. и др. Мутации генов FLT3 и NPM1 у больных острыми миелоидными лейкозами и влияние мутации FLT3-ITD на выживаемость больных с нормальным кариотипом. *Тер. арх.* 2010; 12: 33–9.
- Martynkevich I.S., Gritsayev S.V., Moskalenko M.V. i dr. Mutatsii genov FLT3 i NPM1 u bolnykh ostrymi miyeloidnymi leykozami i vliyaniye mutatsii FLT3-ITD na vyzhivayemost bolnykh s normalnym kariotipom [FLT3 and NPM1 gene mutations in patients with acute myeloid leukemias and impact of FLT3-ITD mutations on survival of patients with normal karyotype. In: *Ther. archive*]. *Ter. arkh.* 2010; 12: 33–9.
25. Cheson B.D., Bennett J.M., Kopecy K.J. et al. Revised recommendations of the International Working Group for diagnosis, standardization of response criteria, treatment outcomes, and reporting standards for therapeutic trials in acute myeloid leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2003; 21(24): 4642–9.
26. Zhao X.F., Gojo I., York T. et al. Diagnosis of biphenotypic acute leukemia: a paradigmatic approach. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2009; 3(1): 75–86.
27. Xu X.Q., Wang J.M., Lu S.Q. et al. Clinical and biological characteristics of adult biphenotypic acute leukemia in comparison with that of acute myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia: a case series of a Chinese population. *Haematologica* 2009; 94(7): 919–27.
28. Baer M.R., Stewart C.C., Lawrence D. et al. Expression of the neural cell adhesion molecular CD56 is associated with short remission duration and survival in acute myeloid leukemia with t(821)(q22q22). *Blood* 1997; 90(4): 1643–8.
29. Murray C.K., Estey E., Paietta E. et al. CD56 expression in acute promyelocytic leukemia: a possible indicator of poor treatment outcome? *J. Clin. Oncol.* 1999; 17(1): 293–7.
30. Raspadori D., Damiani D., Lenoci M. et al. CD56 antigenic expression in acute myeloid leukemia identifies patients with poor clinical prognosis. *Leukemia* 2001; 15(8): 1161–4.
31. Arber D.A., Jenkins K.A., Slovak M.L. CD79a expression in acute myeloid leukemia. High frequency of expression in acute promyelocytic leukemia. *Am. J. Pathol.* 1996; 149(4): 1105–10.
32. Tiacci E., Pileri S., Orleth A. et al. PAX5 expression in acute leukemias: higher B-lineage specificity than CD79a and selective association with t(8;21)-acute myelogenous leukemia. *Cancer Res.* 2004; 64(20): 7399–404.
33. Kozlov I., Beason K., Yu C., Hughson M. CD79a expression in acute myeloid leukemia t(8;21) and the importance of cytogenetics in the diagnosis of leukemias with immunophenotypic ambiguity. *Cancer Genet. Cytogenet.* 2005; 163(1): 62–7.
34. Rabinowich H., Pricop L., Herberman R.B., Whiteside L. Expression and function of CD7 molecule on human natural killer cells. *J. Immunol.* 1994; 152(2): 517–26.
35. Barcena A., Muench M.O., Roncarolo M.G., Spits H. Tracing the expression of CD7 and other antigens during T- and myeloid-cell differentiation in the human fetal liver and thymus. *Leuk. Lymphoma* 1995; 17(1–2): 1–11.
36. Sempowski G.D., Lee D.M.N., Kaufman R.E., Hanes B.F. Structure and function of the CD7 molecule. *Crit. Rev. Immunol.* 1999; 19(4): 331–48.
37. Del Poeta G., Stasi R., Aronica G. et al. Clinical relevance of P-glycoprotein expression in de novo acute myeloid leukemia. *Blood* 1996; 87(5): 1997–2001.
38. Грицаев С.В., Мартынкевич И.С., Мартыненко Л.С. и др. Сравнительный анализ кариотипа пожилых больных с миелодиспластическим синдромом и острым миелоидным лейкозом. *Клин. онкогематол.* 2010; 2: 114–8.
- Gritsayev S.V., Martynkevich I.S., Martynenko L.S. i dr. Sravnitelnyy analiz kariotipa pozhilykh bolnykh s miyelodisplasticheskim sindromom i ostrym miyeloidnym leykozom [Comparative analysis of karyotype in patients with myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia. In: *Clin. oncohematol.*]. *Klin. oncohematol.* 2010; 2: 114–8.
39. Грицаев С.В., Мартынкевич И.С., Абдулкадыров К.М. и др. Возрастные особенности кариотипа больных острым миелоидным лейкозом. *Тер. арх.* 2011; 1: 51–5.
- Gritsayev S.V., Martynkevich I.S., Abdulkadyrov K.M. i dr. Vozrastnyye osobennosti kariotipa bolnykh ostrym miyeloidnym leykozom [Age-related characteristics of karyotype in patients with acute myeloid leukemia. In: *Ther. archive*]. *Ter. arkh.* 2011; 1: 51–5.
40. Грицаев С.В., Мартынкевич И.С., Мартыненко Л.С. и др. Возраст и кариотип — факторы риска у больных первичным острым миелоидным лейкозом. *Клин. онкогематол.* 2010; 4: 359–64.
- Gritsayev S.V., Martynkevich I.S., Martynenko L.S. i dr. Vozrast i kariotip — faktory riska u bolnykh pervichnym ostrym miyeloidnym leykozom [Age and karyotype as risk factors in patients with primary acute myeloid leukemia. In: *Clin. oncohematol.*]. *Klin. oncohematol.* 2010; 4: 359–64.
41. Rausei-Mills V., Chang K.L., Gaal K.K. et al. Aberrant expression of CD7 in myeloblasts is highly associated with de novo acute myeloid leukemias with FLT3/ITD mutation. *Am. J. Clin. Pathol.* 2008; 129(4): 624–9.
42. Chauhan P.S., Bhushan B., Mishra A.K. et al. Mutation of FLT3 gene in acute myeloid leukemia with normal cytogenetics and its association with clinical and immunophenotypic features. *Med. Oncol.* 2011; 28(2): 544–51.
43. Грицаев С.В., Мартынкевич И.С., Петрова Е.В. и др. Выживаемость больных CBF вариантами de novo острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) и кариотип. *Вестн. гематол.* 2012; 4: 11.
- Gritsayev S.V., Martynkevich I.S., Petrova Ye.V. i dr. Vyzhivayemost bolnykh CBF variantami de novo ostrogo miyeloidnogo leykoza (OML) i kariotip [Survival of patients with de novo CBF variants of acute myeloid leukemias (OML) and karyotype. In: *Bull. of hematol.*]. *Vestn. gematol.* 2012; 4: 11.
44. Dalal B.I., Mansoor S., Manna M. et al. Detection of CD34, TdT, CD56, CD2, CD4, and CD14 by flow cytometry is associated with NPM1 and FLT3 mutation status in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *Clin. Lymph. Myel. Leuk.* 2012; 12(4): 274–9.
45. Chen M.H., Atenafu E., Craddock K.J. et al. CD11b expression correlates with monosomal karyotype and predicts an extremely poor prognosis in cytogenetically unfavorable acute myeloid leukemia. *Leuk. Res.* 2013; 37(2): 122–8.