

- centrations on leukemic stem cells. *Blood* 2005;106:1519—24.
44. Moore M.A. Converging pathways in leukemogenesis and stem cell self-renewal. *Exp Hematol* 2005;33:719—37.
45. Guan Y., Gerhard B., Hogge D.E. Detection, isolation, and stimulation of quiescent primitive leukemic progenitor cells from patients with acute myeloid leukemia (AML). *Blood* 2003;101:3142—9.
46. Dean M., Fojo T., Bates S. Tumour stem cells and drug resistance. *Nat Rev Cancer* 2005;5:275—84.
47. Konopleva M., Zhao S., Hu W. et al. The anti-apoptotic genes Bcl-X(L) and Bcl-2 are over-expressed and contribute to chemoresistance of non-proliferating leukaemic CD34+ cells. *Br J Haematol* 2002;118:521—34.
48. Guan Y., Hogge D.E. Proliferative status of primitive hematopoietic progenitors from patients with acute myelogenous leukemia (AML). *Leukemia* 2000;14:2135—41.
49. Ailles L.E., Humphries R.K., Thomas T.E. et al. Retroviral marking of acute myelogenous leukemia progenitors that initiate long-term culture and growth in immunodeficient mice. *Exp Hematol* 1999;27:1609—20.
50. List A.F., Kopecky K.J., Willman C.L. et al. Benefit of cyclosporine modulation of drug resistance in patients with poor-risk acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group study. *Blood* 2001;98:3212—20.
51. Baer M.R., George S.L., Dodge R.K. et al. Phase 3 study of the multidrug resistance modulator PSC-833 in previously untreated patients 60 years of age and older with acute myeloid leukemia: Cancer and Leukemia Group B Study 9720. *Blood* 2002;100:1224—32.
52. Guzman M.L., Swiderski C.F., Howard D.S. et al. Preferential induction of apoptosis for primary human leukemic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:16220—5.
53. Guzman M.L., Rossi R.M., Karnischky L. et al. The sesquiterpene lactone parthenolide induces apoptosis of human acute myelogenous leukemia stem and progenitor cells. *Blood* 2005;105:4163—9.
54. Guzman M.L., Upchurch D., Grimes B. et al. Expression of tumor-suppressor genes interferon regulatory factor 1 and death-associated protein kinase in primitive acute myelogenous leukemia cells. *Blood* 2001;97:2177—9.
55. Guzman M.L., Neering S.J., Upchurch D. et al. Nuclear factor-kappaB is constitutively activated in primitive human acute myelogenous leukemia cells. *Blood* 2001;98:2301—7.
56. Xu Q., Simpson S.E., Scialla T.J. et al. Survival of acute myeloid leukemia cells requires PI3 kinase activation. *Blood* 2003;102:972—80.
57. Yilmaz O.H., Valdez R., Theisen B.K. et al. Pten dependence distinguishes haematopoietic stem cells from leukaemia-initiating cells. *Nature* 2006;441:475—82.
58. Chen Z., Trotman L.C., Shaffer D. et al. Crucial role of p53-dependent cellular senescence in suppression of Pten-deficient tumorigenesis. *Nature* 2005;436:725—30.
59. Cheng T., Rodrigues N., Shen H. et al. Hematopoietic stem cell quiescence maintained by p21cip1/waf1. *Science* 2000;287:1804—8.
60. Hope K.J., Jin L., Dick J.E. Acute myeloid leukemia originates from a hierarchy of leukemic stem cell classes that differ in self-renewal capacity. *Nat Immunol* 2004;5:738—43.
61. McCulloch E.A., Howatson A.F., Buick R.N. et al. Acute myeloblastic leukemia considered as a clonal hemopathy. *Blood Cells* 1979;5:261—82.
62. Fialkow P.J., Singer J.W., Raskind W.H. et al. Clonal development, stem-cell differentiation, and clinical remissions in acute nonlymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 1987;317:468—73.
63. Till J.E., McCulloch E.A., Siminovitch L. A Stochastic Model of Stem Cell Proliferation, Based on the Growth of Spleen Colony-Forming Cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1964;51:29—36.
64. Korn A.P., Henkelman R.M., Ottensmeyer F.P. et al. Investigations of a stochastic model of haemopoiesis. *Exp Hematol* 1973;1:362—75.
65. Jamieson C.H., Ailles L.E., Dylla S.J. et al. Granulocyte-macrophage progenitors as candidate leukemic stem cells in blast-crisis CML. *N Engl J Med* 2004;351:657—67.
66. Cozzio A., Passegue E., Ayton P.M. et al. Similar MLL-associated leukemias arising from self-renewing stem cells and short-lived myeloid progenitors. *Genes Dev* 2003;17:3029—35.
67. Passegue E., Jamieson C.H., Ailles L.E. et al. Normal and leukemic hematopoiesis: are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics? *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100 (Suppl 1):11842—9.
68. Krivtsov A.V., Twomey D., Feng Z. et al. Transformation from committed progenitor to leukaemia stem cell initiated by MLL-AF9. *Nature* 2006;442:818—22.
69. Huntly B.J., Shigematsu H., Deguchi K. et al. MOZ-TIF2, but not BCR-ABL, confers properties of leukemic stem cells to committed murine hematopoietic progenitors. *Cancer Cell* 2004;6:587—96.
70. So C.W., Karsunky H., Passegue E. et al. MLL-GAS7 transforms multipotent hematopoietic progenitors and induces mixed lineage leukemias in mice. *Cancer Cell* 2003;3:161—71.

МАРКЕРЫ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ПРИ ОСТРЫХ МИЕЛОИДНЫХ ЛЕЙКОЗАХ

О.Д. Захаров, Е.Ю. Рыбалкина, М.А. Волкова, А.А. Ставровская

ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

MULTIDRUG RESISTANCE MARKERS IN ACUTE MYELOID LEUKEMIAS

O.D. Zakharov, Ye. Yu. Rybalkina, M.A. Volkova, A.A. Stavrovskaya

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Multidrug resistance (MDR) is the cell resistance to a number of drugs. Proteins from the ABC-transporter family are the most studied factors of the MDR phenomenon. According to the literature Pgp, MRP1, BCRP, and LRP are proteins involved in the development of the MDR. The authors detected the expression of these proteins in untreated patients with acute myeloid leukemia (other than M3). Expression of these proteins was observed in 64.3%, 46.4%, 64.3%, and 42.9% of patients, respectively. In all non-responders blast cells expressed more than one marker of MDR. Expression of 3 and 4 markers was found in 80% of non-responders while in responders 1—2 markers were expressed in 83%.

Key words: acute myeloid leukemia, MDR, Pgp, MRP1, BCRP, LRP

3а последние годы достигнут несомненный прогресс в изучении острых миелоидных лейкозов (ОМЛ). Благодаря исследованиям патологов, клиницистов, генетиков раскрыты некоторые механизмы патогенеза, определены факторы прогноза. Все это привело к

тому, что заболевание, бывшее фатальным для 100% больных, в настоящее время расценивается как потенциально излечиваемое. При использовании современных схем ПХТ 5-летняя безрецидивная выживаемость составляет 45—50%, проведение аллогенной трансплантации гемо-

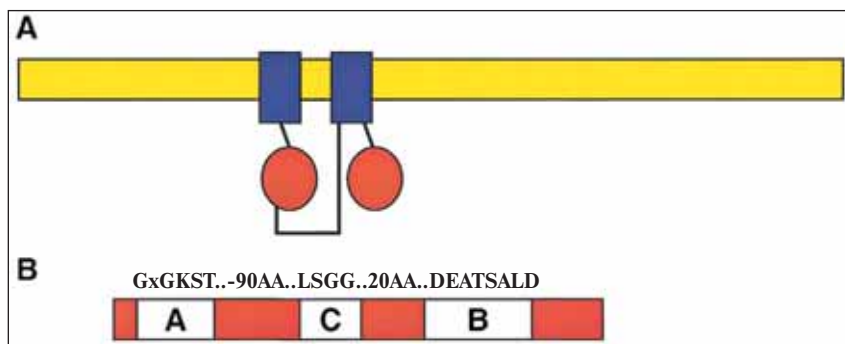


Рис. 1. Структура типичного ABC-транспортера. Желтым показана билипидная мембрана, синим — трансмембранный домен, красным — связывающая последовательность нуклеотидов

Таблица 1. Экспрессия Pgp и ее влияние на частоту достижения полной ремиссии (%)

Исследование	Экспрессия Pgp у всех больных, %	Полные ремиссии в группе Pgp+	Полные ремиссии в группе Pgp-
J.-P. Marie и соавт. [8] (n=82)	51	51	79
P. Wood и соавт., 1996 (n=80)	55	60	92
SWOG, 1999 (n=352)	28	47	55

поэтических стволовых клеток увеличивает этот показатель до 55–60%.

Основной задачей, стоящей перед клиницистом при лечении первичного больного с ОМЛ, является достижение полной клинико-гематологической ремиссии. Современная терапия ОМЛ позволяет получить полные ремиссии у 65–80% первичных больных. По данным отечественных исследователей (Российская группа по изучению острых лейкозов), этот показатель составляет 64% [1]. Несмотря на очевидные успехи в лечении острых нелимфобластных лейкозов (ОНЛЛ), приблизительно у 10–20% пациентов при применении стандартной химиотерапии не удается получить полной ремиссии. Данная группа больных представляет большую клиническую проблему, так как эффективность схем второй линии химиотерапии, основанных, главным образом, на высоких дозах цитарабина, не превышает 20%. Использование новых препаратов, таких как ингибиторы топоизомеразы II (топотекан), производные платины (карбоплатин), флударабин, не улучшило ситуацию. Применение столь агрессивного метода лечения, как аллогенная трансплантация костного мозга, позволяет надеяться на долговременную выживаемость у 10% первично-резистентных больных. Таким образом, первичная резистентность, т.е. отсутствие полной ремиссии после проведения 1–2 курсов современной индукционной химиотерапии в адекватных дозах, является крайне неблагоприятным фактором прогноза и представляет собой одну из основных проблем современной онкогематологии, для решения которой проводятся многочисленные исследования.

В последние годы все больший интерес исследователей привлекает феномен множественной лекарственной устойчивости (МЛУ).

МЛУ называют резистентность клеток к ряду лекарственных препаратов, различающихся по химической структуре и механизму действия [2].

От момента открытия данного феномена и до наших дней ОМЛ является наилучшей экспериментальной

моделью для изучения механизмов устойчивости злокачественных клеток к действию цитостатиков. Это обусловлено высокой чувствительностью клеток к химиотерапии, относительной простотой их получения и культивирования.

Наиболее изученным фактором, определяющим наличие у клетки феномена МЛУ, являются белки из семейства ABC-транспортёров (ATP Binding Cassette transporters, АТФ-зависимые транспортёры; рис. 1). Данная группа объединяет трансмембранные протеины, связывающие АТФ и использующие энергию для транспортировки некоторых молекул через все виды клеточных мембран. Семейство подразделяется на подсемейства А, В, С, D, E, F и G в зависимости от структуры АТФ-связывающих доменов и в настоящее время насчитывает около 50 белков, 3 из которых имеют значение в разви-

тии феномена МЛУ при ОМЛ [3, 4].

Впервые связь мембранных белков-транспортёров с феноменом МЛУ была показана в исследованиях лаборатории Victor Ling при изучении белка с молекулярной массой 170 кД, названного Р-гликопротеином (Pgp), обладавшим способностью уменьшать внутриклеточное накопление и цитотоксичность структурно и функционально различных цитостатиков [5]. Pgp кодируется геном MDR1 (относится к семейству В, международное название ABCB1), расположенным на длинном плече хромосомы 7 (7q21). Молекула белка имеет внутри- и внеклеточный компонент и 12 раз пересекает цитоплазматическую мембрану. Его функцией являются энергозависимый транспорт (эффлюкс) за пределы клетки и уменьшение внутриклеточной концентрации большого числа ксенобиотиков, в том числе лекарственных препаратов. Кроме того, последние исследования показывают, что Pgp играет роль в увеличении апоптотического порога клетки. Pgp демонстрирует широкую специфичность к веществам с различной структурой и соответственно определяет устойчивость клеток к большому числу препаратов, таких как алкалоиды барвинка, антрациклины, эпиподофиллотоксины, таксаны, актиномицин D [6, 7].

При ОМЛ гиперэкспрессия MDR1 наблюдается, по данным разных исследователей, у 20–50% первичных больных.

Несмотря на предпринятые многочисленные многоцентровые исследования, роль Pgp в развитии первичной резистентности у больных ОМЛ до сих пор остается спорной. Как видно из данных, приведенных в табл. 1, составленной по результатам многоцентровых исследований, в мировой литературе имеются противоречивые результаты: в ряде исследований отмечается достоверно больший процент достижения полных ремиссий в группе пациентов, бластные клетки которых не экспрессируют Pgp, в других работах подобного различия не отмечено [8, 9].

Были предприняты попытки связать гиперэкспрессию белка Pgp с известными прогностически неблагоприятными факторами, включая возраст, цитогенетические aberrации, гиперлейкоцитоз, уровень гемоглобина, экспрессию CD34, вторичный характер ОМЛ.

Показана корреляция экспрессии Pgp с наличием маркера CD34 (по данным разных авторов, 50–70% CD34+CD38- клеток имеют Pgp) [10, 11]. Неизвестно, оказывает ли молекула CD34 непосредственное влияние на активность Pgp.

Встречаются отдельные сообщения о взаимосвязи экспрессии и функциональной активности Pgp с различными ФАБ-вариантами ОМЛ, однако на настоящий момент можно сказать, что экспрессия данного белка практически отсутствует только при остром промиелоцитарном лейкозе, отличающемся высочайшей чувствительностью к антрациклинам и служащем экспериментальной моделью для поиска путей преодоления МЛУ при других ФАБ-вариантах ОМЛ. Несомненной является связь возраста с экспрессией Pgp. В исследовании O. Legrand и соавт. [12], включившем в себя 132 пациента, Pgp определялся лишь у 17% больных моложе 35 лет, в то время как в возрастных группах 35–50 лет и старше 65 лет экспрессия составила 39 и 71% соответственно.

D. Damiani и соавт. [13] считают Pgp независимым фактором прогноза у больных с нормальным кариотипом, поскольку имеющиеся данные убедительно показывают необходимость отнесения больных с гиперэкспрессией Pgp и нормальным кариотипом в группу неблагоприятного прогноза.

В последние годы проводятся исследования по выявлению взаимосвязи Pgp с новыми факторами прогноза, одним из которых является мутация *FLT3*. Показано, что бластные клетки, одновременно экспрессирующие Pgp и имеющие мутацию *FLT3*, отличаются сниженной апоптотической способностью в сравнении с клетками, не имеющими данной ассоциации [14].

Вслед за открытием Pgp исследование злокачественных клеток с фенотипом МЛУ, не связанным с геном *MDR1*, привело к открытию S.P. Cole и соавт. [15] в 1992 г. в клеточной линии мелкоклеточного рака легкого белка *MRP1* (multidrug resistance-associated protein; белок, ассоциированный с множественной лекарственной устойчивостью; класс C, ген *ABCC1*). Этот белок с молекулярной массой 190 кД, кодируемый геном, расположенным на хромосоме 16 (регион 16p13.1), обеспечивает резистентность примерно к тому же кругу химиопрепаратов, что и Pgp. Он транспортирует отрицательно заряженные ионы, конъюгированные с молекулой глутатиона. В норме белок *MRP1* широко распространен в органах и тканях организма, включая клетки гемопоэтической системы. Признано его участие в развитии феномена МЛУ при раке легкого, толстой кишки, молочной железы, мочевого пузыря и простаты, а также при лейкозах. Данные о частоте экспрессии и функциональной значимости белка *MRP* при ОМЛ весьма противоречивы. По данным D.C. Zhou и соавт. [16], проанализировавших бластные клетки 91 первичного больного ОМЛ, экспрессия *MRP1* наблюдалась у 24% пациентов, полные ремиссии в данной группе были достигнуты у 22% по сравнению с 84% в группе пациентов без экспрессии *MRP1*. M. Filipits и соавт. [17] определяли экспрессию *MRP* у 121 первичного больного ОМЛ, обнаружив при этом низкий уровень экспрессии у

30% пациентов, средний и высокий — у 46 и 24% соответственно. Экспрессия *MRP1* не зависела от классических факторов прогноза (включая цитогенетические аномалии) и не влияла на непосредственные результаты лечения. Показана тенденция к снижению общей выживаемости в группе с высоким и средним уровнем экспрессии *MRP1* [17]. В исследовании M. Schaich и соавт. [18] при анализе данных 331 больного показано, что в отличие от Pgp, оказывавшего влияние на непосредственные результаты лечения и общую выживаемость, экспрессия *MRP1* является независимым фактором прогноза для безрецидивной выживаемости. Интересные данные опубликованы в 1996 г. B.J. Kuss и соавт. [19], которые, основываясь на локализации гена *MRP1* на хромосоме 16, предположили, что дезактивация этого гена при специфической мутации (*inv16*), характерной для М4 ФАБ-варианта ОМЛ с эозинофилией, является причиной благоприятного прогноза при данном варианте заболевания. Был проведен анализ 22 больных с *inv 16*, у 5 из них была обнаружена делеция гена *MRP*, у этих больных отмечены достоверно лучшие показатели выживаемости [19].

Некоторые исследователи высказали предположение, что феномен МЛУ в большей степени связан с коэкспрессией нескольких белковых молекул. Так, O. Legrand и соавт. [12], проанализировав данные 132 больных, показали прогностическое значение одновременного обнаружения Pgp и *MRP1* в бластных клетках при ОМЛ.

Активные исследования семейства ABC-транспортеров позволили в 1998 г. группе исследователей под руководством L.A. Doyle [20] выделить из клеточной линии рака молочной железы MCF-7/AdrVp, резистентной к даунорубину, топотекану и митоксантрону, новый белок этого семейства. Он был назван «белком устойчивости рака молочной железы» (breast cancer resistance protein, BCRP) и отнесен к подсемейству G (ген *ABCG2*). Было показано, что перенос этого гена в химиочувствительные клеточные линии индуцирует резистентность к вышеуказанным препаратам при сохранении чувствительности к цисплатину, паклитакселу и винкаалкалоидам. Почти одновременно этот белок был выделен в двух других лабораториях, в связи с чем в литературе встречаются синонимичные обозначения MXR (mitoxantrone resistance protein) и ABCP (placental ABC transporter). Ген, кодирующий белок, располагается на длинном плече хромосомы 4 (4q22).

Хорошо известно, что антрациклины являются базисными препаратами при лечении ОМЛ, в связи с чем значение белка BCRP при ОМЛ начало активно изучаться сразу после его открытия. Данные продолжают накапливаться. Например, в исследовании Z. Benderra и соавт. [21] (149 первичных больных ОМЛ), завершеном в 2004 г., экспрессия белка BCRP обнаружена в 52%. В данной группе частота достижения полных ремиссий составила 43% против 69% в группе BCRP-отрицательных пациентов ($p=0,005$). Значимой корреляции между экспрессией BCRP и Pgp обнаружено не было. Исследователи делают вывод о том, что наихудший прогноз отмечен в группе больных, бластные клетки которых экспрессировали одновременно BCRP и Pgp (45% полных ремиссий в сравнении с 90% в группе без экспрессии обоих маркеров) [21]. Этот вывод был дополнен в более поздней работе той же исследовательской группы. У 81 больного ОМЛ была определена экспрессия *MRP*, BCRP и Pgp и продемонстрированы достоверно лучшие показатели общей выживаемости

Таблица 2. Влияние экспрессии LRP на частоту достижения полной ремиссии (в %)

Исследование	Экспрессия LRP1 у всех больных, %	Полные ремиссии в группе LRP1+	Полные ремиссии в группе LRP1-
R. Pirker и соавт. [24]	36	55	72
M. Filipits и соавт. [25]	35	55	81
M. Schaich и соавт. [18]	40	68	80

мости у пациентов, в бластных клетках которых белков МЛЮ не обнаружено вообще либо обнаружен 1 белок.

В 2006 г. были опубликованы результаты работы итальянской группы исследователей [13], в которую были включены 73 первичных больных ОМЛ. Экспрессия BCRP выявлена у 33% больных, причем статистически значимых различий в достижении полной ремиссии у BCRP-положительных и BCRP-негативных больных обнаружено не было. Тем не менее в группе BCRP-положительных пациентов отмечена достоверно более высокая частота рецидивов (78% против 38%), причем все рецидивы были ранними. В работе вновь подчеркивается важность комплексного исследования фенотипа МЛЮ.

Несмотря на отчетливую связь BCRP с транспортом антрациклинов *in vitro*, до последнего времени не было продемонстрировано преимуществ ни одного из них (даунорубицин, идарубицин, митоксантрон) для преодоления резистентности опухолевых клеток, обусловленной этим белком. Тем не менее в 2002 г. B.L. Abbott и соавт. [22] *in vitro* показали значение BCRP в развитии резистентности к митоксантрону и топотекану при сохранении чувствительности к идарубицину.

Необходимо отметить тот факт, что ни в одном исследовании не было показано статистически значимой связи экспрессии BCRP с классическими неблагоприятными факторами прогноза, в том числе с цитогенетическими аномалиями, что позволяет считать данный белок независимым прогностическим фактором.

Помимо вышеописанных белков из семейства ABC-транспортёров, в развитии феномена МЛЮ участвует еще ряд факторов. В 1993 г. при помощи моноклонального антитела LRP56 в полирезистентной Pgp-отрицательной клеточной линии рака легкого был выделен белок с молекулярной массой 110 кД, названный белком устойчивости рака легкого — LRP (lung resistance protein). Ген LRP, расположенный на хромосоме 16 в регионе, близком к гену MRPI, является гомологом главного везикулярного белка крыс. Исследования показали, что в отличие от ABC-белков он локализован не на клеточной мембране, а в цитоплазме и ассоциирован с везикулами и лизосомами, что позволяет считать его участником ядерно-цитоплазматического транспорта. Везикулы представляют собой расположенные в цитоплазме частицы, состоящие из РНК и белка. При культивировании клеток, экспрессирующих LRP, с антрациклинами эти препараты обнаруживаются внутри везикул и выводятся из клетки путем экзоцитоза. Гиперэкспрессия LRP в норме наблюдается в тканях толстой кишки, легкого, проксимальных почечных канальцев, коре надпочечников и макрофагов, однако его физиологические функции остаются неизвестными. Белок LRP обнаруживается в клетках различных злокачественных опухолей при отсутствии экспрессии Pgp и MRPI, что ассоциируется с резистент-

ностью к доксорубину, винкристину, цисплатину и мелфалану.

Первые данные о значении LRP при ОМЛ появились в 1996 г. Группа исследователей под руководством А.Ф. List [23] на достаточно разнородной группе из 86 больных (первичный и вторичный ОМЛ, РАИБ-Т, бластный криз хронического миелобластного лейкоза) показала, что у LRP-отрицательных паци-

ентов частота достижения полной ремиссии достоверно выше (35% против 68%). Была выявлена зависимость экспрессии LRP от возраста (старше 55 лет), подтвержденная во всех последующих исследованиях. В других исследованиях была продемонстрирована взаимосвязь экспрессии LRP с лейкоцитозом. Влияние экспрессии LRP на непосредственные результаты терапии отображено в табл. 2.

Ряд исследователей, например M. Schaich и соавт. [18], на больших группах больных ($n=331$) показывают отсутствие самостоятельного значения экспрессии LRP как прогностического фактора.

Неоднозначность данных и достаточно большой накопленный материал привели к тому, что в последние годы большинство исследователей, занимающихся проблемой лекарственной устойчивости, оценивают комплексный фенотип МЛЮ, т.е. экспрессию двух и более белков и влияние на исход лечения их ассоциаций. Например, H.J. Nuh и соавт. [26] в 2006 г., проанализировав данные 81 больного, показали прогностическую значимость коэкспрессии MRP и MDR1, а также MRP и LRP для 2-летней выживаемости, подтвердив тем самым выводы ряда предшествовавших исследований. В последних работах показано, что у больных, бластные клетки которых экспрессируют 3 и более маркера МЛЮ, шанс достижения полной ремиссии при применении стандартных методов лечения чрезвычайно мал.

Отделением химиотерапии гемобластозов РОНЦ РАМН совместно с лабораторией генетики опухолевых клеток НИИ канцерогенеза РОНЦ РАМН впервые в России проводится комплексное исследование фенотипа МЛЮ у первичных больных ОМЛ (кроме М3), изучение его влияния на частоту достижения полной ремиссии, а также на возможность преодоления неблагоприятного фенотипа при использовании различных антрациклинов в схемах индукционной химиотерапии. Мы определяли экспрессию гена MDR1, белков BCRP, LRP и MRP1 в бластных клетках костного мозга в первый острый период, а также во время рецидива. На настоящий момент в исследование включены 30 больных — 18 (58%) мужчин и 12 (42%) женщин с различными ФАБ-вариантами ОМЛ (табл. 3).

Средний возраст пациентов составил 39,5 года (разброс 15—80 лет).

У 22 больных перед началом лечения выполнено цитогенетическое исследование, в соответствии с которым больные были разделены на 3 прогностические группы (табл. 4).

У 22 больных проведено иммунофенотипическое исследование бластных клеток, причем у 76% выявлена экспрессия CD34.

Таким образом, число больных с неблагоприятными цитогенетическими и иммунологическими признаками было сравнительно выше, чем в среднем среди больных с ОНЛЛ.

Таблица 3. Распределение больных по ФАБ-вариантам

ФАБ-вариант	Число больных абс.	%
M1	8	26,7
M2	8	26,7
M4	7	23,3
M4эоз	1	3,3
M5	4	13,3
M6	2	6,7

23 больных получали лечение по протоколу РОНЦ для ОМЛ, включающее индукцию ремиссии по стандартной схеме 3+7+7 с этопозидом и идарубицином, консолидацию ремиссии высокими дозами цитозара (курсовая доза 18 г/м²) в комбинации с идарубицином (2 курса), поддерживающую терапию по схеме 1+5+5 также с идарубицином и этопозидом (4–6 курсов). По нашим данным, частота достижения полной ремиссии при подобной программе лечения составляет 72%, причем у всех больных с ремиссиями костномозговые ремиссии достигнуты после 1-го курса химиотерапии. Прочие пациенты получали индукционную химиотерапию по схеме 3+7 с даунорубицином в дозе 45 мг/м².

В целом полные ремиссии были достигнуты у 20 (66,7%) больных, 10 (33,3%) пациентов оказались резистентными к проводимому лечению. Резистентными считались пациенты, у которых ремиссия не была получена после 2 курсов стандартной химиотерапии.

У всех пациентов проводился забор костного мозга перед началом лечения, образцы костного мозга в пробирках с ЭДТА доставлялись в лабораторию, где в течение 24 ч с момента взятия материала оценивали экспрессию белков МЛУ в реакции с моноклональными мышиными антителами фирмы CHEMICON: к MRP1 — MAB 4122, к LRP — MAB4126, к BCRP — MAB4146, к MDR1 — UIC2.

Анализ экспрессии проводился методом проточной лазерной флуорометрии на приборе FACScan Becton Dickinson.

Экспрессия белка считалась положительной при его обнаружении более чем в 25% бластных кле-

Таблица 4. Распределение больных по прогностическим группам в зависимости от цитогенетических аномалий

Прогноз	Число больных абс.	%
Благоприятный	4	18,2
Промежуточный	11	50
Неблагоприятный	7	31,8

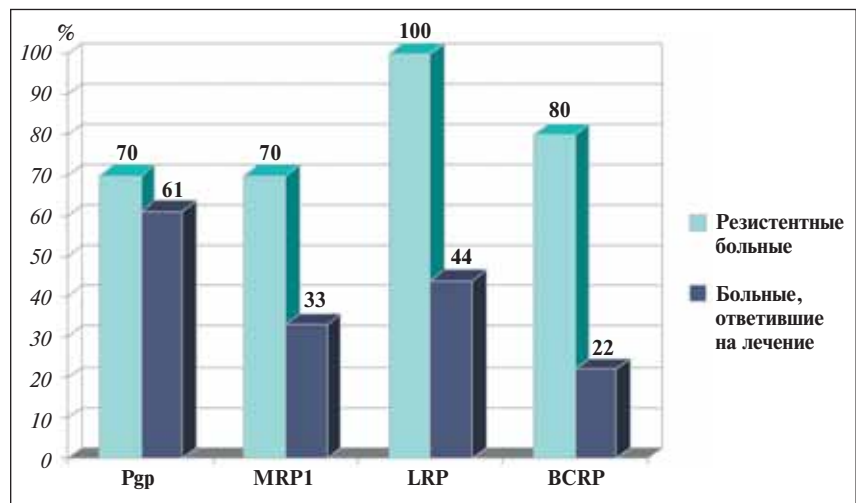


Рис. 2. Экспрессия белков МЛУ в группе больных, ответивших на лечение, и у резистентных больных

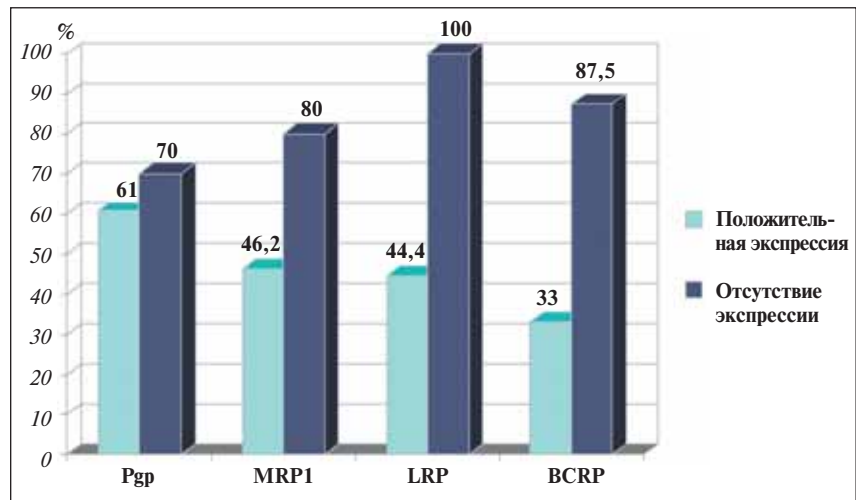


Рис. 3. Частота достижения полной ремиссии в зависимости от экспрессии белков МЛУ

ток. Положительная экспрессия Pgp выявлена у 64,3% больных, MRP1 — у 46,4%, LRP — у 64,3%, BCRP — у 42,9%.

Эти данные несколько превышают мировые, что может быть объяснено как относительно небольшой выборкой больных, так и совокупностью неблагоприятных факторов прогноза.

Таблица 5. Распределение пациентов в зависимости от числа экспрессируемых маркеров

Число экспрессируемых маркеров	Число больных абс.	%
1	12	40,0
2	7	23,3
3	6	20,0
4	5	16,7

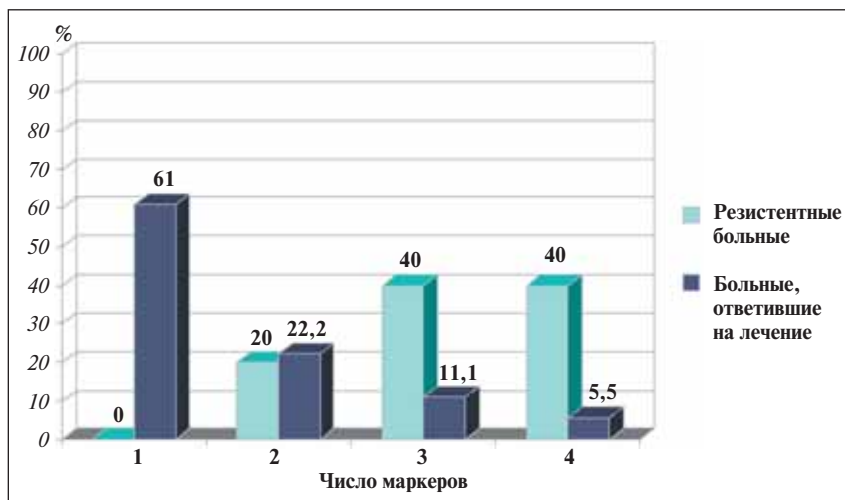


Рис. 4. Зависимость достижения полной ремиссии от числа экспрессируемых белков МЛУ

В группе резистентных больных отмечается более высокая экспрессия белков МЛУ, причем для BCRP и LRP различия достоверны ($p=0,002$; рис. 2).

Частота достижения полной ремиссии оказалась ниже при экспрессии любого из изучаемых белков, причем вновь для BCRP и LRP различия были статистически достоверны ($p=0,004$; рис. 3).

В исследованной группе у всех больных выявлена экспрессия хотя бы одного белка МЛУ. Мы оценивали влияние числа экспрессированных маркеров МЛУ на

процент достижения полных ремиссий. Лишь у 40% больных обнаружен только 1 ABC-белок, у большинства больных обнаружено 2 белка и более (табл. 5).

Из полученных нами данных следует, что бластные клетки всех больных, не ответивших на терапию, экспрессировали более одного маркера МЛУ, у 80% резистентных больных отмечена экспрессия трех и четырех маркеров, в то время как в группе чувствительных больных 1–2 маркера экспрессировались бластными клетками у 83% пациентов (рис. 4).

Более того, необходимо отметить, что у единственного больного, ответившего на лечение и экспрессировавшего все 4 белка (более 50% бластных клеток), развился ранний рецидив.

Определенный интерес представляет зависимость экспрессии белков МЛУ от цитогенетической прогностической группы. Несмотря на то что в ряде исследований подобная связь отрицается, по нашим данным, у всех больных из группы с неблагоприятными цитогенетическими аномалиями бластные клетки экспрессировали более двух маркеров МЛУ.

Заключение

В связи с потенциальной курбельностью ОМЛ феномен МЛУ и пути его преодоления вызывают большой интерес исследователей во всем мире. Данные о прогностической значимости ранее известных и вновь открываемых факторов про-

должают накапливаться и все еще остаются весьма неоднозначными. Ряд исследователей полностью отвергают значение описанных белковых субстанций как фактора прогноза, другие же считают необходимым ввести обследование фенотипа МЛУ в рутинную практику.

Наши данные показывают, что наличие экспрессии одного белка МЛУ не является прогностически неблагоприятным признаком в условиях современной терапии, экспрессия более двух белков остается прогностически неблагоприятной.

Л и т е р а т у р а

1. Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н. Лечение острых лейкозов. М., 2004.
2. Ставровская А.А. Резистентность больных гемобластозами к лекарственной терапии. В кн.: Клиническая онкогематология. Под ред. М.А. Волковой. М., Медицина; 2001.
3. Gregory D.L., Tito F., Susan E.B. The role of ABC transporters in clinical practice. The Oncologist 2003; 8(5):411–24.
4. Dean M., Rzhetsky A., Allikmets R. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. Genome Res 2001;11(7):1156–66.
5. Riordan J.R., Ling V. Purification of P-glycoprotein from plasma membrane vesicles of Chinese hamster ovary cell mutants with reduced colchicine permeability. J Biol Chem 1979;254(24):12701–5.
6. Guerci A., Merlin J.L., Missoum N. et al. Predictive value for treatment outcome in acute myeloid leukemia of cellular daunorubicin accumulation and P-glycoprotein expression simultaneously determined by flow cytometry. Blood 1995;85:2147–53.
7. van der Kolk D.M., de Vries E.G., van Putten W.J. et al. P-glycoprotein and multidrug resistance protein activities in relation to treatment outcome in acute myeloid leukemia. Clin Cancer Res 2000;6:3205–14.
8. Marie J.P., Legrand O. MDR1/P-GP expression as a prognostic factor in acute leukemias. Adv Exp Med Biol 1999;457:1–9.
9. Leith C.P., Kopecky K.J., I-Ming Chen et al. Frequency and clinical significance of the expression of the multidrug resistance proteins MDR1/P-glycoprotein, MRP1, and LRP in acute myeloid leukemia. A Southwest Oncology Group Study. Blood 1999;94(3): 1086–99.
10. Benderra Z., Faussat A.M., Sayadaye L. et al. MRP3, BCRP, and P-glycoprotein activities are prognostic factors in adult acute myeloid leukemia. Clin Cancer Res 2005;11:7764–72.
11. van Stijn A., van der Pol M.A., Kok A. et al. Differences between the CD34+ and CD34- blast compartments in apoptosis resistance in acute myeloid leukemia. Haematologica 2003;88(5):497–508.
12. Legrand O., Zompi S., Perrot J.Y. et al. P-glycoprotein and multidrug resistance associated protein-1 activity in 132 acute myeloid leukemias according to FAB subtypes and cytogenetics risk groups.

- Haematologica 2004;89(1):34—41.
13. Damiani D., Tiribelli M., Calistri E. et al. The prognostic value of P-glycoprotein (ABCB) and breast cancer resistance protein (ABCG2) in adults with de novo acute myeloid leukemia with normal karyotype. *Haematologica* 2006;91:825—8.
14. Hunter H.M., Pallis M., Seedhouse C.H. et al. The expression of P-glycoprotein in AML cells with FLT3 internal tandem duplications is associated with reduced apoptosis in response to FLT3 inhibitors. *Br J Hematol* 2004;127(1):26—33.
15. Cole S.P., Bhardwaj G., Gerlach J.H. et al. Overexpression of a transporter gene in a multidrug-resistant human lung cancer cell line. *Science* 1992;258(5088):1650—4.
16. Zhou D.C., Zittoun R., Marie J.P. Expression of multidrug resistance-associated protein (MRP) and multidrug resistance (MDR1) genes in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 1995;9(10):1661—6.
17. Filipits M., Stranzl T., Pohl G. et al. MRP expression in acute myeloid leukemia. An update. *Adv Exp Med Biol* 1999;457:141—50.
18. Schaich M., Soucek S., Thiede Ch. et al. MDR1 and MRP1 gene expression are independent predictors for treatment outcome in adult acute myeloid leukaemia. *Br J Hematol* 2005;128(3):324—32.
19. Kuss B.J., Deeley R.G., Cole S.P. et al. The biological significance of the multidrug resistance gene MRP in inversion 16 leukemias. *Leuk Lymphoma* 1996;20(5—6):357—64.
20. Doyle L.A., Yang W., Abruzzo L.V. et al. A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci* 1998;95:15665—70.
21. Benderra Z., Faussat A.-M., Sayada L. et al. Breast cancer resistance protein and P-glycoprotein in 149 adult acute myeloid leukemias. *Clin Cancer Res* 2004;10:7896—902.
22. Abbott B.L., Colapietro A.-M., Barnes Y. et al. Low levels of ABCG2 expression in adult AML blast samples. *Blood* 2002;100(13):4594—601.
23. List A.F., Spier C.S., Grogan T.M. et al. Overexpression of the major vault transporter protein lung-resistance protein predicts treatment outcome in acute myeloid leukemia. *Blood* 1996;87(6):2464—9.
24. Pirker R., Pohl G., Stranzl T. et al. The lung resistance protein (LRP) predicts poor outcome in de novo acute myeloid leukemia. *Adv Exp Med Biol* 1999;457:133—9.
25. Filipits M., Pohl G., Stranzl Th. et al. Expression of the lung resistance protein predicts poor outcome in de novo acute myeloid leukemia. *Blood* 1998;91(5):1508—13.
26. Huh H.J., Park C.J., Jang S. et al. Prognostic significance of multidrug resistance gene 1 (MDR1), multidrug resistance-related protein (MRP) and lung resistance protein (LRP) mRNA expression in acute leukemia. *J Korean Med Sci* 2006;21(2):253—8.

FLT3-ТИРОЗИНКИНАЗА ПРИ ОСТРЫХ НЕЛИМФОБЛАСТНЫХ ЛЕЙКОЗАХ

А.С. Бавыкин¹, М.А. Волкова²

¹Институт молекулярной биологии РАН, ²Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Современная интенсивная терапия острых нелимфобластных лейкозов (ОНЛЛ) нередко проводится на грани возможностей организма больного перенести ее. В первую очередь это относится к больным старше 60 лет, которые, составляя не менее половины всех больных ОНЛЛ, часто не получают интенсивной терапии и не включаются в рандомизированные исследования эффективности различных лечебных режимов из-за опасности развития угрожающих жизни осложнений. В то же время использование лекарственных средств, действие которых направлено на устранение молекулярного дефекта, лежащего в основе развития лейкоза, как показывает опыт терапии острого промиелоцитарного лейкоза полностью трансретиноевой кислотой (АТРА), может проводиться независимо от возраста и давать одинаково высокие результаты во всех возрастных группах [1—3].

В течение последних двух десятилетий ведутся активные исследования молекулярных изменений при лейкозах и разработка лекарственных средств, направленных на устранение молекулярных дефектов. Использование выявленных молекулярных маркеров в качестве прогностических факторов позволяет разделить пациентов на группы, требующие терапии различной интенсивности.

Успехи цитогенетики и изучение молекулярных дефектов, обусловленных хромосомными aberrациями, позволили разделить ОНЛЛ на 3 группы. Первая — группа со сбалансированными хромосомными aberrациями, т.е. с aberrациями, при которых не происходит

потери генетического материала. Эта группа представлена в основном реципрокными транслокациями с образованием химерных генов, в результате чего нарушается функция генов, кодирующих транскрипционные факторы, играющие ключевую роль в гемопоэзе. Больные с aberrациями этой группы при современной терапии имеют благоприятный прогноз [4]. Вторая — группа с несбалансированными хромосомными aberrациями, т.е. с aberrациями, при которых происходит потеря генетического материала, главным образом с делециями — потерей части или утратой целых хромосом. Плохой прогноз у больных с хромосомными aberrациями этого типа позволяет предполагать в патогенезе ОНЛЛ этой группы роль антионкогенов, утрачиваемых в результате хромосомных потерь [5]. Третью группу, в которую входят около половины всех больных ОНЛЛ, составляют больные с нормальным кариотипом. Отсутствие видимых цитогенетических нарушений затрудняет поиски молекулярных дефектов, поэтому патогенез лейкозов данной группы остается неясным. Больные с нормальным кариотипом традиционно относятся к группе с промежуточным прогнозом. Однако результаты применения различных лечебных программ показывают, что внутри этой группы существуют прогностически различные подгруппы.

В последние годы выявлены некоторые типы нарушений клеточного генома, которые не обусловлены или, по крайней мере, не всегда обусловлены видимыми хро-