

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ КАК ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ В-КЛЕТОЧНОМ ЛИМФОЛЕЙКОЗЕ

А.И. Захарова, Т.Н. Обухова

Гематологический научный центр РАМН, Москва

Молекулярно-генетические маркеры — важнейшие факторы прогноза при В-клеточном хроническом лимфолейкозе (В-ХЛЛ). К ним относятся мутационный статус генов варибельного региона иммуноглобулинов (V_H), его суррогатные маркеры и цитогенетические нарушения, которым была посвящена наша работа.

Мы провели цитогенетическое исследование клеток крови, костного мозга и лимфатических узлов 135 больных В-ХЛЛ, которым ранее не проводилась специфическая терапия.

Нами выявлены следующие цитогенетические особенности опухолевой формы В-ХЛЛ: делеция 11q23 — в большинстве случаев, трисомия хромосомы 12 — достоверно чаще, чем при других формах В-ХЛЛ, а делеция 13q14 — никогда, несмотря на то что это самая часто встречающаяся при В-ХЛЛ абберация.

Мы выделили 3 прогностические группы больных В-ХЛЛ: благоприятная — больные, у которых не было выявлено никаких нарушений кариотипа, и больные с одной хромосомной абберацией — делецией 13q14; группа «промежуточного» прогноза, к которой относятся больные не только с трисомией хромосомы 12, но и с делецией 11q23, которую традиционно относят к факторам неблагоприятного прогноза; и неблагоприятная — больные с делецией 17p13 и комплексными нарушениями кариотипа.

Таким образом, цитогенетическое исследование помогает определить прогноз В-ХЛЛ и, следовательно, выявить пациентов «группы риска», требующих раннего назначения терапии.

Ключевые слова: В-ХЛЛ, факторы прогноза, цитогенетика, хромосомные абберации, мутационный статус V_H

MOLECULAR-GENETIC MARKERS AS PROGNOSTIC FACTORS IN B-CELL CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

A.I. Zakharova, T.N. Obukhova

National Center for Hematology, Moscow

Molecular-genetic markers are the most important prognostic factors of B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL). These markers are V_H mutational status, it's surrogate markers — CD38, ZAP-70, LPL u ADAM29 and the aim of this study - cytogenetic abnormalities.

We have hold cytogenetic research of blood, bone marrow and lymph nodes cells of 135 non-treated patients.

We recognized several cytogenetic features of the B-CLL form, which characterizes by massive peripheral, thoracic, and abdominal lymphadenopathy and not large leucocytes counts. 11q23 deletion is defined in most of such cases, trisomy 12 — significantly more often than in other B-CLL forms, and del13q14 is never revealed in patients with this B-CLL form, though it is the most frequent aberration in B-CLL. We divided all B-CLL cases in three prognostic groups: favorable group are the patients without cytogenetic aberrations or with del13q14 as the single chromosome abnormality; the group of intermediate prognosis are the patients with trisomy 12, and also the patients with del11q23, which is traditionally divided to unfavorable prognostic factors; unfavorable group are the patients with del17p13 or complex abnormalities of karyotype.

Cytogenetic study helps to define the prognosis of B-CLL and to reveal the patients of «risk group», who need the early treatment.

Keywords: B-CLL, prognostic factors, cytogenetics, chromosome aberrations, V_H mutational status

Хронический В-клеточный лимфолейкоз (В-ХЛЛ) — опухоль, характеризующаяся клональной пролиферацией и накоплением опухолевых CD5-, CD23-позитивных В-клеток в костном мозге, периферической крови, лимфатических узлах и селезенке. Это заболевание составляет 25% всех лейкозов взрослых и 40% всех лейкозов у больных старше 65 лет. Риск возникновения В-ХЛЛ увеличивается с возрастом, медиана возраста заболевших составляет 65 лет [1]. Мужчины болеют вдвое чаще женщин [2].

Клинические проявления и прогноз при В-ХЛЛ очень гетерогенны. Некоторые больные живут 20 и более лет, не нуждаясь в терапии, в то время как у других прогрессия опухоли в течение нескольких месяцев требует начала лечения [3]. Традиционно течение В-ХЛЛ подразделялось на начальную стадию, во вре-

мя которой осуществляется лишь наблюдение за течением заболевания, и стадию развернутых клинических проявлений, когда появляется необходимость начинать терапию [4]. В последние годы были разработаны методы терапии В-ХЛЛ, такие как терапия моноклональными антителами и аутологичная/аллогенная трансплантация костного мозга, приводящие к излечению. Эти терапевтические подходы заметно отличаются от существовавших ранее в отношении эффективности, токсичности и стоимости [5]. Соответственно меняются цель и показания к началу терапии В-ХЛЛ. На смену традиционной тактике приходит адаптированная к риску терапия, в связи с чем необходимо установить, каких пациентов следует начинать лечить вскоре после установления диагноза и какой вариант терапии предпочтителен, т.е. необходимо определить фа-

кторы прогноза В-ХЛЛ. Классические или динамические маркеры прогноза — стадия заболевания, тип инфильтрации костного мозга, время удвоения лимфоцитов, уровни лактатдегидрогеназы (ЛДГ), растворимого CD23, β_2 -микроглобулина — коррелируют с массой опухоли и меняются со временем. Генетические маркеры — мутационный статус генов варибельного региона иммуноглобулинов (V_H), его суррогатные маркеры и цитогенетические aberrации — могут быть определены уже в дебюте болезни, когда еще нет никаких клинических показаний к началу лечения, и поэтому они являются наиболее ценными факторами прогноза для В-ХЛЛ [6].

Мутационный статус генов V_H

Мутационный статус V_H — это один из наиболее важных молекулярно-генетических параметров, необходимых для выделения патогенетических и прогностических подгрупп В-ХЛЛ. В 1990-х годах В-ХЛЛ был подразделен на 2 варианта в зависимости от наличия или отсутствия соматической гипермутации в генах V_H [7]. Известно, что в ходе иммунного ответа В-клетки проходят стадию соматической гипермутации, во время которой на небольшом по протяженности участке (1500—2000 нуклеотидов), соответствующем перестроенному V-(D)-J-сегменту, возникает множество мутаций [8]. Эти мутации возникают случайным образом, часть из них сопровождается аминокислотными заменами. До соматической гипермутации гены V_H кодируют низкоспецифичные антитела. Высокая аффинность антител и необыкновенное разнообразие специфичности достигаются в значительной степени за счет соматической гипермутации. Клетки, в которых гены иммуноглобулинов содержат мутации, являются клетками памяти, поскольку они контактировали с антигеном. Если мутаций в генах V_H нет, речь идет либо о наивных В-клетках, либо о В-клетках, развивавшихся по альтернативному пути и миновавших стадию соматической гипермутации. Факт прошедшей соматической гипермутации можно оценить. Для этого определяют нуклеотидную последовательность генов V_H иммуноглобулинов и сравнивают ее с последовательностями герминальных генов V_H , опубликованными в общедоступных базах данных.

В настоящее время существует несколько крупных баз данных по последовательностям генов иммуноглобулинов. Эти базы данных созданы на основании огромного количества последовательностей, полученных за последние 15 лет, и постоянно пополняются.

Анализ множества опубликованных последовательностей позволил систематизировать данные по генам V_H . Было установлено, что все гены V_H являются потомками одного общего предшественника. Новые гены V_H образовались в эволюции благодаря дупликациям, вставкам, мутациям в родительских генах. По гомологии все гены V_H подразделены на 7 семейств — V_H1 , V_H2 , V_H3 , V_H4 , V_H5 , V_H6 и V_H7 . Члены одного семейства могут быть высоко (V_H4) или менее (V_H3) гомологичны друг другу.

Если полученная последовательность генов V_H гомологична герминальной, это означает, что клетка-предшественница этого варианта В-ХЛЛ не проходила этап соматической гипермутации. В случае прошед-

шей гипермутации на участке протяженностью 300 нуклеотидных пар обычно выявляется не менее 5 мутаций, что позволяет утверждать, что данная клетка прошла герминальный центр [9].

Важно отметить, что определение мутировавшего или немутировавшего варианта В-ХЛЛ основывается на произвольно выбранном пороге, соответствующем чаще всего 97—98% гомологии. Насколько этот пороговый уровень оптимален — спорный вопрос [10]. Однако абсолютно очевидно, что варианты В-ХЛЛ с разным мутационным статусом V_H существенно различаются по клиническому течению и прогнозу: при отсутствии мутаций генов V_H заболевание быстро прогрессирует, его прогноз неблагоприятен, в то время как случаи с мутировавшими генами V_H характеризуются достоверно более медленной прогрессией опухоли и более высокой выживаемостью больных [11, 12].

Недавно было установлено, что произошедшая соматическая гипермутация некоторых генов семейства V_H3 , а именно генов в сегменте V_H3 —21, может свидетельствовать о неблагоприятном прогнозе заболевания [13].

Суррогатные маркеры

мутационного статуса генов V_H

Была выявлена корреляция мутационного статуса V_H с уровнем экспрессии антигена CD38, уровнем экспрессии ZAP-70, LPL и ADAM29: при немутированном варианте V_H наблюдаются высокие уровни экспрессии CD38 [11], цинкассоциированного протеина ZAP-70 [14], липазы липопотеинов — LPL [15] и ADAM29 [16]. Следовательно, по этим маркерам можно косвенно судить о мутационном статусе V_H . Их принято называть суррогатными маркерами мутационного статуса генов V_H . Дальнейшие исследования поставили под сомнение возможность тривиального использования CD38 и ZAP70 как суррогатных маркеров IgVH для рутинного определения прогноза В-ХЛЛ. Прежде всего, результаты подобных исследований, проводившихся в разных лабораториях, противоречивы. Также важно, что уровень экспрессии CD38 может меняться со временем. В разных работах были использованы разные значения порогового уровня для разделения «позитивных» и «негативных» по уровню экспрессии CD38 случаев В-ХЛЛ — 30, 20, 7% и менее. Кроме того, определение уровня экспрессии ZAP-70 требует тщательного отделения Т-клеток. И, наконец, примерно в 10—30% случаев уровень экспрессии CD38 или ZAP70 противоречил данным мутационного статуса генов V_H [17, 18]. Противоречащие друг другу прогностические значения данных мутационного статуса и уровня экспрессии ZAP70 у некоторых больных могут быть объяснены наличием других генетических факторов риска, таких как делеции 11q или 17p и вовлечение генов V_H3 —21. В недавнем исследовании подобные дискордантные случаи с вовлечением V_H3 —21 были почти исключительно ZAP70-позитивными и V_H -мутированными, в то время как все (за исключением одного) такие больные с наличием цитогенетических aberrаций «высокого риска» были ZAP70-негативными и V_H -немутированными [19].

Использование нескольких суррогатных маркеров уменьшает риск неправильной оценки прогноза, именно поэтому так важен поиск новых маркеров.

Цитогенетические aberrации

В 1980-х годах появились первые публикации о цитогенетических нарушениях при В-ХЛЛ. Выявление aberrаций было затруднено в связи с крайне низкой митотической активностью зрелых В-лимфоцитов — субстрата опухоли. Применение В-клеточных митогенов лишь немного увеличивает количество делящихся клеток [20]. Метафазы опухолевых клеток при В-ХЛЛ, как правило, плохого качества, вследствие чего идентифицирование нарушений кариотипа затруднено [21]. Кроме того, нормальный кариотип, часто выявляемый при В-ХЛЛ, может быть представлен остаточной популяцией неопухолевых Т-лимфоцитов [22]. Тем не менее с помощью стандартного цитогенетического исследования были выявлены aberrации, которые наиболее часто встречаются при В-ХЛЛ: делеции 13q14, 11q22-23, 17p13, 6q21 и трисомия хромосомы 12 [20].

Применение флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) при использовании зондов к локусам, в которых характерны aberrации при В-ХЛЛ, позволило выявлять цитогенетические aberrации в интерфазных ядрах опухолевых клеток приблизительно у 55–80% больных В-ХЛЛ [20]. В нашем исследовании из 135 больных В-ХЛЛ цитогенетические aberrации выявлены у 55% с помощью комбинации стандартного цитогенетического исследования и FISH. В основном цитогенетические нарушения были определены благодаря FISH-методике, однако проведение стандартного цитогенетического исследования мы считаем необходимым, поскольку ряд цитогенетических нарушений может быть выявлен только при этом исследовании, чаще всего — в составе комплексного кариотипа [23].

Делеция 13q14

Наиболее частым структурным хромосомным нарушением, выявляемым при цитогенетических исследованиях В-ХЛЛ, является делеция на участке 13q14 [24]. Частота выявления этого цитогенетического нарушения с помощью FISH колеблется в пределах 50–65% [3, 20]. В нашем исследовании делеция 13q14 была обнаружена у 25% больных [23], что в 2 раза меньше средней частоты выявления этой aberrации.

Первым выявленным кандидатным опухолю-супрессорным геном в локусе 13q14 оказался ген ретинобластомы: M. Fitchett определил, что локализация минимального участка делеции 13q14 близка к месту расположения гена ретинобластомы *RB-1*, и данное наблюдение было подтверждено в последующих исследованиях [25, 26]. Делеция аллеля гена *RB1* была обнаружена у четверти больных В-ХЛЛ, но инактивация обоих аллелей в результате делеции или мутации определяется очень редко [3].

С целью определения новых опухолю-супрессорных генов при В-ХЛЛ разными исследовательскими группами была проведена полная расшифровка нуклеотидной последовательности того участка региона 13q14, который всегда делетируется (минимальный делетируемый участок), и построены его генетические карты [27–29]. Были определены следующие наиболее вероятные кандидатные опухолю-супрессорные гены: *RFP2*, *BCMS* (ep272-3-t5, LEU1), *BCMSUN* (ep272-3-t4, LEU2), *miR15*, *miR16* и *DLEU7* [20, 30–33]. Однако при молекулярно-биологическом анализе не было выявлено инактивации этих кандидатных генов. С целью вы-

яснения патогенетического значения кандидатных генов в регионе 13q14 проводятся экспрессионный анализ и эксперименты с трансгенными мышами [34]. Итак, вопрос, какой именно опухолю-супрессорный ген в регионе участвует в патогенезе В-ХЛЛ, остается открытым. Возможно, при данной делеции может быть задействовано более одного гена в регионе 13q или доступные в настоящее время технологии недостаточно чувствительны, чтобы определить подобный ген [35].

С клинической точки зрения В-ХЛЛ с единственной aberrацией — делецией 13q14 — характеризуется благоприятным течением заболевания. G. Juliusson и соавт. [24] выяснили, что у больных с нормальным кариотипом или единственной делецией 13q прогноз лучше, чем у пациентов с трисомией хромосомы 12 как единственным цитогенетическим нарушением или с комплексными нарушениями кариотипа [24]. Позднее Н. Dohner и соавт. [36] обнаружили, что медиана выживаемости и время до необходимости начинать лечение у больных с единственной делецией 13q14 больше, чем при любой другой aberrации и даже при нормальном кариотипе (рис. 1, 2). В нашей работе не получено статистически достоверных различий в выживаемости больных с нормальным кариотипом и больных с делецией 13q14 — единственной aberrацией, а общая выживаемость в этой объединенной группе больных (без цитогенетических нарушений и с единственной делецией 13q14) оказалась самая высокая [23] (рис. 3, 4).

У больных с единственной делецией 13q значительно чаще выявляется мутировавший вариант генов V_H ($p < 0,001$), таким образом, эти 2 генетических прогностических фактора коррелируют друг с другом [5]. По данным и нашего исследования [23], и G. Dewald с соавт. [3], единственная *del13q14* достоверно чаще встречается у больных с низким уровнем экспрессии CD38.

Единственная делеция 13q14 выявлялась нами только у больных с ранними стадиями В-ХЛЛ. Напротив, сочетание делеции 13q14 с другими aberrациями характерно для больных с поздними этапами развития опухоли [23]. При сочетании делеции 13q14 с какой-либо другой aberrацией она перестает быть маркером благоприятного прогноза при В-ХЛЛ. Хороший прогноз подгруппы больных В-ХЛЛ с единственной делецией 13q14, по всей видимости, связан с тем, что эта делеция не ускоряет прогрессию заболевания [23, 34].

Трисомия хромосомы 12

Трисомия 12 была описана в начале 1980-х годов до эры FISH как первая повторяющаяся aberrация при хроническом лимфолейкозе; с помощью стандартного цитогенетического исследования ее определяли в 10–25% случаев В-ХЛЛ [21]. Частота выявления трисомии хромосомы 12 с помощью FISH составляет 10–16% [34]. В нашей работе трисомия хромосомы 12 была выявлена у 13% больных [23].

В ряде случаев определяется частичная трисомия, т.е. дупликация участка длинного плеча хромосомы 12. Минимальным дуплицирующимся сегментом считается область 12q13–q15, в которой выявлены гены с онкогенным потенциалом (например, *CDK4*, *GLI* и *MDM2*), однако роль ни одного из этих генов в патогенезе В-ХЛЛ не определена [37, 38].

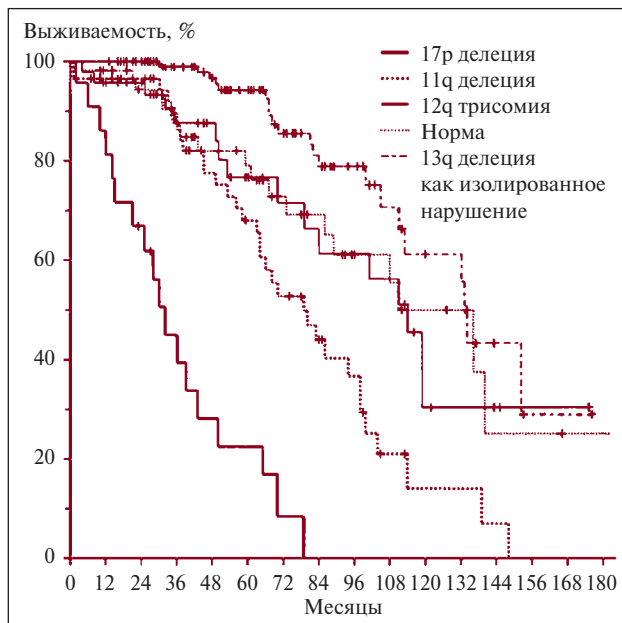


Рис. 1. Общая выживаемость 325 больных В-ХЛЛ [36]

Первоначально у больных В-ХЛЛ с трисомией 12 была выявлена низкая продолжительность жизни [21]. В дальнейших исследованиях независимое неблагоприятное прогностическое значение данной аберрации не подтвердилось. Ряд FISH-исследований выявил, что трисомия хромосомы 12 бывает часто у больных В-ХЛЛ с атипичной морфологией лимфоцитов (вакуолизация цитоплазмы, рассеченные ядра), сопровождающейся атипичным иммунофенотипом (CD5-, FMC7+ и высокая концентрация поверхностных иммуноглобулинов) [39, 40]. В большинстве современных цитогенетических исследований В-ХЛЛ прогноз больных с трисомией хромосомы 12 характеризуется как «промежуточный» [23, 36]. Трисомия хромосомы 12 в сочетании с делецией 11q22–23 или 17p13 характеризуется неблагоприятным прогнозом [34].

У больных с трисомией хромосомы 12 практически одинаково часто встречается как мутировавший, так и немутировавший вариант генов V_H , что подтверждается и нашими данными. Этот факт также дает основание считать прогноз таких больных «промежуточным» [5, 23]. Нами выявлено, что эта аберрация достоверно чаще встречается у больных с опухолевой формой В-ХЛЛ (из 11 больных с опухолевой формой В-ХЛЛ у 5 была выявлена трисомия хромосомы 12; $p=0,02$) [23].

Делеция 11q22—q23

Частота выявления данного цитогенетического нарушения у больных В-ХЛЛ варьирует в пределах 11–25% [3, 34]. В нашей работе делеция 11q23 была выявлена у 19% больных [23].

Минимальным участком делеции является сегмент длиной 2–3 Мб между 11q22.3 и 11q23.1 [34]. В этом регионе расположен ген, обычно мутирующий при атаксии телеангиэктазии (ataxia telangiectasia mutated; *ATM*). При молекулярно-биологическом исследовании у больных В-ХЛЛ с делецией 11q23 были выявлены уменьшение экспрессии белка *ATM*, а также инактивация *ATM* в результате делеции или мутации [41]. Белок

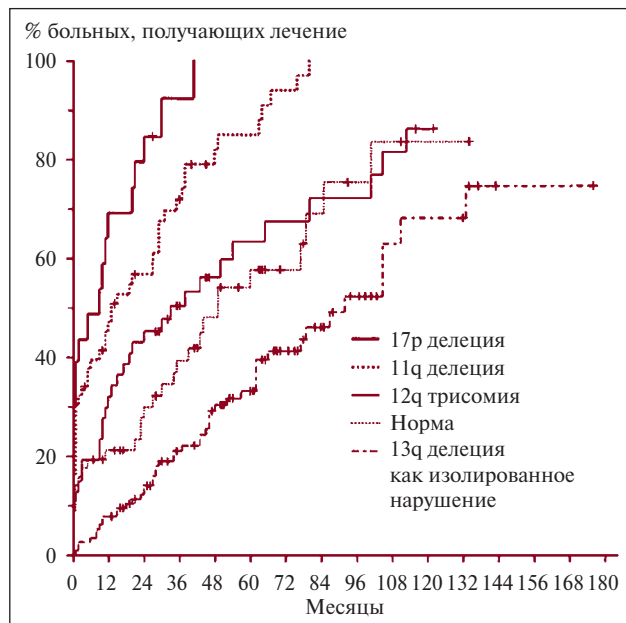


Рис. 2. Время до начала лечения 325 больных В-ХЛЛ [36]

ATM участвует в различных биохимических процессах, связанных с идентификацией и восстановлением повреждений ДНК, контролируя тем самым клеточные процессы, такие как регуляция клеточного цикла и запрограммированная клеточная гибель — апоптоз [42].

На сегодняшний день известно, что сигнальная система, контролирующая повреждения ДНК, состоит из множества генов, кодирующих белки, которые с функциональной точки зрения принято делить на три класса: «сенсоры», «датчики» и «эффекторы». Сенсорные белки находят поврежденные участки ДНК и передают информацию «датчикам», которые, в свою очередь, распределяют ее по различным «эффекторам». «Эффекторы» активируют различные системы ответа на повреждения ДНК: комплекс репарационных белков, механизмы остановки клеточного цикла в точках сверки и т.д. Белок *ATM* является «датчиком» и относится к классу PI3K-белков. Фосфатидилинозит-3-ОН-киназа (PI3K) играет важную роль в передаче сигналов [43]. Эта протеинкиназа является стимулятором защитных механизмов, которые ответственны за восстановление двухцепочечной ДНК, и одновременно останавливает клеточный цикл в точках сверки G1 и G2 [44].

Пациенты, имеющие мутации в двух аллелях гена *ATM*, страдают тяжелым заболеванием — атаксией—телеангиэктазией, характеризующейся нейродегенеративными процессами, иммунодефицитом (отсутствуют сывороточные иммуноглобулины, чаще всего IgA, иногда также IgG и IgE), повышенной радиочувствительностью, ломкостью хромосом и предрасположенностью к злокачественным новообразованиям, в частности, к лимфомам.

Клетки с мутантным геном *ATM* обладают повышенной радиочувствительностью, в то же время *ATM* почти не участвует в реакции на действие ультрафиолета и алкилирующих агентов [45].

При мутациях/делециях этого гена не происходит репарационной задержки в фазах G1 и G2 клеточного цикла. Датчик *ATM* распределяет сигнал по различным

эффекторным белкам, к которым, в частности, относится знаменитый «страж генома» p53 [43], одна из функций которого — индукция апоптоза. Таким образом, инактивация *ATM* приводит к подавлению апоптоза и снятию запрета на деление опухолевых клеток.

Впервые связь делеции 11q с более агрессивным течением В-ХЛЛ была выявлена еще в работах с использованием стандартной цитогенетической методики [46]. Больные с делецией 11q характеризуются быстрой прогрессией заболевания и короткой продолжительностью жизни [36, 47] (см. рис. 1, 2). Плохой прогноз больных с делецией 11q подтвержден многими независимыми исследовательскими группами [3, 47]. В то же время в нашем исследовании не получено достоверных различий в продолжительности жизни больных с делецией 11q23 и больных с трисомией хромосомы 12, обе эти категории больных оказались в одной группе «промежуточного» прогноза, с достоверно более высокой выживаемостью по сравнению с группой неблагоприятного прогноза [23] (см. рис. 3, 4). Возможно, это связано с ранним началом лечения больных с делецией 11q23 в ГНЦ РАМН, в то время как исследования S. Stingelbauer и H. Dohner [36] проводились ретроспективно, и терапия пациентам начинали на основании только клинических признаков прогрессии опухоли.

У больных с делецией 11q22—q23 наблюдается характерная клиническая особенность в виде генерализованной лимфаденопатии с формированием больших конгломератов периферических, внутригрудных и абдоминальных лимфоузлов [48], т.е. это больные с опухолевой формой В-ХЛЛ (по определению А.И.Воробьева и М.Д.Бриллиант [49]). В нашей работе было выявлено, что опухолевая форма В-ХЛЛ характеризуется следующими цитогенетическими особенностями: делеция 11q23 выявляется в большинстве случаев, трисомия хромосомы 12 — достоверно чаще, чем при других формах В-ХЛЛ, и делеция 13q14 — никогда, несмотря на то что это самая часто встречающаяся при В-ХЛЛ абберрация. Таким образом, у нас есть основания полагать, что опухолевая форма В-ХЛЛ является четко очерченным в цитогенетическом плане заболеванием, и наличие делеции 11q23 — его главный, но не строго обязательный признак [23].

Соматическая гипермутация генов V_H крайне редко наблюдается у больных с делецией 11q23 ($p < 0,001$), таким образом, эти маркеры коррелируют

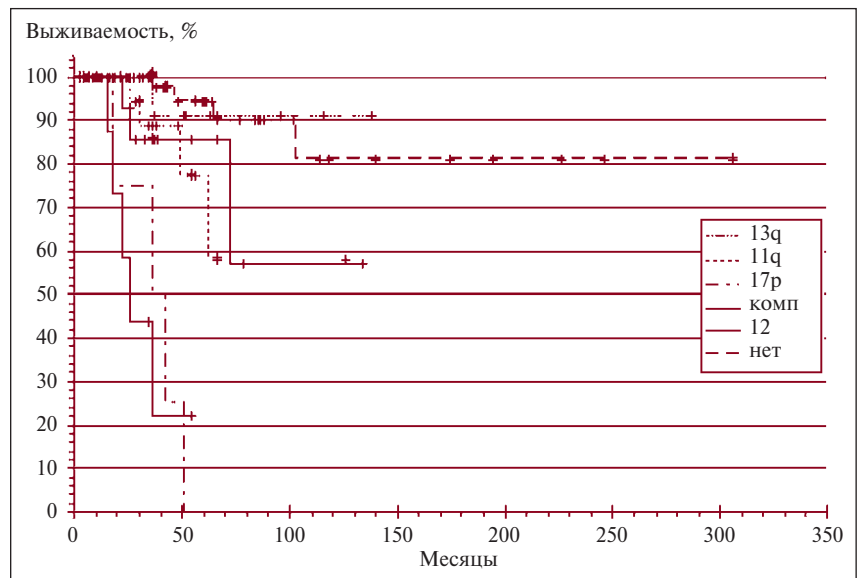


Рис. 3. Кривые выживаемости 6 цитогенетических групп больных [23]

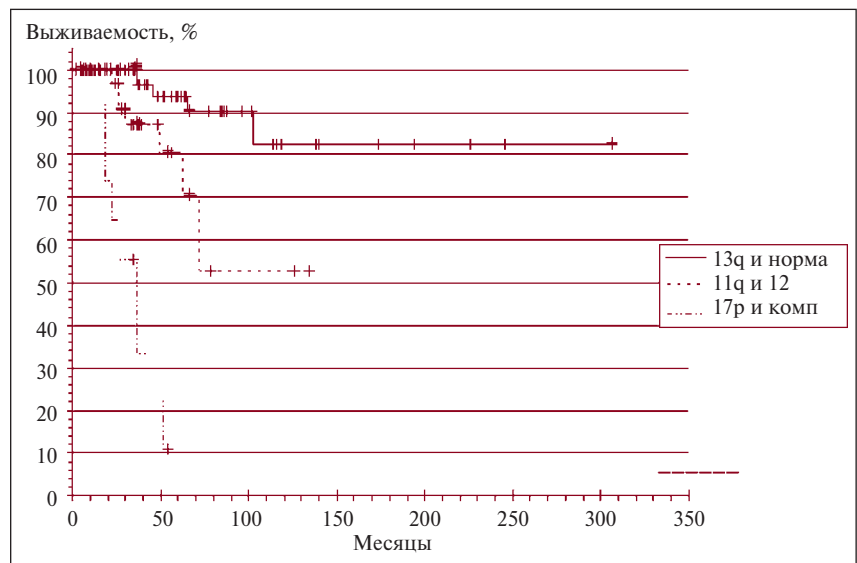


Рис. 4. Кривые выживаемости трех объединенных цитогенетических групп больных [23]

друг с другом [5]. По нашим данным, у больных с делецией 11q23 достоверно чаще выявляется высокий уровень экспрессии CD38 [23].

Делеция 17p13

Частота выявления делеции 17p13 у больных В-ХЛЛ варьирует в пределах 3—9% [3, 34, 36]. Мы определили данную абберрацию у 6% больных [23].

В регионе 17p13 расположен ген *TP53*, координирующий все основные процессы поддержания стабильности генома. *TP53* получил название «страж генома», поскольку его важнейшая функция — подавлять рост генетически поврежденных, соответственно, потенциально опухолевых клеток. Несмотря на чрезвычайную сложность генома, все соматические клетки в организме генетически одинаковы. Это является результатом не только высокой точности репликации ДНК и эффективности репаративных систем, но и в значительной мере следствием постоянно идущей

шего процесса p53-зависимой выбраковки клеток, осуществляемой либо в момент возникновения сбоя, либо даже под влиянием самого неблагоприятного воздействия, грозящего появлением генетических нарушений. Роль, которую берет на себя p53-зависимая система контроля, исключительно ответственна. На p53 сходятся многочисленные сигналы, отслеживающие состояние клетки и ее окружения. Это достигается за счет разного рода модификаций белковой молекулы p53 посредством фосфорилирования, ацетилирования, связывания с другими молекулами, регулируемыми его активностью [50].

В результате действия механизмов, природа которых в настоящее время неясна, повреждения ДНК в норме стимулируют синтез белка, кодируемого *TP53*. Это, в свою очередь, «запускает» продукцию ряда веществ (p21, ингибирующий циклинзависимые киназы; GADD45, тормозящий клеточный рост; ERCC, распознающий и вырезающий поврежденные участки ДНК), что приводит к задержке роста и деления клетки до полного восстановления структуры ДНК [51, 52]. *TP53* элиминирует поврежденные клетки из популяции, опосредуя их необратимый арест в фазе G1, таким образом препятствуя репликации ДНК до репарации повреждения. Если повреждение нельзя исправить, *TP53* индуцирует апоптоз.

Итак, нарушение регуляции гена *TP53* обуславливает увеличение продолжительности жизни клетки. Поэтому делеции или мутации этого гена приводят к снижению чувствительности к химиотерапии [35, 36].

Н. Dohner и соавт. [53] показали, что 56% больных без делеции *TP53* достигают ремиссии после терапии аналогами пуринов, в то время как никто из больных с делецией *TP53* не ответил на проводимое лечение. Аналогичным образом моноклональные анти-CD20 антитела (ритуксимаб) оказались неэффективными у больных В-ХЛЛ с делецией 17p13 [54]. Однако

имеются данные, что длительный терапевтический эффект может быть достигнут у больных В-ХЛЛ с делецией 17p при использовании моноклонального анти-CD52 антитела (алемтузумаб, кэмпас-1Н) [55].

Выживаемость больных с делецией 17p13 низкая; быстро возникает необходимость начинать лечение, т.е. прогноз у этой группы пациентов неблагоприятный [36] (см. рис. 1, 2). В нашем исследовании больные с делецией 17p13 оказались в группе неблагоприятного прогноза вместе с больными, у которых были обнаружены комплексные нарушения кариотипа. Выживаемость в этой объединенной группе больных достоверно ниже, чем у больных с любыми другими вариантами изменений кариотипа [23] (см. рис. 3, 4).

Делеция 17p13 встречается чаще у больных с немутировавшим вариантом генов V_H [5], т.е. разные молекулярно-генетические факторы прогноза коррелируют друг с другом.

Цитогенетические aberrации при В-ХЛЛ являются независимыми факторами прогноза. Работа Н. Dohner и соавт. [36] по изучению выживаемости 325 больных В-ХЛЛ с различными цитогенетическими нарушениями стала ключевой в этой области.

В нашем исследовании 135 пациентов с В-ХЛЛ, не получавших специфической терапии до момента проведения цитогенетического анализа, на основании кривых выживаемости (см. рис. 3) были выделены три прогностические цитогенетические группы: благоприятная — больные без цитогенетических нарушений или с единственной делецией 13q14; «промежуточная» — больные с делецией 11q23 или трисомией хромосомы 12; и неблагоприятная — больные с делецией 17p13 или комплексными нарушениями кариотипа (см. рис. 4) [23].

Таким образом, молекулярно-генетические маркеры, исследуемые при В-ХЛЛ, являются важнейшими прогностическими факторами данного заболевания.

Л и т е р а т у р а

1. Oscier D., Fegan C., Hillmen P. et al. Guidelines on the diagnosis and management of chronic lymphocytic leukemia. Br J Haematol 2004;125:294—317.
2. Caligaris-Cappio F., Hamblin T.J. B-cell chronic lymphocytic leukemia: a bird of different feather. J Clin Oncol 1999;17:399—412.
3. Dewald G.W., Brockman S.R., Paternoster S.F. et al. Chromosome anomalies detected by interphase fluorescence in situ hybridization: correlation with significant biological features of B-cell chronic lymphocytic leukaemia. Br J Haematol 2003;121:287—95.
4. Никитин Е.А., Лорие Ю.Ю., Меликян А.Л. и др. Факторы неблагоприятного прогноза у больных хроническим лимфолейкозом: ретроспективный анализ 206 случаев. Тер апх 2002;(7):45—57.
5. Seiler T., Dohner H., Stinglbauer S. Risk stratification in Chronic Lymphocytic Leukemia. Semin Oncol 2006;33: 186—94.
6. Dreger P., Stilgenbauer S., Benner A. et al. The prognostic impact of autologous stem cell transplantation in patients with chronic lymphocytic leukemia: a risk-matched analysis

- based on the VH gene mutational status. Blood 2004;103:2850—8.
7. Fais F., Ghiotto F., Hashimoto S. et al. Chronic lymphocytic leukemia B-cells express restricted sets of mutated and unmutated antigen receptors. J Clin Invest 1998;102:1515—25.
8. Dyer M., Oscier D. The configuration of the immunoglobulin genes in B cell chronic lymphocytic leukemia. Leukemia 2002;16:973—84.
9. Никитин Е.А. Прогностическое значение мутаций VH-D-J-H-региона при хроническом лимфолейкозе. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2001.
10. Krober A., Seiler T., Benner A. et al. V(H) mutation status, CD38 expression level, genomic aberrations, and survival in chronic lymphocytic leukemia. Blood 2002;100:1410—6.
11. Damle J.N., Wasil T., Fais F. et al. Ig V gene mutations status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. Blood 1999;94:1840—7.
12. Hamblin T.J., Davis Z., Gardiner A. et al. Unmutated Ig V(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. Blood 1999;94:1848—54.

13. Tobin G., Thunberg U., Johnson A. et al. Somatic mutated Ig V(H)3-12 genes characterize a new subset of chronic lymphocytic leukemia. Blood 2002;99:2262—4.
14. Rassenti L., Huynh L., Toy T. et al. ZAP-70 compared with immunoglobulin heavy-chain gene mutation status as a predictor of disease progression in chronic lymphocytic leukemia. N Engl J Med 2004;351:893—901.
15. Heintel D., Kienle D., Shehata M. et al. High expression of lipoprotein lipase in poor risk B-cell chronic lymphocytic leukemia. Leukemia 2005;19:1216—23.
16. Oppizzo P., Vasconcelos Y., Settegrana C. et al. The LPL/ADAM29 expression ratio is a novel prognostic indicator in chronic lymphocytic leukemia. Blood 2005;106:650—7.
17. Ibrahim S., Keating M., Do K. et al. CD38 expression as a important prognostic factor in B-cell chronic lymphocytic leukemia. Blood 2001;98:181—6.
18. Ghia P., Guida G., Stella S. et al. The pattern of CD38 expression defines a distinct subset of chronic lymphocytic leukemia (CLL) patients at risk of disease progression. Blood

2003;101:1262—9.

19. Krober A., Kienle D., Seiler T. et al. CLL subgroups carrying genetic high-risk features such as 11q-, 17p-, or V_H-21 usage show a high rate of discordant V_H and ZAP70 status. *Ann Oncol* 2005;16 (Suppl 5): abstr 42.

20. Stilgenbauer S., Lichter P., Dohner H. Genetic features of B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Rev Clin Exp Hematol* 2000;4(1):48—72.

21. Juliusson G., Oscier D., Gahrton G. For the International Working Party on Chromosomes in CLL (IWCCCL). Cytogenetic findings and survival in B-cell chronic lymphocytic leukemia. Second IWCCCL compilation of data of 662 patients. *Leuk Lymphoma* 1991;5:21—5.

22. Autio K., Elonen E., Teerenbovi L. et al. Cytogenetic and immunologic characterization of mitotic cells in chronic lymphocytic leukemia. *Eur J Haematol* 1986;39:289—98.

23. Захарова А.И., Обухова Т.Н., Лорие Ю.Ю. и др. Цитогенетические нарушения при хроническом В-клеточном лимфолейкозе и их связь с клинико-биологическими особенностями и прогнозом заболевания. *Тер арх* 2006;(7):57—62.

24. Juliusson G., Oscier D., Fitchett M. et al. Prognostic subgroups in B-cell chronic lymphocytic leukemia defined by specific chromosomal abnormalities. *N Engl J Med* 1990;323:720—4.

25. Fitchett M., Griffiths M., Oscier D. et al. Chromosome abnormalities involving band 13q14 in haematologic malignancies. *Cancer Genet Cytogenet* 1987;24(1):143—50.

26. Stingelbauer S., Dohner H., Bulgar-Morschel M. et al. High frequency of monoallelic retinoblastoma gene deletion in B-cell chronic lymphocytic leukemia shown by interphase cytogenetics. *Blood* 1993;81:2118—24.

27. Migliazza A., Bosch F., Komatsu H. et al. Cloning and gene mapping of the chromosome 13q14 region deleted in chronic lymphocytic leukemia. *Genomics* 1997;42:369—77.

28. Devilder M., Francois S., Bosc C. et al. Deletion cartography around the D13S25 locus in B cell chronic lymphocytic leukemia and accurate mapping of the involved tumor suppressor gene. *Cancer Res* 1995;55(6):1135—7.

29. Bullrich F., Veronese M., Kitada S. et al. Minimal region of loss at 13q14 in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1996;88:3109—15.

30. Wolf S., Mertens D., Schaffner C. et al. B-cell neoplasia associated gene with multiple splicing (BCMS): the candidate B-CLL gene

on 13q14 comprises more than 560kb covering all critical regions. *Hum Mol Genet* 2001;10:1275—85.

31. Baranova A., Hammarsund M., Ivanov D. et al. Distinct organization of the candidate tumor suppressor gene RFP2 in human and mouse: multiple mRNA isoforms in both species- and human-specific antisense transcript RFP2OS. *Gene* 2003;321:103—12.

32. Hammarsund M., Corcoran M., Wilson W. et al. Characterization of a novel B-CLL candidate gene — DLEU7 — located in the 13q14 tumor suppressor locus. *FEBS Lett* 2004;556:75—80.

33. Calin G., Dumitru C., Shimizu M. et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 15524—9.

34. Stilgenbauer S., Dohner H. Molecular genetics and its clinical relevance. *Hematol Oncol Clin North Am* 2004;18:827—48.

35. Fegan C. Molecular abnormalities in B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Clin Lab Haematol* 2001;23(3):139—48.

36. Dohner H., Stingelbauer S., Benner A. et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2000;343:1910—6.

37. Dierlamm J., Wlodarska I., Michaux L. et al. FISH identifies different types of duplications with 12q13-15 as the commonly involved segment in B-cell lymphoproliferative malignancies characterized by partial trisomy 12. *Genes Chromosomes Cancer* 1997;20(2):155—66.

38. Merup M., Juliusson G., Wu X. et al. Amplification of multiple regions of chromosome 12, including 12q13-15, in chronic lymphocytic leukaemia. *Eur J Haematol* 1997;20:399—407.

39. Tsimberidou A., Keating M. Richter's transformation in chronic lymphocytic leukemia. *Semin Oncol* 2006;33:250—6.

40. Stingelbauer S., Liebisch P., James M. et al. Molecular cytogenetic delineation of a novel critical genomic region in chromosome bands 11q22.2-q23.1 in lymphoproliferative disorders. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:11837—41.

41. Schaffner C., Stingelbauer S., Rappold G. et al. Somatic ATM mutations indicate a pathogenetic role of ATM in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999;94:748—53.

42. Shiloh Y. Ataxia-telangiectasia and the Nijmegen breakage syndrome: related disorders but genes apart. *Ann Rev Genet* 1997;31:635—62.

43. Berton F., Rinaldi A., Zucca E., Cavalli F. Update on the molecular biology of mantle cell lymphoma. *Hematol Oncol* 2006;24(1):22—7.

44. Dickinson J., Smith L., Sanger W. et al. Unique gene expression and clinical characteristics are associated with the 11q23 deletion in chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 2005;128:460—71.

45. Boulton J. Ataxia telangiectasia gene mutations in leukaemia and lymphoma. *J Clin Pathol* 2001; 54:512—6.

46. Fegan C., Robinson H., Thompson P. Karyotypic evolution in CLL: identification of a new sub-group of patients with deletions of 11q and advanced or progressive disease. *Leukemia* 1995;9:2003—8.

47. Neilson A., Auer R., White P. et al. Deletions at 11q identify a subset of patients with typical CLL who show consistent disease progression and reduced survival. *Leukemia* 1997;11(11):1929—32.

48. Dohner H., Stingelbauer S., James M. et al. 11q deletions identify a subset of B-cell chronic lymphocytic leukemia characterized by extensive nodal involvement and inferior prognosis. *Blood* 1997;89:2516—22.

49. Воробьев А.И., Бриллиант М.Д. Дифференцированная терапия хронического лимфолейкоза. *Тер арх* 1983;(8):7—14.

50. Yonish-Rouach E., Resnitzky D., Lotem J. et al. Wild-type p53 induces apoptosis of myeloid leukaemic cells that is inhibited by interleukin-6. *Nature* 1991;352:345—7.

51. Brugarolas J., Chandrasekaran C., Gordon J. et al. Radiation-induced cell cycle arrest compromised by p21 deficiency. *Nature* 1995;377:552—7.

52. Kastan M., Zhan Q., el Deiry W. et al. A mammalian cell cycle checkpoint pathway utilizing p53 and GADD45 is defective in ataxia-telangiectasia. *Cell* 1992;71:587—97.

53. Dohner H., Fisher K., Bentz M. et al. p53 gene deletion predicts for poor survival and non-response to therapy with purine analogs in chronic B-cell leukemias. *Blood* 1995;85:1580—9.

54. Byrd J., Smith L., Hackbarth M. et al. Interphase cytogenetic abnormalities in chronic lymphocytic leukemia may predict response to rituximab. *Cancer Res* 2003;63:36—8.

55. Lozanski G., Heerema N., Flinn I. et al. Alemtuzumab is an effective therapy for chronic lymphocytic leukemia with p53 mutations and deletions. *Blood* 2004;103:3278—81.

Уважаемые коллеги!

Подписаться на журнал «ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ»
на 2007 г. можно в любом отделении связи.

Подписной индекс в каталоге «Почта России» — 12313.