

Роль цитокинов и регуляторных молекул клеточного цикла в прогнозировании достижения ответа на терапию у больных хроническим миелолейкозом

Т.Н. Александрова¹, И.И. Мулина², А.С. Лямкина¹, Е.С. Михайлова^{1,3}, А.И. Аутеншлюс^{1,3}, Н.В. Скворцова¹, Т.А. Агеева¹, Т.И. Поспелова¹

¹ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

²ГАОУ РС(Я) «Республиканская больница № 1 – Национальный центр медицины им. М.Е. Николаева», Якутск, Республика Саха (Якутия)

³ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Несмотря на значительные успехи в терапии больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ), улучшение показателей выживаемости, развитие резистентности к ингибиторам тирозинкиназ (ИТК) остается актуальной проблемой.

Ц е л ь . Изучить взаимосвязь уровня экспрессии на клетках костного мозга регуляторных белков p53, c-myc, ki-67 и каспазы-3 и концентрации отдельных про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови с эффективностью терапии больных ХМЛ.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Обследовано 74 пациента с ХМЛ в хронической фазе заболевания, получающих терапию ИТК. У всех обследованных пациентов проведено определение концентрации отдельных цитокинов и ростовых факторов (TNF-α, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-18, IFN-α и VEGF-A) в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа и иммуноцитохимическое исследование мазков костного мозга с моноклональными антителами против антигенов регуляторных молекул ki-67, p53, c-myc и каспазы-3. Для определения роли изучаемых биомаркеров в прогнозировании эффекта от терапии проведен сравнительный анализ их значений в группах больных, достигших (n = 50) и не достигших (n = 24) большого молекулярного ответа (БМО).

Р е з у л ь т а т ы . Сравнительный анализ уровня экспрессии на клетках костного мозга регуляторных молекул и концентрации цитокинов, ростовых факторов в сыворотке крови больных ХМЛ в зависимости от глубины ответа на терапию ИТК показал, что у пациентов, не достигших БМО, отмечается достоверно более высокий уровень экспрессии каспазы-3 и концентрации провоспалительных цитокинов IL-1β, IL-2, IL-6 и IL-17, а также ростового фактора VEGF-A по сравнению с таковым у пациентов с достигнутым ответом на терапию (БМО). В свою очередь, достижение БМО характеризовалось более высоким уровнем экспрессии регуляторных молекул p53 и c-myc, а также увеличением концентрации IL-10 и снижением концентрации IL-1β, IL-2, IL-6 и IL-17. Анализ корреляционных взаимосвязей между уровнем экспрессии изучаемых регуляторных молекул и концентрацией отдельных цитокинов показал наличие статистически значимой отрицательной взаимосвязи c-myc и p53 с IL-2, IL-1β, IL-17 и положительной (прямой) взаимосвязи c-myc и p53 с IL-10, прямой взаимосвязи между уровнем каспазы-3 и IL-2, IL-1β, IL-6, IL-17 и обратной взаимосвязи между каспазой-3 и IL-10. Таким образом, достижение БМО у больных ХМЛ вероятнее при более высокой экспрессии на клетках костного мозга регуляторных молекул c-myc и p53, низкой экспрессии каспазы-3, а также низкой концентрации в сыворотке крови IL-2, IL-1β, IL-17, IL-6 и высокой концентрации IL-10, что указывает на синергизм в участии изучаемых биомаркеров в патогенезе ХМЛ и его опухолевой прогрессии. Результаты ROC-анализа показали высокое качество прогностических моделей, характеризующих достижение БМО при уровне экспрессии в костном мозге c-myc > 6%, p53 > 4%, коррелирующем с низкими концентрациями в сыворотке крови IL-2, IL-1β, IL-17 и высокой концентрацией IL-10, что указывает на возможность использования данных показателей в качестве потенциальных биомаркеров эффективности терапии ХМЛ и достижения БМО.

Поступила в редакцию 19.04.2023
Прошла рецензирование 24.04.2023
Принята к публикации 15.05.2023

Автор, ответственный за переписку
Александрова Туйара Никоновна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: alexandrova_tuyara@mail.ru

Received 19.04.2023
Revised 24.04.2023
Accepted 15.05.2023

Corresponding author
Tujara N. Aleksandrova: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: alexandrova_tuyara@mail.ru

З а к л ю ч е н и е . Результаты исследования показали, что концентрация цитокинов в сыворотке крови больных ХМЛ коррелирует с интенсивностью экспрессии белков c-мис, р53, каспазы-3 и имеет значение в прогнозировании эффективности терапии.

Ключевые слова: хронический миелолейкоз, большой молекулярный ответ, ингибиторы тирозинкиназ, цитокины, апоптоз, клеточный цикл.

Образец цитирования: Александрова Т.Н., Мулина И.И., Лямкина А.С., Михайлова Е.С., Аутеншлюс А.И., Скворцова Н.В., Агеева Т.А., Поспелова Т.И. Роль цитокинов и регуляторных молекул клеточного цикла в прогнозировании достижения ответа на терапию у больных хроническим миелолейкозом // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(2):77-89. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-2-77-89

The role of cytokines and cell cycle regulators in predicting of therapy response in patients with chronic myeloid leukemia

T.N. Aleksandrova¹, I.I. Mulina², A.S. Lyamkina¹, E.S. Mikhailova^{1,3}, A.I. Autenshlyus^{1,3}, N.V. Skvortsova¹, T.A. Ageeva¹, T.I. Pospelova¹

¹Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

²Republican Hospital No. 1 – National Center of Medicine, Yakutsk, Republic of Sakha (Yakutia)

³Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . Despite significant advances in therapy of patients with chronic myeloid leukemia (CML), improved survival rates, development of resistance to tyrosine kinase inhibitors (TKIs) remains an urgent problem.

A i m . To study the correlation between the level of expression of regulatory proteins p53, c-myc, ki-67 and caspase-3 on the bone marrow cells and the concentration of certain pro- and anti-inflammatory cytokines in blood serum with the effectiveness of therapy in patients with CML.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . Seventy-four CML patients with chronic phase of the disease receiving TKI therapy were examined. In all patients, the concentration of certain cytokines and growth factors (TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-18, IFN- α , and VEGF-A) was determined in blood serum by enzyme immunoassay and immunocytochemical study of bone marrow smears with monoclonal antibodies against antigens of regulatory molecules ki-67, p53, c-myc, and caspase-3. To determine the role of the biomarkers in predicting the therapy effectiveness, a comparative analysis of their values in groups of patients with a major molecular response (MMR) ($n = 50$) and without MMR ($n = 24$) was performed.

R e s u l t s . A comparative analysis of the expression of regulatory molecules on the bone marrow cells and the blood serum concentration of cytokines and growth factors of CML patients, depending on depth of the response to TKI therapy, showed that patients who did not achieve MMR had a significantly higher level of caspase-3 expression and concentration of pro-inflammatory cytokines IL-1 β , IL-2, IL-6 and IL-17, as well as growth factor VEGF-A compared with those in patients with MMR. In turn, the achievement of MMR was characterized by a higher level of expression of regulatory molecules p53 and c-myc, as well as an increase in the IL-10 concentration and a decrease in the IL-1 β , IL-2, IL-6 and IL-17 concentration. Analysis of the correlation between the level of expression of regulatory molecules and the single cytokine concentration showed a negative correlation between c-myc and p53 with IL-2, IL-1 β , IL-17 and a positive (direct) correlation between c-myc and p53 with IL-10, a positive correlation between caspase-3 and IL-2, IL-1 β , IL-6, IL-17 and a negative correlation between caspase-3 and IL-10. Thus, the achievement of MMR in patients with CML is more likely with a higher expression of regulatory molecules c-myc and p53 on the bone marrow cells, low expression of caspase-3, and low serum concentrations of IL-2, IL-1 β , IL-17, IL-6 and a high concentration of IL-10, which indicates synergism of the biomarkers in the pathogenesis of CML and its tumor progression. The ROC analysis results showed the high quality of predictive models characterizing the achievement of MMR at the level of expression of c-myc > 6%, p53 > 4% in the bone marrow, which correlates with a low serum concentrations of IL-2, IL-1 β , IL-17 and a high concentration of IL-10, and indicates the possibility of using these indicators as potential biomarkers of effectiveness of CML therapy and achievement of MMR.

C o n c l u s i o n . The results of the study showed that the concentration of cytokines in the blood serum of CML patients correlates with the intensity of expression of c-myc, p53 and caspase-3 proteins and is important in predicting the effectiveness of therapy.

Keywords: chronic myeloid leukemia, major molecular response, tyrosine kinase inhibitors, cytokines, apoptosis, cell cycle.

Citation example: Aleksandrova T.N., Mulina I.I., Lyamkina A.S., Mikhailova E.S., Autenshlyus A.I., Skvortsova N.V., Ageeva T.A., Pospelova T.I. The role of cytokines and cell cycle regulators in predicting of therapy response in patients with chronic myeloid leukemia. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(2):77-89. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-2-77-89

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время парадигма лечения больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ) претерпевает изменения. Расширение арсенала ингибиторов тирозинкиназ (ИТК) и накопление клинического опыта их применения позволили рассматривать возможность отмены терапии у части пациентов при достижении стабильного глубокого молекулярного ответа (ГМО). Однако частота достижения ГМО на фоне непрерывной пятилетней терапии ИТК первого поколения (иматинибом) составляет только 30 %, а при применении терапии ИТК второго поколения (нилотиниб, дазатиниб, бозутиниб) – 30–55 % [1].

Поскольку ИТК не способны к эрадикации лейкемических стволовых клеток (ЛСК), которые являются субстратом молекулярного рецидива при попытке отмены терапии, изучение дополнительных механизмов, регулирующих глубину эрадикации опухолевого клона, представляет большую актуальность. На основании результатов многочисленных исследований было показано, что ведущая роль в развитии лекарственной резистентности к терапии и прогрессировании злокачественного процесса при многих опухолях, в том числе при ХМЛ, принадлежит нарушению пролиферативной активности опухолевых клеток и процессов апоптоза [2].

Использование биомаркеров, коррелирующих с уровнем экспрессии регуляторных молекул клеточного цикла и апоптоза, может являться дополнительным инструментом для прогнозирования эффективности и улучшения исходов терапии больных ХМЛ. Так, в качестве одного из таких потенциальных биомаркеров может рассматриваться концентрация цитокинов в сыворотке крови. Известно, что цитокины регулируют взаимоотношение ЛСК с их микроокружением, способствуют их выживанию и развитию резистентности к таргетной терапии [3]. Однако механизмы взаимосвязи маркеров пролиферативной активности и апоптоза с концентрацией цитокинов в сыворотке крови больных ХМЛ изучены недостаточно. Не определено их прогностическое значение в отношении достижения и глубины ответа на ИТК у больных ХМЛ. В связи с вышесказанным проведение настоящего исследования представляется весьма актуальным.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение взаимосвязи уровня экспрессии регуляторных белков p53, c-myc, ki-67 и каспазы-3 на клетках костного мозга и концентрации

INTRODUCTION

Currently, the paradigm of the treatment of patients with chronic myeloid leukemia (CML) is changing. The expansion of the tyrosine kinase inhibitors (TKIs) range and the accumulation of clinical experience in their use made it possible to consider the possibility of withdrawal of therapy in some patients which achieved a deep molecular response (DMR). However, the rate of achieving DMR during permanent five-year therapy with first-generation TKIs (imatinib) is only 30%, while with second-generation TKIs (nilotinib, dasatinib, bosutinib) it is 30–55% [1].

Since TKIs are not capable of eradication of leukemic stem cells (LSCs), which are the substrate of molecular recurrence when trying to withdraw therapy, the study of additional mechanisms that regulate the depth of eradication of a tumor clone is of great relevance. Based on the results of numerous studies, it has been shown that a key role in the development of drug resistance and tumor progression in many tumors, including CML, belongs to an impairment of proliferative activity of tumor cells and apoptosis [2].

The use of biomarkers that correlate with the level of expression of cell cycle and apoptosis regulators can be an additional tool for predicting the effectiveness and improving therapy outcomes in patients with CML. Thus, the concentration of cytokines in blood serum can be considered as one of these potential biomarkers. It is known that cytokines regulate the relationship between LSCs and their microenvironment, promote their survival and the development of resistance to targeted therapy [3]. However, the mechanisms of the relationship between markers of proliferative activity and apoptosis with concentration of cytokines in the blood serum of patients with CML have not been studied enough. Their prognostic value in relation to the achievement and depth of response to TKIs in patients with CML has not been determined. Thus, the present study seems to be very relevant.

AIM OF THE RESEARCH

Study of the correlation between the level of expression of regulatory proteins p53, c-myc, ki-67 and caspase-3 on the bone marrow cells and the concentration of certain cytokines in blood serum with the effectiveness of therapy in patients with CML.

MATERIALS AND METHODS

The study included 74 CML patients with chronic phase of the disease receiving TKIs. The

отдельных цитокинов в сыворотке крови с эффективностью терапии больных ХМЛ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 74 пациента с ХМЛ в хронической фазе заболевания, получающих терапию ИТК. Средний возраст обследуемых составил 54 ± 14 года (95% доверительный интервал (ДИ) 50–57). Преобладали пациенты женского пола (26 (35.1 %) – мужчины и 48 (64.9 %) – женщины). Медиана времени наблюдения – 4 года (1–9). На момент включения в исследование терапия ИТК 1-го поколения (иматиниб) проводилась 48 (64.9 %) больным, ИТК 2-го поколения – 26 (35.1 %) больным. Среди ИТК 2-го поколения в 11 (14.9 %) случаях был назначен нилотиниб, в 11 (14.9 %) – дазатиниб и в 4 (5.3 %) – бозутиниб. Проводимая терапия позволила 50 (67.6 %) больным достичь большого молекулярного ответа (БМО). Определение фазы заболевания и глубины ответа проводилось согласно критериям European Leukemia Net 2020 г. [4]. Достижение БМО констатировали при уровне BCR/ABL ≤ 0.1 %.

Всем исследуемым больным проведено определение концентрации отдельных цитокинов и ростовых факторов (TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-18, IFN- α и VEGF-A) в сыворотке крови с помощью иммуноферментного анализа с использованием набора реагентов ИФА-БЕСТ (АО «Вектор-Бест», Россия), а также уровня экспрессии регуляторных молекул клеточного цикла и апоптоза (ki-67, белков p53, каспазы-3 и c-myc) в цитологических мазках костного мозга, полученных путем аспирационной биопсии. Для исследования иммунологического фенотипа опухолевых клеток использовался иммуноцитохимический метод с моноклональными антителами против антигенов ki-67, p53, c-myc и каспазы-3. В каждом поле подсчитывалось не менее 100 клеток. Число позитивных клеток определялось по следующим критериям: 0 позитивных клеток – отсутствие экспрессии; менее 25 % – низкая экспрессия; 25–50 % – средняя экспрессия; более 50 % – высокая экспрессия.

Статистический анализ проводился с использованием программы StatTech v. 3.0.6 (ООО «Статтех», Россия). Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Поскольку распределение количественных показателей отличалось от нормального, сравнение двух групп по количественному показателю выполнялось с

mean age of the subjects was 54 ± 14 years (95% confidence interval (CI) 50–57). Female patients predominated (26 (35.1%) men and 48 (64.9%) women). Median follow-up is 4 years (1–9). At the time of inclusion in the study, first-generation TKIs (imatinib) were administered to 48 (64.9%) patients, second-generation TKIs were administered to 26 (35.1%) patients. Among second generation TKIs, nilotinib was prescribed in 11 (14.9%) cases, dasatinib – in 11 (14.9%), and bosutinib – in 4 (5.3%) cases. The therapy allowed 50 (67.6%) patients to achieve a major molecular response (MMR). Determination of the disease phase and the depth of the response was carried out in accordance with the criteria of the European Leukemia Net 2020 [4]. Achievement of MMR was stated at BCR/ABL ≤ 0.1 %.

We determined the concentration of certain cytokines and growth factors (TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-18, IFN- α and VEGF-A) in blood serum using enzyme immunoassay (BEST ELISA diagnostic kit, JSC Vector-Best, Russia), as well as the level of expression of cell cycle and apoptosis regulatory molecules (ki-67, p53 proteins, caspase-3 and c-myc) in cytological smears of the bone marrow obtained during aspiration biopsy. To study the immunological phenotype of tumor cells, an immunocytochemical method was used with monoclonal antibodies against ki-67, p53, c-myc, and caspase-3 antigens. At least 100 cells were counted in each field. The positive cell count was determined according to the following criteria: 0 positive cells – no expression; <25% – low expression; 25–50% – average expression; >50% – high expression.

Statistical analysis was carried out using StatTech v. 3.0.6 (Stattech LLC, Russia). Quantitative indicators were evaluated for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov test. Since the quantitative indicators were not normally distributed, the comparison of two groups was performed using the Mann-Whitney *U*-test. Correlation analysis between two quantitative indicators was carried out using the Spearman's rank correlation coefficient.

To calculate the threshold value of the concentration of cytokines, as well as the level of expression of regulatory molecules, which were used to determine the group of favorable and unfavorable prognosis in relation to the probability of achieving MMR, the receiver operating characteristic (ROC) analysis was used. The criterion for choosing the cut-off threshold is the requirement of the maximum total sensitivity (Se) and specificity (Sp) of the model: Cut-off = max (Se + Sp). The separating

помощью *U*-критерия Манна – Уитни. Корреляционный анализ между двумя количественными показателями проводился с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Для вычисления порогового значения концентрации цитокинов, а также уровня экспрессии регуляторных молекул, с помощью которых определяли группу благоприятного и неблагоприятного прогноза в отношении вероятности достижения БМО, использовали метод построения ROC-кривых. Критерием выбора порога отсечения (cut-off) взято требование максимальной суммарной чувствительности (Se) и специфичности (Sp) модели: $\text{Cut-off} = \max(\text{Se} + \text{Sp})$. Разделяющее значение количественного признака в точке cut-off определялось по наивысшему значению индекса Юдена. Качество шкалы оценивали с помощью площади под ROC-кривой (AUC), величина которой в идеальной модели равняется 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сравнительный анализ уровня экспрессии на клетках костного мозга регуляторных молекул ki-67, p53, c-myc, каспазы-3 и концентрации отдельных цитокинов и ростовых факторов TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-18, IFN- α и VEGF-A в сыворотке крови больных ХМЛ в зависимости от глубины ответа на терапию ИТК показал, что у пациентов, не достигших БМО, отмечается достоверно более высокий уровень экспрессии каспазы-3 и концентрации провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-2, IL-6 и IL-17, а также ростового фактора VEGF-A по сравнению с таковыми показателями пациентов с достигнутым ответом на терапию (БМО). В свою очередь, достижение БМО характеризовалось более высоким уровнем экспрессии регуляторных молекул p53 и c-myc, а также увеличением концентрации IL-10 и снижением концентрации IL-1 β , IL-2, IL-6 и IL-17 (табл. 1).

Анализ корреляционных взаимосвязей между уровнем экспрессии изучаемых регуляторных молекул и концентрацией отдельных цитокинов показал наличие статистически значимой отрицательной взаимосвязи c-myc и p53 с IL-2, IL-1 β , IL-17 и положительной (прямой) взаимосвязи c-myc и p53 с IL-10, а также прямой взаимосвязи между уровнем каспазы-3 и IL-2, IL-1 β , IL-6, IL-17 и обратной взаимосвязи между каспазой-3 и IL-10 (табл. 2).

Таким образом, достижение БМО у больных ХМЛ можно прогнозировать при более высокой экспрессии на клетках костного мозга регулятор-

value of a quantitative variable at the cut-off point was determined by the highest Youden's index. The quality of the scale was assessed using the area under the ROC curve (AUC), the value of which in the ideal model is 1.

RESULTS OF THE RESEARCH

A comparative analysis of the expression of regulatory molecules ki-67, p53, c-myc, caspase-3 on the bone marrow cells and the concentration of certain cytokines and growth factors TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-18, IFN- α , and VEGF-A in the blood serum of CML patients, depending on the depth of response to TKIs, showed that patients who did not achieve MMR had a significantly higher level of caspase-3 expression and concentration of pro-inflammatory cytokines IL-1 β , IL-2, IL-6, and IL-17, as well as growth factor VEGF-A compared with those of patients with MMR. In turn, the achievement of MMR was characterized by a higher level of expression of p53 and c-myc, as well as an increase in concentration of IL-10 and a decrease in the concentration of IL-1 β , IL-2, IL-6, and IL-17 (Table 1).

Analysis of correlation between the level of expression of the regulatory molecules and the concentration of certain cytokines showed the presence of the statistically significant negative correlation between c-myc and p53 with IL-2, IL-1 β , IL-17 and positive (direct) correlation between c-myc and p53 with IL-10, as well as the direct correlation between the level of caspase-3 and IL-2, IL-1 β , IL-6, IL-17 and negative correlation between caspase-3 and IL-10 (Table 2).

Thus, the achievement of MMR in patients with CML can be predicted with the higher expression of regulatory molecules c-myc and p53 on the bone marrow cells, low expression of caspase-3, and low blood serum concentrations of IL-2, IL-1 β , IL-17, IL-6, and high concentration of IL-10, which indicates the synergism of biomarkers in the pathogenesis of CML and its tumor progression (Table 2).

To calculate the threshold value of the cytokine concentration, as well as the level of expression of regulatory molecules, with the help of which the group of favorable and unfavorable prognosis for achieving MMR was determined, the ROC analysis was used. Based on the results of the ROC analysis, it was shown that the highest quality diagnostic models that predict the lack of response to TKI therapy were obtained for cytokines IL-1 β and IL-17 (Table 3). Thus, the cut-off value for concentration of IL-1 β with the highest sensitivity (86%) and specificity (75%) was 2.5 pg/ml (AUC = 0.831, 95% CI 0.788–

Таблица 1. Концентрация отдельных цитокинов в сыворотке крови и уровень экспрессии регуляторных белков на клетках костного мозга у больных ХМЛ с БМО и без БМО, Ме (Q₁–Q₃)**Table 1.** The concentration of certain cytokines in the blood serum and the level of expression of regulatory proteins on the bone marrow cells in CML patients with and without MMR, Me (Q₁–Q₃)

Маркер / Indicator	Больные с БМО Patients with MMR	Больные без БМО Patients without MMR	p
ki-67 (%)	58 (33–63)	50 (42–56)	0.260
Каспаза-3 / Caspase-3 (%)	18 (15–24)	28 (20–46)	<0.001*
p53 (%)	7 (5–8)	2 (2–3)	<0.001*
c-мус (%)	9 (6–11)	2 (1–5)	<0.001*
TNF-α (пг/мл) (pg/ml)	2.30 (1.50–4.88)	1.55 (1.00–2.93)	0.133
IL-2 (пг/мл) (pg/ml)	0.78 (0.78–0.78)	2.00 (2.00–2.00)	<0.001*
IL-1β (пг/мл) (pg/ml)	0.88 (0.88–2.10)	4.45 (2.41–6.60)	<0.001*
IL-6 (пг/мл) (pg/ml)	2.80 (1.75–4.28)	4.75 (2.88–12.35)	0.006*
IL-18 (пг/мл) (pg/ml)	294.25 (213.70–399.43)	252.90 (173.85–346.18)	0.265
IL-10 (пг/мл) (pg/ml)	4.85 (2.28–6.40)	2.65 (1.82–4.75)	0.039
IL-4 (пг/мл) (pg/ml)	3.67 (2.88–4.69)	3.80 (3.38–4.72)	0.161
IFN-α (пг/мл) (pg/ml)	5.60 (4.00–9.80)	5.00 (5.00–10.10)	0.947
IL-17 (пг/мл) (pg/ml)	0.70 (0.30–2.00)	4.90 (2.45–5.90)	<0.001*
VEGF-A (пг/мл) (pg/ml)	81.80 (45.20–265.40)	295.25 (205.55–442.93)	0,004*

П р и м е ч а н и я . ХМА – хронический миелолейкоз; БМО – большой молекулярный ответ.

* Различия показателей статистически значимы ($p < 0.05$).

N o t e . CML – chronic myeloid leukemia; MMR – major molecular response.

* Differences are statistically significant ($p < 0.05$).

ных молекул c-мус и p53, низкой экспрессии каспазы-3, а также низкой концентрации в сыворотке крови IL-2, IL-1β, IL-17, IL-6 и высокой концентрации IL-10, что указывает на синергизм изучаемых биомаркеров в патогенезе ХМЛ и его опухолевой прогрессии (см. табл. 2).

Для вычисления порогового значения концентрации цитокинов, а также уровня экспрессии регуляторных молекул, с помощью которых определяли группу благоприятного и неблагоприятного прогнозов в отношении вероятности достижения БМО, использовали метод построения ROC-кривых. По результатам проведенного ROC-анализа было показано, что наиболее качественные диагностические модели, позволяю-

0.952, $p < 0.001$), the cut-off for IL-17 concentration with the highest sensitivity (82.4%) and specificity (78.9%) was 2.3 pg/ml (AUC = 0.879, 95% CI 0.836–0.995, $p < 0.001$). Determination of the prognostic value of IL-2 concentration, despite a high quality of the model and high sensitivity, was characterized by a low specificity. Among regulatory molecules, the level of p53 and c-myc expression showed the highest prognostic value. The cut-off level of p53 expression with the highest sensitivity (90%) and specificity (95%) was 4% (AUC = 0.947, 95% CI 0.898–0.997, $p < 0.001$). The cut-off for the c-myc expression with the highest sensitivity (84%) and specificity (85%) was 6.0% (AUC = 0.920, 95% CI 0.858–0.983, $p < 0.001$) (see Table 3).

Таблица 2. Корреляционные взаимосвязи между уровнем экспрессии регуляторных белков на клетках костного мозга и концентрацией цитокинов в сыворотке крови больных хроническим миелолейкозом**Table 2.** Correlations between the expression level of regulatory proteins on the bone marrow cells and the blood serum concentration of cytokines in patients with chronic myeloid leukemia

	IL-1β	IL-2	IL-6	IL-10	IL-17
ki-67	rs = 0.262 $p = 0.029$	–	rs = 0.241 $p < 0.001$	rs = –0.164 $p < 0.001$	–
c-мус	rs = –0.555 $p < 0.001$	rs = –0.660 $p < 0.001$	rs = –0.241 $p = 0.045$	rs = 0.626 $p < 0.001$	rs = –0.623 $p < 0.001$
p53	rs = –0.575 $p < 0.001$	rs = –0.705 $p < 0.001$	rs = –0.254 $p = 0.034$	rs = 0.651 $p < 0.001$	rs = –0.742 $p < 0.001$
Каспаза-3 Caspase-3	rs = 0.546 $p < 0.001$	rs = 0.474 $p < 0.001$	rs = 0.407 $p < 0.001$	rs = –0.623 $p < 0.001$	rs = 0.563 $p < 0.001$

Таблица 3. Моделирование вероятности достижения большого молекулярного ответа в зависимости от уровня экспрессии регуляторных белков на клетках костного мозга и концентрации цитокинов в сыворотке крови у больных хроническим миелолейкозом**Table 3.** Modeling the probability of achieving a major molecular response depending on the level of expression of regulatory proteins on the bone marrow cells and the blood serum concentration of cytokines in patients with chronic myeloid leukemia

Цитокины, регуляторные молекулы Cytokines, regulatory molecules	Площадь под кривой Area under the curve	<i>p</i>	Пороговые значения* Threshold values*	Чувствительность / Sensitivity (%)	Специфичность / Specificity (%)
IL-2	0.803	<0.001	2.0	98.0	62.5
IL-1β	0.831	<0.001	2.5	86.0	75.0
IL-17	0.879	<0.001	2.3	82.4	78.9
Каспаза-3 / Caspase-3	0.802	<0.001	22.0	68.0	70.0
p53	0.947	<0.001	4.0	90.0	95.0
c-myc	0.920	<0.001	6.0	84.0	85.0

П р и м е ч а н и я . Значения площади под кривой: 0.9–1 – отличное качество модели; 0.8–0.9 – очень хорошее качество модели; 0.7–0.8 – хорошее качество модели; 0.6–0.7 – среднее качество модели; 0.5–0.6 – неудовлетворительное качество модели.

* Единицы измерения для IL-2, IL-1β, IL-17 – пг/мл; для каспазы-3, p53, c-myc – %.

N o t e . Area under the curve values: 0.9–1 – excellent quality of a model; 0.8–0.9 – highest quality of a model; 0.7–0.8 – high quality of a model; 0.6–0.7 – moderate quality of a model; 0.5–0.6 – unsatisfactory quality of a model.

* Units for IL-2, IL-1β, IL-17 – pg/ml; for caspase-3, p53, c-myc – %.

щие прогнозировать отсутствие ответа на терапию ИТК, были получены для цитокинов IL-1β и IL-17 (табл. 3). Так, оптимальная точка отсечения (cut-off) для значения концентрации IL-1β с наивысшей чувствительностью (86 %) и специфичностью (75 %) составила 2.5 пг/мл (AUC = 0.831, 95% ДИ 0.788–0.952, $p < 0.001$), cut-off для значения концентрации IL-17 с наивысшей чувствительностью (82.4 %) и специфичностью (78.9 %) составила 2.3 пг/мл (AUC = 0.879, 95% ДИ 0.836–0.995, $p < 0.001$). Определение прогностического значения концентрации IL-2, несмотря на очень хорошее качество модели и высокую чувствительность, характеризовалось низкой специфичностью. Среди регуляторных молекул наибольшую прогностическую значимость показали уровень экспрессии p53 и c-myc. Cut-off для значения степени экспрессии p53 с наивысшей чувствительностью (90 %) и специфичностью (95 %) составила 4 % (AUC = 0.947, 95% ДИ 0.898–0.997, $p < 0.001$). Cut-off для значения экспрессии c-myc с наивысшей чувствительностью (84 %) и специфичностью (85 %) составила 6.0 % (AUC = 0.920, 95% ДИ 0.858–0.983, $p < 0.001$) (см. табл. 3).

Таким образом, достижение БМО более вероятно при достижении концентраций IL-1β < 2.5 пг/мл и IL-17 < 2.3 пг/мл и уровня экспрессии p53 > 4 % и c-myc > 6 % соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ

В развитии резистентности к ИТК участвует множество механизмов, связанных как с мутаци-

Thus, the achievement of MMR is more likely at the concentration of IL-1β < 2.5 pg/ml and IL-17 < 2.3 pg/ml, and the level of p53 expression > 4% and c-myc > 6%, respectively.

DISCUSSION

Many mechanisms are involved in the development of resistance to TKIs, both associated with mutations in the chimeric *BCR/ABL* gene and independent of *BCR/ABL* mutations [4].

Currently, it is now known that regulatory signals coming from microenvironment cells play an important role in the survival of cancer progenitor cells. Cytokines, which are a key link in signaling between cells, act at all stages of leukemogenesis and also allow CML leukemic stem cells to persist in the setting of long-term targeted therapy [2].

It is known that at the onset of the disease, an increase in secretion of pro-inflammatory cytokines contributes to tumor progression, creating favorable conditions for proliferation of tumor cells. Later, during the course of the disease, the contribution of cytokines to the development of resistance to therapy increases [5].

The results of this study showed that the lack of an adequate response to therapy and failure to achieve MMR is characterized by a statistically significant increase in the blood serum concentration of certain pro-inflammatory cytokines and growth factors (IL-1β, IL-2, IL-17, IL-6 and VEGF- A) compared with those in patients with MMR which indicates the prognostic value of these biomarkers in predicting

ями химерного гена *BCR/ABL*, так и независимых от мутаций *BCR/ABL* [4].

В настоящее время известно, что важную роль в выживании опухолевых клеток-предшественников играют регуляторные сигналы, поступающие от клеток микроокружения. Цитокины, являющиеся ключевым звеном в передаче сигналов между клетками, действуют на всех этапах лейкогенеза, а также позволяют персистировать лейкоэмическим стволовым клеткам ХМЛ на фоне многолетней таргетной терапии [2].

Известно, что в дебюте заболевания повышение секреции провоспалительных цитокинов способствует прогрессии злокачественного процесса, создавая благоприятные условия для пролиферации опухолевых клеток. В дальнейшем, в ходе естественного течения заболевания возрастает вклад цитокинов в развитие резистентности к терапии [5].

Результатами настоящего исследования было показано, что отсутствие оптимального ответа на терапию и не достижение БМО характеризуется статистически значимым увеличением в сыворотке крови больных концентрации отдельных провоспалительных цитокинов и ростовых факторов (IL-1 β , IL-2, IL-17, IL-6 и VEGF-A) по сравнению с таковым у пациентов с БМО, что указывает на прогностическое значение данных биомаркеров в прогнозировании достижения ответа на терапию ИТК. Полученные результаты согласуются с данными литературы, свидетельствующими об увеличении концентрации цитокинов провоспалительного спектра и отдельных ростовых факторов (IL-1 β , IL-6, VEGF-A) среди больных, резистентных к терапии ИТК [6–8]. В единичных работах описана неблагоприятная роль высокого уровня IL-17 у больных с лейкозами, коррелирующая с худшими показателями выживаемости [9]. При солидных опухолях было показано, что IL-17 индуцирует синтез VEGF, концентрация которого также была повышена у рефрактерных больных, и усиливает ангиогенез опухоли [10].

Концентрация IL-10, наоборот, была достоверно выше среди больных, достигших БМО. На основании результатов многочисленных исследований, посвященных изучению роли IL-10 в канцерогенезе, к настоящему времени известно, что IL-10 при различных вариантах злокачественных новообразований может проявлять как про-, так и антионкогенные свойства [11]. Так, в исследовании G. Gerlini et al. было показано, что IL-10, являясь самым мощным противовоспалительным цитокином, может ингибировать секрецию провоспалительных цитокинов и снижать экспрес-

the achievement of response to TKI therapy. The results obtained are consistent with the literature data indicating an increase in the pro-inflammatory cytokine concentration and certain growth factors (IL-1 β , IL-6, VEGF-A) among patients resistant to TKI therapy [6–8]. A few studies describe the unfavorable influence of IL-17 high levels in patients with leukemia, which correlates with the worse survival rates [9]. In solid tumors, it was shown that IL-17 induces the synthesis of VEGF, concentration of which was also increased in patients who are refractory to therapy, and enhances tumor angiogenesis [10].

The concentration of IL-10, on the contrary, was significantly higher among patients who achieved MMR. Based on the results of numerous studies on the role of IL-10 in carcinogenesis, it is now known that IL-10 can exhibit both pro- and anti-oncogenic properties in various types of malignant neoplasms [11]. So, in the study by Gerlini et al. it was shown that IL-10, being the most powerful anti-inflammatory cytokine, can inhibit secretion of pro-inflammatory cytokines and reduce expression of the major histocompatibility complex (MHC) class I proteins by tumor cells, thereby increasing their sensitivity to the cytotoxic effect of natural killers and slowing down the growth of a tumor clone [12].

In the present study, the increased concentration of IL-10 in patients with MMR can be considered as a compensatory reaction, which indicates an anti-oncogenic effect and allows it to be used as a biomarker for achieving an objective tumor response to TKI therapy.

When evaluating the level of the bone marrow expression of proteins that regulate cell cycle, it was shown that the CML patients who did not achieve MMR are characterized by a significantly low expression of p53 and c-myc proteins on the bone marrow cells, but have a higher level of caspase-3 expression compared to patients who achieved MMR. This fact may be explained by the literature data according to which CML patients with constitutionally active BCR/ABL tyrosine kinase are characterized by activation of MDM2 protein, which is a p53 antagonist. Suppression of the p53 activity by MDM2 protein leads to a blockade of apoptosis and excessive proliferation of tumor cells [13]. The results of other studies confirm that the suppression of functional activity of p53 is associated with the progression of CML, as well as the development of resistance to TKIs [14]. In addition, it was shown

сию белков главного комплекса гистосовместимости (МНС) I класса опухолевыми клетками, за счет чего повышается их чувствительность к цитотоксическому влиянию натуральных киллеров и замедляется рост опухолевого клона [12].

В настоящем исследовании увеличение концентрации IL-10 у пациентов с достижением БМО можно рассматривать как компенсаторную реакцию, что свидетельствует об антионкогенном влиянии и позволяет использовать его в качестве биомаркера достижения объективного ответа на терапию ИТК.

При оценке уровня экспрессии в костном мозге белков, регулирующих клеточный цикл, показано, что больные ХМЛ, не достигшие БМО, характеризуются статистически значимо низкой экспрессией на клетках костного мозга белка p53 и c-myc, но более высоким уровнем экспрессии каспазы-3 по сравнению с пациентами, достигшими наилучшего ответа на терапию ИТК (БМО). Объяснением данного факта могут быть данные литературы, согласно которым больные ХМЛ с конституционально активной BCR/ABL-тирозинкиназой характеризуются активацией белка MDM2, являющегося антагонистом p53. Подавление активности p53 белком MDM2 приводит к блоку апоптоза и избыточной пролиферации опухолевых клеток [13]. Результаты других исследований подтверждают, что подавление функциональной активности p53 сопряжено с прогрессированием ХМЛ, а также развитием резистентности к ИТК [14]. Кроме того, было показано, что блокада MDM2, приводящая к повышению активности p53, повышает чувствительность культур клеток к ИТК и способствует более глубокой эрадикации лейкемических стволовых клеток ХМЛ [15].

C-myc – транскрипционный фактор, который стимулирует пролиферативную активность опухолевых клеток, ингибирует их апоптоз, регулирует метаболизм, способствует ангиогенезу и формированию клеток-предшественников опухоли [16]. Многие работы свидетельствуют о том, что высокий уровень экспрессии c-myc ассоциирован с худшим прогнозом при злокачественных новообразованиях. При ХМЛ также было показано, что гиперэкспрессия c-myc сопряжена с прогрессированием ХМЛ в бластный криз и худшим ответом на иматиниб [17]. Однако нами получены противоречивые данные, свидетельствующие о статистически значимо низком уровне экспрессии c-myc среди больных, не достигших БМО, что, вероятно, обусловлено большим количеством покоящихся клеток вне клеточного цикла, для которых характерен мини-

that the blockade of MDM2, which leads to the p53 activation, increases the sensitivity of cell lines to TKIs and favors deeper eradication of CML leukemic stem cells [15].

C-myc is a transcription factor that stimulates the proliferative activity of tumor cells, inhibits their apoptosis, regulates metabolism, promotes angiogenesis and the formation of tumor progenitor cells [16]. Many works indicate that a high level of c-myc expression is associated with a worse prognosis in malignant neoplasms. In CML, c-myc overexpression has also been shown to be associated with CML progression during blast crisis and worse response to imatinib [17]. However, we have obtained contradictory results indicating a significantly low level of the c-myc expression among patients who did not achieve MMR, which is probably due to a large number of out-of-cycle quiescent cells which are characterized by a minimum level of c-myc nuclear expression [18]. The paradoxical pro-oncogenic potential for decreased c-myc expression has been described in several studies which showed that a low level of protein maintains the proliferative activity of tumor cells, and when its expression thresholds levels are reached, pro-apoptotic molecules that trigger cell death are activated [19, 20]. Ji et al. showed that a low level of c-myc expression in hepatocellular carcinoma was associated with the worse survival rates compared to patients with a high level of expression [21].

In our study, the level of expression of caspase-3, the executioner caspase, that combines both intrinsic and extrinsic apoptotic pathways, turned out to be significantly higher among patients without MMR, which is consistent with the literature data and indicates a predominantly pro-oncogenic effect of this regulatory protein in CML [22].

In the literature, the opinions on the prognostic role of caspase-3 expression are contradictory. Previously, it was believed that a high level of caspase-3 in malignant neoplasms is an indicator of the effectiveness of anticancer therapy, demonstrating an increase in apoptosis of tumor cells. However, some studies indicate that in some variants of malignant neoplasms, a high level of procaspase-3 or its active form, caspase-3 is associated with an unfavorable prognosis of the disease [22, 23]. The definite mechanism of the pro-oncogenic effect of caspase remains unclear. It is assumed that a high level of caspase-3 enhances tumor angiogenesis in response to apoptosis, and also promotes genomic rearrangements and, thus, promotes the tumor progression [22].

мальный уровень ядерной экспрессии c-мус [18]. Парадоксальный проонкогенный потенциал снижения экспрессии c-мус описан в нескольких работах, результаты которых показали, что низкий уровень белка поддерживает пролиферативную активность опухолевых клеток, а при достижении пороговых значений его экспрессии активируются проапоптотические молекулы, запускающие гибель клеток [19, 20]. В работе F. Ji et al. низкий уровень экспрессии c-мус при гепатоцеллюлярной карциноме был ассоциирован с худшими показателями выживаемости по сравнению с больными с высоким уровнем экспрессии [21].

Уровень экспрессии каспазы-3, эффекторной каспазы, объединяющей внутренний и внешний пути апоптоза, в нашем исследовании оказался статистически значимо выше среди больных без БМО, что согласуется с данными литературы и указывает на преимущественно проонкогенный эффект данного регуляторного белка при ХМЛ [22].

В литературе мнения о прогностической роли экспрессии каспазы-3 противоречивы. Ранее считалось, что высокий уровень каспазы-3 при злокачественных новообразованиях является индикатором эффективности противоопухолевой терапии, демонстрирующим усиление процесса апоптоза опухолевых клеток. Однако часть исследований свидетельствует о том, что при некоторых вариантах злокачественных новообразований высокий уровень прокаспазы-3 или его активной формы каспазы-3 сопряжен с неблагоприятным прогнозом заболевания [22, 23]. Точный механизм проонкогенного эффекта каспазы остается неясным. Предполагается, что высокий уровень каспазы-3 усиливает ангиогенез опухоли в ответ на апоптоз, а также способствует геномным перестройкам и, таким образом, способствует прогрессированию опухолевого процесса [22].

Таким образом, цитохимическое исследование экспрессии регуляторных молекул p53, c-мус и каспазы-3 является потенциально полезным инструментом, позволяющим прогнозировать эффективность терапии больных ХМЛ. Наибольшее прогностическое значение в отношении предсказания достижения БМО имеет исследование уровня экспрессии на клетках костного мозга регуляторных молекул p53 и c-мус, обладающих наибольшей чувствительностью и специфичностью в ROC-анализе. Однако в реальной клинической практике проведение цитохимических исследований больным ХМЛ не всегда возможно.

Thus, a cytochemical study of expression of regulatory molecules p53, c-myc, and caspase-3 is a potentially useful tool to predict the effectiveness of therapy in patients with CML. The greatest prognostic value for the achievement of MMR has a study of the expression level of regulatory molecules p53 and c-myc, which have the highest sensitivity and specificity in ROC analysis, on the bone marrow cells. However, in real-life clinical practice, it is not always possible to conduct cytochemical studies in patients with CML.

The literature data indicate the impact of cytokine imbalance on the level of expression of regulatory proteins. Thus, it was shown that enhanced secretion of IL-1 β and IL-17 in patients with malignant neoplasms suppresses the p53 expression and, thus, promotes the tumor progression and development of resistance to therapy [24, 25]. Liu et al. it has been shown that pro-inflammatory signals inhibit the c-myc expression, although other works indicate that a number of cytokines, on the contrary, stimulate the expression of c-myc [26]. The results of our study revealed the presence of a statistically significant negative correlation between the level of expression of p53 and c-myc proteins in the bone marrow and the blood serum concentration of IL-1 β and IL-17 in CML patients, which confirms the ability of these pro-inflammatory cytokines to down-regulate the expression of p53 and c-myc in tumor cells and thereby contribute to their long-term persistence even in the setting of years-long targeted therapy.

CONCLUSION

The search for new prognostic biomarkers of treatment failure is important to improve understanding of the molecular mechanisms of resistance to TKIs. The study demonstrated that CML patients who did not achieve MMR are characterized by a significantly lower level of p53 and c-myc expression in the bone marrow but a higher level of caspase-3 which probably reflects the inhibition of the TKI-induced apoptosis of tumor cells. In addition, the level of expression of regulatory molecules correlated with the blood serum concentration of pro-inflammatory cytokines, which, in our opinion, has diagnostic and prognostic value. Determining the concentration of IL-1 β and IL-17 in CML patients may be a useful tool for the early identification of individuals not responding to TKI therapy.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Литературные данные свидетельствуют о влиянии цитокинового дисбаланса на уровень экспрессии регуляторных белков. Так, было показано, что гиперсекреция IL-1 β и IL-17 у больных злокачественными новообразованиями подавляет экспрессию p53 и, таким образом, способствует прогрессированию злокачественного процесса и развитию резистентности к терапии [24, 25]. В работе L. Liu et al. показано, что провоспалительные сигналы подавляют экспрессию с-тумс, хотя другие работы свидетельствуют о том, что ряд цитокинов, наоборот, стимулируют экспрессию с-тумс [26]. Результаты настоящего исследования выявили наличие статистически значимой обратной корреляционной взаимосвязи между уровнем экспрессии в костном мозге белков p53, с-тумс и концентрацией IL-1 β и IL-17 в сыворотке крови больных ХМЛ, что подтверждает способность указанных провоспалительных цитокинов подавлять экспрессию p53 и с-тумс на опухолевых клетках и тем самым способствовать их длительному персистированию даже на фоне многолетней таргетной терапии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cortes J., Lang F. Third-line therapy for chronic myeloid leukemia: current status and future directions // *J. Hematol. Oncol.* 2021;14(1):44. DOI: 10.1186/s13045-021-01055-9.
2. Zhang B., Ho Y.W., Huang Q. et al. Altered microenvironmental regulation of leukemic and normal stem cells in chronic myelogenous leukemia // *Cancer Cell.* 2012;21(4):577-592. DOI: 10.1016/j.ccr.2012.02.018.
3. Malireddi R.K.S., Karki R., Sundaram B. et al. Inflammatory cell death, PANoptosis, mediated by cytokines in diverse cancer lineages inhibits tumor growth // *Immunohorizons.* 2021;5(7):568-580. DOI: 10.4049/immunohorizons.2100059.
4. Hochhaus A., Baccarani M., Silver R.T. et al. European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia // *Leukemia.* 2020;34:966-984. DOI: 10.1038/s41375-020-0776-2.
5. Harrington P., Dillon R., Radia D. et al. Chronic myeloid leukaemia patients at diagnosis and resistant to tyrosine kinase inhibitor therapy display exhausted T-cell phenotype // *Br. J. Haematol.* 2022;198(6):1011-1015. DOI: 10.1111/bjh.18302.
6. Lee C.R., Kang J.A., Kim H.E. et al. Secretion of IL-1 β from imatinib-resistant chronic myeloid leukemia cells contributes to BCR-ABL mutation-independent imatinib resistance // *FEBS Lett.* 2016;590(3):358-368. DOI: 10.1002/1873-3468.12057.
7. Nievergall E., Reynolds J., Kok C.H. et al. TGF- α and IL-6 plasma levels selectively identify CML patients who fail to achieve an early molecular response or progress in the first year of therapy // *Leukemia.* 2016;3(6):1263-1272. DOI: 10.1038/leu.2016.34.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Поиск новых прогностических маркеров неэффективности терапии является важным для улучшения понимания молекулярных механизмов развития резистентности к ИТК. Проведенное исследование продемонстрировало, что больные ХМЛ, не достигшие БМО, характеризуются достоверно более низким уровнем экспрессии в костном мозге p53 и с-тумс, но более высоким уровнем каспазы-3, что, вероятно, отражает ингибирование ИТК-индуцированного апоптоза опухолевых клеток. Кроме того, уровень экспрессии регуляторных молекул коррелировал с концентрацией в сыворотке крови провоспалительных цитокинов, что, по нашему мнению, имеет диагностическую и прогностическую ценность. Определение концентраций IL-1 β и IL-17 у больных ХМЛ может являться полезным инструментом для раннего выявления лиц с неудачей терапии ИТК.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

REFERENCES

1. Cortes J., Lang F. Third-line therapy for chronic myeloid leukemia: current status and future directions. *J. Hematol. Oncol.* 2021;14(1):44. DOI: 10.1186/s13045-021-01055-9.
2. Zhang B., Ho Y.W., Huang Q. et al. Altered microenvironmental regulation of leukemic and normal stem cells in chronic myelogenous leukemia. *Cancer Cell.* 2012;21(4):577-592. DOI: 10.1016/j.ccr.2012.02.018.
3. Malireddi R.K.S., Karki R., Sundaram B. et al. Inflammatory cell death, PANoptosis, mediated by cytokines in diverse cancer lineages inhibits tumor growth. *Immunohorizons.* 2021;5(7):568-580. DOI: 10.4049/immunohorizons.2100059.
4. Hochhaus A., Baccarani M., Silver R.T. et al. European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia. *Leukemia.* 2020;34:966-984. DOI: 10.1038/s41375-020-0776-2.
5. Harrington P., Dillon R., Radia D. et al. Chronic myeloid leukaemia patients at diagnosis and resistant to tyrosine kinase inhibitor therapy display exhausted T-cell phenotype. *Br. J. Haematol.* 2022;198(6):1011-1015. DOI: 10.1111/bjh.18302.
6. Lee C.R., Kang J.A., Kim H.E. et al. Secretion of IL-1 β from imatinib-resistant chronic myeloid leukemia cells contributes to BCR-ABL mutation-independent imatinib resistance. *FEBS Lett.* 2016;590(3):358-368. DOI: 10.1002/1873-3468.12057.
7. Nievergall E., Reynolds J., Kok C.H. et al. TGF- α and IL-6 plasma levels selectively identify CML patients who fail to achieve an early molecular response or progress in the first year of therapy. *Leukemia.* 2016;3(6):1263-1272. DOI: 10.1038/leu.2016.34.

8. Kvasnicka H.M., Thiele J., Staib P. et al. Reversal of bone marrow angiogenesis in chronic myeloid leukemia following imatinib mesylate (STI571) therapy // *Blood*. 2004;103(9):3549-3551. DOI: 10.1182/blood-2003-08-2734.
9. Han Y., Ye A., Bi L. et al. Th17 cells and interleukin-17 increase with poor prognosis in patients with acute myeloid leukemia // *Cancer Sci*. 2014;105(8):933-942. DOI: 10.1111/cas.12459.
10. Соснина А.В., Великая Н.В., Вараксин Н.А. и др. Роль цитокинов в патогенезе злокачественных новообразований. Новосибирск, 2014. 128 с.
11. Mannino M.H., Zhu Z., Xiao H. et al. The paradoxical role of IL-10 in immunity and cancer // *Cancer Lett*. 2015;367(2):103-107. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.07.009.
12. Gerlini G., Tun-Kyi A., Dudli C. et al. Metastatic melanoma secreted IL-10 down-regulates CD1 molecules on dendritic cells in metastatic tumor lesions // *Am. J. Pathol*. 2004;165(6):1853-1863. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)63238-5.
13. Goetz A.W., van der Kuip H., Maya R. et al. Requirement for Mdm2 in the survival effects of Bcr-Abl and interleukin 3 in hematopoietic cells // *Cancer Res*. 2001;61(20):7635-7641.
14. Velasco-Hernández T., Vicente-Dueñas C., Sánchez-García I. et al. p53 restoration kills primitive leukemia cells in vivo and increases survival of leukemic mice // *Cell Cycle*. 2013;12(1):122-132. DOI: 10.4161/cc.23031.
15. Carter B.Z., Mak P.Y., Mak D.H. Synergistic effects of p53 activation via MDM2 inhibition in combination with inhibition of Bcl-2 or Bcr-Abl in CD34⁺ proliferating and quiescent chronic myeloid leukemia blast crisis cells // *Oncotarget*. 2015;6(31):30487-30499. DOI: 10.18632/oncotarget.5890.
16. Duffy M.J., O'Grady S., Tang M., Crown J. MYC as a target for cancer treatment // *Cancer Treat. Rev*. 2021;94:102154. DOI: 10.1016/j.ctrv.2021.102154.
17. Pippa R., Odero M.D. The role of MYC and PP2A in the initiation and progression of myeloid leukemias // *Cells*. 2020;9(3):544. DOI: 10.3390/cells9030544.
18. Elbadawy M., Usui T., Yamawaki H., Sasaki K. Emerging roles of c-Myc in cancer stem cell-related signaling and resistance to cancer chemotherapy: a potential therapeutic target against colorectal cancer // *Int. J. Mol. Sci*. 2019;20(9):2340. DOI: 10.3390/ijms20092340.
19. Akita H., Marquardt J.U., Durkin M.E. et al. MYC activates stem-like cell potential in hepatocarcinoma by a p53-dependent mechanism // *Cancer Res*. 2014;74(20):5903-5913. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0527.
20. Miller D.M., Thomas S.D., Islam A. et al. c-Myc and cancer metabolism // *Clin. Cancer Res*. 2012;18(20):5546-5553. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0977.
21. Ji F., Zhang Zh., Zhang Y. et al. Low expression of c-Myc protein predicts poor outcomes in patients with hepatocellular carcinoma after resection // *BMC Cancer*. 2018;18(1):460. DOI: 10.1186/s12885-018-4379-5.
22. Yang X., Zhong D.N., Qin H. et al. Caspase-3 overexpression is associated with poor overall survival and clinicopathological parameters in breast cancer: a meta-analysis of 3091 cases // *Oncotarget*. 2017;9(9):8629-8641. DOI: 10.18632/oncotarget.23667.
23. Flanagan L., Meyer M., Fay J. et al. Low levels of Caspase-3 predict favourable response to 5FU-based chemotherapy in advanced colorectal cancer: Caspase-3
8. Kvasnicka H.M., Thiele J., Staib P. et al. Reversal of bone marrow angiogenesis in chronic myeloid leukemia following imatinib mesylate (STI571) therapy. *Blood*. 2004;103(9):3549-3551. DOI: 10.1182/blood-2003-08-2734.
9. Han Y., Ye A., Bi L. et al. Th17 cells and interleukin-17 increase with poor prognosis in patients with acute myeloid leukemia. *Cancer Sci*. 2014;105(8):933-942. DOI: 10.1111/cas.12459.
10. Sosnina A.V., Velikaya N.V., Varaksin N.A. et al. (2014). *The Role of Cytokines in the Pathogenesis of Malignant Neoplasms*. Novosibirsk, 128 p. (In Russ.)
11. Mannino M.H., Zhu Z., Xiao H. et al. The paradoxical role of IL-10 in immunity and cancer. *Cancer Lett*. 2015;367(2):103-107. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.07.009.
12. Gerlini G., Tun-Kyi A., Dudli C. et al. Metastatic melanoma secreted IL-10 down-regulates CD1 molecules on dendritic cells in metastatic tumor lesions. *Am. J. Pathol*. 2004;165(6):1853-1863. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)63238-5.
13. Goetz A.W., van der Kuip H., Maya R. et al. Requirement for Mdm2 in the survival effects of Bcr-Abl and interleukin 3 in hematopoietic cells. *Cancer Res*. 2001;61(20):7635-7641.
14. Velasco-Hernández T., Vicente-Dueñas C., Sánchez-García I. et al. p53 restoration kills primitive leukemia cells in vivo and increases survival of leukemic mice. *Cell Cycle*. 2013;12(1):122-132. DOI: 10.4161/cc.23031.
15. Carter B.Z., Mak P.Y., Mak D.H. Synergistic effects of p53 activation via MDM2 inhibition in combination with inhibition of Bcl-2 or Bcr-Abl in CD34⁺ proliferating and quiescent chronic myeloid leukemia blast crisis cells. *Oncotarget*. 2015;6(31):30487-30499. DOI: 10.18632/oncotarget.5890.
16. Duffy M.J., O'Grady S., Tang M., Crown J. MYC as a target for cancer treatment. *Cancer Treat. Rev*. 2021;94:102154. DOI: 10.1016/j.ctrv.2021.102154.
17. Pippa R., Odero M.D. The role of MYC and PP2A in the initiation and progression of myeloid leukemias. *Cells*. 2020;9(3):544. DOI: 10.3390/cells9030544.
18. Elbadawy M., Usui T., Yamawaki H., Sasaki K. Emerging roles of c-Myc in cancer stem cell-related signaling and resistance to cancer chemotherapy: a potential therapeutic target against colorectal cancer. *Int. J. Mol. Sci*. 2019;20(9):2340. DOI: 10.3390/ijms20092340.
19. Akita H., Marquardt J.U., Durkin M.E. et al. MYC activates stem-like cell potential in hepatocarcinoma by a p53-dependent mechanism. *Cancer Res*. 2014;74(20):5903-5913. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0527.
20. Miller D.M., Thomas S.D., Islam A. et al. c-Myc and cancer metabolism. *Clin. Cancer Res*. 2012;18(20):5546-5553. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0977.
21. Ji F., Zhang Zh., Zhang Y. et al. Low expression of c-Myc protein predicts poor outcomes in patients with hepatocellular carcinoma after resection. *BMC Cancer*. 2018;18(1):460. DOI: 10.1186/s12885-018-4379-5.
22. Yang X., Zhong D.N., Qin H. et al. Caspase-3 overexpression is associated with poor overall survival and clinicopathological parameters in breast cancer: a meta-analysis of 3091 cases. *Oncotarget*. 2017;9(9):8629-8641. DOI: 10.18632/oncotarget.23667.

- inhibition as a therapeutic approach // *Cell. Death. Dis.* 2016;7:e2087. DOI: 10.1038/cddis.2016.7.
24. Schauer I.G., Zhang J., Xing Z. et al. Interleukin-1 β promotes ovarian tumorigenesis through a p53/NF- κ B-mediated inflammatory response in stromal fibroblasts // *Neoplasia*. 2013;15(4):409-420. DOI: 10.1593/neo.121228.
 25. Li Q., Xu X., Zhong W. et al. IL-17 induces radiation resistance of B lymphoma cells by suppressing p53 expression and thereby inhibiting irradiation-triggered apoptosis // *Cell. Mol. Immunol.* 2015;12(3):366-372. DOI: 10.1038/cmi.2014.122.
 26. Liu L., Lu Y., Martinez J. et al. Proinflammatory signal suppresses proliferation and shifts macrophage metabolism from Myc-dependent to HIF1 α -dependent // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2016;113(6):1564-1569. DOI: 10.1073/pnas.1518000113.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Александрова Туйара Никоновна – аспирант кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-9940-961X.

Мулина Инна Ивановна – заведующий отделением гематологии ГАУ РС(Я) «Республиканская больница № 1 – Национальный центр медицины им. М.Е. Николаева», Якутск, Республика Саха (Якутия).

Лямкина Анна Сергеевна – канд. мед. наук, доцент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-2516-0778.

Михайлова Елена Семеновна – научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; научный сотрудник ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-8576-3717.

Аутеншлюс Александр Исаевич – д-р мед. наук, заведующий центральной научно-исследовательской лабораторией ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; главный научный сотрудник ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-6538-0089.

Скворцова Наталия Валерьевна – д-р мед. наук, доцент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-6938-3802.

Агеева Татьяна Августовна – д-р мед. наук, профессор кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-7933-8394.

Поспелова Татьяна Ивановна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-6791-0314.

23. Flanagan L., Meyer M., Fay J. et al. Low levels of Caspase-3 predict favourable response to 5FU-based chemotherapy in advanced colorectal cancer: Caspase-3 inhibition as a therapeutic approach. *Cell. Death. Dis.* 2016;7:e2087. DOI: 10.1038/cddis.2016.7.
24. Schauer I.G., Zhang J., Xing Z. et al. Interleukin-1 β promotes ovarian tumorigenesis through a p53/NF- κ B-mediated inflammatory response in stromal fibroblasts. *Neoplasia*. 2013;15(4):409-420. DOI: 10.1593/neo.121228.
25. Li Q., Xu X., Zhong W. et al. IL-17 induces radiation resistance of B lymphoma cells by suppressing p53 expression and thereby inhibiting irradiation-triggered apoptosis. *Cell. Mol. Immunol.* 2015;12(3):366-372. DOI: 10.1038/cmi.2014.122.
26. Liu L., Lu Y., Martinez J. et al. Proinflammatory signal suppresses proliferation and shifts macrophage metabolism from Myc-dependent to HIF1 α -dependent. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2016;113(6):1564-1569. DOI: 10.1073/pnas.1518000113.

ABOUT THE AUTHORS

Tujara N. Aleksandrova – Post-graduate Student, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-9940-961X.

Inna I. Mulina – Head, Hematology Department, Republican Hospital No. 1 – National Center of Medicine, Yakutsk, Republic of Sakha (Yakutia).

Anna S. Lyamkina – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-2516-0778.

Elena S. Mikhailova – Researcher, Central Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University; Researcher, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-8576-3717.

Alexander I. Autenshlyus – Dr. Sci. (Med.), Head, Central Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University; Senior Researcher, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-6538-0089.

Nataliya V. Skvortsova – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-6938-3802.

Tatyana A. Ageeva – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Pathological Anatomy, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-7933-8394.

Tatyana I. Pospelova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-6791-0314.