

УДК 616-006.446:615.28:57.053

МЕХАНИЗМЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ПРИ ОСТРОМ МИЕЛОИДНОМ ЛЕЙКОЗЕ

© 2021 г. Н. М. Боброва¹, Т. В. Романовская², *

¹РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова, Минск, Беларусь

²Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*e-mail: ramanouskaya_tv@bsu.by

Поступила в редакцию 28.02.2021 г.

После доработки 04.03.2021 г.

Принята к публикации 04.03.2021 г.

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) — совокупность гематологических заболеваний, характеризующихся клональной экспансией незрелых миелоидных предшественников. Химиотерапия является одним из основных методов лечения ОМЛ. Однако возникновение лекарственной устойчивости у лейкозных клеток, являясь серьезным препятствием для терапии заболевания, ухудшает клинический исход. Для разработки грамотных стратегий лечения ОМЛ необходимо понимать суть механизмов резистентности к тем или иным цитостатикам и цитотоксическим препаратам. Данный обзор посвящен различным известным на сегодняшний день механизмам, лежащим в основе возникновения лекарственной устойчивости у лейкозных клеток на уровне внутриклеточных молекулярных путей и на уровне межклеточной коммуникации.

Ключевые слова: острый миелоидный лейкоз, химиотерапия, химиорезистентность

DOI: 10.31857/S0042132421040025

ВВЕДЕНИЕ

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) представляет собой совокупность фенотипически и генотипически гетерогенных гематологических заболеваний, которые характеризуются клональной экспансией слабодифференцированных миелоидных предшественников (Lagunas-Rangel et al., 2017). Образование лейкозных клеток и их экспансия обусловлены возникновением в клетке-предшественнице гемопоэза мутации, вследствие которой происходит блок дифференцировки и начинается неконтролируемая пролиферация незрелых миелоидных клеток (Савченко и др., 2014). В результате происходит аномальное накопление таких клеток в периферической крови и костном мозге, реже — в других органах (De Kouchkovsky, Abdul-Nay, 2016; Lagunas-Rangel et al., 2017). Таким образом, сценарии развития гемобластозов и солидных опухолей имеют много общих черт. Во-первых, определенные мутации и эпигенетические изменения ведут к избыточному размножению отдельных клонов. Во-вторых, в аномальных клетках генерируются собственные сигналы пролиферации, а ингибирующие ее сигналы ими не воспринимаются. В-третьих, не запускаются процессы гибели незрелых миелоидных клеток в результате апоптоза или уничтожения их иммунной системой. Тем не менее,

главной причиной смерти больных ОМЛ является недостаточность функции костного мозга, то есть способность метастазировать вносит меньший вклад в патогенез ОМЛ, чем в случае солидных опухолей (Копнин, 2012). По количеству летальных исходов от онкологических заболеваний острый миелоидный лейкоз находится на шестом месте (Du, Chen, 2017).

Химиотерапия является основным и в некоторых случаях единственным способом лечения онкологических заболеваний (Блохин, 2005). Так, классический режим лечения ОМЛ включает в себя внутривенное введение цитарабина на протяжении семи дней и одновременное введение на протяжении первых трех дней этого срока даунорубицина (режим “7+3”) (Gabra, Salmena, 2017). Возникновение лекарственной устойчивости у клеток ОМЛ может существенно осложнить лечение заболевания.

Невосприимчивость к препаратам, развивающаяся в процессе проведения химиотерапии, вызывает рецидив болезни, ухудшая тем самым клинический исход. В связи с этим для грамотного выбора терапевтического режима необходимо понимать суть молекулярных механизмов, лежащих в основе явления лекарственной устойчивости (Zheng, 2017).

Таблица 1. Основные группы противоопухолевых препаратов, применяемых при лейкозах

Группа (с примерами)	Принцип действия
I. Алкилирующие агенты (бусульфан, производные нитрозомочевины) и соединения платины (цисплатин)	Вызывают формирование аддуктов в ядерной ДНК, способствуя образованию межнитевых и внутринитевых поперечных сшивок в ДНК и блокируя таким образом прохождение контрольных точек клеточного цикла
II. Антиметаболиты (метотрексат, гемцитабин, цитарабин, азациитидин, гидроксимочевина)	Аналоги естественных субстратов клеточных ферментов, ингибирующие синтез нуклеотидов и нуклеиновых кислот по конкурентному механизму
III. Препараты, действующие на микротрубочки (винбластин, доцетаксел, колхицин)	Подавляют полимеризацию или деполимеризацию тубулинов, нарушая формирование веретена деления
IV. Ингибиторы топоизомераз (этопозид, даунорубин, митоксантрон и др. антрациклиновые антибиотики)	Нарушают синтез нуклеиновых кислот, интеркалируя в ДНК и взаимодействуя с топоизомеразами
V. Ингибиторы протеинкиназ (гефитиниб, иматиниб и др.)	Подавляя активность протеинкиназ, препятствуют фосфорилированию белков, участвующих в стимуляции пролиферации и подавлении апоптоза клеток
VI. Ингибиторы белкового синтеза (L-аспарагиназа, омацетаксин)	L-аспарагиназа нарушает синтез белка вследствие разрушения некоторых аминокислот; омацетаксин непосредственно ингибирует белки рибосом
VII. Вещества, действующие на клеточные мембраны (пептидные препараты)	Изменяют барьерные свойства мембраны митохондрий, способствуя инициации апоптоза

Нарушая те или иные функции в физиологии клеточного деления и клеточного метаболизма, противоопухолевые препараты стимулируют старение и апоптоз лейкозных клеток. Сводная информация по основным группам применяемых в терапии ОМЛ препаратов и механизмам их действия приведена в табл. 1 (составлена по Гольдберг, Матяш, 2017; Constance, Lim, 2012; Valdez et al., 2012; Kartanjan et al., 2015; Liu et al., 2016b; Bertuccio et al., 2017; Visconti, Grieco, 2017).

Из исследований последних лет можно сделать вывод о том, что устойчивые к химиотерапии клоны в основном возникают из-за мутаций в лейкозных стволовых клетках. Как и другие стволовые клетки, они обладают свойством плюрипотентности и способны самовоспроизводиться в присутствии клеток микроокружения. Последние образуют особые регуляторные ниши, предназначенные для поддержания стволовых клеток и защиты их от неблагоприятных воздействий. Лейкозные стволовые клетки способны конкурировать с нормальными гемопоэтическими стволовыми клетками, вытесняя последние из таких ниш (Tabe, Kopreva, 2014; Sorces et al., 2017). Многообразие механизмов, приводящих к появлению резистентности ОМЛ, можно свести к нескольким ключевым аспектам клеточной физиологии (рис. 1). Мы представляем обзор основных путей, которые вовлечены в развитие лекарственной устойчивости при лейкозах и, в частности,

при ОМЛ, с учетом результатов недавних исследований. Также мы приводим сведения о препаратах, которые позволяют воздействовать на те или иные механизмы лекарственной устойчивости, подавляя их и тем самым повышая эффективность действия лекарств при их комбинированном применении.

ТРАНСПОРТНЫЕ БЕЛКИ СЕМЕЙСТВА ABC

Функция белков данного семейства (ABC, ATP-binding cassette protein) заключается в детоксикации клеток за счет активного транспорта из них токсических молекул. Основные члены этой группы – P-гликопротеин (P-gp), также имеющий синонимичное название MDR1 (multidrug resistance protein 1) и белок MRP1 (multidrug resistance-associated protein 1). Гиперэкспрессия P-gp часто наблюдается в случаях ОМЛ с повышенным риском (Laine et al., 2012). P-gp представляет собой гликозилированный интегральный мембранный белок с молекулярной массой 170 кД. После связывания вещества с внутриклеточным доменом белка-транспортера, обращенным в цитозоль, происходит АТФ-зависимое изменение конформации белка, и вещества выводятся во внешнее пространство. Гидролиз АТФ необходим для каждого нового цикла связывания и выведения молекул субстрата из клетки (Du, Chen, 2017).

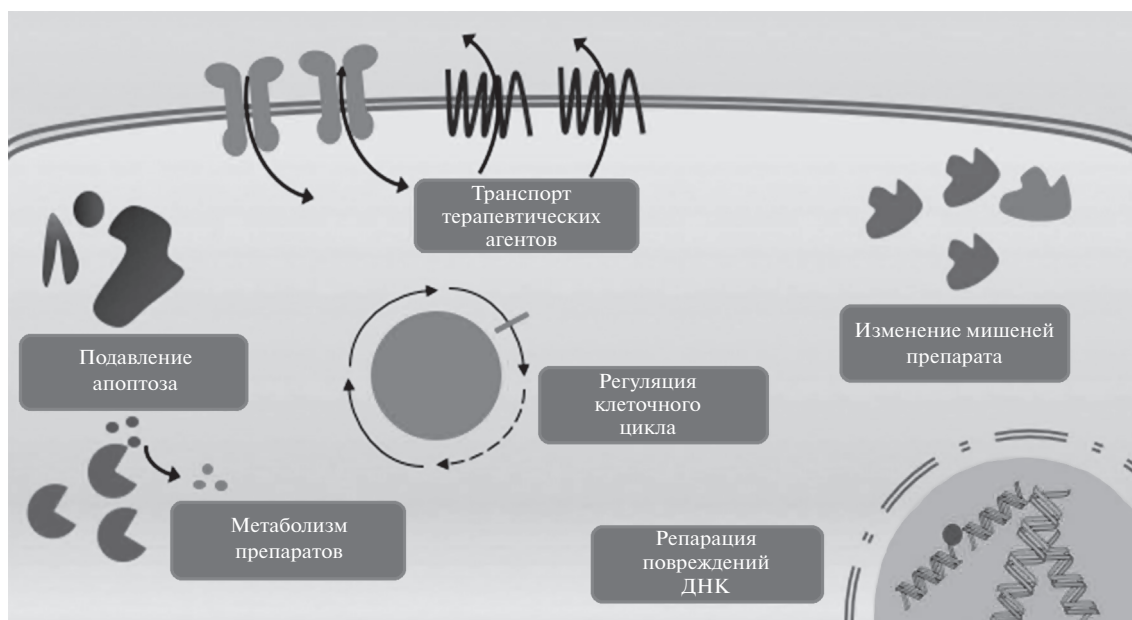


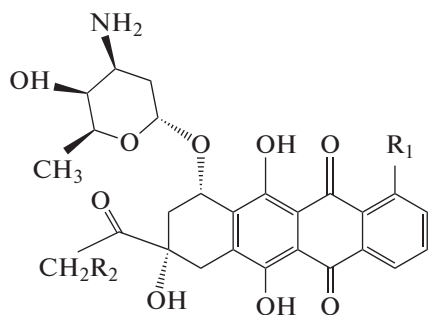
Рис. 1. Шесть ключевых событий, с которыми связано возникновение лекарственной устойчивости (адаптирован по: Gabra, Salmena, 2017).

В норме P-gp способствует поддержанию клеточного гомеостаза, препятствуя накоплению в цитоплазме токсических веществ. С другой стороны, его экспрессия на раковых клетках снижает эффективность действия терапевтических препаратов. Во многих исследованиях показана положительная зависимость между активностью P-gp и значениями IC_{50} (полумаксимальной ингибирующей концентрации) цитотоксических препаратов. Так, по результатам одного из исследований (Tang et al., 2009) значение IC_{50} для препарата DM4 (ингибитор полимеризации тубулинов, производное майтанзина) в полученной устойчивой линии K562/ННТ40 (хронический миелоидный лейкоз) при обработке зосуквидаром – специфическим ингибитором данного транспортера – снизилось с 18.4 ± 1.2 до 6.5 ± 0.6 нМ. В работе (Laineu et al., 2012) показано ингибирующее действие эрлотиниба и гефитиниба в отношении транспортных белков семейства ABC. Применение азациитидина в сочетании с одним из этих веществ обеспечивало более эффективную гибель клеток ОМЛ (как модельных линий, так и первичных культур от пациентов), чем в случае одиночного воздействия азациитидина. Интересно, что первоначально противоопухолевый эффект этих соединений связывали с их способностью подавлять киназную активность рецепторов эпидермального фактора роста. С тем же механизмом оказалось ассоциировано синергическое действие на линии ОМЛ эрлотиниба с этакридином. Этакридин нарушает работу ферментов метаболизма в клетках, индуцируя формирование повы-

шенного количества активных форм кислорода (АФК). Комбинирование его с эрлотинибом обеспечило более высокий уровень накопления АФК в клетках ОМЛ (Rotin et al., 2016).

Субстраты P-gp разнообразны по своей химической структуре. Так, повышенная экспрессия P-gp вызывает устойчивость к антрациклиновым антибиотикам, алкалоидам барвинка, пептидным антибиотикам и т.д. (Du, Chen, 2017; Hano et al., 2018). Вместе с тем следует отметить, что влияние экспрессии P-gp на цитотоксическое действие препарата зависит от тонких деталей его химического строения. Так, при исследовании действия идарубицина и доксорубицина на различные клеточные линии (человеческие и мышинные) с повышенной экспрессией P-gp было показано, что первый препарат проявлял значимую активность, а второй – нет. Оба вещества относятся к группе антрациклинов; в их молекулах есть один и тот же углеводный компонент молекулы – даунозамин ($pK_a = 8.4$). Атом азота в аминогруппе этого компонента протонирован и потому несет положительный заряд. Однако в силу деталей химической структуры идарубицин обладает большей липофильностью, чем доксорубицин (рис. 2), вследствие чего лучше проникает в клетку и в ней удерживается (Ma et al., 2009).

Как сказано выше, ингибирование белков-транспортеров в условиях *in vitro* повышает эффективность цитотоксического действия препаратов. Однако применение их в клинической практике осложняется тяжелыми побочными эф-



IDA: $R_1 = H, R_2 = H$

DOX: $R_1 = OCH_3, R_2 = OH$

Рис. 2. Химическая структура идарубицина (IDA) и доксорубицина (DOX). Объяснение – в тексте (адаптирован по: Ma et al, 2009).

фектами ввиду интоксикации здоровых тканей (Callaghan et al., 2014).

СИСТЕМА РЕПАРАЦИИ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК

Репарация ДНК – это процесс, в результате которого клетка обнаруживает и исправляет повреждения ДНК. Такие повреждения могут возникнуть в результате действия внешних (воздействие ультрафиолета, рентгеновских и γ -лучей, химиотерапевтических препаратов) и внутренних (гидролиз, окисление под действием АФК, алкилирование оснований в ДНК, появление неспаренных оснований) факторов. На клеточном уровне многочисленные повреждения ДНК могут приводить к возникновению генетической нестабильности, старению клеток и апоптозу. Вместе с тем это и одна из предпосылок к развитию онкологий. Механизмы репарации ДНК многочисленны, включая: 1) прямое восстановление; 2) репарацию неспаренных оснований; 3) эксцизию нуклеотидов; 4) эксцизию оснований; 5) гомологичную рекомбинацию (HR, homologous recombination); 6) негомологичное сращивание концов (NHEJ, non-homologous end joining) (Hakem, 2008; Zheng, 2017). Репарации предшествует активация генов системы ответа на повреждение ДНК (DDR, DNA damage response). DDR запускается с помощью молекулярного каскада, включающего фосфорилирование, поли-АДФ-рибозилирование, убиквитинилирование. При этом происходит координированная активация генов, контролирующая прохождение контрольных точек клеточного цикла, что приводит к замедлению или временной остановке деления. Эта задержка используется клеткой для репарации. Молекулы-сенсоры повреждений ДНК, собственно белки репарации, белки, участвующие в репликации

ДНК и в регуляции контрольных точек клеточного цикла образуют в клетках млекопитающих плотную сеть взаимодействий (Esposito, So, 2014).

Механизм действия многих противоопухолевых препаратов опирается на их генотоксическое действие, то есть способность индуцировать появление повреждений ДНК в быстро делящихся раковых клетках. В частности, это аналоги нуклеиновых оснований, алкилирующие препараты и цисплатин (группы I и II в таблице 1), а также ингибиторы топоизомераз (группа IV в таблице 1). Вызываемые ими повреждения приводят к возникновению генотоксического стресса при репликации ДНК и, как следствие, индукции апоптоза. Однако чувствительность раковых клеток к таким препаратам зависит от особенностей реализации в этих клетках механизмов ответа на повреждение.

Если в ДНК повреждена только одна цепь, то чаще всего запускается механизм репарации с эксцизией оснований (BER, base excision repair). В этом случае происходит замена оснований, поврежденных в результате действия АФК либо алкилирующих агентов. Механизм репарации с эксцизией нуклеотидов (NER, nucleotide excision repair) позволяет удалить как поврежденные нуклеотиды, так и крупные аддукты, нарушающие геометрию спирали ДНК. Подобные дефекты могут появиться в результате действия УФ-лучей или химиотерапевтических агентов. Участвующий в этом механизме белок XPD, являющийся субъединицей TFIIH (transcription factor II Hupman), необходим для расплетения ДНК вблизи повреждения; кроме того, он стимулирует активность *p53*. У пожилых людей, гомозиготных по полиморфизму Lys751Gln в XPD (данная замена снижает функциональную активность белка), средняя 1-годовая выживаемость на фоне лекарственной терапии существенно ниже (23%) по сравнению с таковой для пациентов без данной замены (38%). Кроме того, гомозиготность по данной замене ассоциирована с повышенным риском развития вторичного ОМЛ при лечении онкологических заболеваний. Это указывает на вероятную повышенную устойчивость клеток ОМЛ с такой заменой к действию цитотоксических препаратов (Allan et al., 2004)

Двойные разрывы ДНК относятся к самым опасным повреждениям. Они образуются при действии ионизирующего излучения, химиотерапевтических агентов (например, ингибиторов топоизомеразы II), избыточного количества АФК. Разорванные участки молекулы могут быть неправильно соединены, в результате чего возникают инсерции и делеции. Двойные разрывы ДНК могут быть репарированы в результате репарации по пути HR или NHEJ. Оба процесса запускаются активацией одних и тех же белков – АТМ (ataxia-

teleangiectasia mutated, серин/треониновая протеинкиназа), DNA-ПК (DNA-ПК – ДНК-зависимая протеинкиназа), ATR (ATM and Rad3-related). Эти киназы фосфорилируют другие белки, принимающие участие в ответе на двунитевые разрывы ДНК и дальнейшей репарации (Long et al., 2017). HR происходит только в S- и G2-фазу клеточного цикла. Одним из ключевых белков, участвующих в этом процессе, является рекомбиназа RAD51. Гомологичная рекомбинация отличается большей точностью, но происходит только в делящихся клетках, так как для репарации в качестве матрицы нужна сестринская хроматида. Второй механизм – NHEJ – менее точный: в ходе NHEJ, как правило, образуются небольшие делеции или инсерции. Здесь ключевым является белковый комплекс ku70/ku80/DNA-ПК (Esposito, So, 2014), активация которого не зависит от стадии клеточного цикла.

Рассмотрим, каким образом запускается ответ на повреждение ДНК при действии антиметаболита цитарабина. Этот химиотерапевтический агент является нуклеозидным аналогом: он включается в растущие цепи ДНК при репликации и препятствует их дальнейшему синтезу. В результате ДНК-полимеразы останавливаются, а хеликазы продолжают расплетать ДНК – образуются одноцепочечные участки молекулы. Это приводит к активации киназы ATR, которая запускает каскад фосфорилирования: активируется CHK1 (checkpoint kinase 1), которая, в свою очередь, фосфорилирует CDC25A (cell division cycle 25 homolog A или M-phase inducer phosphatase 1), что приводит к деградации этой фосфатазы и остановке клеточного цикла. Ингибирование CHK1 в лейкозных клетках с помощью селективного ингибитора GDC-0575 усиливает эффект цитарабина. Однако этот эффект наблюдается только в клеточных линиях, чувствительных к цитарабину; в случае резистентных линий он очень незначителен (Di Tullio et al., 2017). Таким образом, появление двойных разрывов ДНК вследствие действия препарата и их влияние на жизнеспособность клетки зависит от свойств конкретной клеточной линии. Данное положение подтверждают результаты исследования (Salunkhe et al., 2018), суть которого заключалась в обработке доксорубицином трех лейкозных линий: “ранней” резистентной, “поздней” резистентной и родительской. В клетках “поздней” линии двойные разрывы не были идентифицированы. Для клеток двух других линий, напротив, было показано наличие разрывов ДНК, но гибли только клетки родительской линии. Дальнейший анализ показал, что в клетках “ранней” линии повышена экспрессия гистон ацетилаз GCN5L2. Известно, что ацетилирование гистонов приводит к деконденсации хроматина; белок ATM в таком случае лучше взаимодействует с сайтами повреждения. По-

средством фосфорилирования он активирует гистон H2AX (эпигенетический маркер двуцепочечных разрывов хромосом), чекпойнт-киназу CHK2 и прочие белки каскада, запускает механизм репарации ДНК и, следовательно, способствует выживанию клеток. Отсутствие действия доксорубицина на клетки “поздней” линии исследователи объяснили снижением темпов поглощения ими препарата (Salunkhe et al., 2018).

Митоксантрон индуцирует более выраженную активацию включения в хроматин гистона H2AX, чем этопозид, поскольку повреждает ДНК как за счет интеркаляции, так и за счет усиления генерации АФК. Кроме того, исследования на клетках ОМЛ у детей показали, что митоксантрон (но не этопозид) способствует фосфорилированию DNA-ПК и репарации двунитевых разрывов по механизму NHEJ. Ингибирование DNA-ПК восстанавливало чувствительность резистентных лейкозных клеток к митоксантрону *in vitro* (Long et al., 2017). Одним из важных белков, принимающих участие в ответе на генотоксический стресс, оказалась инозитолполифосфат 4-фосфатаза II (INPP4B), обеспечивающая регуляцию фосфатидинозитол-опосредованного сигнального пути. Клетки линии ОМЛ KG-1 с повышенной экспрессией INPP4B при обработке цитарабином обладали повышенной жизнеспособностью по сравнению с клетками линии HL60, у которых уровень экспрессии INPP4B ниже. Кроме того, у первой упомянутой линии обнаружилось меньшее количество фосфорилированного гистона H2AX. Нокдаун экспрессии INPP4B в клетках KG-1 привел к увеличению количества фосфорилированного H2AX, что ассоциировалось с повышением чувствительности клеток этой линии к цитарабину (Wang et al., 2016).

АБЕРРАНТНЫЙ СПЛАЙСИНГ

Сплайсинг – это высокорегулируемый процесс формирования зрелой мРНК, кодирующей функциональный белок. В этот процесс вовлечено более двухсот различных молекул – факторов сплайсинга, которые способствуют сплайсингу или подавляют его в определенных точках. Вместе с малыми ядерными РНК факторы сплайсинга формируют комплекс, называемый сплайсомомой. Этот комплекс разрезает, а затем сшивает пре-мРНК в определенных участках. Наиболее известные факторы сплайсинга – это богатые серином белки (SR, serine-rich proteins), которые способствуют включению кассетных экзонов, и гетерогенные ядерные рибонуклеопротеины (hnRNP, heterogeneous nuclear ribonucleoproteins), которые обычно способствуют пропуску экзонов. Альтернативный сплайсинг – важная часть нормального гемопоеза: он играет роль в клеточной дифференцировке и быстрых ответах на

внешние воздействия. Мутации факторов сплайсинга отражаются на всем транскриптоме клетки, так как их следствием является изменение паттернов сплайсинга для множества генов. Если альтернативный сплайсинг затрагивает транскрибируемую область мРНК, то могут образовываться функционально отличающиеся (как правило, укороченные) изоформы белка, в то время как изменения в нетранскрибируемых участках отражаются на стабильности транскрипта и эффективности трансляции.

В процессе клональной эволюции лейкозных клеток мутации, вызывающие нарушение сплайсинга, могут повышать выживаемость опухолевых клеток за счет продукции антиапоптотических изоформ белков и снижения восприимчивости клеток к внутренним и внешним сигналам апоптоза. Особенно часто при онкологических заболеваниях крови, включая ОМЛ, детектируются мутации факторов сплайсинга SF3B1, SRSF2 и U2AF1, а также гиперэкспрессия фактора сплайсинга SRSF1 (De Necochea-Campion et al., 2016). Сложные изменения в паттернах альтернативного сплайсинга наблюдаются в ответ на нокдаун гибридного гена *RUNX1-RUNX1T1* (данный ген кодирует белок, функционирующий в роли транскрипционного фактора) в клеточных линиях ОМЛ и в первичных лейкозных клетках с транслокацией t(8:21). Это связано с изменением уровней экспрессии множества генов факторов сплайсинга, промоторы которых содержат мотивы для связывания продукта гибридного гена, и также с изменением частоты использования альтернативных промоторов генов при их транскрипции (Grinev et al., 2021)

Многие мутации в генах белков сплайсосом находятся в клетке в гетерозиготном состоянии. Это означает, что гомозиготность по какой-либо из них может быть летальна; не исключен и доминантный негативный эффект (Makishima et al., 2012). В целом при ОМЛ мутации в генах сплайсосомных белков встречаются реже, чем при миелодиспластическом синдроме (de Necochea-Campion et al., 2016).

Альтернативный сплайсинг может влиять на лекарственную устойчивость посредством контроля относительной продукции проапоптотических и антиапоптотических изоформ некоторых белков-регуляторов. В частности, антагонистическая активность показана для белковых продуктов генов *BAX*, *BIM*, *CASP9*, *c-FLIP* и ряда других.

Существует два основных механизма реализации апоптоза, которые отличаются способами индукции и спецификой сигнальных путей. Путь, запускаемый извне (extrinsic apoptosis), регулируется за счет “рецепторов смерти” на поверхности клеточной мембраны. Это белки из семейства рецепторов факторов некроза опухолей (TNF, tu-

mor necrosis factor), такие как FAS (first apoptosis signal receptor) и TRAIL-R1 (tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand receptor 1). После связывания с лигандом цитозольный белок-адаптор FADD (Fas-associated death domain) активирует прокаспазу-8, и та инициирует процесс формирования сигнального комплекса, запускающего клеточную гибель (DISC, death-inducing signaling complex). В этом комплексе прокаспазы-8 (CASP8) становится активной и активирует иные проапоптотические молекулы, в частности, другие каспазы. Этот путь может подавляться антиапоптотическими белками на уровне взаимодействия лиганда с рецептором или передачи сигнала от рецептора внутри клетки.

Второй механизм инициации апоптоза (intrinsic apoptosis) зависит от внутриклеточных сигналов стресса (повреждение ДНК является одним из таких сигналов), которые индуцируют повышение проницаемости митохондриальной мембраны, что приводит к активации CASP9. Проницаемость митохондриальной мембраны в основном контролируется белками семейства Bcl-2 (B-cell lymphoma 2). Альтернативные изоформы этих белков обладают про- и антиапоптотическими свойствами. Показано, что повышенная экспрессия антиапоптотических белков этого семейства делает клетки устойчивыми к разным воздействиям, притом запуск того или иного белкового каскада отличается в зависимости от используемого терапевтического агента. Такой фактор сплайсинга, как SRSF1 (serine-rich splicing factor 1) способствует образованию изоформ Bcl-2-подобного белка 11 (BIM), лишенных проапоптотической активности. Было установлено, что гиперэкспрессия SRSF1 связана с активацией комплекса mTORC1 (mammalian target of rapamycin complex 1), связанного с прогрессией ОМЛ и клональным отбором во время воспроизводства клеток при рецидивах после ремиссии. Повышение экспрессии изоформ белков, действующих в роли ингибиторов каспазной активности, ассоциировано с возникновением лекарственной резистентности многих новообразований, в том числе ОМЛ (de Necochea-Campion et al., 2016).

Для гена каспазы CASP9 два установленных альтернативных продукта сплайсинга *CASP9a* и *CASP9b* отличаются наличием/отсутствием каскады из четырех экзонов: первая изоформа проапоптотическая, а вторая – антиапоптотическая. Повышение относительного уровня экспрессии изоформы CASP9b выявляется в устойчивых к лекарствам клетках ОМЛ с повышенной активностью сигнального пути АКТ (de Necochea-Campion et al., 2016).

Интересно, что в свою очередь сама гиперактивация АКТ-пути в клетках ОМЛ в большой доле случаев бывает обусловлена продукцией аль-

тернативных изоформ рецепторной тирозинкиназы FLT3 – в результате альтернативного сплайсинга формируются конститутивно активные формы белка, работающие в отсутствие лиганда для этого рецептора. Избыточное образование таких изоформ выявляется в 25% случаев ОМЛ (de Necochea-Campion et al., 2016).

Даже одна и та же изоформа белка может проявлять разные свойства в зависимости от условий. Так, белок с-FLIP существует в виде нескольких антиапоптотических изоформ – двух коротких (с-FLIP_S) и длинной (с-FLIP_L). Результаты анализа экспрессии мРНК у взрослых, больных ОМЛ, показали, что у пациентов с повышенным уровнем экспрессии длинной изоформы (но не короткой) трехлетняя выживаемость была значительно ниже, чем у пациентов с низкой экспрессией ($p = 0.04$). Однако подавление обоих транскриптов с помощью siРНК (малой интерферирующей РНК) вызывало индукцию апоптоза либо повышение чувствительности к рекомбинантному TRAIL (TNF-related apoptosis inducing ligand) в зависимости от клеточной линии (McLornan et al., 2012). Было обнаружено, что длинная изоформа с-FLIP подавляет апоптоз при экспрессии в больших концентрациях, а в малых, напротив, способствует активации каспазы CASP8, тем самым индуцируя апоптоз (De Necochea-Campion et al., 2016). Экспрессия с-FLIP может быть подавлена малыми молекулами с разными механизмами действия, например, тритерпеноидами или протеасомным ингибитором бортезомибом, но все они обладают плейотропным действием, что служит препятствием для использования этих ингибиторов в терапии в связи со значительными побочными эффектами (McLornan et al., 2012).

Ответ на терапевтическое воздействие определяется количественным соотношением про- и антиапоптотических изоформ. Такой белок, как сурвивин, подавляет апоптоз, стабилизируя некоторые антиапоптотические белки и блокируя проапоптотические. Альтернативный сплайсинг приводит к образованию пяти изоформ сурвивина, различающихся по способности взаимодействовать с другими белками. Различные изоформы сурвивина имеют свои паттерны компартиментализации в клетке, которые могут меняться в процессе химиотерапии (De Necochea-Campion et al., 2016).

Мы привели здесь лишь небольшую часть известных случаев ассоциации альтернативного сплайсинга с лекарственной устойчивостью при ОМЛ. Более полно этот вопрос рассмотрен в специальном обзоре (de Necochea-Campion et al., 2016).

Тем не менее, не все мутации сплайсосомных компонентов связаны с плохим прогнозом. В частности, мутации SF3B1 (splicing factor 3B subunit 1) при миелодиспластическом синдроме

ассоциированы с невысоким риском развития ОМЛ (Makishima et al., 2012).

ИЗМЕНЕНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО БАЛАНСА

Нормальные клетки способны поддерживать баланс между оксидантами и антиоксидантами. Оксиданты – АФК, такие как пероксид водорода, гидроксильный радикал, супероксид и синглетный кислород, в субмикромольных концентрациях действуют как вторичные посредники при регуляции пролиферации, клеточной гибели и других процессах в клетке. Избыточный уровень АФК индуцирует окислительный стресс, который может привести к старению клеток здоровых тканей или к их злокачественному перерождению. Экстремально высокий уровень АФК приводит к гибели клеток. Замечено, что многие антинеопластические препараты (паклитаксел, цисплатин и др.) вызывают повышение внутриклеточной концентрации АФК, что может являться одним из важных аспектов их цитотоксического действия (Pavlov et al., 2017; Kalinina et al., 2018). Однако в процессе химиотерапии в некоторых клетках опухоли может установиться новый окислительно-восстановительный баланс. Суть этого явления состоит в том, что, с одной стороны, аккумулируется все больше АФК, с другой – усиливается работа антиоксидантной системы. В результате клетки новообразования приобретают устойчивость к препаратам (Liu et al., 2016b).

Описано возникновение резистентности при ОМЛ, опосредованное гиперэкспрессией транскрипционного фактора NRF2 (nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2). NRF2 – это главный регулятор антиоксидантного ответа, который играет роль также и в развитии лекарственной устойчивости солидных опухолей. Он связывается с так называемыми “элементами антиоксидантного ответа” (ARE, antioxidant response elements) в ДНК и контролирует активность широкого спектра генов, вовлеченных в установление окислительно-восстановительного баланса, синтез глутатиона и детоксикацию лекарственных препаратов. ARE расположены также в промоторных областях генов интегральных транспортных белков. NRF2 постоянно заякорен в цитоплазме с помощью белка KEAP1 (Kelch-like ECH-associated protein 1); KEAP1 способствует убиквитинилированию NRF2 и его дальнейшей протеасомной деградации. При нарушении окислительно-восстановительного баланса в клетке цистеиновые остатки белка KEAP1 в положениях 273 и 288 окисляются, что приводит к освобождению NRF2, его транслокации в ядро и активации генов-мишеней (рис. 3) (Liu et al., 2016b). Гиперэкспрессия NRF2 в общем случае происходит по причине мутаций

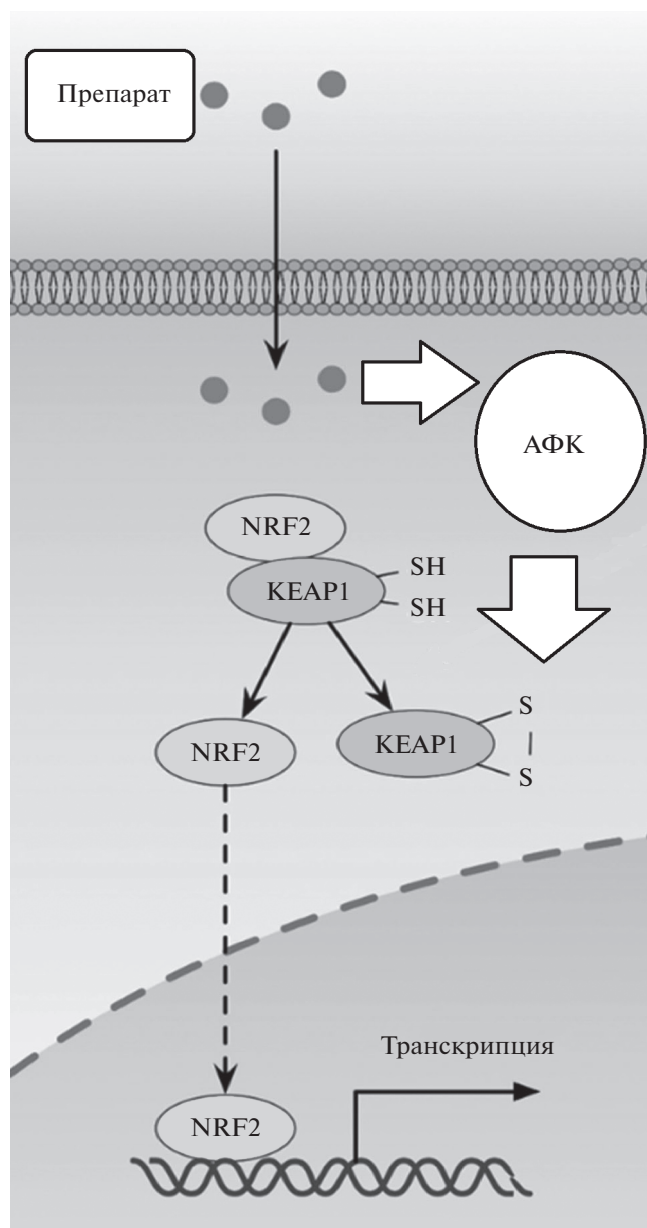


Рис. 3. Активация NRF2 при действии препарата, вызывающего продукцию АФК. Объяснение – в тексте (адаптирован по: Liu et al., 2016b).

или aberrантной посттрансляционной модификации белка KEAP1, активации транскрипции онкогенным Ras или c-MYC либо – уже на уровне белкового продукта гена – благодаря фосфорилированию его по остаткам серина, тирозина или треонина, которое защищает этот белок от убиквитинирования. В исследовании (Karathedath et al., 2017) было показано, что в образцах первичного ОМЛ с высокими значениями IC_{50} *ex vivo* для цитарабина и даунорубина значительно повышено содержание РНК гена *NRF2*. Нокдаун гена, как и обработка ингибитором NRF2 брусатолом

увеличили чувствительность клеток к вышеупомянутым препаратам, а также снизили их способность к формированию колоний. Важно отметить, что в отличие от солидных опухолей экспрессия *NRF2* в ОМЛ не зависела от активности пути PI3K/AKT (Karathedath et al., 2017).

АКТИВАЦИЯ ПРООНКОГЕНОВ

Во многих случаях при первичных ОМЛ выявляется конститутивная активация пути PI3K/AKT в лейкозных клетках (Martelli et al., 2007). Он регулирует выживаемость и химиорезистентность клеток посредством активации антиапоптотического белка NF-κB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) и подавления опухолевого супрессора p53. PI3K (фосфатидил инозитол-3 киназа) относится к семейству киназ, играющих ключевую роль в пролиферации и выживании клеток. AKT является серин/треонин-специфичной протеинкиназой, которая также вовлечена в процессы транскрипции, апоптоза, пролиферации и миграции клеток. Мишенью этой киназы множество (Grandage et al., 2005). Так, фосфорилирование 136-й аминокислоты (серина) в белке BAD (Bcl-2-associated death promoter) этой киназой ведет к диссоциации его комплекса с Bcl-2/Bcl-X и подавлению функции BAD как индуктора апоптоза (Zheng, 2017). AKT активируется фосфорилированием 308-го треонина и 473-го серина. Конститутивное фосфорилирование AKT связано с меньшей общей выживаемостью пациентов с ОМЛ. Инкубация клеток с селективным ингибитором PI3K, LY294002, снижает или устраняет фосфорилирование AKT. При этом наблюдается повышение цитотоксического эффекта цитарабина, винкристина, доксорубина, трастузумаба, этопозида. Активация же AKT с использованием системы, индуцируемой с помощью тамоксифена, напротив, вела к существенному снижению числа погибших клеток при инкубации с цитарабином либо этопозидом (Grandage et al., 2005).

ERK1/2 (extracellular signal-regulated kinases) – широко экспрессируемые протеинкиназы, регулирующие митоз, мейоз и постмитотические функции при стимуляции факторами роста, цитокинами, вирусами и лигандами рецепторов, связанных с G-белками (Zheng, 2017). Они активируются за счет пути Ras/Raf/MEK/ERK (MEK, mitogen-activated protein kinase kinase). Активация этого сигнального пути наблюдается в трети случаев онкологий, в том числе в более 50% ОМЛ. Есть свидетельства, что путь MEK1/2-ERK1/2 способствует появлению резистентности клеток ОМЛ у детей *in vitro* к митоксантрону и этопозиду (Long et al., 2017). Белки ERK активируют многие факторы транскрипции, например ELK1 (ETS domain-containing protein), и другие протеинки-

назы, которые связаны с пролиферацией клеток, апоптозом и развитием лекарственной устойчивости (Zheng, 2017). Показано, что селуметиниб ингибирует MEK1/2, вследствие чего экспрессия ERK1/2, индуцированная стромальными клетками, возвращается на прежний уровень. Следует отметить, что установившие этот факт исследователи сообщают, что, хотя и наблюдалась некоторая корреляция между повышенным уровнем pERK1/2 (фосфорилированной ERK1/2), индуцированного стромальными клетками линии HS27A, и плохим прогнозом у пациентов, от которых были взяты соответствующие образцы лейкозных клеток, она не была признана статистически значимой (как отмечают авторы, возможной причиной была небольшая величина выборки) (Long et al., 2017).

В процессе клональной эволюции ОМЛ во многих случаях возникают мутации рецепторной тирозин киназы FLT3, оказывающей активирующее действие на пути PI3K/AKT и RAS/MEK. Особенно распространены дубликации в трансмембранном домене (FLT3-ITD). Эти мутации обуславливают конститутивную активность белка в отсутствие лиганда и ассоциированы с плохим прогнозом при лечении лейкоза. Для ингибирования активности мутантной формы белка было разработано несколько вариантов ингибиторов. В частности, комбинированное применение ингибитора FLT3 сунитиниба со стандартными препаратами позволило улучшить клинический эффект у пациентов (Daver et al., 2019).

NF-κB является транскрипционным фактором, повышенная активность которого связана с антиапоптотическими эффектами. Он является конститутивно активным в ряде онкологий, включая ОМЛ (Grandage et al., 2005). В нестимулированных клетках димеры NF-κB связаны в цитоплазме с ингибиторным белком IκBα и потому неактивны. Активация NF-κB наступает вследствие фосфорилирования, полиубикитинирования и протеасомной деградации IκBα. Индуцируют активность NF-κB различные факторы: АФК, TNFα, интерлейкин-1β, ионизирующее излучение, химические реагенты. Активный NF-κB перемещается в ядро клетки и повышает уровни транскрипции антиапоптотических белков Bcl-2, Bcl-XL, сурвивина, XIAP (X-linked inhibitor of apoptosis protein) (Zheng, 2017). Поскольку NF-κB также активируется посредством пути PI3K/AKT, ингибирование PI3K ведет к уменьшению активности этого фактора транскрипции, а как следствие, и повышению чувствительности к противолейкозным препаратам. В эксперименте с использованием первичных культур ОМЛ это привело к значительному уменьшению конститутивной активности NF-κB в 9 из 10 образцов от разных пациентов. Значение активности составило $34 \pm 7\%$ от контрольного (Grandage et al., 2005).

Известно, что конститутивная активность NF-κB в клетках ОМЛ отчасти бывает связана с усилением функциональной активности протеасом, которые, как уже было сказано, обеспечивают деградацию белка-ингибитора IκBα. На данный момент разработаны протеасомные ингибиторы, которые позволяют опосредованно снизить уровень активного NF-κB. Так, карфилзомиб и опрозомиб необратимо связываются с β5-субъединицей иммунопротеасомы, что позволяет пролонгированно инактивировать деградацию IκBα. В экспериментах *in vitro* карфилзомиб индуцирует апоптоз бластов ОМЛ; что же касается клинической активности, то она наблюдалась у пациентов с множественной миеломой, которым не помогал бортезомиб – протеасомный ингибитор первого поколения; побочные эффекты также были менее серьезными (Bosman et al., 2016).

ИНАКТИВАЦИЯ ОПУХОЛЕВЫХ СУПРЕССОРОВ

Одним из ключевых и универсальных медиаторов клеточного ответа на повреждения ДНК и другие стрессовые воздействия является белок p53.

Белок p53 активирует гены, связанные с репарацией ДНК и апоптозом, индуцированным как внешними сигналами, так и внутренними. К известным проапоптотическим генам, которые активируются p53, относятся *PUMA* (p53 upregulated modulator of apoptosis), *NOXA*, *BAX* (Bcl-2-associated X protein). Проапоптотические белки образуют олигомеры, формирующие поры в мембране митохондрий, в результате чего запускается каспазный каскад (Tan et al., 2014). Кроме того, p53 является ингибитором аутофагии (Prokocimer, Peller, 2012). Гены, трансактивируемые p53, индуцируют остановку клеточного цикла и запуск апоптоза (Grandage et al., 2005).

Мутации гена *TP53* встречаются примерно в половине случаев злокачественных новообразований. Вместе с тем, при ОМЛ *de novo* такие мутации встречаются нечасто (в 5–15% случаев) (Grandage et al., 2005). Гораздо более характерны мутации *TP53* для случаев ОМЛ с комплексным aberrантным кариотипом (78%) (Prokocimer, Peller, 2012).

Следует заметить, что причиной резистентности может стать и аномальный экспорт белка p53 из ядра даже при нормальном уровне его экспрессии. Так, у 67-летнего больного ОМЛ, лечение которого по классической схеме было безуспешным, тем не менее выявлялась высокая концентрация p53, находящегося, однако, преимущественно в цитоплазме миелобластов (Prokocimer, Peller, 2012).

Относительно небольшая частота встречаемости мутаций *TP53* у пациентов с ОМЛ предпола-

гает, что продукт данного гена малоактивен в этих случаях по другим причинам. В частности, предполагается, что пониженная чувствительность раковых клеток, в том числе при ОМЛ, к химиопрепаратам может быть обусловлена гиперэкспрессией генов *MDM2* и/или *MDM4*.

Белки *MDM2* (mouse double minute 2 homolog) и *MDM4* являются антагонистами белка *p53*. Белок *Mdm2* представляет собой убиквитин лигазу. Связываясь с *p53*, он убиквитинирует его и способствует последующей деградации посредством протеасом. *Mdm4* не обладает убиквитинлигазной активностью, однако, как и *Mdm2*, способен подавлять активность *p53*, связываясь с его трансактиваторным доменом; кроме того, он стимулирует убиквитинлигазную активность *Mdm2*. *Mdm2* также способствует экспорту *p53* из ядра. В норме белки семейства *MDM2* обеспечивают поддержание постоянной умеренной активности *p53* в нормальных клетках. При возникновении повреждений ДНК и стрессовых воздействиях на клетку происходит активация серин/треонин киназы АТМ, которая фосфорилирует *p53*, что приводит к его отсоединению от белков семейства *Mdm*, а также стабилизации его конформации.

Обработка клеточных линий ОМЛ препаратом нутлин-3 – специфическим ингибитором *MDM2* – обеспечивало увеличение времени жизни молекул белка *p53* и повышало частоту апоптоза (Kojima et al., 2005). Был продемонстрирован синергизм цитотоксического действия в отношении первичных клеток и клеточных линий ОМЛ нутлина-3 с ингибитором белка теплового шока HSP90, гелданамицином (Naaland et al., 2014). Нутлин-3 оказался также эффективен *in vivo* при применении совместно с другими препаратами, например, с вальпроевой кислотой, ингибитором гистондеацетилазы. В опытах на мышах с подкожно трансплантированными клетками ОМЛ человека линии MOLM-13, экспрессирующими люциферазой, введение животным данной комбинации препаратов вызвало значительное подавление прогрессирования ОМЛ (McComack et al., 2012).

Исследование (Tan et al., 2014) также показало повышение активности *p53* и снижение жизнеспособности клеточных линий ОМЛ с гиперэкспрессией *MDM2* (*AML1* и *AML3*) при воздействии препарата нутлин-3. Такого эффекта, однако, не наблюдалось в клеточной линии *AML2* с гиперэкспрессией гена *MDM4*. Вместе с тем, нокдаун *MDM4* при помощи РНК-интерференции в клетках этой линии привел к падению их жизнеспособности при одновременном повышении активности *p53* (Tan et al., 2014).

Активировать *p53* для преодоления лекарственной устойчивости можно с помощью гипометилирующих агентов непосредственно перед основным курсом терапии. Известно, что в случа-

ях ОМЛ с высоким риском наблюдается частое и обратимое локальное метилирование ДНК и подавление экспрессии генов, участвующих в контроле клеточной пролиферации, дифференцировки и апоптоза. Снижение метилирования, напротив, ведет к активации генов. Одним из таких гипометилирующих агентов является децитабин. Было продемонстрировано, что децитабин увеличивал цитотоксический эффект цитарабина и адриамицина у резистентной линии Kasumi-1 за счет активации *p53* и опосредованного его активностью снижения экспрессии сурвивина и *Bcl-2* (Jiang et al., 2015).

Еще один путь повышения активности *p53* – применение ингибиторов сигнального пути PI3K/АКТ, который активирует множество антиапоптотических генов, включая, в частности, *MDM2* и *MDM4*. В ранее упомянутом исследовании (Grandage et al., 2005) после подавления PI3K ингибитором LY294002 у четырех из девяти пациентов произошло более чем двукратное увеличение активности *p53*.

АУТОФАГИЯ

Аутофагия – это процесс, суть которого заключается в деградации и реутилизации белковых агрегатов и поврежденных органелл клетки. Поскольку он связан с самообновлением клеток и их активной пролиферацией, он является неотъемлемой частью нормального гемопоэза (Chen et al., 2017). С другой стороны, аутофагия запускается в ответ на разнообразные стрессовые воздействия. В результате формируются аутофагосомы, в которых также помимо органелл подвергаются переработке аминокислоты и жирные кислоты (Zheng, 2017).

Beclin-1, входящий в семейство гомологов *Bcl-2*, – один из ключевых белков, участвующих в процессе аутофагии. Вместе с другими белками он формирует опорный комплекс для образования и роста аутофагосомы. Фосфорилирование и убиквитинирование белка *Beclin-1* обеспечивает активацию аутофагии за счет стабилизации аутофагосомных белковых комплексов. Toll-подобный рецептор 4 (TLR4) убиквитинирует *Beclin-1* по остатку лизина 63 в ответ на активацию рецептора TNF. NF-κB активирует экспрессию гена *Beclin-1* на уровне транскрипции, в то время как miR30a является негативным регулятором экспрессии данного гена. Помимо *Beclin-1* в процессе аутофагии задействовано несколько десятков белков, которые объединяют в группу ATG (autophagy-related genes), также регулируемые на уровне транскрипции, трансляции и посттрансляционной модификации (Zheng, 2017).

Интересным оказался тот факт, что каспазы – белки, ответственные, как известно, за реализа-

цию программы апоптоза, также оказались способны регулировать аутофагию, причем характер регуляции двойственный: каспазы могут непосредственно связывать и расщеплять Beclin-1, подавляя его работу, и вместе с тем осуществлять активацию этого же белка через опосредованные механизмы (Zheng, 2017). Было также обнаружено, что Beclin-1 может формировать комплексы с антиапоптотическим белком Bcl-2 (Marquez, Xu, 2012). Множественные сложные взаимодействия между компонентами системы апоптоза и аутофагии являются причиной ее двойственной роли: в одних случаях аутофагия повышает выживание клеток, в других, напротив, направляет клетку к программируемой смерти (Yonekawa, Thorburn, 2013). Этим, вероятно, объясняется неоднозначная роль аутофагии в развитии онкологических заболеваний, включая ОМЛ. Достаточно часто ранние лейкозные клоны несут мутации, снижающие активность компонентов системы аутофагии (Djavaheeri-Mergny et al., 2019).

Вместе с тем, в ответ на воздействие химиотерапевтических препаратов в лейкозных клетках, как правило, отмечается усиление аутофагии, которое играет цитопротекторную роль. Метаболиты из аутофаголизосом вовлекаются в синтетические процессы, необходимые для регенерации клетки (Watson et al., 2015; Piya et al., 2016). Кроме того, в ходе клональной эволюции на фоне терапии нередко могут появляться мутации, способствующие дополнительному усилению аутофагии (Djavaheeri-Mergny et al., 2019). Эти наблюдения приводят к предположению, что эффективность противолейкозного действия химиотерапевтических препаратов можно повысить, используя одновременное подавление системы аутофагии.

В настоящее время на разных стадиях испытаний находятся несколько типов веществ, действующих как ингибиторы аутофагии, в частности, бафиломицин А1, хлорокин и гидроксихлорокин, 3-метиладенин, ROC-325. Следует заметить, что эффекты всех этих соединений достаточно разнообразны, и не ограничиваются влиянием на аутофагию, что осложняет интерпретацию получаемых результатов (Chen et al., 2017). К более специфичным ингибиторам относятся спаутин-1 (селективный ингибитор деубиквитиназы USP10/13), SBI-0206965 (ингибитор киназы ULK1), PIC-III, SAR405 – ингибиторы киназы VPS34, обеспечивающей инициацию аутофагии. Также для изучения роли аутофагии в химиорезистентности ряд авторов использовали метод РНК-интерференции.

Бафиломицин А1 действует как селективный ингибитор вакуолярной протонной АТФазы, которая обеспечивает снижение рН среды лизосом. Хлорокин же блокирует слияние аутофагосом с лизосомами. Сочетание цитотоксического пре-

парата доцетаксела или цитарабина с ингибитором аутофагии существенно повысило частоту апоптоза клеток ОМЛ по сравнению с обработкой только препаратом в экспериментах *in vitro* (Hanekamp et al., 2014). Аналогичный эффект был показан для статинов (вещества, подавляющие синтез холестерина) и рекомбинантной аргиназы человека (Auberger, Puissant, 2017).

В исследовании (Qiu et al., 2020) было показано, что ингибирование серин/треониновой киназы ULK1 (UNC51-like kinase 1) с помощью высоко-селективного ингибитора SBI-0206965 или нокадаун гена с помощью малых шпилечных РНК приводили к повышению цитотоксичности даунорубицина для лейкозных клеток *in vitro*. Данная киназа играет ключевую роль в инициации процесса аутофагии (Zachari, Ganley, 2017).

Следует отметить, что пока нет клинических испытаний, в которых была бы доказана повышенная эффективность терапии пациентов ОМЛ комбинациями стандартных цитотоксических препаратов с ингибиторами аутофагии. Однако в качестве самостоятельного препарата без выраженных побочных эффектов был успешно испытан ROC-325 (Nawrocki et al., 2016).

ИНТЕГРИНЫ

Интегрины составляют семейство рецепторов клеточной адгезии с множеством функций, которые встречаются у всех многоклеточных животных. Они участвуют в прикреплении клеток друг к другу и к молекулам внеклеточного матрикса, играют ключевую роль в развитии организма и иммунном ответе, движении лейкоцитов (Hynes, 2002).

Известно, что интегрины вносят вклад в инвазивность опухолей и метастазирование. Роль интегринов в развитии резистентности ОМЛ еще не до конца прояснена. Тем не менее, известно, что связывание лейкозных клеток с внеклеточным матриксом костного мозга через интегрины $\beta 3$ может влиять на выживаемость клеток при лечении. В исследовании (Yi et al., 2016) было показано, что при совместном культивировании клеток линии MV4-11 с мутацией FLT-ITD (внутренние тандемные дубликации в Fms-подобной тирозинкиназе) и стромальных клеток костного мозга более высокая экспрессия интегрин $\alpha \nu \beta 3$ ассоциирована с пониженной чувствительностью первых к ингибитору протеинкиназ сорафенибу. Данный интегрин после связывания остеопонтина, внеклеточного структурного белка, стимулирует активацию β -катенина за счет пути PI3K/AKT/GSK3 (рис. 4). Активированный β -катенин поступает в ядро клетки и работает в качестве кофактора в системе регуляции транскрипции генов. Если β -катенин подавляли с помощью ма-

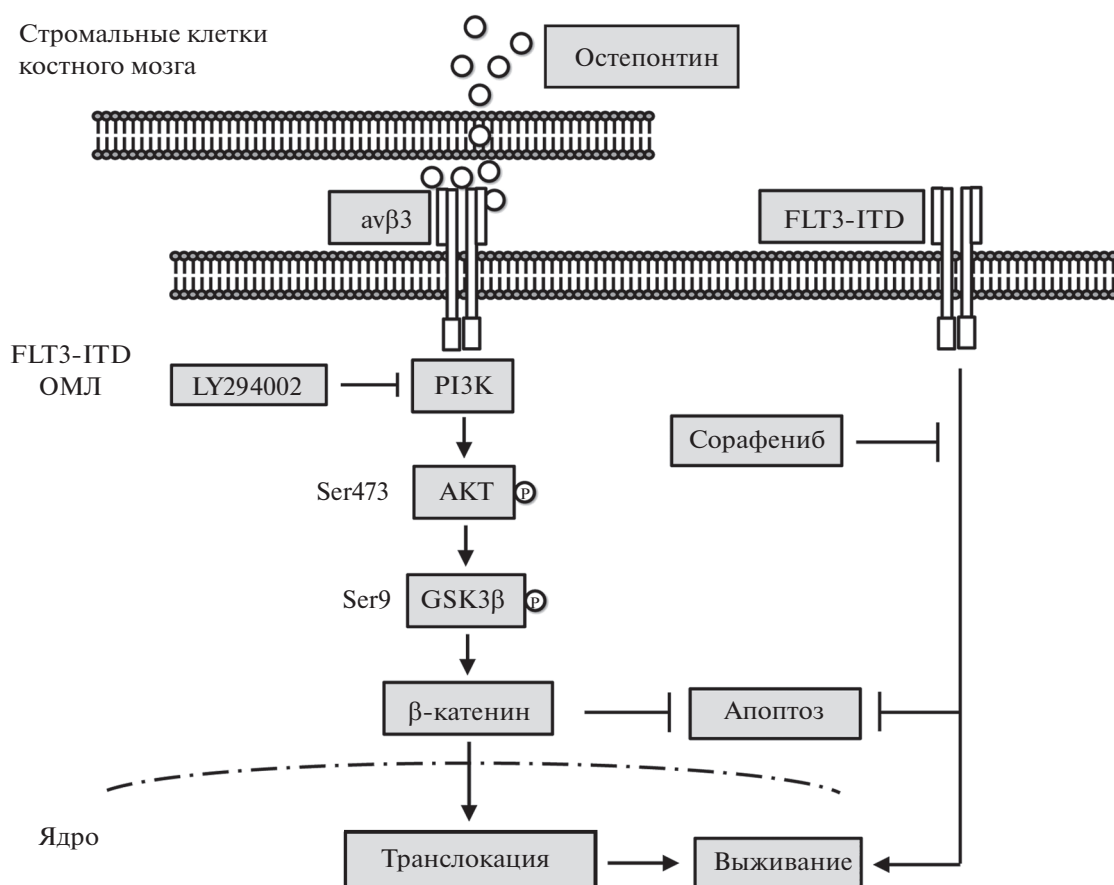


Рис. 4. Схема индукции остеопонтином, вырабатываемым клетками стромы костного мозга, пути интегрин $\alpha v\beta 3$ /PI3K/АКТ/GSK3 β / β -катенин в лейкозных клетках с мутацией FLT3-ITD (адаптирован по: Yi et al., 2016).

лых шпилечных РНК, чувствительность линии MV4-11 к сорафенибу повышалась (Yi et al., 2016).

РОЛЬ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК

МикроРНК – это некодирующие двуцепочечные РНК длиной 18–24 п.н., участвующие в регуляции экспрессии белок кодирующих генов по механизму РНК интерференции, вызывая деградацию транскриптов или блокируя трансляцию. Изменение (снижение или повышение) уровней экспрессии микроРНК, играющих роль в нормальном развитии клеток, контролируя клеточный цикл и дифференцировку, во многих случаях способствует развитию и прогрессированию гематологических онкологий, включая ОМЛ (Liao et al., 2017). Регулируя экспрессию генов, участвующих в индукции и реализации апоптоза или ассоциированных с другими механизмами резистентности к препаратам (включая все рассмотренные выше), микроРНК могут обуславливать и возникновение лекарственной устойчивости у клеток ОМЛ (Gabra, Salmena, 2017).

В частности, в линиях ОМЛ, резистентных к цитарабину, оказалась изменена экспрессия

miR-181a. Интересно, что, хотя содержание этой микроРНК было более высоким в лейкозных клетках, чем в нормальных гемопоэтических предшественниках, уровень ее экспрессии положительно коррелирует с чувствительностью клеток к цитотоксическим препаратам как *in vitro*, так и *in vivo* при лечении пациентов (Schwind et al., 2010). Среди мишеней этой микроРНК – ген белка АТМ, участвующего в инициации реакции на повреждение ДНК и репарации, а также гены семейства Bcl-2 (Liu et al., 2016a). Также в резистентных линиях была выявлена пониженная экспрессия *miR-128*, мишенью которой служит важный компонент системы репарации разрывов ДНК Rad51. Повышенная экспрессия *miR-34a* обуславливает резистентность благодаря подавлению экспрессии белка p53. Выявлено несколько микроРНК, мишенями которых являются гены транспортных белков ABC-семейства, в частности *miR-27a* и *miR-331-5p*. Лекарственная устойчивость ассоциировалась со сниженной экспрессией этих молекул в клетках ОМЛ (Feng et al., 2011). Также было продемонстрировано снижение чувствительности к действию лекарств при сниженной экспрессии микроРНК *let-7a*, кото-

рая коррелировала с повышенной экспрессией антиапоптотических генов *C-MYC* и *BCL-XL*. При этом снижению *let-7a* способствовала активация хемокинового рецептора CXCR4 (Chen et al., 2013). Интересной представляется перспектива использования искусственных микроРНК (или их аналогов) для комбинированной терапии в целях повышения чувствительности малигнизированных клеток к химическим препаратам, однако пока это направление слабо разработано (Gabra, Salmena, 2017).

Также было продемонстрировано и значение уровней экспрессии некоторых длинных некодирующих РНК в формировании лекарственной резистентности при острых лейкозах, в частности *UCA1*, *MALAT1*, *NEAT1*, *HOXA-AS2* и др. Как минимум некоторые из них оказывают свое влияние на чувствительность клеток к индукции апоптоза благодаря функционированию в качестве “губок” для микроРНК (Wong et al., 2018; Cruz-Miranda et al., 2019; Liu et al., 2019).

КЛЕТКИ СТРОМЫ И МИКРООКРУЖЕНИЕ

Для роста и дифференцировки многих гемопоэтических клеток, как уже было сказано ранее, необходимо, чтобы они напрямую контактировали с клетками стромы. Лейкозные клетки происходят от нормальных бластных клеток и занимают те же ниши. Поэтому при изучении возникновения резистентности ОМЛ важно принимать во внимание взаимоотношения между бластами и клетками стромы. После проведения курса терапии рецидив может произойти по причине того, что некоторое количество лейкозных клеток оказалось защищенным от действия препаратов благодаря клеткам стромы (Konopleva et al., 2002).

На данный момент имеются подтверждения тому, что клетки стромы способствуют выживанию клеток ОМЛ, активируя соответствующие сигнальные пути (такие, как ERK1/2, STAT3 и STAT5 (signal transducer and activator of transcription)) за счет контактных взаимодействий и/или секреции определенных растворимых факторов (в зависимости от режима химиотерапии). К таким растворимым соединениям относятся факторы роста и цитокины (Long et al., 2017). Цитокины играют значительную роль в регуляции пролиферации клеток ОМЛ, их выживании и апоптозе. Такой цитокин, как SDF-1 (stromal cell-derived factor 1), принадлежит к семейству цитокинов ХС и вырабатывается линией стромальных клеток MS-5. Данный цитокин и его рецептор CXCR4 — ключевые компоненты процесса хоуминга нормальными стволовыми клетками костномозгового микроокружения. Они же способствуют миграции предшественников ОМЛ к

клеткам стромы и их взаимодействию с мембранно-связанными цитокинами (Konopleva et al., 2002).

В исследовании (Long et al., 2017) был изучен ответ первичных культур, полученных от детей с ОМЛ, на митоксантрон и этопозид — ингибиторы топоизомеразы II. Оценку проводили в условиях культивирования со стромальными клетками или без них. Выяснилось, что чувствительность к препаратам зависела от уровня активации в клетках системы ответа на повреждение ДНК. В присутствии стромальных клеток клетки ОМЛ становились значительно менее чувствительными к цитотоксическому действию препаратов, при этом в клетках ОМЛ наблюдалась повышенная активность преимущественно ERK1/2-сигнального каскада. Добавление селуметиниба, селективного ингибитора ERK1/2, снижало индуцированную стромальными клетками линии HS27A лекарственную устойчивость. Однако при культивировании клеток ОМЛ вместе с другой линией стромальных клеток, HS5, обработка селуметинибом не повлияла на чувствительность их к тем же препаратам. Это позволяет предположить, что клетки HS5, выделяя большее количество растворимых факторов, активируют не один, а множество сигнальных антиапоптотических путей (Long et al., 2017).

Также было показано и защитное действие клеток стромы у взрослых пациентов. В исследовании (Macanas-Pirard et al., 2017) у пациентов с ОМЛ, которым назначили терапию с применением цитарабина, брали стромальные клетки костного мозга и следили за тем, коррелирует ли выживаемость лейкозных линий, также подвергнутых действию цитарабина и обрабатываемых супернатантом стромальных клеток, с ухудшением прогноза. Было выяснено, что у тех пациентов, для которых *in vitro* IC₅₀ цитарабина выросла более чем в два раза, двухлетняя выживаемость была значительно ниже, чем у пациентов, для которых резистентность к цитарабину не была выявлена (0 и 80% соответственно) (Macanas-Pirard et al., 2017).

ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ВЕЗИКУЛЫ

Экзосомы и другие типы внеклеточных везикул, производимые раковыми клетками, а также ассоциированными с опухолью фибробластами или мезенхимальными стволовыми клетками, могут включать в себя самые разные молекулы, включая белки и нуклеиновые кислоты. Взаимодействуя с клетками-реципиентами или проникая внутрь клеток посредством фагоцитоза, они способны регулировать множество сигнальных путей. Они могут быть связаны с ростом опухоли, ее развитием, метастазированием, ангиогенезом, а также с подготовкой преметастатической ниши за счет создания благоприятного микроокружения

и подавления противоопухолевых реакций иммунной системы. Имеются данные и о роли экзосом в развитии резистентности к химиопрепаратам. По этим причинам экзосомы можно использовать как маркеры для прогноза и подбора подходящего курса терапии (Maacha et al., 2019).

В нескольких недавних исследованиях было установлено, что экзосомы из устойчивых к апоптозу бластов первичного ОМЛ могут повышать резистентность у контактирующих с ними чувствительных клеток ОМЛ. Эти эффекты могут быть опосредованы белками, среди которых значительная доля приходится на факторы сплайсинга и эпигенетические регуляторы (Wojtuszkiewicz et al., 2016), а также молекулами микроРНК, которые подавляют индукцию программы апоптоза в клетках, подвергающихся воздействию цитостатиков (Vouvy et al., 2017).

Другой аспект влияния внеклеточных везикул на эффективность лекарственной терапии связан с опосредованной ими коммуникацией между лейкозными бластами и клетками микроокружения (Caivano et al., 2017).

В исследовании (Wang et al., 2019) было показано, что производимые клетками ОМЛ экзосомы воздействовали на клетки эндотелия, делая их невосприимчивыми к лекарствам, нацеленным на подавление ангиогенеза благодаря переносу цитокина VEGF, стимуляции гликолиза и устойчивости к апоптозу.

Исходя из этого, предлагаются подходы для подавления системы генерирования внеклеточных везикул с целью повышения эффективности лекарственной терапии (Wu et al., 2017; Milman et al., 2019). С другой стороны, экзосомы рассматриваются и как потенциальные эффективные векторы для доставки лекарств в злокачественные клетки (Wu et al., 2017).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в возникновении лекарственной устойчивости у клеток ОМЛ играют роль различные процессы, приводящие к приобретению ими способности переносить более высокие дозы цитостатиков и цитотоксических препаратов. Еще раз подчеркнем, что механизмы, представленные в данном обзоре, взаимосвязаны между собой, причем иногда эти связи противоречивы. Например, гиперэкспрессия *miR-181a* в ОМЛ может, как было сказано ранее, подавлять экспрессию АТМ и способствовать пролиферации, хотя АТМ — ключевой сенсор повреждений ДНК. В данной статье описаны далеко не все механизмы устойчивости и связанные с ними противоречия. Тем не менее, становится понятно, что каждый механизм нельзя рассматривать отдельно от других. Множественная лекарственная устойчи-

вость — комплексное явление, которое подлежит еще большему вниманию со стороны ученых и терапевтов в связи с тем, что для многих белков доказана взаимосвязь между их экспрессией и выживаемостью клеток, но совершенно не известны их непосредственные мишени.

Исследования механизмов лекарственной устойчивости, таким образом, важны для разработки грамотной сопроводительной терапии, совершенствования режимов индукционной терапии и, следовательно, улучшения прогноза для больных ОМЛ. Устойчивость лейкозных клеток к тем или иным препаратам можно преодолеть с помощью различных ингибиторов, либо непосредственно перед основным курсом терапии, либо совместно с действующими агентами. Важно отметить, что такие ингибиторы сами по себе могут быть эффективными химиотерапевтическими средствами. Однако не стоит забывать о том, что многие соединения, хорошо зарекомендовавшие себя *in vitro*, могут оказаться малоэффективными *in vivo*, а из множества активных *in vivo* веществ далеко не все смогут пройти клинические испытания вследствие высокой общей токсичности для здоровых тканей. Все эти обстоятельства являются стимулом к поиску новых природных или синтетических химиотерапевтических препаратов для комбинированной терапии.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Блохин Д.Ю. Причины ограниченной эффективности противоопухолевой терапии с позиций клеточной биологии // Рос. биотерап. журн. 2005. Т. 4. № 3. С. 18–23.
- Гольдберг В.Е., Матяш М.Г. Современные достижения лекарственной терапии злокачественных новообразований // Сиб. науч. мед. журн. 2004. № 2. С. 36–40.
- Копнин Б.П. Современные представления о механизмах злокачественного роста: сходства и различия солидных опухолей и лейкозов // Клин. онкогематол. Фундам. исслед. клин. практика. 2012. Т. 5. № 3. С. 165–185.
- Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н., Афанасьев Б.В. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению острых миелоидных лейко-

- зов взрослых // Гематол. и трансфузиол. 2014. Т. 59. № S2. 29 с.
- Allan J.M., Smith A.G., Wheatley K. et al. Genetic variation in XPD predicts treatment outcome and risk of acute myeloid leukemia following chemotherapy // *Blood*. 2004. V. 104. № 13. P. 3872–3877.
- Auberger P., Puissant A. Autophagy, a key mechanism of oncogenesis and resistance in leukemia // *Blood*. 2017. V. 129. № 5. P. 547–552.
- Bertuccio S.N., Serravalle S., Astolfi A. et al. Identification of a cytogenetic and molecular subgroup of acute myeloid leukemias showing sensitivity to L-asparaginase // *Oncotarget*. 2017. V. 8. № 66. P. 109915–109923.
- Bosman M.C.J., Schuringa J.J., Vellenga E. Constitutive NF- κ B activation in AML: causes and treatment strategies // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2016. V. 98. P. 35–44. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2015.10.001>
- Bouvy C., Wannez A., Laloy J. et al. Transfer of multidrug resistance among acute myeloid leukemia cells via extracellular vesicles and their microRNA cargo // *Leuk. Res.* 2017. V. 62. P. 70–76.
- Caivano A., La Rocca F., Laurenzana I. et al. Extracellular vesicles in hematological malignancies: from biology to therapy // *Int. J. Mol. Sci.* 2017. V. 18. № 6. <https://doi.org/10.3390/ijms18061183>
- Callaghan R., Luk F., Bebawy M. Inhibition of the multidrug resistance P-glycoprotein: time for a change of strategy? // *Drug Metab. Dispos.* 2014. V. 42. № 4. P. 623–631.
- Chen X., Clark J., Wunderlich M. et al. Autophagy is dispensable for Kmt2a/Mll-Mllt3/Af9 AML maintenance and anti-leukemic effect of chloroquine // *Autophagy*. 2017. V. 13. № 5. P. 955–966.
- Chen Y., Jacamo R., Konopleva M. et al. CXCR4 downregulation of *let-7a* drives chemoresistance in acute myeloid leukemia // *J. Clin. Invest.* 2013. V. 123. № 6. P. 2395–2407.
- Constance J.E., Lim C.S. Targeting malignant mitochondria with therapeutic peptides // *Ther. Deliv.* 2012. V. 3. № 8. P. 961–979.
- Corces M.R., Chang H.Y., Majeti R. Preleukemic hematopoietic stem cells in human acute myeloid leukemia // *Front. Oncol.* 2017. V. 7. P. 263.
- Cruz-Miranda G.M., Hidalgo-Miranda A., Bárcenas-López D.A. et al. Long non-coding RNA and acute leukemia // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. № 3. <https://doi.org/10.3390/ijms20030735>
- Daver N., Schlenk R.F., Russell N.H., Levis M.J. Targeting FLT3 mutations in AML: review of current knowledge and evidence // *Leukemia*. 2019. V. 33. № 2. P. 299–312.
- De Kouchkovsky I., Abdul-Hay M. Acute myeloid leukemia: a comprehensive review and 2016 update // *Blood Cancer J.* 2016. V. 6. № 7. P. e441.
- De Necochea-Campion R., Shouse G. P., Zhou Q. et al. Aberrant splicing and drug resistance in AML // *J. Hematol. Oncol.* 2016. V. 9. № 1. P. 85.
- Di Tullio A., Rouault-Pierre K., Abarrategi A. et al. The combination of CHK1 inhibitor with G-CSF overrides cytarabine resistance in human acute myeloid leukemia // *Nat. Commun.* 2017. V. 8 (1). P. 1689.
- Djavaheri-Mergny M., Giuriato S., Tschan M.P., Humbert M. Therapeutic modulation of autophagy in leukaemia and lymphoma // *Cells*. 2019. V. 8. № 2. P. 103.
- Du Y., Chen B. Detection approaches for multidrug resistance genes of leukemia // *Drug Des. Dev. Ther.* 2017. V. 11. P. 1255–1261.
- Esposito M.T., So C.W.E. DNA damage accumulation and repair defects in acute myeloid leukemia: implications for pathogenesis, disease progression, and chemotherapy resistance // *Chromosoma*. 2014. V. 123. № 6. P. 545–561.
- Feng D.-D., Zhang H., Zhang P. et al. Down-regulated miR-331-5p and miR-27a are associated with chemotherapy resistance and relapse in leukaemia // *J. Cell Mol. Med.* 2011. V. 15. № 10. P. 2164–2175.
- Gabra M.M., Salmena L. microRNAs and acute myeloid leukemia chemoresistance: a mechanistic overview // *Front Oncol.* 2017. V. 7. P. 255.
- Grandage V.L., Gale R.E., Linch D.C., Khwaja A. PI3-kinase/AKT is constitutively active in primary acute myeloid leukaemia cells and regulates survival and chemoresistance via NF- κ B, MAPkinase and p53 pathways // *Leukemia*. 2005. V. 19. № 4. P. 586–594.
- Grinev V., Barneh F., Ilyushonak I. et al. RUNX1/RUNX1T1 mediates alternative splicing and reorganises the transcriptional landscape in leukemia // *Nat. Commun.* 2021. V. 12. № 1. P. 520.
- Haaland I., Opsahl J.A., Berven F.S. et al. Molecular mechanisms of nutlin-3 involve acetylation of p53, histones and heat shock proteins in acute myeloid leukemia // *Mol. Cancer*. 2014. V. 13. P. 116.
- Hakem R. DNA-damage repair: the good, the bad, and the ugly // *EMBO J.* 2008. V. 27. № 4. P. 589–605.
- Hano M., Tomášová L., Šereš M. et al. Interplay between P-glycoprotein expression and resistance to endoplasmic reticulum stressors // *Molecules*. 2018. V. 23. № 2. P. 337.
- Hanekamp D.W., Johnson M.K., Portwood S. et al. Autophagy promotes the survival and therapy resistance of human acute myeloid leukemia cells under hypoxia // *Blood*. 2014. V. 124. № 21. P. 2236.
- Hynes R.O. Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines // *Cell*. 2002. V. 110. № 6. P. 673–687.
- Jiang X., Wang Z., Ding B. et al. The hypomethylating agent decitabine prior to chemotherapy improves the therapy efficacy in refractory/relapsed acute myeloid leukemia patients // *Oncotarget*. 2015. V. 6. № 32. P. 33612–33622.
- Kalinina E., Andreev Y., Lubova K. et al. Redox-dependent change in the expression of genes controlling cellular ROS/antioxidants balance under formation of cancer cell resistance to cisplatin // *FEBS Open Bio*. 2018. V. 8. № S1. P. 357.
- Karathedath S., Rajamani B.M., Musheer Aalam S.M. et al. Role of NF-E2 related factor 2 (Nrf2) on chemotherapy resistance in acute myeloid leukemia (AML) and the effect of pharmacological inhibition of Nrf2 // *PLoS One*. 2017. V. 12. № 5. P. e0177227.
- Kojima K., Konopleva M., Samudio I. J. et al. MDM2 antagonists induce p53-dependent apoptosis in AML: implications for leukemia therapy // *Blood*. 2005. V. 106. № 9. P. 3150–3159.

- Konopleva M., Konoplev S., Hu W et al.* Stromal cells prevent apoptosis of AML cells by up-regulation of anti-apoptotic proteins // *Leukemia*. 2002. V. 16. № 9. P. 1713–1724.
- Lagunas-Rangel F.A., Chávez-Valencia V., Gómez-Guijosa M.Á., Cortes-Penagos C.* Acute myeloid leukemia – genetic alterations and their clinical prognosis // *Int. J. Hematol. Oncol. Stem Cell Res.* 2017. V. 11. № 4. P. 328–339.
- Lainey E., Sébert M., Thépot S., Scoazec M. et al.* Erlotinib antagonizes ABC transporters in acute myeloid leukemia // *Cell Cycle*. 2012. V. 11. № 21. P. 4079–4092.
- Liao Q., Wang B., Li X., Jiang G.* miRNAs in acute myeloid leukemia // *Oncotarget*. 2017. V. 8. № 2. P. 3666–3682.
- Liu X., Liao W., Peng H. et al.* miR-181a promotes G1/S transition and cell proliferation in pediatric acute myeloid leukemia by targeting ATM // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2016a. V. 142. № 1. P. 77–87.
- Liu Y., Cheng Z., Pang Y. et al.* Role of microRNAs, circRNAs and long noncoding RNAs in acute myeloid leukemia // *J. Hematol. Oncol.* 2019. V. 12 (1). P. 51.
- Liu Y., Li Q., Zhou L. et al.* Cancer drug resistance: redox resetting renders a way // *Oncotarget*. 2016b. V. 7. № 27. P. 42740–42761.
- Long X., Gerbing R., Alonzo T.A., Redell M.S.* Distinct signaling events promote resistance to mitoxantrone and etoposide in pediatric AML: a Children’s Oncology Group report // *Oncotarget*. 2017. V. 8. № 52. P. 90037–90049.
- Ma P., Dong X., Swadley C.L., Gupte A. et al.* Development of idarubicin and doxorubicin solid lipid nanoparticles to overcome Pgp-mediated multiple drug resistance in leukemia // *J. Biomed. Nanotechnol.* 2009. V. 5. № 2. P. 151–161.
- Maacha S., Bhat A.A., Jimenez L. et al.* Extracellular vesicles-mediated intercellular communication: roles in the tumor microenvironment and anti-cancer drug resistance // *Mol. Cancer*. 2019. V. 18. № 55. <https://doi.org/10.1186/s12943-019-0965-7>
- Macanas-Pirard P., Broekhuizen R., Gonzáles A. et al.* Resistance of leukemia cells to cytarabine chemotherapy is mediated by bone marrow stroma, involves cell-surface equilibrative nucleoside transporter-1 removal and correlates with patient outcome // *Oncotarget*. 2017. V. 8. № 14. P. 23073–23086.
- Makishima H., Visconte V., Sakaguchi H. et al.* Mutations in the spliceosome machinery, a novel and ubiquitous pathway in leukemogenesis // *Blood*. 2012. V. 119. № 14. P. 3203–3210.
- Marquez R.T., Xu L.* Bcl-2:Beclin 1 complex: multiple, mechanisms regulating autophagy/apoptosis toggle switch // *Am. J. Cancer Res.* 2012. V. 2. № 2. P. 214–221.
- Martelli A.M., Tazzari P.L., Evangelisti C. et al.* Targeting the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin module for acute myelogenous leukemia therapy: from bench to bedside // *Curr. Med. Chem.* 2007. V. 14. № 19. P. 2009–2023.
- McCormack E., Haaland I., Venås G. et al.* Synergistic induction of p53 mediated apoptosis by valproic acid and nutlin-3 in acute myeloid leukemia // *Leukemia*. 2012. V. 26. № 5. P. 910–917.
- McLornan D., Hay J., McLaughlin K. et al.* Prognostic and therapeutic relevance of c-FLIP in acute myeloid leukemia // *Br. J. Haematol.* 2012. V. 160. № 2. P. 188–198.
- Milman N., Ginini L., Gil Z.* Exosomes and their role in tumorigenesis and anticancer drug resistance // *Drug Resist. Updat.* 2019. V. 45. P. 1–12.
- Nawrocki S.T., Han Y., Visconte V. et al.* Development of ROC-325: a novel small molecule inhibitor of autophagy with promising anti-leukemic activity // *Blood*. 2016. V. 128. № 22. P. 525.
- Pavlov V.N., Rakhmatullina I.R., Farkhutdinov R.R. et al.* Free radical oxidation and carcinogenesis: debatable issues // *Creat. Surg. Oncol.* 2017. V. 7. № 22. P. 54–61.
- Piya S., Kornblau S.M., Ruvolo V.R. et al.* Atg7 suppression enhances chemotherapeutic agent sensitivity and overcomes stroma-mediated chemoresistance in acute myeloid leukemia // *Blood*. 2016. V. 128. № 9. P. 1260–1269.
- Prokocimer M., Peller S.* Cytoplasmic sequestration of wild-type p53 in a patient with therapy-related resistant AML: first report // *Med. Oncol.* 2012. V. 29. № 2. P. 1148–1150.
- Rotin L.E., MacLean N., Aman A. et al.* Erlotinib synergizes with the poly(ADP-ribose) glycohydrolase inhibitor ethacridine in acute myeloid leukemia cells // *Haematologica*. 2016. V. 101. № 11. P. e449–e453.
- Qiu L., Zhou G., Cao S.* Targeted inhibition of ULK1 enhances daunorubicin sensitivity in acute myeloid leukemia // *Life Sci.* 2020. V. 243. P. 117234.
- Salunkhe S., Mishra S.V., Nair J. et al.* Inhibition of novel GCN5-ATM axis restricts the onset of acquired drug resistance in leukemia // *Int. J. Cancer*. 2018. V. 142. № 10. P. 2175–2185.
- Schwind S., Maharry K., Radmacher M.D. et al.* Prognostic significance of expression of a single microRNA, miR-181a, in cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a cancer and leukemia group B study // *J. Clin. Oncol.* 2010. V. 28. № 36. P. 5257–5264.
- Tabe Y., Konopleva M.* Advances in understanding the leukemia microenvironment // *Br. J. Haematol.* 2014. V. 164. № 6. P. 767–778.
- Tan B.X., Khoo K.H., Lim T.M., Lane D.P.* High Mdm4 levels suppress p53 activity and enhance its half-life in acute myeloid leukaemia // *Oncotarget*. 2014. V. 5. № 4. P. 933–943.
- Tang R., Cohen S., Perrot J.-Y. et al.* P-gp activity is a critical resistance factor against AVE9633 and DM4 cytotoxicity in leukaemia cell lines, but not a major mechanism of chemoresistance in cells from acute myeloid leukaemia patients // *BMC Cancer*. 2009. V. 9. P. 199.
- Valdez B.C., Murray D., Nieto Y. et al.* Synergistic cytotoxicity of the DNA alkylating agent busulfan, nucleoside analogs and suberoylanilide hydroxamic acid in lymphoma cell lines // *Leuk. Lymph.* 2012. V. 53. № 5. P. 973–981.
- Visconti R., Grieco D.* Fighting tubulin-targeting anticancer drug toxicity and resistance // *Endocr. Relat. Cancer*. 2017. V. 24. № 9. P. T107–T117.
- Wang B., Wang X., Hou D. et al.* Exosomes derived from acute myeloid leukemia cells promote chemoresistance by enhancing glycolysis-mediated vascular remodeling // *J. Cell Physiol.* 2019. V. 234. № 7. P. 10602–10614.

- Wang P., Ma D., Wang J. et al. INPP4B-mediated DNA repair pathway confers resistance to chemotherapy in acute myeloid leukemia // *Tumor Biol.* 2016. V. 37. № 9. P. 12513–12523.
- Watson A.S., Riffelmacher T., Stranks A. et al. Autophagy limits proliferation and glycolytic metabolism in acute myeloid leukemia // *Cell Death Discov.* 2015. V. 1. P. 15008.
- Wojtuszkiewicz A., Schuurhuis G.J., Kessler F.L. et al. Exosomes secreted by apoptosis-resistant acute myeloid leukemia (AML) blasts harbor regulatory network proteins potentially involved in antagonism of apoptosis // *Mol. Cell Proteom.* 2016. V. 15. № 4. P. 1281–1298.
- Wong N.K., Huang C.-L., Islam R., Yip S.P. Long non-coding RNAs in hematological malignancies: translating basic techniques into diagnostic and therapeutic strategies // *J. Hematol. Oncol.* 2018. V. 11 (1). P. 131.
- Wu K., Xing F., Wu S.-Y., Watabe K. Extracellular vesicles as emerging targets in cancer: recent development from bench to bedside // *Biochim. Biophys. Acta.* 2017. V. 1868. № 2. P. 538–563.
- Yi H., Zeng D., Shen Z. et al. Integrin α v β 3 enhances β -catenin signaling in acute myeloid leukemia harboring Fms-like tyrosine kinase-3 internal tandem duplication mutations: implications for microenvironment influence on sorafenib sensitivity // *Oncotarget.* 2016. V. 7. № 26. P. 40387–40397.
- Yonekawa T., Thorburn A. Autophagy and cell death // *Essays Biochem.* 2013. V. 55. P. 105–117.
- Zachari M., Ganley I.G. The mammalian ULK1 complex and autophagy initiation // *Essays Biochem.* 2017. V. 61. № 6. P. 585–596.
- Zheng H.-C. The molecular mechanisms of chemoresistance in cancers // *Oncotarget.* 2017. V. 8. №. 35. P. 59950–59964.

Mechanisms of Drug Resistance in Acute Myeloid Leukemia Cells

N. M. Bobrova^a and T. V. Romanovskaya^{b,*}

^aAlexandrov Republican Scientific and Practical Center of Oncology and Medical Radiology, Minsk, Belarus

^bBelarusian State University, Minsk, Belarus

*e-mail: ramanouskaya_tv@bsu.by

Acute myeloid leukemia (AML) is a set of hematological diseases characterized by clonal expansion of immature myeloid precursors. Chemotherapy is one of the main methods of AML treatment. However, the occurrence of drug resistance in leukemic cells, being a serious obstacle to therapy of the disease, worsens the clinical outcome. It is necessary to understand the mechanisms of AML resistance to certain cytostatic and cytotoxic drugs for development of optimal treatment strategies. This review is focused on diversity of currently known mechanisms underlying drug resistance in AML on the level of intracellular molecular paths as well as on the level of intercellular communication.

Keywords: acute myeloid leukemia, chemotherapy, drug resistance