

Л.М. Шлапацька,
А.С. Поліщук,
Д.Ф. Глузман

Інститут експериментальної
патології онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького НАН України,
Київ, Україна

Ключові слова: гострі мієлоїдні
лейкози, лейкемічні стовбурові
клітини, CD34, CD38, CD117.

DOI: <https://doi.org/10.15407/oncology.2023.03.180>

ПРОФІЛЬ ЕКСПРЕСІЇ ДЕЯКИХ МАРКЕРІВ ЛЕЙКЕМІЧНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ПРИ ГОСТРИХ МІЄЛОЇДНИХ ЛЕЙКОЗАХ

Мета: визначення потенційного пулу лейкемічних стовбурових клітин за показниками комбінованої експресії CD34, CD38 та CD117 при різних варіантах гострого мієлоїдного лейкозу (ГМЛ). **Об'єкт і методи:** дослідження проведені на клітинах пунктатів кісткового мозку 54 хворих на ГМЛ, які попередньо не отримували лікування. Профіль експресії поверхневих антигенів досліджували методом проточної цитометрії. **Результати:** виявлені відмінності у вмісті популяцій CD34⁺CD38⁻, CD34⁺CD38⁺, CD34⁻CD117⁺ та CD34⁺CD117⁺ клітин, які потенційно можуть бути лейкемічними стовбуровими клітинами (ЛСК), серед хворих із різними варіантами ГМЛ. Медіана кількості CD34⁺CD38⁻ клітин при М2 ГМЛ (3,9%) та М3 ГМЛ (2,5%) значно менша ніж при М1 ГМЛ (11,3%) та М5 ГМЛ (13,0%), тоді як вміст CD34⁺CD38⁺ клітин найбільш виражений при М2 ГМЛ та М5 ГМЛ. Аналіз комбінованої експресії CD34 та CD117 свідчить, що для М3 ГМЛ більш властива наявність популяції CD34⁻CD117⁺ клітин, тоді як для М1 ГМЛ та М5 ГМЛ — CD34⁺CD117⁺ бластів. **Висновок:** при всіх досліджених варіантах ГМЛ ідентифіковано компартменти злоякісно трансформованих клітин, які потенційно можуть бути ЛСК і визначаються за показниками комбінованої експресії CD34, CD38 та CD117. Дані дослідження є перспективні, оскільки визначення ЛСК обґрунтовує підхід для ефективної таргетної терапії хворих на ГМЛ.

Гострий мієлоїдний лейкоз (ГМЛ) — захворювання, якому властива аномальна проліферація низькодиференційованих клітин, що супроводжується порушенням нормального кровотворення. Основною причиною прогресування та виникнення рецидиву захворювання є циркуляція терапевтично стійких клоногенних субпопуляцій лейкемічних стовбурових клітин (ЛСК), які за своїми біологічними характеристиками схожі із нормальними гемопоетичними стовбуровими клітинами (ГСК). На сьогодні ЛСК є ключовими, що визначають у хворих на ГМЛ посилену стійкість до дії хіміопрепаратів, уникнення імунного нагляду, виникнення рецидиву захворювання, як основної причини смерті цих пацієнтів, а отже в клінічній практиці можуть використовуватись як додатковий прогностичний параметр [1].

Хоча відомо ряд маркерів, які складають фенотиповий профіль ЛСК, однак ідентифікація їх унікального фенотипу залишається невизначеною, що викликає труднощі при елімінації цих клітин. Історично спочатку ЛСК при ГМЛ були представлені як такі, що експресують поверхневий маркер ГСК та гемопоетичних клітин попередників — CD34, а згодом ЛСК були виявлені як серед

популяцій CD34⁺CD38⁻, так і CD34⁺CD38⁺ клітин [2, 3]. Окрім цього, у хворих на ГМЛ фракцію ЛСК складають і CD34⁻ клітини, що експресують CD117 та за своїм фенотипом нагадують клітини-попередники гранулоцитів і макрофагів (пре-ГМ) [4, 5], а також клітини CD34⁺CD117⁺, яким властива експресія генів ЛСК [6]. У хворих на ГМЛ, в яких до 98% злоякісно трансформованих клітин не експресують CD34 (CD34⁻ ГМЛ), частота ЛСК серед популяцій CD34⁺ та CD34⁻ клітин однакова, а зазначені ЛСК не впорядковані ієрархічно, мають майже ідентичний транскриптом і відрізняються за експресією лише восьми генів, одним із яких є CD34 [5]. Тому визначення потенційного пулу ЛСК за показниками комбінованої експресії CD34, CD38 та CD117, а не лише одноосібне визначення експресії даних маркерів, яке без сумнівів має діагностичне значення, проте не визначає прогноз перебігу захворювання, є актуальним і важливим.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведено на клітинах пунктатів кісткового мозку 54 хворих на ГМЛ, які попередньо не отримували лікування та знаходились на

обстеженні у гематологічних відділеннях лікарень Києва, Дніпра та Івано-Франківська. Всі пацієнти були поінформовані про проведення досліджень та дали згоду на їх виконання. Визначення варіанту ГМЛ виконано у відділі імуноцитохімії та онкогематології ІЕПОР ім. Р.Є. Кавецького НАН України з урахуванням морфологічних, цитохімічних критеріїв, декларованих Франко-американо-британською (ФАБ) класифікацією лейкозів, та доповнено імунофенотиповим аналізом лейкозних (бластних) клітин, здійсненим методом проточної цитометрії з використанням панелі моноклональних антитіл (МКАТ) проти мієлоїдних і лімфоїдних антигенів, рекомендованих Міжнародним консенсусом Bethesda [7] і Консорціумом EuroFlow [8] для діагностики та класифікації злоякісних гематологічних новоутворень. Нижня діагностична межа при визначенні наявності експресії антигена методом проточної цитометрії становила 20%. Дані дослідження проведені на проточному цитофлуориметрі Beckman Coulter DxFLX (Beckman Coulter, США). Кількість клітин, позитивних за експресією досліджуваного антигена, які визначали із використанням анти-CD34PC5.5, анти-CD38FITC, анти-CD117PE, анти-CD45PC7 МКАТ (Becton Coulter, США), вираховували після аналізу 10 тис. подій. Детальна методологія імунофенотипування злоякісно трансформованих клітин хворих на ГМЛ та клінічна характеристика даних пацієнтів представлена у нещодавно опублікованій публікації [9]. В результаті комплексного морфологічного, імуноцитохімічного дослідження та імунофенотипування патологічних клітин кісткового мозку виділено наступні варіанти ГМЛ: ГМЛ без дозрівання (М1 ГМЛ) — у 5 хворих, ГМЛ із дозріванням (М2 ГМЛ) — у 10 хворих, гострий промієлоцитарний лейкоз (М3 ГМЛ) — у 9 хворих та гострий моноцитарний лейкоз (М5 ГМЛ) — у 30 хворих. Результати дослідження аналізували та обробляли в програмному забезпеченні Prism 4 за допомогою критерію Манн–Уїтні для непараметричних даних. Статистично достовірною різницею між досліджуваними вибірками вважалась при $p < 0,05$.

Встановлення взаємозв'язків між досліджуваними параметрами визначали за допомогою коефіцієнта кореляції Пірсона.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Профіль експресії CD34, CD38 та CD117 при різних ФАБ-варіантах ГМЛ. Враховуючи низький рівень експресії CD34, CD38 та CD117 на ЛСК, до категорії позитивних випадків були віднесені такі, в яких на плазматичній мембрані клітин патологічного клону було констатовано наявність мінімальної експресії досліджуваних маркерів або їх комбінації. Згідно результатів досліджень CD38 експресується на клітинах патологічного клону всіх хворих на ГМЛ, CD117 — у 96,3% хворих, CD34 — у 87,0% випадків (табл. 1). Не дивлячись на те, що експресія CD34 була характерна для всіх випадків М3 ГМЛ, даний маркер виявлено на мінорній популяції субстратних клітин у 88,9% хворих, і лише у одного хворого на 27% бластів, що відповідає результатам досліджень інших авторів [10, 11]. Медіана кількості CD34⁺ клітин при М3 ГМЛ, який є найбільш диференційованою формою ГМЛ і загалом вважають результатом злоякісної трансформації комітованого мієлоїдного попередника, була достовірно меншою, ніж при М1 ГМЛ, М2 ГМЛ та М5 ГМЛ ($p < 0,05$). Значимої різниці в експресії CD38 при різних варіантах ГМЛ не встановлено (див. табл. 1).

Окрім того, у хворих на різні варіанти ГМЛ були виявлені достовірні відмінності в експресії CD117, який за нормальних умов зазвичай експресують гемопоетичні клітини-попередники кісткового мозку [12] та клітини мієлоїдного та еритроїдного ряду включно до стадії промієлоцитів і еритробластів відповідно [13]. Серед досліджених нами випадків ГМЛ високий рівень експресії CD117 детектовано при М3 ГМЛ та М2 ГМЛ (у 80,0% випадків кількість CD117⁺ клітин перевищувала 50,0%), що погоджується з результатами інших дослідників, згідно яких у 70,0–100,0% випадків М0–М4 ГМЛ виявляють експресію CD117 на 50,0–80,0% клітин [14, 15]. При М5 ГМЛ кількість CD117⁺ клітин становила 2,0–47,0% у 82,0%

Таблиця 1

Експресія CD34, CD38 та CD117 при деяких варіантах ГМЛ

Варіант ГМЛ	CD34		CD38		CD117	
	n / %	Медіана позитивних випадків, %	n / %	Медіана позитивних випадків, %	n / %	Медіана позитивних випадків, %
М1 (n=5)	5 / 100,0	75,0*, **	5 / 100,0	60,0	5 / 100,0	49,0
М2 (n=10)	8 / 80,0	36,5*	10 / 100,0	74,0	10 / 100,0	77,0**
М3 (n=9)	9 / 100,0	12,5	9 / 100,0	51,5	9 / 100,0	88,5**
М5 (n=30)	25 / 83,3	35,0*	30 / 100,0	56,0	28 / 93,3	33,0

Примітки: * — $p < 0,05$ по відношенню до М3, ** — $p < 0,05$ по відношенню до М5.

хворих, а медіана експресії CD117 була достовірно менша ніж при M2–M3 ГМЛ ($p < 0,05$). Згідно результатів досліджень інших авторів при M5 ГМЛ клітини патологічного клону мають негативний статус експресії CD117, або ж його невисоку експресію пов'язують із M5a ГМЛ [16, 17].

Комбінована експресія CD34/CD38 та CD34/CD117 при ГМЛ. Визначення фенотипу CD34⁺CD38⁻ при ГМЛ має важливе прогностичне значення, оскільки констатовано статистично достовірний зв'язок між високим вмістом CD34⁺CD38⁻ ймовірних ЛСК та низькими показниками загальної та безрецидивної виживаності хворих [18, 19]. Хоча подібні закономірності не встановлено для CD34⁺CD38⁺ та CD34⁻ ЛСК, проте вони також мають здатність індукувати розвиток лейкемії у мишей з тяжким комбінованим імунodefіцитом (SCID) та отриманих в результаті спарювання мишей, сприйнятливих до діабету на тлі відсутності схильності до ожиріння (NOD), з мишами SCID — NOD/SCID. При CD34⁺CD38⁺ та CD34⁻індукованих лейкеміях злоякісно трансформовані клітини є більш чутливими до дії хіміопрепаратів у порівнянні із CD34⁺CD38⁻ індукованою формою [20].

Наявність CD34⁺CD38⁻ клітин серед популяції патологічного клону клітин хворих на ГМЛ виявлено при всіх варіантах ГМЛ у більшості хворих (табл. 2). При M3 ГМЛ частота CD34⁺CD38⁻ позитивних випадків і медіана кількості CD34⁺CD38⁻ клітин були найменшими серед хворих на ГМЛ. Достовірні відмінності у кількості ймовірних ЛСК із фенотипом CD34⁺CD38⁻ знайдені лише серед хворих на M5 ГМЛ та M2 ГМЛ ($p = 0,03$, рисунок) за відсутності у них різниці в експресії CD34 (див. табл. 2). Статистично значимий кореляційний зв'язок між вмістом CD34⁺ та CD34⁺CD38⁻ клітин встановлено тільки у хворих на M5 ГМЛ ($r = 0,5$, $p = 0,003$). Щодо пулу CD34⁺CD38⁺ клітин, які є більш зрілими ніж клітини із фенотипом CD34⁺CD38⁻, відмічено збереження

тенденції за числом позитивних випадків і медіани їх кількості як і при аналізі CD34⁺CD38⁻ клітин при M5 ГМЛ. Хоча медіана вмісту CD34⁺CD38⁺ клітин у хворих на M1 ГМЛ та M3 ГМЛ суттєво не відрізнялись, проте значимі відмінності були знайдені при аналізі кількості цих клітин у хворих на M3 ГМЛ, порівняно із M2 ГМЛ та M5 ГМЛ (див. табл. 2). Таким чином, у всіх досліджених варіантах ГМЛ виявлено популяції CD34⁺CD38⁻ та CD34⁺CD38⁺ клітин, які потенційно можуть бути ЛСК. Медіана кількості CD34⁺CD38⁺ клітин у хворих на M2 ГМЛ та M3 ГМЛ була значно більшою, ніж CD34⁺CD38⁻.

CD34⁻ ЛСК при ГМЛ експресують невелику кількість генів, характерних для нормальних ГСК, і лише 28 факторів транскрипції, які зазвичай експресуються в ГСК та мультипотентному попереднику, але не в нормальних клітинах-попередниках гранулоцитів і макрофагів. Допускають, що генетичні та епігенетичні зміни в CD34⁻ ЛСК призводять до часткової зупинки диференціювання та значного накопичення клітин з онкогенними властивостями на пізній стадії пре-ГМЛ. Експериментально доведено, що найбільш функціонально активні CD34⁻ ЛСК містяться серед популяції CD34⁻CD117⁺ клітини [5]. Нами виявлено популяцію CD34⁻CD117⁺ клітин у 53 із 54 (98,1%) досліджених хворих на ГМЛ, при цьому медіана їх кількості є достовірно більшою при M3 ГМЛ, порівняно із іншими варіантами захворювання (табл. 3), що можна пояснити особливістю фенотипової характеристики клітин патологічного клону при M3 ГМЛ [21].

Окрім того, при аналізі комбінованої експресії CD34 і CD117 серед CD34⁺ бластів хворих на ГМЛ було виділено дві популяції клітин — CD34⁺CD117^{dim} та CD34⁺CD117^{bright}, які відрізняються за показниками прямого (FSC) і бічного світлорозсіювання (SSC). Відомо, що за морфологічними ознаками CD34⁺CD117^{dim} клітини мають ознаки мієлобластів, тоді як CD34⁺CD117^{bright} —

Таблиця 2

Комбінована експресія CD34 та CD38 при деяких варіантах ГМЛ

ФАБ підтип ГМЛ	CD34 ⁺ CD38 ⁻		CD34 ⁺ CD38 ⁺	
	n / %	Медіана позитивних випадків, мін-макс %	n / %	Медіана позитивних випадків, мін-макс %
M1 (n=5)	4 / 80,0	11,3 0,8–47,6	3 / 60,0	8,5 0,5–80,0
M2 (n=10)	7 / 70,0	3,9 1,3–11,0	8 / 80,0	29,3 0,4–88,0
M3 (n=9)	7 / 66,7	2,5 0,5–28,7	9 / 100,0	8,0*, ** 2,0–30,0
M5 (n=30)	21 / 70,6	13,0* 0,6–65,5	24 / 77,4	18,5 1,5–92,0

Примітки: * — $p < 0,05$ по відношенню до M2, ** — $p < 0,05$ по відношенню до M5.

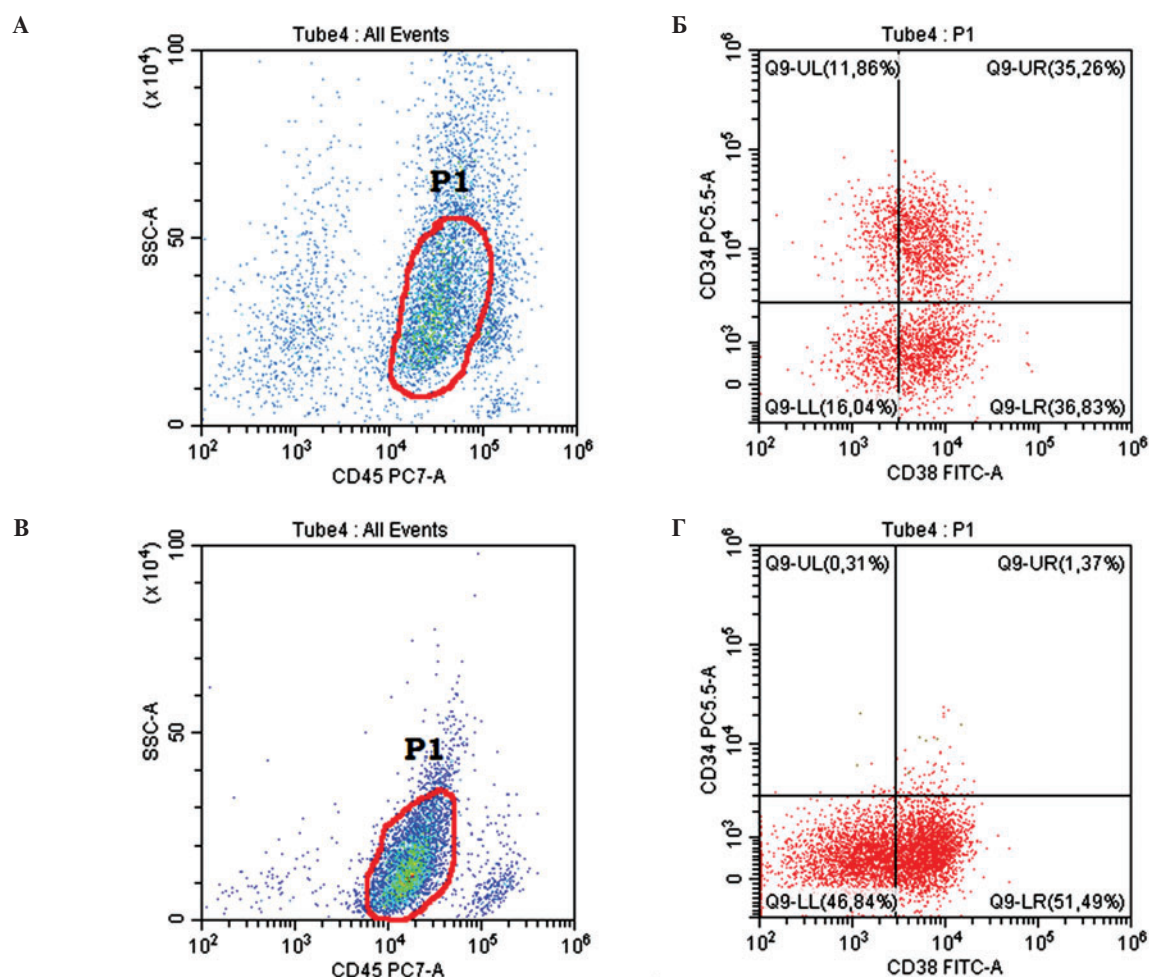


Рис. Стратифікація CD34⁺ CD38⁻ клітин у хворих на М5 ГМЛ (А, Б) та М2 ГМЛ (В, Г)

промієлоцитів. Обидві популяції клітин експресують маркери попередників гранулоцитарно-моноцитарного ряду, проте CD34⁺CD117^{dim} бластам більш властива експресія генів ЛСК, стійкість до дії хіміопрепаратів, аніж CD34⁺CD117^{bright} [6]. Загальна виживаність хворих на ГМЛ, в яких пул злоякісно трансформованих клітин містить

велику кількість CD34⁺CD117^{dim} клітин, є низькою [22]. Загалом же зменшення популяції CD34⁺CD117⁺ клітин при лікуванні хворих на деякі форми лейкозів мієлоїдного походження, мієлодиспластичний синдром пов'язують з кращою клінічною та гематологічною відповіддю [23, 24]. На відміну від ГМЛ, при гострих лімфобластичних

Таблиця 3

Комбінована експресія CD34 та CD117 при деяких варіантах ГМЛ

ФАБ підтип ГМЛ	CD34 ⁺ CD117 ⁺		CD34 ⁺ CD117 ⁺	
	n / %	Медіана позитивних випадків, мін-макс %	n / %	Медіана позитивних випадків, мін-макс %
M1 (n=5)	5 / 100,0	5,3*, ** 1,1–10,1	4 / 80,0	21,1 0,5–75,5
M2 (n=10)	10 / 100,0	33,4* 2,4–74,3	7 / 70,0	45,0* 2,0–89,0
M3 (n=9)	9 / 100,0	63,1 25,8–88,4	9 / 100,0	9,1 1,0–23,0
M5 (n=30)	29 / 96,7	6,0*, ** 0,3–45,1	24 / 77,4	21,3* 1,5–92,0

Примітки: * — $p < 0,05$ по відношенню до М3, ** — $p < 0,05$ по відношенню до М2.

лейкозах дитячого віку на злоякісно трансформованих клітинах не спостерігають коекспресію CD34 і CD117 [25].

Серед досліджених випадків ГМЛ виявлено достовірно більші показники FSC та SSC CD34⁺CD117⁺ бластів у хворих на М3 ГМЛ аніж при М1 ГМЛ, М2 ГМЛ та М5 ГМЛ ($p < 0,05$). Коекспресію CD34 і CD117 встановлено на субстратних клітинах у всіх хворих на М3 ГМЛ, а медіана кількості CD34⁺CD117⁺ бластів при даному варіанті ГМЛ була достовірно менша ніж при М2 ГМЛ та М5 ГМЛ ($p < 0,05$, див. табл. 3).

Отже, оцінюючи комбіновану експресію CD34 та CD117, виявлено деякі відмінності у вмісті CD34⁺CD117⁺ та CD34⁺CD117⁺ субстратних клітин при різних варіантах ГМЛ: для М3 ГМЛ більш властива наявність популяції CD34⁺CD117⁺ клітин, тоді як для М1 ГМЛ та М5 ГМЛ — CD34⁺CD117⁺ бластів.

Враховуючи, що популяції злоякісно трансформованих CD34⁺CD38⁻, CD34⁺CD38⁺, CD34⁻клітин, які потенційно можуть бути ЛСК, детектовано при всіх досліджених варіантах ГМЛ, необхідна подальша їх компартменталізація, для ідентифікації ЛСК, оскільки, залучаючи визначення додаткових дискримінаційних параметрів, можна уникнути недооцінки чисельності ЛСК та диференціювати їх від ГСК. До таких відносять, зокрема, CD123, CD44, CD184, IL-3R alpha, так як ці маркери є високоспецифічними для ЛСК і можуть служити в якості мішені для їх ерадикації при терапії антитілами [18, 26]. Поглиблене вивчення профілю експресії маркерів плазматичних мембран клітин патологічного клону хворих на ГМЛ допоможе покращити прогностичну стратифікацію та ефективність лікування пацієнтів. Розуміння ж природи та місця в ланцюгу ієрархії гемопоєзу клітин, що піддаються злоякісній трансформації та визначають біологічну поведінку і характеристику лейкозу є підґрунтям для розуміння механізмів лейкозогенезу та розробки нових терапевтичних підходів у лікуванні хворих на ГМЛ.

ВИСНОВКИ

1. Наявність популяції CD34⁺CD38⁻ та CD34⁺CD38⁺ клітин, які потенційно можуть бути ЛСК, характерна для більшості хворих на М1 ГМЛ, М2 ГМЛ, М3 ГМЛ та М5 ГМЛ.

2. Число CD34⁺CD38⁻ позитивних випадків та медіана кількості CD34⁺CD38⁻ клітин є найменшими при М3 ГМЛ, тоді як популяція CD34⁺CD38⁺ клітин найбільш виражена при даному варіанті ГМЛ у порівнянні із іншими.

3. Встановлені відмінності у вмісті ймовірних ЛСК із фенотипом CD34⁺CD117⁺ та CD34⁺CD117⁺ при різних варіантах ГМЛ: популяція CD34⁺CD117⁺ клітин частіше визначається при М3 ГМЛ, а CD34⁺CD117⁺ — при М1 ГМЛ та М5 ГМЛ.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Plesa A, Dumontet C, Mattei E, *et al.* High frequency of CD34⁺CD38⁻/low immature leukemia cells is correlated with unfavorable prognosis in acute myeloid leukemia. *World J Stem Cells* 2017; **9** (12): 227–34. doi: 10.4252/wjsc.v9.i12.227.
2. Bill M, Nicolet D, Kohlschmidt J, *et al.* Mutations associated with a 17-gene leukemia stem cell score and the score's prognostic relevance in the context of the European LeukemiaNet classification of acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2020; **105** (3): 721–9. doi: 10.3324/haematol.2019.225003.
3. Goardon N, Marchi E, Atzberger A, *et al.* Coexistence of LMPP-like and GMP-like leukemia stem cells in acute myeloid leukemia. *Cancer Cell* 2011; **19** (1): 138–52. doi: 10.1016/j.ccr.2010.12.012.
4. Sarry J, Murphy K, Perry R, *et al.* Human acute myelogenous leukemia stem cells are rare and heterogeneous when assayed in NOD/SCID/IL2Rγc-deficient mice. *J Clin Invest* 2011; **121** (1): 384–95. doi: 10.1172/JCI41495.
5. Quek L, Otto G, Garnett C, *et al.* Genetically distinct leukemic stem cells in human CD34⁺ acute myeloid leukemia are arrested at a hemopoietic precursor-like stage. *J Exp Med* 2016; **213** (8): 1513–35. doi:10.1084/jem.2015.1775.
6. Jiang L, Li XP, Dai YT, *et al.* Multidimensional study of the heterogeneity of leukemia cells in t(8;21) acute myelogenous leukemia identifies the subtype with poor outcome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2020; **117** (33): 20117–26. doi: 10.1073/pnas.2003900117.
7. Wood BL, Arroz M, Barnett JM, *et al.* 2006 Bethesda International Consensus recommendations on the immunophenotypic analysis of hematolymphoid neoplasia by flow cytometry: optimal reagents and reporting for the flow cytometric diagnosis of hematopoietic neoplasia. *Cytometry B Clin Cytom* 2007; **72** (1): 14–22. doi: 10.1002/cyto.b.20363.
8. van Dongen JJ, Orfao A. EuroFlow Consortium. EuroFlow: Resetting leukemia and lymphoma immunophenotyping. Basis for companion diagnostics and personalized medicine. *Leukemia* 2012; **26** (9): 1899–907. doi: 10.1038/leu.2012.121.
9. Shlapatska L, Gordienko I, Polishchuk A, Gluzman D. Profile of CD150 expression in bone marrow cells of patients with acute myeloid leukemia. *Exp Oncol* 2022; **44** (3): 198–207. doi: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-44-no-3.18307.
10. Selleri C, Notaro R, Catalano L, *et al.* Prognostic irrelevance of CD34 in acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 1992; **82** (2): 479–81. doi: 10.1111/j.1365-2141.1992.tb06452.x.
11. Noguera NI, Catalano G, Banella C, *et al.* Acute promyelocytic leukemia: update on the mechanisms of leukemogenesis, resistance and on innovative treatment strategies. *Cancers (Basel)* 2019; **11** (10): 1591. doi: 10.3390/cancers11101591.
12. Ashman LK, Cambareri AC, To LB, *et al.* Expression of the YB5.B antigen (c-kit proto-oncogene product) in normal human bone marrow. *Blood* 1991; **78** (1): 30–7. doi: 10.1182/blood.V78.1.30.bloodjournal78130.
13. van Lochem EG, van der Velden VH, Wind HK, *et al.* Immunophenotypic differentiation patterns of normal hematopoiesis in human bone marrow: reference patterns for age-related changes and disease-induced shifts. *Cytometry* 2004; **60** (1): 1–13. doi: 10.1002/cyto.b.20008.
14. Woźniak J, Kopeć-Szlezak J. c-Kit receptor (CD117) expression on myeloblasts and white blood cell counts in acute myeloid leukemia. *Cytometry B Clin Cytom* 2004; **58** (1): 9–16. doi: 10.1002/cyto.b.10068.

15. Goryainova NV, Gordienko AI, Kubarova VA. CD117 expression on blast cells in acute myeloid leukemia. *Medicni perspektivi* 2015; **XX** (3): 73–9. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Mp_2015_20_3_15.
16. Bhat S, Rahim F, Geelani S, *et al.* CD 117: Lineage assigning marker in acute myeloid leukemias. *Int J Adv Med* 2019; **6** (2): 382–8. doi:10.18203/2349-3933.ijam20191145.
17. Cascavilla N, Musto P, D'Arena G, *et al.* CD117 (c-kit) is a restricted antigen of acute myeloid leukemia and characterizes early differentiative levels of M5 FAB subtype. *Haematologica* 1998; **83** (5): 392–7. PMID: 9658721.
18. Zahran AM, Aly SS, Rayan A, *et al.* Survival outcomes of CD34⁺CD38[−] LSCs and their expression of CD123 in adult AML patients. *Oncotarget* 2018; **9** (75): 34056–65. doi: 10.18632/oncotarget.26118.
19. Zeijlemaker W, Grob T, Meijer R, *et al.* CD34⁺CD38[−] leukemic stem cell frequency to predict outcome in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2019; **33** (5): 1102–12. doi: 10.1038/s41375-018-0326-3.
20. Terwijn M, Zeijlemaker W, Kelder A, *et al.* Leukemic stem cell frequency: a strong biomarker for clinical outcome in acute myeloid leukemia. *PLoS One* 2014; **9** (9): e107587. doi: 10.1371/journal.pone.0107587.
21. El-Meligui YM, Abd Elrhman HE, Salahuddin A, *et al.* Correlation study on HLA-DR and CD117 (c-kit) expressions: its prognosis and treatment response in acute myeloid leukemia patients. *Pharmgenomics Pers Med* 2021; **14**: 381–93. doi: 10.2147/PGPM.S268986.
22. Li X, Dai Y, Chen B, *et al.* Clinical significance of CD34(+)CD117(dim)/CD34(+)CD117(bri) myeloblast-associated gene expression in t(8;21) acute myeloid leukemia. *Front Med* 2021; **15** (4): 608–20. doi: 10.1007/s11684-021-0836-7.
23. Subirá D, Alhan C, Porwit A, *et al.* Monitoring treatment with 5-azacitidine by flow cytometry predicts duration of hematological response in patients with myelo-dysplastic syndrome. *Ann Hematol* 2021; **100** (7): 1711–2. doi: 10.1007/s00277-021-04411-4.
24. Brouwer N, Matarraz S, Nierkens S, *et al.* Immunophenotypic analysis of acute megakaryoblastic leukemia: a euroflow study. *Cancers (Basel)* 2022; **14** (6): 1583. doi: 10.3390/cancers14061583.
25. Uçkan D, Hiçsönmez G, Yetgin S, *et al.* CD34/CD117 co-expression in childhood acute leukemia. *Leuk Res* 2000; **24** (3): 201–6. doi: 10.1016/s0145-2126(99)00183-6.
26. van Rhenen A, Moshaver B, Kelder A, *et al.* Aberrant marker expression patterns on the CD34⁺CD38[−] stem cell compartment in acute myeloid leukemia allows to distinguish the malignant from the normal stem cell compartment both at diagnosis and in remission. *Leukemia* 2007; **21** (8): 1700–07. doi: 10.1038/sj.leu.2404754.

EXPRESSION PROFILE OF SOME MARKERS OF LEUKEMIC STEM CELLS IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA

L.M. Shlapatska, A.S. Polishchuk, **D.F. Gluzman**

R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Summary. Aim: identification of a potential pool of leukemic stem cells based on the combined expression of CD34, CD38 and CD117 in different acute myeloid leukemia (AML) subtypes. **Object and methods:** the studies were conducted on samples of bone marrow aspirates from 54 patients with newly diagnosed and untreated AML. The profile of the expression of surface antigens on leukemic (blast) cells of AML patients was studied by flow cytometry. **Results:** differences were found in the number of CD34⁺CD38[−], CD34⁺CD38⁺, CD34[−]CD117⁺ and CD34⁺CD117⁺ cells, which can be leukemic stem cells (LSCs), among patients with different AML subtypes. The median percentage of CD34⁺CD38[−] cells in M2 AML (3.9%) and M3 AML (2.5%) is significantly lower than in M1 AML (11.3%) and M5 AML (13.0%), while

the content of CD34⁺CD38⁺ cells is most represented in M2 AML and M5 AML. The analysis of the combined expression of CD34 and CD117 shows that M3 AML is more characterized by the presence of a population of CD34[−]CD117⁺ cells, while M1 AML and M5 AML are characterized by CD34⁺CD117⁺ blasts. **Conclusion:** in all studied AML subtypes, compartments of malignant transformed cells, that potentially may be LSCs have been identified and are determined by the combined expression of CD34, CD38 and CD117. These studies are promising, since the definition of LSCs is the foundation for effective targeted therapy in patients with AML.

Keywords: acute myeloid leukemia, leukemic stem cells, CD34, CD38, CD117.

Адреса для листування:

Шлапацька Л.М.
03022, Київ, вул. Васильківська, 45
Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького
НАН України
E-mail: larisash70@ukr.net

Одержано: 21.07.2023