Апоптоз и механизмы опухолевой прогрессии неходжкинских злокачественных лимфом

*Ковынев И.Б., Поспелова Т.И., Агеева Т.А., Дьячкова Н.В.,
Скворцова Н.В., Воропаева Е.Н., Березина О.В., Нечунаева И.Н.,
Лямкина А.С.*

Apoptosis and mechanisms of tumoral progression non-Hodgkin's malignant lymphomas

*Kovynev I.B., Pospelova T.I., Ageyeva T.A., Diyachcova N.V.,
Scvortsova N.V., Voropayeva Ye.N., Berezina O.V., Nechounayeva I.N.,
Lyamkina A.S.*

*Новосибирский государственный медицинский университет, г. Новосибирск
Городской гематологический центр, г. Новосибирск
МУЗ «Городская клиническая больница № 2», г. Новосибирск*

© Ковынев И.Б., Поспелова Т.И., Агеева Т.А. и др.

Введение

Изучение механизмов опухолевой прогрессии привело исследователей к выводу о том, что она, как и весь канцерогенез в целом, зависит не только от пролиферативной активности опухолевого клона, но и от его возможностей избежать регулирующую клеточную гибель [1]. Так поиски универсальных маркеров опухолевой прогрессии были связаны с учением об апоптозе.

Понятие, введенное в 1972 г. в журнале «British Journal of Cancer» J.F.R. Kerr и соавт., описавшими апоптоз как новый тип клеточной гибели, программируемый рядом генетически обусловленных внутриклеточных событий и отличный от некроза, более 15 лет не вызывало особого интереса онкогематологов [4]. Однако по мере развития новых технологий исследования опухолевого субстрата становились все более очевидными патогенетические связи этого понятия с генезом опухолевой прогрессии вообще и прогрессии гемобластозов в частности.

Именно учение об апоптозе позволило вывести из тупика генетическую теорию возникно-

вения опухолей крови. При всей многовариантности генетических событий, свойственных для неоплазий системы кроветворения, фактически все они приводили к заинтересованности ключевых генов-регуляторов апоптоза. Более того, обнаружилось, что большинство противоопухолевых эффектов химиолучевых факторов опосредовано механизмами апоптоза, а позже с ними же связали и механизмы химиорезистентности [4].

В последние десятилетия стало очевидным, что возможности опухолевого роста во многом связаны с опосредованными генетическими изменениями активности цитоплазматических, внутриклеточных и внутриядерных белков-регуляторов апоптоза. У большинства исследователей не вызывает сомнений, что прогнозирование опухолевой прогрессии и изучение чувствительности опухолевых клонов к цитостатическому воздействию во многом зависит от глубинных сдвигов в регуляции клеточного цикла и апоптоза, происходящих в опухолевой клетке [6, 9]. При этом достойной удивления особенностью стал универсальный характер механизмов повреждения апоптоза: опу-

холи самого различного гистогенеза на этапах прогрессии использовали одни и те же пути повреждения системы программированной клеточной гибели.

Определяющее значение блокады апоптоза для прогрессии неоплазии было доказано для многих типов злокачественных новообразований. Рак молочной железы, рак толстого кишечника и другие солидные неоплазии отличались торможением программированной клеточной гибели за счет сверхэкспрессии протеинов антиапоптотической группы bcl-2, bcl-x_i [11].

Другим мощным индуктором апоптоза, блоки-

руемым на этапах онкогенеза, являлся мембранный

рецептор суперсемейства ФНО — FAS (APO-1/CD95).

В физиологических условиях CD95 играл основную роль в физиологической гибели ареактивных лимфоцитов, антителопродуцентов, секретирующих низкоафинные антитела, и способствовал нормализации числа Т- и В-клеток в лимфоидных органах и периферической крови после элиминации антигена, который вызывал лейкомоидную реакцию лимфоцитарного типа [21].

Дополнительным онкогенным фактором, высокая активность которого часто обнаруживается при гемобластозах, был ген *c-myc*. Кодированный им протеин является мощным индуктором опухолевого роста, что было показано в исследованиях M.T. Hemann и соавт. [15]. Мутантная форма *c-myc*, по мнению авторов, поддерживает пролиферацию и совместно с другими антиапоптотическими факторами блокирует программированную смерть злокачественных клонов.

Значение мутации важнейшего из регуляторных внутриклеточных протеинов — p53 — для возникновения и прогрессирования злокачественных опухолей впервые было показано при колоректальном раке, когда была описана делеция региона 17p с утратой гена p53 [19]. Затем различные повреждения короткого плеча 17-й хромосомы были обнаружены при многих типах опухолей, включая рак мочевого пузыря, рак молочной железы, рак легкого [17]. Основной

результат всех многочисленных аномалий гена p53 состоит в отсутствии способности у мутантной формы останавливать клеточный цикл в G₁/M-фазе в ответ на соответствующие стимулы [16]. Кроме того, к протеинам, блокирующим функцию wt p53, относятся эндогенные белки bcl-2, MDM2 и некоторые цитокины.

Многолетние исследования показали, что существует тесная связь мутаций протеина p53 с приобретением опухолью химиорезистентности. Оказалось, что неактивный протеин, с одной стороны, отменяет апоптоз и ускоряет мутационный процесс, с другой стороны, активирует особые, генетически обусловленные механизмы множественной лекарственной устойчивости [20].

К таким механизмам прежде всего относится трансмембранный белок p-гликопротеин (p-glycoprotein), который с помощью энергии АТФ может блокировать диффузию цитостатических препаратов через мембрану и сигнальные пути, связанные с цитостатическими эффектами. Протеин, способствуя в физиологических условиях выводу из организма ксенобиотиков, при опухолевом росте обеспечивает слабую уязвимость злокачественных клеток к химиотерапии, поскольку способствует элиминации цитостатических агентов за пределы клетки [2].

Таким образом, анализ литературных данных указал на накопленную в результате экспериментальных исследований информацию о ключевой роли в патогенезе прогрессии многих опухолей изменений активности протеинов — регуляторов апоптоза: p-53, bcl-2, c-myc, мембранного белка FAS (APO-1/CD95) и продукта гена *MDR1* — p-гликопротеина. На сегодняшний день в литературе имеются лишь разрозненные сведения о влиянии этих протеинов на прогрессию гемобластозов вообще и лимфо-пролиферативных заболеваний в частности.

Цель настоящего исследования — изучение экспрессии клетками неходжкинских злокачественных лимфом белков-регуляторов апоптоза и оценка их влияния на химиорезистентность опухоли и прогноз заболевания.

Материал и методы

В исследование включены 1 375 больных неходжкинскими злокачественными лимфомами (НХЗЛ), наблюдавшихся в городском гематологическом центре (ГГЦ) г. Новосибирска в период с 1990 по 2005 г.

Средний возраст пациентов составил 55,8 года. Анализ распределения по возрастным группам выявил преобладание лиц 60–64 лет. Соотношение мужчин и женщин в обследованном контингенте равнялось 1,2 : 1.

Давность заболевания составляла от нескольких месяцев до 15 лет. У 56,7% пациентов иммунофенотип опухоли изучался только на этапе первичной диагностики, у 43,3% — и при рецидиве процесса.

Пациенты обследовались с использованием стандартного набора клинических и инструментальных методов. На момент первичной диагностики больные с I стадией лимфомы составляли около 2% от общего числа обследованных, II стадия была выявлена у 9%, III стадия — у 13% пациентов (рис. 1) Большинство (76%) составили лица с генерализованными и диссеминированными фазами опухолевого процесса, что соответствовало IV стадии НХЗЛ. Лейкемическая фаза прогрессии лимфомы и (или) наличие внутрикостномозговых опухолевых пролифератов отмечалась у 52% больных. Указанные изменения выявлялись у 768 обследованных в динамике наблюдения на этапах проведения полихимиотерапии и контроля ее эффективности.

Рис. 1. Распределение больных по стадиям НХЗЛ (по классификации Ann Arbor)

Основной молекулярно-биологической технологией, примененной в данной работе, являлось иммуноцитохимическое и иммуногистохимическое исследование биопсийного материала опухоли.

С целью подробной характеристики иммунологического фенотипа неходжкинских лимфом была использована панель моноклональных антител (МКА) DAKO, Novocastra, R&D и др. Список моноклональных антител, входивших в исследовательскую панель, включал следующие позиции и соответствующие им гибридомные клоны МКА против белков-регуляторов апоптоза, онкопротеев и белков клеточного цикла [5, 7, 10]:

- CD95 (Fas-лиганд) (DX2);
- p53 (DO7);
- Bcl-2 (клон 100/D5);
- c-myc (онкопротейн) (9E11);
- Ki-67 (MIB-1);
- p-glycoprotein (клон JSB-1).

Исследование иммунологического фенотипа опухолевых клеток осуществлялось с помощью систем визуализации, основанных на стрептовидин-биотиновой (LSAB+, LSAB2 (DAKO)) или полимерной (EnVision Systems (DAKO)) методиках, с использованием цитохимической метки щелочной фосфатазой (для иммуноцитохимического исследования) или пероксидазой (для иммуногистохимии) [3].

Авторами использовался стандартный метод иммуногисто- и иммуноцитохимического исследования, владение которым подтверждено сертификатами Всероссийской школы иммуногистохимии (Казань, 1999; Казань, 2002) и сертификатом Международной школы иммуноморфологии (санкт-Петербург, 2004).

Основным материалом для изучения являлся субстрат опухоли, полученный методом открытой или пункционной (при поражении костного мозга) биопсии. Всего исследовано более 1 200 биоптатов, в 30% случаев проводилось параллельное иммуногисто- и иммуногистохимическое исследование препаратов одного и того же пациента.

Основным субстратом были мазки стерильного пунктата или трепанобиоптата (46%), отпечатки и гистологические препараты биопсированного лимфатического узла (38%) или биоптата опухолевого образования другой локализации (желудок, кишечник, кожа).

Использовались все формы внутреннего контроля достоверности иммуногисто-, иммуноцитохимической реакции [14]:

Число позитивных клеток определялось по общепринятым критериям: 0 позитивных клеток — отсутствие экспрессии, менее 25% — низкая экспрессия, 25—50% — средняя, более 50% позитивных клеток — высокая экспрессия.

Вся информация была преобразована в формат электронных таблиц Excel. Сформированная база данных настоящего исследования в последующем проходила математическую обработку с помощью пакета прикладных математических программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc.), OriginPro 7.5 (OriginLab) и с использованием статистических возможностей Excel.

Результаты

При оценке экспрессии было установлено, что все указанные маркеры имеют свое представительство на опухолевых клетках большинства клинических типов НХЗЛ (рис. 2).

Рис. 2. Уровень экспрессии белков-регуляторов апоптоза, пролиферативной активности и МЛР у больных НХЗЛ (896 человек)

Наибольшей экспрессией отличался белок блока апоптоза bcl-2, он был выявлен в $(38,5 \pm 1,9)\%$ опухолевых клеток больных НХЗЛ. Мутантная форма проапоптозного протеина p53 определялась на $(16,25 \pm 1,70)\%$, онкопротеина c-myc — на $(12,1 \pm 1,4)\%$. Продукт гена множественной лекарственной резистентности MDR1 p-гликопротеин проявлял

свою экспрессию на $(15,6 \pm 1,5)\%$ элементов НХЗЛ.

Белок пролиферативной активности клетки Ki-67, охватывающий 80% митотического цикла, экспрессировался на $(37,0 \pm 1,6)\%$ клеток, а маркер системы фактора некроза опухоли α (ФНО- α) Fas-FasL CD95 — на $(21,5 \pm 2,7)\%$.

Таким образом, был констатирован факт присутствия в иммунофенотипическом профиле неходжкинской лимфомы исследуемых молекулярно-биологических маркеров.

Следующий вопрос, на который предстояло ответить: каково распределение экспрессии этих белков на клетках лимфоидных неопластических клонов в зависимости от степени клинической агрессивности заболевания?

Анализ показал, что имеются существенные вариации в представительстве bcl-2, p53, c-myc, CD95, Ki-67 и p-гликопротеина в группах пациентов с различной активностью процесса (рис. 3).

Так, в кластере высокоагрессивных (лимфобластных и беркиттоподобных вариантов) НХЗЛ был выявлен высокий уровень p53 и онкопротеина c-myc — $(38,7 \pm 3,8)$ и $(40,4 \pm 5,4)\%$ позитивных клеток соответственно. Выраженная экспрессия Ki-67 $((76,3 \pm 2,9)\%)$ была вполне предсказуемой, поскольку эти варианты лимфом обладают очень высокой пролиферативной активностью. Небольшое количество клеток опухоли оказалось позитивным на bcl-2 $((14,5 \pm 3,9)\%)$ и CD95 $((3,4 \pm 1,1)\%)$. Экспрессия p-гликопротеина отмечалась у $(17,8 \pm 3,2)\%$ клеток.

В группе НХЗЛ с агрессивным вариантом клинического течения, в которую вошли пациенты с крупноклеточными лимфомами высокой степени злокачественности, наибольшее число позитивных клеток отмечалось на bcl-2, p53 и Ki-67-маркеры — $(36,5 \pm 3,0)$, $(37,5 \pm 2,9)$ и $(40,1 \pm 1,4)\%$ соответственно. Высокий уровень экспрессии p-гликопротеина $((28,6 \pm 2,9)\%)$ выявлен у трети пациентов.

Иммунофенотипический профиль индолентных лимфом характеризовался наиболее выраженной экспрессией bcl-2 $((73,9 \pm 6,8)\%)$ и CD95 $((34,9 \pm 2,9)\%)$. Остальные маркеры демонстрировали умеренное количество позитивных клеток:

p53 — $(14,6 \pm 2,8)\%$, c-myc — $(5,4 \pm 1,7)\%$, Ki-67 — $(14,8 \pm 2,2)\%$ и p-гликопротеин — $(19,5 \pm 3,1)\%$.

Таким образом, при оценке иммунофенотипа опухолевых клеток НХЗЛ была выявлена экс-

прессия белков-регуляторов апоптоза (bcl-2, p53, CD95), пролиферативной активности (Ki-67), множественной лекарственной резистентности (p-гликопротеин) и онкопротеина c-myc.

Рис. 3. Уровень экспрессии белков-регуляторов апоптоза, пролиферативной активности и мЛР в группах НХЗЛ в соответствии с клиническим вариантом течения: * — показатели, достигшие достоверного уровня значимости отличия ($p < 0,05$) в сравнении с аналогичным критерием из других групп НХЗЛ

Группы неходжкинских лимфом, отличающиеся по агрессивности клинического течения, имели разное представительство указанных маркеров в субстрате опухоли. Так, наиболее высокая экспрессия bcl-2 наблюдалась у пациентов с агрессивными и индолентными лимфомами, p53 — с высокоагрессивными и агрессивными НХЗЛ, c-myc — с лимфобластными и беркитоподобными вариантами, CD95 — в основном мелкоклеточными лимфоидными опухолями. Проллиферативная активность и, следовательно, экспрессия Ki-67 была максимальной при высокоагрессивных и агрессивных НХЗЛ. Продукт MDR1-гена множественной лекарственной устойчивости имел свое представительство в клетках опухолевого субстрата всех типов лимфом, но особенно при крупноклеточных агрессивных лимфоидных неоплазиях.

Учитывая вышеизложенные результаты, было сделано предположение о комбинированном характере экспрессии исследуемых маркеров на опухолевых элементах отдельных вари-

антов НХЗЛ, отличающихся наибольшей скоростью опухолевой прогрессии и наименьшей результативностью лечебных мероприятий.

В целях подтверждения или опровержения данной гипотезы был предпринят математический поиск взаимосвязи между отдельными маркерами. Для этого использовался корреляционный анализ между переменными по принципу формирования парных значений, которые образуются из рассматриваемых зависимых выборок. Для оценки факта наличия корреляционных связей, их силы и направленности применялся коэффициент корреляции Пирсона.

Учитывая наличие принадлежности некоторых маркеров к числу «конституциональных», для отдельных вариантов неходжкинских лимфом такие случаи были удалены из исследуемых кластеров и в дальнейшем не обрабатывались. Так, для анализа критерия bcl-2 была изъята группа фолликулярных НХЗЛ, для c-myc — группа лимфомы Беркитта.

Проведенный анализ подтвердил наличие статистически значимых корреляционных взаимосвязей между признаками (табл. 1).

Основными маркерами, экспрессирующимися синергично друг другу, были *bcl-2*, *p53*, *p*-глико-протеин.

Дополнительными признаками со средней корреляционной связью оказались *c-myc*, *CD95* и *Ki-67*, которые проявили статистическое взаимодействие с тремя основными признаками.

Таблица 1

Определение взаимосвязи между исследуемыми признаками с помощью индекса линейной корреляции Пирсона

Маркер	<i>bcl-2</i>	<i>p53</i>	<i>c-myc</i>	<i>CD95</i>	<i>Ki-67</i>	<i>p</i> -глико-протеин
<i>bcl-2</i>	1					
<i>p53</i>	0,919716	1				
<i>c-myc</i>	0,241046	0,457593	1			
<i>CD95</i>	0,443640	0,032556	-0,279300	1		
<i>Ki-67</i>	0,058122	0,095817	0,357367	-0,250240	1	
<i>p</i> -глико-протеин	0,811492	0,807080	0,388011	0,096987	0,103794	1

Международный прогностический индекс IPI, основанный на клинических и биохимических показателях, хорошо коррелировал с пятью из шести маркеров. Наиболее сильная прямая связь индекса была выявлена с *p*-гликопротеином (коэффициент Пирсона равен +0,85) и *p53* (+0,8) (рис. 4). Остальные признаки демонстрировали среднюю и слабую корреляцию: *CD95* +0,68, *c-myc* +0,72, *bcl-2* +0,7. Отмечалась слабая позитивная связь IPI с *Ki-67* (+0,3).

Показано, что прогностический индекс IPI, большей частью основанный на клинических признаках, которые характеризуют тяжесть состояния пациента и суммарный объем опухолевой массы, апеллирует не столько к степени злокачественности процесса в его молекулярно-биологическом смысле, сколько к общей толерантности пациента к программной полихимиотерапии.

Рис. 4. Схема корреляционных связей между прогностическим индексом IPI и иммуноморфологическими маркерами у больных НХЗЛ

Обсуждение

В настоящее время доказано, что одним из ключевых событий, определяющих резистентность лимфоидных опухолей к химиотерапии, является гиперэкспрессия белка *bcl-2* и мутация мощного фактора онкосупрессии — гена *p53*. Данные нарушения приводят к экспрессии в опухолевых клетках функционально недействительной мутантной формы этого протеина с нивелированием его возможностей для остановки митотической активности поврежденной клетки и инициации в ней апоптоза. К подобному выводу пришли C.V. Dang и соавт. [12]. Исследователями в эксперименте было показано, что сочетание мутаций генов *c-myc*, *p53*, *bcl-2* с гиперэкспрессией соответствующих протеинов является знаковым событием для опухолевой прогрессии лимфоидных неоплазий [22].

Самостоятельным условием для развития лимфоидных неоплазий является неэффективность системы запуска апоптоза «из вне» *Fas-FasL*, возникающая в результате разобщения рецепторного аппарата доменов клеточной смерти с механизмами внешней и внутриклеточной трансдукции апоптозного сигнала. Результаты настоящей работы по экспрессии *p*-гликопротеина подтверждают мнение некоторых исследователей о наличии коренной взаимосвязи перестроек маркеров блока апоптоза с феноменом

множественной лекарственной резистентности [18].

Диагностическую и прогностическую ценность исследования экспрессии белков — маркеров апоптоза подтверждает их корреляция с индексом IP_1 . При этом следует иметь в виду, что высокие значения индекса фактически демонстрируют обоснованность сомнений врача-гематолога о том, как пациент перенесет тяжелую цитостатическую нагрузку и серьезные осложнения ПХТ.

Иммуноморфологические маркеры характеризуют совершенно другую сторону опухолевой прогрессии, нежели показатели индекса IP_1 . Они исследуют злокачественный потенциал опухолевой клетки в его молекулярно-биологическом смысле — способность неопластического клона избегать атаки иммунобиологического надзора организма и быть нечувствительным к проапоптотическому воздействию противоопухолевых препаратов.

Принимая во внимание тот факт, что все цитостатики приводят к гибели опухолевой клетки через повреждение ее генома и запуск программы клеточной смерти, все приобретенные опухолевым клоном на этапах канцерогенеза механизмы блокады апоптоза фактически означают приобретение им резистентности к циторедуктивной терапии.

Следовательно, на ранних этапах болезни, когда объем опухолевой массы невелик, значения индекса IP_1 не будут полностью отражать степень злокачественности процесса. Можно сделать вывод, что индекс IP_1 в отличие от иммунофенотипических маркеров не обладает универсальностью и проявляет свой прогностический потенциал в основном при распространенных случаях НХЗЛ, причем преимущественно агрессивных лимфом, что подтверждается литературными источниками [13].

Заключение

Полученные данные свидетельствуют о совместном влиянии белков-регуляторов апоптоза и множественной лекарственной резистентности на прогноз опухолевой патологии и выживаемость пациентов и подтверждают целесообраз-

ность введения указанных маркеров в стандартную панель моноклональных антител для первичной диагностики неходжкинских злокачественных лимфом.

Молекулярно-биологические маркеры, основанные на глубинных сдвигах в клеточном геноме, уже на самой ранней стадии процесса указывают на весь антиапоптотический арсенал доминирующего клона НХЗЛ [8]. Через них опухоль проявляет степень своей генетической нестабильности и способность во взаимодействии с агрессией лечебных факторов быстро запустить формирование химиорезистентности. Вероятно, именно в этом заключается основное преимущество молекулярно-биологического подхода к прогнозу опухолевой прогрессии над всеми существующими сегодня прогностическими системами.

Литература

1. Воробьев А.И. Руководство по гематологии: В 2 т. / Под ред. А.И. Воробьева. М.: Ньюдиамед, 2003. Т. 2. 277 с.
2. Зенков А.Н., Скворцова Н.В., Черноловская Е.Л. и др. Определение и сравнение частоты встречаемости повышенного уровня экспрессии генов *MDR1* и *MRP* у больных злокачественными лимфомами // Сб. тезисов международной рос.-норв. конф. гематологов. СПб., 2003. С. 73—74.
3. Криволапов Ю.А., Леенман У.У. Морфологическая диагностика лимфом. СПб.: КОСТА, 2006. 208 с.
4. Лушников Е.Ф., Абросимов Ф.Ю. Гибель клетки (апоптоз). М.: Медицина, 2001. 192 с.
5. Мазуров В.И., Криволапов Ю.А. Классификация лимфом. Морфология, иммунофенотип, молекулярная генетика неходжкинских лимфом // Прак. онкогематология. 2004. Т. 5. № 3. С. 166—175.
6. Олейник Е.К., Донников М.Ю., Олейник В.М. Система апоптоза *Fas-FasL* в онкогенезе // Иммунология. 2004. № 4. С. 251—255.
7. Петров С.В. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / Под ред. С.И. Петрова и Н.Т. Райхлина. Казань, 2004. 456 с.
8. Поспелова Т.И., Лосева М.И., Ковынев И.Б. и др. Основы опухолевой прогрессии гемобластозов // Бюл. СО РАМН. 2004. № 2. С. 73—76.
9. Райхлин Н.Т., Райхлин А.Н. Регуляция и проявления апоптоза в физиологических условиях и в опухолях // Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / Под ред. С.И. Петрова и Н.Т. Райхлина. Казань: Титул, 2004. С. 350—366.
10. Эллиниди В.Н., Аникеева Н.В., Максимова Н.А. Практическая иммуногистохимия // СПб.: ВЦЭРМ МЧС России, 2002. 36 с.

11. *Coiffier B., Thieblemont C., Felman P., et al.* Indolent nonfollicular lymphomas: characteristics, treatment, and outcome // *Semin. Hematol.* 1999. V. 36. P. 198—208.
12. *Dang C.V., O'Donnel K.A., Juopperi T.* The great MYC escape in tumorigenesis // *Cancer Cell.* 2005. Sep. V. 8 (3). P. 177—178.
13. *Ghielmini M. Mora O.* Does the FLIPI apply to grade 3 follicular lymphoma? // *Blood.* 2005. June. V. 105. № 12. P. 4892—4893.
14. *Hayat M.A.* Microscopy, immunohistochemistry, and antigen retrieval methods: for light and electron microscopy. N. Y.: Kluwer Academic; Plenum Publishers, 2002. 355 p.
15. *Hemann M.T., Bric A., Teruya-Feldstein J., et al.* Evasion of the *p53* tumour surveillance network by tumour-derived MYC mutants // *Nature.* 2005. Aug. 11. V. 436 (7052). P. 807—811.
16. *Hyer M.L., Sudarshan S., Kim Y., et al.* Down-regulation of c-FLIP sensitizes DU145 prostate cancer cells to fas-mediated apoptosis // *Cancer Biol. Ther.* 2002. V. 1. P. 405—406.
17. *Kamihira S., Yamada Y., Tomonaga M., et al.* Discrepant expression of membrane and soluble isoforms of Fas (CD95/APO-1) in adult T-cell leukaemia: soluble Fas isoform is an independent risk factor for prognosis // *Br. J. Haematol.* 1999. V. 107. P. 851—860.
18. *Kojima Y., Tsurumi H., Goto N., et al.* Fas and Fas ligand expression on germinal center type-diffuse large B-cell lymphoma is associated with the clinical outcome // *Eur. J. Haematol.* 2006, Jun. V. 76 (6). P. 465—472.
19. *Osorio L.M., Aguilar-Santelises M., de Santiago A., et al.* Increased serum levels of soluble Fas in progressive B-CLL // *Eur. J. Haematol.* 2001. V. 66. P. 342—346.
20. *Sonneveld P.* Multidrug resistance in haematological malignancies // *J. Int. Med.* 2000. May. V. 247. P. 521—532.
21. *Thieblemont C., Bastion Y., Berger F., et al.* Mucosa-associated lymphoid tissue gastrointestinal and non-gastrointestinal lymphoma behavior: analysis of 108 patients // *J. Clin. Oncol.* 1997. V. 15. P. 1624—1630.
22. *van Imhoff G.W., Boerma E.J., van der Holt B., et al.* Prognostic impact of germinal center-associated proteins and chromosomal breakpoints in poor-risk diffuse large B-cell lymphoma // *J. Clin. Oncol.* 2006. Sep. 1. V. 24 (25). P. 4135—4142.