

## ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕБІГУ МІЄЛОДИСПЛАСТИЧНОГО СИНДРОМУ: ТРАДИЦІЙНІ ТА НОВІ ФАКТОРИ

**О.І. Бойко**

ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини  
НАМН України», Львів

**Резюме.** У роботі наведено порівняльну оцінку літературних та власних даних щодо відомих та менше вивчених патогенетичних ланок мієлодиспластичного синдрому. Отримані результати вказують на те, що прогресія та лейкемічна трансформація МДС визначається особливостями біології патологічного клону, а саме цитопенією у периферичній крові, клітинністю кісткового мозку та наявністю хромосомних аберацій в гемопоетичних клітинах. Особливе значення надається змінам окремих цитокінів, що впливають на проліферацію патологічних клонів, мають зв'язок з виживанням хворих і можуть, на думку авторів, суттєво доповнити розроблені прогностичні системи.

**Ключові слова:** мієлодиспластичний синдром, рефрактерна анемія, рефрактерна анемія з надлишком бластів, цитокіни.

## ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ТЕЧЕНИЯ МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКОГО СИНДРОМА: ТРАДИЦИОННЫЕ И НОВЫЕ ФАКТОРЫ

ГУ «Институт патологии крови и трансфузионной медицины  
НАМН Украины», Львов

**О.И. Бойко**

**Резюме.** В работе представлена сравнительная оценка литературных и собственных данных относительно известных и менее изученных патогенетических звеньев миелодиспластического синдрома. Полученные результаты свидетельствуют о том, что прогрессия и лейкемическая трансформация МДС предопределяется особенностями биологии патологического клона, а именно цитопенией в периферической крови, клеточностью костного мозга и наличием хромосомных абераций в гемопоетических клетках. Особое значение уделено изменениям отдельных цитокинов, которые влияют на пролиферацию патологических клонов, имеют связь с выживанием больных и могут, по мнению авторов, существенно дополнить разработанные прогностические системы.

**Ключевые слова:** миелодиспластический синдром, рефрактерная анемия, рефрактерная анемия с избытком бластов, цитокины.

## PROGNOSIS OF THE MYELODYSPLASTIC SYNDROME COURSE: CONVENTIONAL AND NOVEL FACTORS

O.I. Boyko

SI «Institute of Blood Pathology and Transfusion Medicine,  
NAMS of Ukraine», Lviv

**Summary.** *The paper presents a comparative analysis of the printed data and own results concerning both well studied and less clear pathogenetic mechanisms of myelodysplastic syndrome. The results obtained suggest that disease progression and leukemic transformation of MDS are determined by the biological features of malignant clone, namely presence of peripheral blood cytopenia, bone marrow cellularity and detection of chromosome aberrations in hematopoietic cells. Changes of levels of certain cytokines are believed to be of special significance since they may influence on proliferation of malignant clones, are related to survival of the patients and according to some reports may become an important addition to existing prognostic scores.*

**Key words:** *myelodysplastic syndrome, refractory anemia, refractory anemia with excess of blasts, cytokine.*

Внаслідок гетерогенності природи мієлодиспластичного синдрому (МДС) пацієнти з цією патологією мають різну тривалість життя та варіабельну ймовірність трансформації в гостру лейкемію (ГЛ). Незважаючи на тривале дослідження, причини виникнення хвороби та фактори, що сприяють її прогресії, залишаються до кінця нез'ясованими [4, 6]. Як наслідок, недостатньо інформативними є запропоновані прогностичні системи, які не дозволяють чітко оцінити перебіг МДС та вибирати оптимальну лікувальну тактику. Залишається актуальним пошук нових прогностичних маркерів, що відображають патогенез окремих підтипів цього неоднорідного захворювання і можуть в перспективі покращити показники відповіді на лікування та виживання хворих.

**Мета.** Вивчення клінічної відтворюваності відомих та виділення нових прогностичних маркерів для оцінки перебігу мієлодиспластичного синдрому та ризику його трансформації в підтипи вищого ризику або гостру лейкемію.

**Матеріали і методи досліджень.** Серед пацієнтів з МДС рефрактерну анемію (РА) діагностовано у 64 хворих, рефрактерну анемію з кільцевими сидеробластами (РАКС) – у 6 осіб, рефрактерну анемію з надлишком бластів (РАНБ) – у 28 пацієнтів та хронічну мієломоніцитарну лейкемію (ХММЛ) – у 10 хворих, віком від 23 до 89 років. У роботі використано загальноклінічні, спеціальні гематологічні та цитогенетичні методи дослідження. Рівень цитокінів TGF- $\beta$  (трансформуючий фактор росту), TNF- $\alpha$  (фактор некрозу пухлини) та VEGF (васкулярний ендотеліальний фактор росту) визначали у сироватці крові

імуноферментним методом за допомогою стандартних наборів «BIOSOURCE», США.

**Результати та їх обговорення.** За період нашого спостереження ГЛ розвинулась у 12 (18,75%) хворих з РА, у 9 (32%) пацієнтів з РАНБ, 3-х (50%) хворих з РАКС та 4-х (40%) пацієнтів з ХММЛ. Встановлено, що трансформація МДС в більш високий підтип або ГЛ прямо пов'язана з поглибленням ступеня вже існуючих, або появою нових цитопеній. У пацієнтів з важкою панцитопенією в периферичній крові порівняно з хворими, у яких мала місце одно або дворосткова цитопенія, перебіг захворювання був більш агресивний, а трансформація в середньому наступала через  $8,5 \pm 3,65$  міс.,  $13,5 \pm 1,45$  міс. та  $14,0 \pm 2,41$  міс. відповідно. Наші дані співзвучні з результатами інших авторів [4], відповідно до яких панцитопенія також розглядається як повноцінна несприятлива прогностична ознака.

В дослідженні В. Stella-Holowiecka і співавт. повідомлялось щодо прогностичного значення абсолютного числа базофілів периферичної крові, зростання якого, за даними авторів, корелювало з несприятливим прогнозом перебігу МДС [7]. У пацієнтів, що знаходились під нашим спостереженням такої тенденції не спостерігалось, що може бути зумовлено меншою вибіркою хворих.

Відповідно до сучасних уявлень не останнє місце в прогнозуванні перебігу та швидкості трансформації МДС займає клітинність кісткового мозку. Встановлено, що у пацієнтів з гіпоклітинною картиною мієлограми трансформація в ГЛ настає рідше, а виживання таких пацієнтів вище [2]. В нашому дослідженні серед трансформованих в ГЛ пацієнтів найчастіше зустрічались пацієнти з гіпер- (54%) та нормоклітинним (25%) кістковим мозком. Хворі з гіпопластичним кістковим мозком, навпаки, мали кращий прогноз щодо перебігу МДС.

У сучасних прогностичних системах МДС чільне місце відводиться змінам каріотипу гемопоетичних клітин. Нормальний каріотип ми спостерігали у 1,4 рази частіше у хворих з РА, в той час як у 75% хворих з РАНБ виявлено хромосомні аномалії різного характеру. Зміни каріотипу гемопоетичних клітин також були виявлені у всіх хворих з ХММЛ та РАКС.

Разом з тим, у частини пацієнтів з нормальним каріотипом, ми спостерігали агресивний перебіг хвороби і швидку трансформацію захворювання, що наводить на думку про більш глибокі порушення гомеостазу при окремих підтипах МДС. Хоча на думку переважної більшості дослідників, наявність хромосомних аберацій є безсумнівною несприятливою прогностичною ознакою [1, 3], їх відсутність, вочевидь, не є гарантією від трансформації в ГЛ. Це стало поштовхом для продовження досліджень в цьому напрямку і зумовило початок використання молекулярногенетичних досліджень і виявлення так званих мовчазних генів при МДС, відповідальних

за процеси становлення та прогресування даного захворювання [6]. На жаль, дослідження такого рівня у наших пацієнтів були недоступними, тому ми скерували зусилля на дослідження нових, менше вивчених факторів, які можуть мати вплив на пухлинну прогресію.

Одним із механізмів еволюції МДС може бути дефект мікрооточення, підтвердженням чого слугують виявлені при МДС якісні та кількісні зміни клітин стромы кісткового мозку з порушенням продукції різних цитокінів, відкриття яких стало одним із важливих досягнень біології не тільки гематологічних захворювань [8, 10]. Становлення МДС супроводжується активною проліферацією стовбурових клітин при одночасній інтенсивній їх програмованій смерті, що є причиною неефективного гемопоезу. Так TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  та VEGF вважаються цитокінами, які не тільки відіграють ключову роль в патогенезі МДС, але часто зумовлюють його прогноз. Є повідомлення про те, що підвищена концентрація TNF- $\alpha$  у хворих на МДС асоціюється з високим ризиком трансформації і скороченням виживання пацієнтів [9, 10], а зменшення екстрацелюлярних рецепторів TGF- $\beta$  на клітинах і ушкодження внутрішньоклітинного TGF- $\beta$  сигналу також може бути маркером трансформації МДС низького ризику [8].

В нашому дослідженні у частини пацієнтів концентрація TNF- $\alpha$  в сироватці змінювалась залежно від стадії хвороби. Так, при РА рівень TNF- $\alpha$  різко зростає у випадках трансформації в МДС вищого ступеня ризику або ГЛ. У більшій частини пацієнтів з РАНБ виявлено вищий, порівняно зі здоровими, рівень TNF- $\alpha$ , причому також спостерігалась тенденція до його зростання у випадках трансформації в ГЛ.

Нами встановлено зв'язок між рівнем TNF- $\alpha$  та ступенем анемії, тромбоцитопенії та лейкопенії: чим вищим був рівень даного цитокіна у сироватці крові, тим глибшою була цитопенія у периферичній крові.

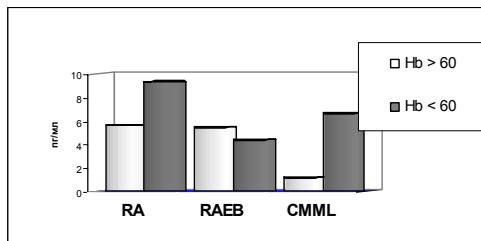


Рис. 1 – Концентрація TNF- $\alpha$  залежно від ступеня анемії при різних підтипах МДС

Залежно від концентрації гемоглобіну хворих з РА, РАНБ та ХММЛ було розподілено на 2 підгрупи – з показниками більше і менше 60 г/л. У пацієнтів з РА та ХММЛ вищий рівень TNF- $\alpha$  корелював з глибшим ступенем анемії. Разом з тим, такої закономірності не спостерігалось у пацієнтів з РАНБ (рис. 1).

Рівень досліджуваного цитокіна у наших пацієнтів залежав також від клітинності кісткового мозку (к/м), що чітко відмічено у пацієнтів з МДС низького ризику. При гіперцелюлярному к/м його концентрація становила  $(71,88 \pm 55,82)$  пг/мл, а найнижчим цей показник був при гіпоклітинній картині кісткового мозку –  $(6,67 \pm 1,60)$  пг/мл. У пацієнтів з РАНБ рівень TNF- $\alpha$  був практично однаковим.

Ще одним цитокіном мікрооточення є васкулярний ендотеліальний фактор росту (VEGF), який вважають позитивним регулятором ангиогенезу, а підвищення його рівня в сироватці чи плазмі спостерігається при прогресуванні захворювання і корелює з вкороченням загального і безрецидивного виживання [5].

У нашому дослідженні ми спостерігали значні коливання рівня VEGF в перебігу МДС: він зростає при прогресуванні хвороби і значно знижувався при елімінації лейкемічного клону. Концентрація VEGF була вищою у групі хворих з РАНБ порівняно з РА втричі і становила  $(126,7 \pm 47,7)$  пг/мл і  $(46,2 \pm 13,2)$  пг/мл відповідно. У хворих з високим рівнем VEGF при дослідженні крові та кісткового мозку виявлявся підвищений рівень лейкоцитів та гіперклітинність к/м. У хворих з низьким рівнем VEGF, навпаки, спостерігалась лейкопенія у периферичній крові та гіпопластична картина к/м. Концентрація цього цитокіна також корелювала з рівнем гемоглобіну периферичної крові у пацієнтів з РА, чого не було відмічено у хворих з РАНБ (рис. 2).

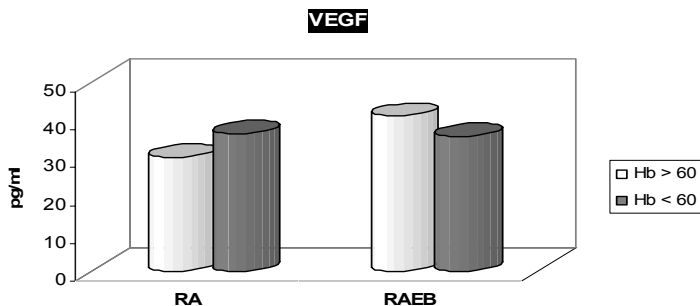


Рис. 2 – Концентрація VEGF залежно від ступеня анемії у хворих з РА та РАНБ

У хворих з низьким VEGF встановлено також низький рівень трансформуючого фактора росту бета (TGF- $\beta$ ), в той час як у хворих з прогресуючим перебігом були одночасно підвищені рівні як TGF- $\beta$ , так і VEGF.

На нашу думку, підвищення рівнів TNF- $\alpha$  та TGF- $\beta$  в процесі трансформації МДС в ГЛ відображає інший аспект дії даних цитокінів, аніж

на етапі становлення МДС, коли їх помірно підвищений рівень є, найімовірніше, наслідком активації клітин стромы у відповідь на пошкодження генотипу гемопоетичних клітин. В процесі трансформації МДС, найімовірніше, внаслідок пошкодження антионкогенів та активації процесів транскрипції пошкодженої ДНК, включається зворотній зв'язок «пухлинний матеріал – строма», наслідком якого є дальше зростання рівнів TNF- $\alpha$  та TGF- $\beta$  з їх пошкоджуючим впливом на залишки нормального гемопоезу. Це припущення підтверджується виявленим зростанням в процесі трансформації МДС у ГЛ такого визнаного маркера пухлинної прогресії як VEGF.

Оцінивши залежність тривалості виживання пацієнтів від рівня TNF- $\alpha$  та VEGF методом регресії Кокса, нами виявлено пограничну залежність загального виживання від концентрації TNF- $\alpha$  у групі РА ( $p=0,052$ ). Послідовний аналіз за Вальдом дав змогу обрати пороговою точкою рівень TNF- $\alpha$  15 пг/мл, при якому різниця між підгрупами була найбільшою. При порівнянні двох підгруп пацієнтів з РА (рівень TNF- $\alpha$  вище і нижче 15 пг/мл) виявлено високозначущу різницю у виживанні ( $p<0.001$ , F-критерій Кокса). Прогнозоване кумулятивне 5-річне виживання при концентрації TNF- $\alpha$  нижче 15 пг/мл становило 66,7%, а при рівні даного цитокіна більше 15 пг/мл – тільки 10,3% (рис. 3).

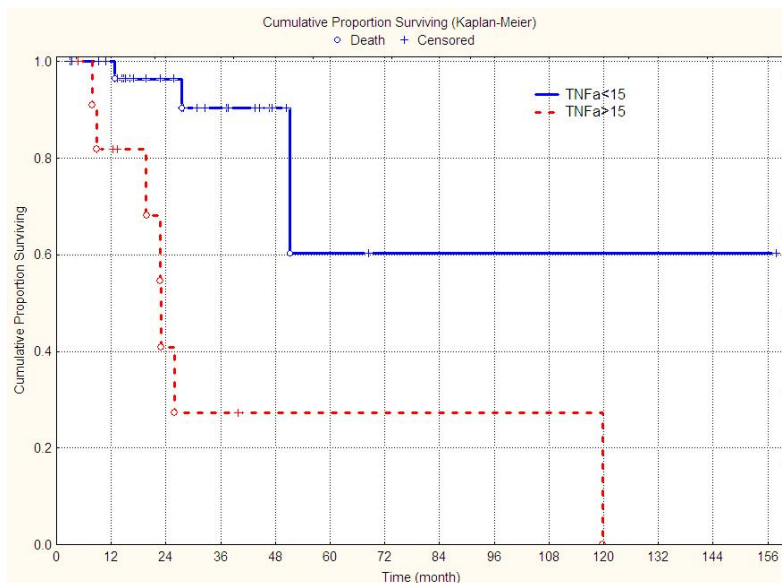


Рис. 3 – Кумулятивне виживання хворих МДС залежно від рівня TNF- $\alpha$

Статистично значимої залежності виживання у пацієнтів з різними підтипами МДС від рівня VEGF не знайдено, що підтверджують інші автори, які вказують, що VEGF не впливає на тривалість загального виживання, але впливає на швидкість трансформації МДС.

Отже, процес лейкемічної трансформації МДС залежить від низки факторів та їх взаємодії і визначається особливостями біології патологічного стану: панцитопенією у периферичній крові, клітинністю к/м, наявністю цитогенетичних і молекулярних змін гемопоетичних клітин, а також співвідношенням проапоптотичних та антиапоптотичних цитокінів. Комплексне дослідження цитологічних та цитогенетичних характеристик гемопоезу при окремих підтипах МДС, доповнене визначенням рівня певних цитокінів, продукція яких є аберантною при даних процесах, може стати основою для розробки нових прогностичних систем, що дозволять забезпечити більш успішну терапію цієї категорії хворих.

### Література

1. Chromosomal lesions and uniparental disomy detected by SNP arrays in MDS, MDS/MPD, and MDS-derived AML / L.P. Gondek, R. Tiu, C.L. O'Keefe et.al. // *Blood*. – 2008. – № 111. – P. 1534–1542.
2. Clinical relevance of bone marrow fibrosis and CD-34 positiv cell clusters in primary myelodysplastic syndrome / M. G. Della Porta, L. Malcovati, E. Boveri et. al. // *Clin Oncol*. – 2009. – № 27 (5). – P. 754–762.
3. Correlation of Cytogenetic findings with morphology, clinical cours and prognosis in 2124 patients with MDS / D. Haase, C. Steidl, J. Schanz et.al. // *Blood*. – 2005. – № 106. – P. 787.
4. Finch, S.C. Myelodysplastic syndromes (MDS): Summery, clinical and laboratory features, classification and prognosis / S.C. Finch // *Leukemia Insights*. – 2004. – P. 3–7.
5. Immunohistochemical detection of VEGF in the bone marrow in patients with myelodysplastic syndromes correlation between VEGF expression and the FAB category / F. Wimazal, M. Krauth, A. Vales et. al. // *Leukemia and Lymphoma*. – 2006. – Vol. 47. – P. 451–460.
6. Kulasekararaj, A.G. Recent advances in understanding the molecular pathogenesis of myelodysplastic syndromes / A.G. Kulasekararaj, A.M. Mohamedali, G. J. Mufti // *Brit Jour of Haematol*. – 2013. – № 162. – P. 587–605.
7. Przyczyny smierci pacjentow z niskitgo ryzyka zespolami mielodysplastycznymi (LR-MDS) [електронний ресурс]: / Stella-Holowiecka, B. – 2010. Режим доступу: [http://hematoonkologia.pl/zespoly\\_mielodysplastyczne/news/id/223](http://hematoonkologia.pl/zespoly_mielodysplastyczne/news/id/223)
8. Suhardjia, A. Role of grows factors and their receptors in proliferation of microvascular endothelial cells / A. Suhardjia, H. Hoffman // *Microsc Res Tech*. – 2003. – № 60. – P. 70–75.
9. Trauth, B.C. Cell death. Guid to Cell proliferation and Apoptosis methods / B. Trauth, J. Keeseey // Mannheim: Boehringer Mannheim. – 1995. – P. 34–62.
10. Westwood, N.B. Apoptosis in myelodysplastic syndromes / N.B. Westwood, G. J. Mufti // *Curr. Hematol rep*. – 2003. – 2(3). – P. 186–192.