

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР
ТРАНСФУЗИОЛОГИИ И МЕДИЦИНСКИХ БИОТЕХНОЛОГИЙ»**

УДК 616.155.392-021.3-07-036

КЛИМКОВИЧ
Наталья Николаевна

**ПЕРВИЧНЫЕ МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИЕ СИНДРОМЫ:
МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА,
ДИАГНОСТИКА, КРИТЕРИИ ПРОГНОЗА**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови

Минск 2015

Работа выполнена в Государственном учреждении образования
«Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Научный консультант: **Козарезова Татьяна Ивановна**, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры детской онкологии и гематологии Государственного учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Официальные оппоненты: **Данилов Иван Петрович**, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории механизмов клеточной лекарственной резистентности Государственного учреждения «Республиканский научно - практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий»

Грицаев Сергей Васильевич, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник клинического отделения Гематология Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научно - исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико - биологического агентства России»

Прохорова Виолетта Игоревна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая диагностическим отделом с группой лучевой диагностики Государственного учреждения «Республиканский научно - практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»

Оппонирующая организация: Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Защита состоится 2 декабря 2015г. в 14.00 часов на заседании совета по защите диссертаций Д.03.11.01 при ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий» по адресу: 220053, г. Минск, Долгиновский тракт, 160. Телефон ученого секретаря (017) 289-86-20, e-mail: 4kosmacheva@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий»

Автореферат разослан «29» октября 2015г.

Ученый секретарь
совета по защите диссертаций,
кандидат медицинских наук, доцент

 С. М. Космачева

ВВЕДЕНИЕ

Миелодиспластические синдромы (МДС) являются редкими и потенциально летальными заболеваниями крови, носят клонный характер и возникают в результате мутации кроветворной стволовой клетки. МДС существует в виде нескольких вариантов, которые отличаются по частоте встречаемости, длительности течения, вероятности трансформации в острый лейкоз (ОЛ) и требуют различной тактики ведения. Показатель заболеваемости МДС наиболее высокий среди лиц пожилого и старческого возраста, хотя в последние годы наблюдается увеличение числа случаев заболевания у молодых людей и детей [Geyer M.B., Jacobson J.S., 2012; Malcovati L. et al., 2013]. Интерес к изучению МДС связан с редкостью и гетерогенной природой этих заболеваний. В результате многолетних исследований происходило накопление как отдельных клинических случаев, так и международных программных наблюдений, позволивших обобщать и анализировать данные изучения различных аспектов МДС. Это обеспечило возможность выделения общих и отличительных черт различных вариантов МДС, а также изучения основ патогенеза. В современном понимании, МДС развивается в результате накопления и отбора специфических генетических или эпигенетических событий на уровне стволовой клетки, следствием чего является дефект взаимодействия мезенхимальных и гемопоэтических клеток [Wang J., Xiao Zh., 2014; Bulycheva E. et al., 2015]. В итоге может формироваться разнообразие вариантов МДС: от длительно персистирующей цитопении до агрессивных форм с генетической нестабильностью и быстрым прогрессированием в лейкоз [Head D.R., 2011]. Темп и вид опухолевой эволюции при различных вариантах МДС весьма вариабельны, что затрудняет выбор терапевтической тактики и определение сроков начала терапии [Грицаев С.В., 2007; Vejar R. et al., 2013]. Кроме того, гетерогенность проявлений МДС служит причиной отсутствия универсальных клинико - лабораторных критериев для диагностики данной патологии [Valent P., Horny H.-P., 2009; Schmitt-Graeff A.H. et al., 2013]. В большинстве случаев предвидеть скорость и направление развития МДС не представляется возможным, и этот факт предопределяет несовершенство существующих прогностических систем [Greenberg P.L. et al., 2012; Malcovati L. et al., 2013]. Манипулирование только морфологическими и количественными показателями крови и костного мозга (КМ) при МДС недопустимо, поскольку значительно снижает прогностический потенциал любой систематизации. Использование хромосомных aberrаций в современной классификации и прогностических системах ограничено низкой частотой их обнаружения, значительным разнообразием и неустановленной прогностической ценностью большинства цитогенетических аномалий [Mittelman M. et al., 2010; Schanz J. et al., 2012].

До настоящего времени диагноз МДС ассоциирован с крайне плохим прогнозом у большинства пациентов и невозможностью достижения успеха при применении стандартных методов противоопухолевой химиотерапии [Мартынов К.А., 2009; D'Al F. et al., 2010; Ferrero D. et al., 2014; Quintas-Cardama A. et al., 2014]. За последнее десятилетие вследствие расширения представлений о биологии и патогенезе МДС существенно изменился подход к лечению этой патологии за счет введения в терапевтический арсенал новых агентов и пересмотра использования уже известных препаратов [Germing U. et al., 2013]. Однако на сегодняшний день следует признать, что принципиальные вопросы выбора тактики лечения МДС далеки от своего разрешения. В первую очередь, требуется научно обоснованная разработка диагностических критериев и показаний для отдельных видов терапии, основанных на методах коррекции биологических процессов, принимающих участие в формировании патологического кроветворения.

Таким образом, несмотря на имеющиеся успехи в изучении данной нозологии, МДС по-прежнему остается сложной и актуальной проблемой в гематологии. Необходимость её решения дает основание для изучения закономерностей прогрессирования первичных МДС с целью определения диагностических и прогностических маркеров, а также разработки критериев для стратификации пациентов по терапевтическим группам.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами и темами

Работа выполнялась в рамках НИР «Изучить структуру и особенности заболеваемости кроветворной системы у детей, проживающих на загрязненных территориях, и определить наиболее эффективные методы диагностики, профилактики и лечения» (1997-1999 гг.), ГНТП № госрегистрации 19994289 от 07.12.1999г.; «Изучить метаболические механизмы, информативно отражающие развитие апоптоза, установить биохимические критерии его формирования и разработать способ оценки реализации сигнала апоптоза при опухолевых заболеваниях крови у детей» (2006-2008 гг.), грант БФФИ № Б06-324 от 01.04.2006г., № госрегистрации 20064097; «Стратификация клинико-лабораторных критериев для определения дифференцированного терапевтического подхода при первичных миелодиспластических синдромах» (2009-2010 гг.), инициативная НИР, № госрегистрации 20092496 от 28.09.2009г.; «Молекулярно-биологические предикторы прогрессирования первичных миелодиспластических синдромов» (2011-2013 гг.), грант БРФФИ № Б11-071 от 15.04.2011г., № госрегистрации 20113518; «Выявление молекулярных прогностических маркеров при хронических миелопролиферативных заболеваниях и

первичных миелодиспластических синдромах для определения тактики лечения» (2011-2013 гг.), приказ ГКНТ РБ от 26.05.2011г. №178, грант БРФФИ № Б11УКР-001 от 01.07.2011г., № государственной регистрации 20120105.

Тема диссертационной работы соответствует положениям п.п. 4.2 и 4.4 «Перечня приоритетных направлений фундаментальных и прикладных научных исследований РБ на 2006–2010 годы» (согласно постановлению Совета Министров РБ от 17 мая 2005г. № 512), положениям п.п. 20, 21, 22, 25 указа Президента РБ № 378 от 22 июля 2010г. «Об утверждении приоритетных направлений научно-технической деятельности в РБ на 2011–2015гг.» и положению п. 4.2 «Перечня приоритетных направлений научных исследований РБ на 2011-2015гг.» (согласно постановлению Совета Министров РБ от 19.04.2010г. № 585).

Цель исследования: повышение эффективности диагностических и терапевтических мероприятий у пациентов с первичными МДС на основе определения патогенетических особенностей, ключевых характеристик прогрессирования заболевания и факторов прогноза.

Задачи исследования

1. Провести сравнительный анализ структуры, клинико-лабораторных особенностей и предикторов прогрессирования первичных МДС у взрослых молодого и среднего возраста и детей.

2. Провести систематизацию параметров клинико-гематологической манифестации, установить диагностическую значимость тестов и оптимизировать диагностический алгоритм при первичных МДС.

3. Выявить закономерности прогрессирования первичных МДС на основании определения роли апоптотических факторов, молекулярно - мембранных нарушений и биологической характеристики клеточного патологического клона.

4. Определить прогностическую значимость клинико-лабораторных параметров и биологических характеристик клеточного патологического клона при первичных МДС.

5. Разработать модель множественных состояний естественного течения первичных МДС для определения факторов, влияющих на прогрессирование заболевания.

6. Разработать схему стратификации пациентов с МДС по терапевтическим группам на основании полученных данных медико-биологической характеристики и критериев прогноза для индивидуализации терапии.

Научная новизна

Автором впервые проведено комплексное исследование про- и антиапоптотических факторов и определена их роль в прогрессировании первичных МДС. Впервые в мировой практике исследовано содержание антиапоптотиче-

ского протеина Akt1 в лизатах клеток КМ при первичных МДС. Впервые проведен сравнительный анализ структуры, клинико-лабораторных особенностей и предикторов прогрессирования первичных МДС у взрослых молодого и среднего возраста и детей. Впервые определена прогностическая значимость биологических характеристик клеточного патологического клона (экспрессия рецепторов CD95 и FLT3, содержание Akt1 в лизатах клеток КМ) при первичных МДС. Впервые определены этапы диагностики МДС для учреждений здравоохранения различного уровня. Впервые в мировой практике разработана модель множественных состояний (с учетом всех возможных событий при МДС «диагноз-смерть», «диагноз-трансформация», «трансформация – смерть») для характеристики течения первичных МДС. Впервые использованы характеристики иммунофенотипа, экспрессия рецепторов CD95 и FLT3 для диагностики и стратификации пациентов с МДС по терапевтическим группам.

Положения, выносимые на защиту

1. У пациентов с МДС разных возрастных групп (до 18 лет, от 18 до 40 лет и от 40 до 60 лет) имеет место вариабельность манифестации и течения МДС, которая определяется структурой вариантов, частотой и видом цитогенетических и диспластических аномалий клеток КМ, интенсивностью прогрессирования. МДС детского возраста имеет особенности клинико-гематологической манифестации, что обуславливает целесообразность его выделения в классификации. Система IPSS демонстрирует высокую прогностическую значимость у взрослых пациентов и имеет низкий прогностический потенциал при МДС детского возраста. Предиктором неблагоприятного течения при МДС детского возраста является содержание HbF более 8% клеток.

2. В комплекс клинико-гематологических критериев, имеющих диагностическое значение для МДС, необходимо включать ряд параметров биологической характеристики гемопоэза: иммунофенотипический анализ с использованием панели моноклональных антител (CD45, CD34, CD117, CD13, CD33, CD15, CD11c, CD64, CD4, CD8, CD5, CD7, CD2, CD19, CD22, CD10, CD71, CD109, CD25), экспрессия CD95 и FLT3.

3. Активность процессов апоптоза различна в зависимости от варианта МДС: варианты низкого риска характеризуются гиперэкспрессией проапоптотических молекул (Annexin V, CD95, TNF- α) и снижением экспрессии антиапоптотического рецептора p53; варианты высокого риска имеют обратную зависимость про- и антиапоптотических факторов.

Содержание протеина Akt1 в лизатах клеток КМ при МДС отражает апоптотическую готовность и определяет прогрессирование заболевания. Уровень Akt1 более 500 пг/мл является пороговым для начала неконтролируемых биологических процессов, влекущих за собой снижение апоптотической готовности и высокую клоновую пролиферативную активность.

Выраженность экспрессии тирозинкиназного рецептора FLT3 при МДС неоднородна в зависимости от варианта и характера прогрессирования: при вариантах МДС с количеством бластов до 5 % регистрируется наименьшее количество рецепторов по сравнению с вариантами МДС с количеством бластов 5-9% и количеством бластов $\geq 10\%$. Высокий уровень экспрессии FLT3 ($\geq 60\%$) имеет связь со скоростью прогрессирования первичных МДС.

При МДС высокая апоптотическая активность служит фактором, ограничивающим клоновую прогрессию: при уровне экспрессии CD95 $>40\%$ количество рецепторов FLT3 не превышает 60%. Угнетение процессов апоптоза сопровождается усилением пролиферативной готовности, что ведет к экспансии патологического клона: в группе с экспрессией CD95 $>40\%$ и FLT3 $<60\%$ средняя длительность периода до трансформации в острый лейкоз составляет 24,5 (2...78) месяцев, в группе с экспрессией CD95 $>40\%$ и FLT3 $<60\%$ - 8 (2...46) месяцев, в группе с экспрессией CD95 $\leq 40\%$ и FLT3 $\geq 60\%$ - 3 (2...16) месяца.

4. На показатель общей выживаемости при МДС (наряду с международно признанными факторами прогноза, включенными в систему IPSS) имеют влияние следующие критерии: количество тромбоцитов в крови, омоложение гранулоцитарного ростка по данным трепанобиопсии, экспрессия клетками КМ CD95 и FLT3. Наличие уровня экспрессии FLT3 бластными клетками КМ 60 % и более в сочетании со снижением экспрессии CD95 менее 40 % служит неблагоприятным прогностическим фактором, резко ограничивающим вероятность выживания при МДС.

5. На основании разработанной модели множественных состояний (с учетом всех возможных событий при МДС «диагноз-смерть», «диагноз-трансформация», «трансформация – смерть») естественное течение первичных МДС характеризуется следующими закономерностями: риск трансформации в острый лейкоз повышается с уменьшением возраста; риск перехода в терминальное состояние (через трансформацию и без трансформации) увеличивается с возрастом; длительность периода до трансформации является неблагоприятным фактором, определяющим быстрый переход в терминальное состояние после трансформации; экспрессия CD95 является единственным предиктором, который ассоциирован со всеми тремя переходами (низкое его значение повышает риск перехода как в состояние трансформации, так и в терминальное состояние).

6. При применении стандартных методов терапии первой линии (иммуносупрессивная терапия, низкодозовая химиотерапия (ХТ), интенсивная ХТ, поддерживающая терапия) и разделении по терапевтическим группам в зависимости от категории риска согласно IPSS показатели общей трехлетней выживаемости при МДС у пациентов молодого и среднего возраста не имеют статистически значимых различий. Стратификация пациентов с МДС по группам для

определения вида и сроков начала терапии должна включать комбинацию факторов: вариант МДС, категория риска по IPSS, характеристика цитопении, количество бластных клеток в КМ, наличие и вид хромосомных аномалий, особенности иммунофенотипа, экспрессия CD95 и FLT3. При экспрессии CD95 менее 40% показано раннее начало интенсивной ХТ, что способствует повышению частоты достижения костномозговой ремиссии на 19% и стабилизации на 24%, снижению частоты случаев рефрактерности на 43% и ранней летальности на 33%.

Личный вклад соискателя

Автором лично осуществлен анализ отечественной и зарубежной литературы, определены состояние проблемы и круг нерешенных вопросов, лично проведен патентно-информационный поиск, сформулированы цель и задачи, выбраны методы, произведена разработка дизайна исследования. Диссертантом самостоятельно выполнялся анализ амбулаторных карт и историй болезни, проводилось клиническое динамическое наблюдение за пациентами, консультирование и диагностические манипуляции у части пациентов, формирование компьютерной базы, медико - статистический анализ, обобщение результатов и интерпретация полученных данных, формулирование научных положений и практических рекомендаций, оформление диссертационной работы.

Общеклинические исследования осуществлялись совместно с сотрудниками отделений и лабораторий Республиканского центра гематологии и пересадки костного мозга УЗ «9-я городская клиническая больница» г. Минска, РНПЦ радиационной медицины и экологии человека и РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии.

Анализ результатов иммунологических исследований проведен совместно с сотрудниками лаборатории иммунофенотипирования Республиканского центра гематологии и пересадки костного мозга УЗ «9-я городская клиническая больница» г. Минска Смольниковой В.В. и Гриневич В.Ю., РНПЦ радиационной медицины и экологии человека Пугачевой Ж.Н. и иммунологической группы НИЛ БелМАПО к.мед.наук доцентом Зафранской М.М., ст. науч. сотрудником Иванчик Г.И., ст. науч. сотрудником к. биол. наук Нижегородовой Д.Б.

Цитогенетические исследования осуществлялись в соответствии с планом обследования пациентов при подозрении на МДС в цитогенетических лабораториях Республиканского центра гематологии и пересадки костного мозга УЗ «9-я городская клиническая больница» г. Минска, РНПЦ радиационной медицины и экологии человека и РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии.

Анализ активности активированной формы Akt1 в лизатах клеток КМ проведен совместно с сотрудниками лаборатории медицинского микроанализа

ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси» д.мед.наук профессором Н.В. Пивень и мл. науч. сотрудником М.Н. Тишкевич.

Анализ биофизических параметров мембран эритроцитов и лимфоцитов проведен совместно с сотрудниками лаборатории медицинской биофизики ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси» чл.-корр. НАН Беларуси д. биол. наук профессором Е.И. Слобожаниной и науч. сотрудником Г.П. Зубрицкой.

Статистические расчеты проводились с консультативно-методической помощью и при непосредственном участии вед. науч. сотрудника лаборатории биоинформатики ГНУ «Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси» к.техн.наук доцента О.В. Красько.

В совместных публикациях соавторы принимали участие в сборе данных, постановке задач и определении стратегии исследования, а также в предварительном анализе полученных результатов.

Диссертант принимала участие в разработке патента (Способ прогнозирования летального исхода у пациента с первичным миелодиспластическим синдромом / Н.Н. Климович, О.В. Красько, М.Н. Тишкевич, Т.И. Козарезова), методических разработок (Распространенность и клиничко – лабораторная характеристика апластической анемии, миелодиспластического синдрома и гемофилий у детей, проживающих на загрязненных территориях Республики Беларусь: метод. рекомендации № 169-0012: утв. 28.02.2001 г. / Т.И. Козарезова, Н.Н. Климович, Е.П. Иванов, Л.П. Шуваева, В.Н. Гапанович, Л.И. Волкова, Р.Ф. Ярошевич, Н.К. Шаповалюк, Г.Г. Винокурова, Н.М. Мельчакова) и инструкции по применению (Метод иммунофенотипического выявления опухолевых клеток при первичных миелодиспластических синдромах: инструкция по применению № 075 – 0714: утв. МЗ РБ 17.10.2014г. / сост. В.В. Смольникова, Н.Н. Климович, Н.Ф. Миланович, А.Л. Усс), Клинического протокола диагностики и лечения пациентов в возрасте старше 18 лет с миелодиспластическим синдромом (Утвержден МЗ РБ, приказ № 662 от 31.05.2012г.), рационализаторских предложений (Способ дифференцировки терапевтических методов при первичных миелодиспластических синдромах / Н.Н. Климович, Т.И. Козарезова, И.А. Искров. - Минск: БелМАПО, 2010; Этапы и алгоритм диагностики при первичных миелодиспластических синдромах / Н.Н. Климович, А.Л. Усс, В.Г. Бебешко, С.В. Клименко, Т.И. Козарезова, Д.И. Суворов, Л.В. Колбаско, Т.Ф. Любарец. - Минск: БелМАПО, 2013; Стратификация пациентов с первичными миелодиспластическими синдромами по терапевтическим группам / Н.Н. Климович, А.Л. Усс, В.Г. Бебешко, С.В. Клименко, Т.И. Козарезова, Д.И. Суворов, Л.В. Колбаско, Т.Ф. Любарец. - Минск: БелМАПО, 2013), учебно-методических пособий (Болезни крови у детей: учебное пособие, допущено Министерством образования РБ в качестве учебного пособия для студентов ме-

дицинских высших учебных заведений / Т.И. Козарезова, Н.Н. Климкович; Первичные миелодиспластические синдромы у детей (современные представления об онкогенезе, эпидемиология и этиология, клинические и диагностические аспекты, терапевтические направления): учебное пособие для врачей / Т.И. Козарезова, Н.Н. Климкович).

Апробация результатов диссертации.

Основные положения диссертационной работы доложены на VIII Международном симпозиуме «Актуальные вопросы детской онкологии и гематологии» (Минск, 2000), IV конгрессе «Polony medycznej» (Варшава, 2000), VI Международном симпозиуме по МДС (Стокгольм, 2001), Российской научно-практической конференции «Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии» (Санкт-Петербург, 2002), Международной конференции «Reactive oxygen and nitrogen species, antioxidants and human health» (Смоленск, 2003), III Международном симпозиуме «MDS in childhood» (Stresa, 2003), III съезде онкологов и радиологов СНГ (Минск, 2004), 38 ежегодном научном съезде Европейского общества клинических исследований (Утрехт, 2004), VI съезде белорусского общественного объединения фотобиологов и биофизиков «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем» (Минск, 2004), 15-ой научной сессии Гомельского ГМУ «Актуальные проблемы медицины» (Гомель, 2005), Республиканской научно-практической конференции, посвященной 75-летию БелМАПО (Минск, 2006), VIII съезде педиатров (Минск, 2006), IX Международном симпозиуме по МДС (Флоренция, 2007), V Международной конференции «Медико – социальная экология личности: состояние и перспективы» (Минск, 2007), VII съезде специалистов клинической лабораторной диагностики (Минск, 2007), 12-м конгрессе Европейской ассоциации гематологов (Вена, 2007), VI съезде гематологов и трансфузиологов РБ (Минск, 2007), VI Международной конференции «Медико – социальная экология личности: состояние и перспективы» (Минск, 2008), Научно-практической конференции «Анемический синдром в клинике внутренних болезней» (Ивано-Франковск, 2008), Международной научной конференции «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем» (Минск, 2010), Научно - практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы гематологии» (Гомель, 2011), Республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины» (Гомель, 2011), X международной конференции «Медико-социальная экология личности: состояние и перспективы» (Минск, 2012), VII съезде гематологов и трансфузиологов Республики Беларусь «Актуальные проблемы гематологии и трансфузиологии» (Минск, 2012), III международной научно-практической конференции «Фундаментальные и прикладные проблемы стресса» (Витебск, 2013), II Международном медицинском конгрессе (Киев, 2013), XI Междуна-

родной научно-практической конференции «Теоретические и практические аспекты развития научной мысли» (Москва, 2015).

Опубликованность результатов диссертации. По материалам диссертации опубликовано 76 работ, в том числе 2 монографии (10,3 и 11,8 авторских листов), 1 книга и 1 глава в коллективных монографиях, 2 учебно-методических материалов, 23 статьи в рецензируемых научных журналах (14,63 авторских листов). Без соавторов опубликовано 11 научных работ (16,4 авторских листа), из них 1 монография. Утверждены МЗ РБ инструкция по применению и методические рекомендации, получены уведомление о положительном результате предварительной экспертизы заявки на изобретение, 3 свидетельства о рационализаторском предложении, 7 актов внедрения методик диагностики и лечения МДС в учреждения здравоохранения РБ и Украины, 10 актов внедрения материалов диссертационной работы в учебный процесс медицинских вузов РБ.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 280 страницах, состоит из введения, общей характеристики работы, 7 глав, заключения, списка использованных источников, включающего 405 библиографических наименований, приложений. Материал иллюстрирован 47 рисунками и 44 таблицами.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Исследование проводилось на базе отделений гематологии УЗ «9 городская клиническая больница» г. Минска, ГУ «РНПЦ радиационной медицины и экологии человека», ГУ «РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии». Клинические критерии включения в исследование: верифицированный диагноз МДС, установление варианта заболевания в соответствии с критериями ВОЗ классификации миелоидных неоплазий (2008). Работа основана на анализе данных обследования 360 пациентов: 313 взрослых (239 с МДС и 74 с ОМЛ) и 47 детей (18 с МДС, 13 с миелопролиферативными/миелодиспластическими заболеваниями (СММЛ/JMML), 16 с ОМЛ). Материалом исследования служили клиничко-anamnestические данные, периферическая кровь (ПК) и КМ.

Иммунофенотип клеток КМ и экспрессию рецепторов FLT3, CD95, AnnexinV, TNF и p53 определяли методом многоцветной проточной цитофлуориметрии на проточном цитометре FACSCantoII (Becton Dickinson, США), оснащенном тремя лазерами (488 нм, 633 нм, 405 нм). Используются наборы моноклональных антител AnnexinV-FITC-kit (R&DSystems, США), FLT3 (CD135) (R&DSystems, США), FITC labeled p53 Isotyp Set (Beckman Coulter, США), CD95 (Beckman Coulter, США) и TNF (Beckman Coulter, США).

Исследование кариотипа проведено с применением стандартного GTG-метода, в ряде случаев методом FISH.

Активированную форму Akt1 в лизатах клеток КМ определяли иммуноферментным методом с помощью набора «Total-Akt1 DuoSet IC» (R&D Systems, Inc. США) в лаборатории медицинского микроанализа ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси».

Исследование клеточных мембран проводилось в лаборатории медицинской биофизики ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси». Для изучения физико-химического состояния липидного бислоя мембран эритроцитов использованы липофильные флуоресцентные зонды: пирен, 1,6-дифенил-1,3,5-гексатриен (ДФГ) и 1-(4-триметиламмоний-фенил)-6фенил-1,3,5 гексатриен (ТМА-ДФГ), N-1(1-пиренил-малеимид) (ПМ). Микровезикуляцию эритроцитов определяли по величине активности ацетилхолинэстеразы. Физическое состояние мембран лимфоцитов исследовано с помощью флуоресцентных зондов пирен, ТМА-ДФГ и 6 – додеканол – 2 - диметиламинонафталена (лаурдан). Измерения проводили на спектрофотометрах CM2203 («СОЛАР», Беларусь) и Specord M-40 (Германия).

Исследование микроэлементного состава волос и крови проведено энергодисперсионным методом на установке Спектрэйс-500 (EDXRE и XRE) в Институте радиозэкологических проблем НАН Беларуси и методом нейтронноактивационного анализа на реакторе TRIGA (Институт ядерной химии, Майнц, Германия).

В статистическом анализе результаты измерений количественных переменных представлены медианой и размахом, категориальных – количеством и процентами от численности группы. Анализ категориальных переменных по группам проводился с помощью хи-квадрат критерия. В случае нарушений предположений, лежащих в основе хи-квадрат критерия, использовался точный критерий Фишера-Фримана-Халтона. Сравнение переменных двух групп проводилось с помощью критерия Вилкоксона-Манна-Уитни, трех и более групп - по критерию Краскела-Уоллиса. Графическая аппроксимация зависимостей представлена с помощью алгоритма LOESS. Анализ данных выживаемости проводился на основе оценки Каплан-Майера и по таблицам дожития. Однофакторный анализ прогностических параметров проводился с помощью логрангового критерия. Для мультифакторного анализа и оценки отношения рисков (HR) использована регрессионная модель Кокса. Для выбора значимых показателей в мультифакторном анализе использовался метод пошагового исключения на базе AIC критерия. Для построения модели множественных состояний использовался статистический пакет msSurv. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Расчеты и рисунки выполнены в статистическом пакете R версия 3.1.3. Статистический анализ выполнен в лаборатории биоинформатики ГНУ «Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинико-гематологическая манифестация МДС

На начальном этапе в исследование были включены 239 пациентов с различными вариантами МДС в возрасте от 18 до 84 лет (медиана возраста составила 67,5 лет) с преобладанием в структуре по полу женщин (132 (55,2%) и 107 (44,8%) соответственно). Далее для возможности сопоставления анализируемых показателей когорты включенных в исследование была ограничена возрастом до 60 лет, с которого наблюдается максимально высокий процент сопутствующих соматических заболеваний, влияющих на клиническую манифестацию МДС и данные лабораторного обследования. В итоге в исследование были включены данные 144 пациентов с различными вариантами МДС. Возрастная структура представлена диапазоном от 18 до 60 лет (медиана 49 лет). Согласно критериев ВОЗ классификации миелоидных неоплазий (2008г.) варианты заболевания были распределены следующим образом: в 13,9% случаев диагностирована рефрактерная анемия (РА) как вариант рефрактерной цитопении с однолинейной дисплазией, в 38,2% - рефрактерная цитопения с множественной дисплазией (RCMD), в 43,7% - рефрактерная анемия с избытком бластов (RAEB) и в 4,2% - МДС 5q- синдром. Длительность додиагностического периода составила в среднем 4 месяца (от 1 до 38 мес.). Трансформация в ОЛ в группе молодого возраста (до 40 лет) произошла у 66,7% (36/24) пациентов в течение 16,0 (3...105) месяцев. Пациенты возрастной группы 40-60 лет имели трансформацию МДС в ОЛ в 52,4% (103/54) случаев при средней длительности периода заболевания до трансформации 14 (3...160) месяцев. То есть, прогрессирование МДС с трансформацией в ОЛ у пациентов до 40 лет происходит медленнее, но более часто. Группу пациентов с МДС в возрасте до 18 лет (медиана возраста 8,1 лет) составили 18 пациентов. Распределение по полу показало незначительное преобладание девочек (1,25:1). В клинической картине у 61,1% ведущим определен анемический синдром, в 16,6% случаев - инфекционные осложнения, у 33,3% пациентов - геморрагический синдром.

Сравнительный анализ клинико-лабораторной характеристики МДС в зависимости от возраста позволил установить особенности клинико-гематологической манифестации данного заболевания в возрастных группах до 18 лет, 18-39 лет и 40-60 лет, что в итоге проявляется различной структурой вариантов ($p=0,028$) и категорий риска по шкале IPSS ($p=0,001$). Анемия в большинстве случаев МДС у детей характеризуется как нормохромная, нормоцитарная и норморегенераторная. В то время как для МДС у взрослых, независимо от возрастной группы, одним из отличительных признаков дисплазии является макроцитоз: средние значения MCV у детей составляют 86,5 (73...103) мкм³, в возрастной группе 18-39 лет - 101 (88...108) мкм³ и в возрастной группе 40-60 лет - 102 (83...123) мкм³ ($p<0,001$). Глубина анемии более выражена в старшей воз-

растной группе: среднее значение концентрации гемоглобина у пациентов 40-60 лет составило 81,5 (43...137) г/л при аналогичных показателях в группе 18-39 лет 86,5 (63...117) г/л ($p = 0,014$). Гипоцеллюлярный КМ характеризует детский МДС намного чаще, чем у взрослых: 22,2% у детей при 2,8% в группе 18-39 лет и отсутствии данного признака в группе 40-60 лет ($p < 0,001$). Отличительной чертой костномозгового кроветворения при МДС у взрослых является гиперклеточность. Гиперплазия эритроидного ростка и наличие микроформ мегакариоцитов также служат весьма частыми признаками МДС у взрослых, независимо от возраста (72,2% и 94,4% в возрастной группе 18-39 лет; 62% и 92,6% в возрастной группе 40-60 лет соответственно). При этом у детей с МДС данные признаки регистрируются только в 22,2 % и 66,7% случаев ($p < 0,001$ и $p = 0,002$ соответственно). Омоложение гранулоцитарного ростка ($p = 0,022$) и фиброз стромы КМ ($p = 0,036$) статистически значимо чаще встречаются при МДС в возрастной группе 40-60 лет по сравнению с пациентами до 18 лет и 18-39 лет.

При анализе хромосомных aberrаций нормальный кариотип выявлен в 71,8% случаев. У 28,2% пациентов обнаружены хромосомные аномалии, которые представлены в 18,3% случаев изолированными и в 9,9% случаев комплексными дефектами. Анализ структуры цитогенетических аномалий при первичных МДС в зависимости от варианта показал значительные различия, несмотря на примерно одинаковую частоту нормального кариотипа. Пациенты с вариантами RA и 5q-синдром имели только изолированные хромосомные aberrации, из которых 25% пришлось на del (5q31). При варианте RCMD комплексные аномалии кариотипа регистрировались в полтора раза реже, чем изолированные (8,2% и 12,2% соответственно), а при варианте RAEB их количество равное (по 15,5%). Кроме того, все варианты МДС характеризовались значительно более высоким процентом несбалансированных хромосомных aberrаций по сравнению со сбалансированными. Среди выявленных изолированных хромосомных aberrаций преобладали делеции (50%). Сбалансированные цитогенетические аномалии в виде транслокаций составили треть всех изолированных нарушений кариотипа. Анализ распределения вариантов кариотипа у пациентов с первичными МДС в зависимости от возраста не выявил различий в частоте встречаемости всех цитогенетических аномалий при значительном расхождении по их структуре. В старшей возрастной группе по сравнению с группой до 40 лет статистически значимо преобладали хромосомные aberrации в виде комплексных аномалий (11,2% и 6,1% соответственно) и изолированной аномалии в виде del5q31 (5,2% и 3% соответственно). При этом общее число изолированных хромосомных дефектов в группе пациентов до 40 лет было несколько выше - 24,2% при 16,3% в группе 40-60 лет. Таким образом, у пациентов с МДС по мере увеличения возраста снижается частота нормального кариотипа с повышением числа несбалансированных и комплексных aberrаций.

Проведенный анализ клинико – лабораторных характеристик МДС в нескольких возрастных группах свидетельствует о наличии общих клинических и лабораторных проявлений, следовательно, о возможных единых патофизиологических механизмах формирования данной патологии в различных возрастных группах. При этом у пациентов с МДС разных возрастных групп (до 18 лет, от 18 до 40 лет и от 40 до 60 лет) имеет место вариабельность манифестации и течения МДС, которая определяется структурой вариантов, частотой и видом цитогенетических и диспластических аномалий клеток КМ, интенсивностью прогрессирования. МДС детского возраста представляет собой отдельную группу заболевания с особенностями клинико-гематологической манифестации, отличными от взрослых пациентов, что обуславливает целесообразность его выделения в классификации.

Биологическая характеристика гемопоэза при первичных МДС у лиц молодого и среднего возраста

Диспластические изменения клеток ПК и КМ гетерогенны в своем выражении в каждом индивидуальном случае и могут затрагивать один или несколько клеточных ростков, являются важным признаком МДС и обязательным диагностическим критерием данной патологии. При исследовании физического состояния мембран лимфоцитов с помощью пирена установлено, что средние значения Кэкс пирена всех пациентов с МДС ($0,493 \pm 0,06$ отн.ед.) были достоверно ниже по сравнению с контрольными ($0,860 \pm 0,03$ отн.ед.), и наиболее значительное снижение регистрировалось при варианте РАЕВ ($0,431 \pm 0,04$ отн.ед.). Полученные результаты свидетельствуют об изменении микровязкости мембранных липидов лимфоцитов ПК при первичных МДС.

При сопоставлении показателей зондовой флуоресценции в зависимости от варианта заболевания, а так же количества бластных клеток, экспрессирующих CD95, у пациентов с МДС была выявлена корреляция изменения степени экспрессии CD95, Кэкс пирена ($r = 0,761$, $p = 0,03$) и GP лаурдана ($r = -0,632$, $p = 0,04$), а также достоверно более низкие значения параметра Кэкс пирена при варианте РАЕВ по сравнению с РА. Этот факт указывает на совокупность процессов Fas-опосредованного апоптоза и изменения физического состояния мембран лимфоцитов у пациентов с МДС. Степень изменения состояния мембранных липидов лимфоцитов при МДС зависит от варианта и выраженности апоптотической готовности клетки. Параметры Кэкс пирена и генерализованной поляризации лаурдана могут служить дополнительными факторами, отражающими степень поражения клетки, и быть использованы в качестве диагностических и прогностических параметров.

Анализ иммунофенотипа клеток КМ показал, что отличительной особенностью бластных клеток при МДС является высокий уровень экспрессии и частота встречаемости 99% CD34, что позволяет оценивать их иммунофенотипи-

ческую характеристику в регионе CD45^{low} CD34⁺, учитывая их особенности распределения по FSC/SSC (прямое и боковое светорассеяние) и CD45, используя постадийное гейтирование. При обследовании пациентов с МДС использована специфическая панель моноклональных антител, которая включала CD45, CD34, CD117, CD13, CD33, CD15, CD11c, CD64, CD4, CD8, CD5, CD7, CD2, CD19, CD22, CD10, CD71, CD109, CD25. В результате проведенных исследований установлено, что, несмотря на гетерогенность иммуноцитологического состава клеток КМ при разных вариантах МДС, прослеживается общая основная характеристика иммунофенотипа, которая соответствует таковой совершенных миелоидных предшественников (CD34⁺, HLA-DR⁺, CD13⁺, CD33⁺). В популяции бластных клеток обнаруживается асинхронная экспрессия антигенов, связанных с созреванием клеток гранулоцитарного ряда, а также aberrантная экспрессия антигенов лимфоидных линий (CD5, CD7, CD2, CD19, CD10) и нелинейно специфических маркеров (CD25, CD56, CD9, CD109, CD71). Наряду с этим определены значительные различия в частоте встречаемости и степени экспрессии некоторых антигенов при МДС и ОМЛ. Для бластных клеток при МДС характерна гиперэкспрессия CD34 (97,34 (84...100)%) по сравнению с первичными ОМЛ, где уровень экспрессии CD34 статистически значимо ниже (56,77 (0...99)%, $p=0,00001$). Также МДС характеризует гиперэкспрессия миелоидных маркеров CD13 (87,27 (1...99)%) и CD117 (88,92 (27...100)%). При этом уровень CD33 (57,72 (2...99)%) и CD15 (11,75 (0...83)%) статистически значимо ниже соответствующих параметров при ОМЛ (67,77 (0...99)% и 23,16 (0...84)% соответственно), $p<0,05$. Бластные клетки, имеющие рецепторы CD10 и/или CD5, определяются исключительно при МДС. Aberrантная экспрессия T-клеточного маркера CD7 также статистически значимо чаще встречается при МДС по сравнению с ОМЛ (52% и 29,7% при средних значениях экспрессии 22,34 (0...96)% и 13,38 (0...98)% соответственно, $p=0,04$). Экспрессия B-клеточного лимфоидного маркера CD19, напротив, более выражена и чаще встречается при ОМЛ по сравнению с МДС (10,9% и 2,8% при средних значениях экспрессии 2,99 (0...39)% и 1,8 (0...43)% соответственно). Частота встречаемости маркеров CD56 и CD109 не имеет статистически значимых различий у пациентов МДС и ОМЛ, но данные рецепторы не определяются на миелоидных клетках - предшественниках донорского КМ. Экспрессия CD25 чаще обнаруживается у пациентов с МДС (32,4%) по сравнению с ОМЛ (12,2%), $p=0,02$, при одинаковых средних значениях экспрессии (8,27 (0...86)% и 8,24 (0...72)% соответственно). Рецептор CD38, наоборот, характерен больше для бластных клеток ОМЛ (81,2 (19...99)% и 71,1 (2...100)% соответственно). Помимо описанной выше панели моноклональных антител для изучения фенотипа бластных клеток при МДС были использованы CD95 и CD135. Установлено, что средние значения экспрессии рецепторов CD95 и CD135 при МДС и ОМЛ

имеют статистически значимые различия: высокая экспрессия CD95 при МДС (40,56 (2...94)%) по сравнению с ОМЛ (10,23 (0,5...14,2)%) и высокая экспрессия (80,6 (7,24...98,5)%) антигена CD135 в 100% случаев ОМЛ в отличие от МДС, когда данный показатель значительно ниже (49,05 (0,7...97)%). Данные рецепторы предложены в состав диагностической панели моноклональных антител для МДС. В дальнейшем исследовании проведена оценка взаимосвязи экспрессии CD95 и CD135 бластными клетками КМ с основными клинико-морфологическими характеристиками заболевания для определения дополнительных критериев прогноза первичных МДС.

В результате анализа экспрессии апоптоз-ассоциированных молекул CD95, Annexin V, TNF α и p53 на клетках КМ определен достоверно более высокий процент Annexin V-позитивных клеток КМ при варианте RA по отношению к другим вариантам: RCMD и RAEB (таблица 1). Экспрессия TNF- α не имела достоверных различий в зависимости от варианта МДС, хотя самое низкое значение данного показателя характеризовало группу пациентов с RAEB. Частота встречаемости рецептора P53 на клетках КМ при МДС оказалась достоверно ниже при RA по сравнению со средними значениями этого параметра как при варианте RCMD, так и при варианте RAEB. Анализ экспрессии CD95 позволил установить гиперэкспрессию CD95, достоверно различную по отношению ко всем остальным вариантам МДС (таблица 1).

Таблица 1.- Экспрессия апоптоз-ассоциированных молекул на клетках костного мозга при первичных миелодиспластических синдромах

Параметр	Вариант МДС			Все варианты МДС	p
	RA, 5q- синдром	RCMD	RAEB		
Annexin V, %	9,95 (3...17) n=10	4,7 ^{#1-2} (0,5...19) n=21	2,95 ^{#1-3} (0,7...11,1) n=26	4,7 (0,5...19) n=53	0,0029
CD95, %	58,5 [#] (13,24...94) n=12	19,25 [#] (2,96...84) n=23	11,8 [#] (2,13...74,5) n=25	15,36 (2,13...94) n=60	0,0005
TNF α , %	1,2 (0,01...2,3) n=11	0,67 (0,1...3) n=20	0,34 (0,11...2,7) n=24	0,62 (0,01...3) n=55	0,3362
P53, %	0,25 (0,03...0,96) n=10	0,71 ^{#1-2} (0,1...1,7) n=17	0,66 ^{#1-3} (0,1...8,2) n=20	0,6 (0,03...8,2) n=47	0,0235

[#] – различия (p<0,05) между всеми группами с поправкой на множественные сравнения

^{#1-2}, ^{#1-3} – различия (p<0,05) между соответствующими группами с поправкой на множественные сравнения

Основным очевидным проявлением прогрессирования МДС является прирост количества бластных клеток и трансформация в ОЛ. При сопоставлении количества Annexin V - позитивных клеток, экспрессии CD95, TNF- α и процента бластов КМ установлены обратные корреляционные зависимости. Процент Annexin V - позитивных клеток и экспрессия TNF- α имели направленность к снижению по мере увеличения количества бластных клеток: от среднего значения 1,1% и 7,1% в группе с количеством бластов в КМ менее 5% до

0,2% и 3,5% в группе с количеством бластов в КМ 15-20%. Достоверно более высокие показатели экспрессии CD95 также соответствуют вариантам МДС с малым количеством бластов (RA, RCMD). В группе пациентов с количеством бластов КМ < 5% средняя экспрессия CD95 составила 39(6,3...83)%, в группе с количеством бластов 5-10% - 20,5 (3,7...79,8)% и в группе с количеством бластов 10-15% - 11,8 (2,5...22) %. Кроме того, экспрессия CD95 на клетках КМ в группе пациентов с трансформацией в ОМЛ была достоверно ниже среднего показателя в группе МДС (7,84 (1,2...16,1)%). Таким образом, характер изменений апоптотической активности клеток КМ в процессе прогрессирования первичных МДС свидетельствует о её снижении, что может быть определено соответствующими маркерами (процент Annexin V - позитивных клеток, экспрессия CD95(Fas/APO-1) и TNF- α). Эти данные подтверждают концепцию, что апоптоз является центральным компонентом в патофизиологии МДС.

В результате исследования содержания активированной формы антиапоптотического белка Akt1 в лизатах клеток КМ установлен его высокий уровень по отношению к контролю (165,95 (104,5...236,1) пг/мл) как при первичных МДС (528,25 (225,9...1788,3) пг/мл), так и при ОМЛ (1428 (103...2319) пг/мл). При этом в зависимости от варианта МДС имела место высокая вариабельность изучаемого параметра. Так, при вариантах RA, 5q-синдром и RCMD зафиксировано статистически значимое ($p < 0,05$) низкое содержание Akt1 по сравнению с вариантом RAEB: 286,95 (225,9...1788,3) пг/мл при RA и 5q- синдроме, 526,7 (235,8...1765,8) пг/мл при RCMD. Максимальная концентрация Akt1 характеризовала вариант RAEB (714,3 (235,8...1775,3) пг/мл).

Анализ содержания Akt1 в лизатах клеток КМ в зависимости от цитогенетического статуса показал соответствие максимальной концентрации активированной формы Akt1 (726,8 (289,6...1316,7) пг/мл) множественным аномалиям кариотипа. Минимальная концентрация протеинкиназы В зарегистрирована у пациентов, имеющих del 5q31 (286,25 (225,9...289,5) пг/мл). В группах с нормальным кариотипом и изолированными хромосомными аномалиями содержание Akt1 в лизатах клеток КМ имело практически одинаковые значения (520,6 (235,8...1788,3) пг/мл и 538,9 (235,8...1765,8) пг/мл соответственно). Значит, увеличение концентрации активированной формы протеина Akt1 в лизатах клеток КМ соответствует неблагоприятным вариантам МДС, имеющим высокий риск по системе IPSS. Наряду с этим, отсутствие различий уровня Akt1 в группах пациентов с нормальным кариотипом и изолированными хромосомными аномалиями, на наш взгляд, демонстрирует ограничение использования кариотипа в качестве независимого прогностического критерия при МДС.

Анализируя возможные события, происходящие с пациентами МДС, обнаружено, что летальный исход при содержании Akt1 в лизатах клеток КМ более 500 пг/мл зарегистрирован в 82,5% (33/40) случаев при 44,1% (15/34) случа-

ев у пациентов с концентрацией Akt1 < 500 пг/мл ($p < 0,001$). Трансформация в ОЛ также происходила чаще при содержании Akt1 >500 пг/мл (62,5 % случаев 25/40) по сравнению с более низкими значениями этого параметра (41,2 % случаев 14/34) ($p = 0,067$). При этом статистически значимо разнятся сроки наступления трансформации МДС в лейкоз: 71 (6...340) неделя при Akt1 <500 пг/мл и 23,5 (3...133) недель при Akt1 >500 пг/мл ($p < 0,001$).

Таким образом, содержание Akt1 в лизатах клеток КМ при МДС имеет высокое значение при неблагоприятных вариантах, отражает апоптотическую готовность и определяет прогрессирование заболевания. Уровень Akt1 в лизатах клеток КМ >500 пг/мл является пороговым для начала неуправляемых и неконтролируемых биологических процессов, влекущих за собой снижение апоптотической готовности. Содержание Akt1 в лизатах клеток КМ при МДС является дополнительным фактором, отражающим степень поражения гемопоэза, и может быть использован в качестве прогностического фактора.

Анализ экспрессии рецепторов FLT3 на клетках КМ у пациентов с МДС и ОМЛ позволил определить высокий уровень экспрессии FLT3 при ОМЛ по сравнению с группой МДС (80,6 (7,24...98,5) и 49,05 (0,7...97)% соответственно, $p = 0,0017$). При этом установлена высокая вариабельность экспрессии FLT3 при различных вариантах МДС: наименьшее количество рецепторов зарегистрировано при вариантах RA и 5q-синдром (11,5 (0,7...76)%); по сравнению с этими вариантами при RCMD и RAEB экспрессия FLT3 была статистически значимо выше (52 (4,5...91,5)% и 62 (1,4...97)% соответственно). Экспрессия FLT3 в зависимости от количества бластных клеток в КМ также имела значительные различия между низкой и высокой группами риска. Варианты МДС низкого риска с количеством бластов до 5% характеризовали клетки с экспрессией рецепторов FLT3 22,8 (0,7...91,5)%. В то время как при вариантах МДС с количеством бластов 5-9% экспрессия FLT3 составила 51,1 (1,4...94,0)%, а при вариантах с количеством бластов $\geq 10\%$ - 76,0 (14,3...97,0)%, $p < 0,001$. Таким образом, при увеличении количества бластных клеток в КМ и прогрессировании первичных МДС повышается выраженность экспрессии FLT3.

Показатели апоптотической и пролиферативной готовности клеток КМ у пациентов с МДС находятся в нелинейной зависимости. Так, количество клеток КМ, экспрессирующих CD95, резко снижается, достигая значения менее 20%, при повышении содержания Akt1 в клеточных лизатах >500 пг/мл (рисунок 1а). В то же время при значениях Akt1 в лизатах клеток КМ > 500 пг/мл повышается уровень экспрессии FLT3 (CD135) клетками КМ > 40% (рисунок 1б).

Анализ соотношения экспрессии FLT3 и проапоптотического рецептора CD95 бластными клетками КМ позволил выделить три клеточных кластера. Практически у всех пациентов при уровне экспрессии CD95 >40 % количество рецепторов FLT3 не превышает 60%. Подобное соотношение выраженности

экспрессии CD95 и FLT3 указывает на разнонаправленность процессов апоптоза и пролиферации в КМ при МДС. В группе пациентов с экспрессией CD95 $\leq 40\%$ уровень экспрессии FLT3 значительно варьирует. При сохранении соотношения, когда экспрессия FLT3 составляет до 60% при уровне экспрессии CD95 $>40\%$, летальный исход отмечен в 25% случаев (16/4), медиана выживаемости составляет 25 (9...78) месяцев. При этом трансформация в ОЛ произошла у 31,2% (16/5) пациентов в течение 24,5 (2...78) месяцев. Однако с угнетением апоптотической активности пролиферативный потенциал бластных клеток КМ возрастает. И в группе пациентов, имеющих уровень экспрессии FLT3 $\geq 60\%$ при экспрессии CD95 $\leq 40\%$, регистрируется наиболее неблагоприятное течение заболевания: летальность 87,5% (24/21), трансформация в ОЛ 54,2% (24/13) в течение 3 (2...16) месяцев и медиана выживаемости всего 7 (1...17) месяцев. Среди пациентов со сниженной активностью процессов апоптоза (CD95 $\leq 40\%$), но уровнем экспрессии FLT3 еще не превышающей 60%, летальный исход составляет 55% случаев (20/11), средняя длительность периода до трансформации - 8 (2...46) месяцев с частотой наступления события 75% (20/15), а медиана выживаемости - 10 (6...46) месяцев.

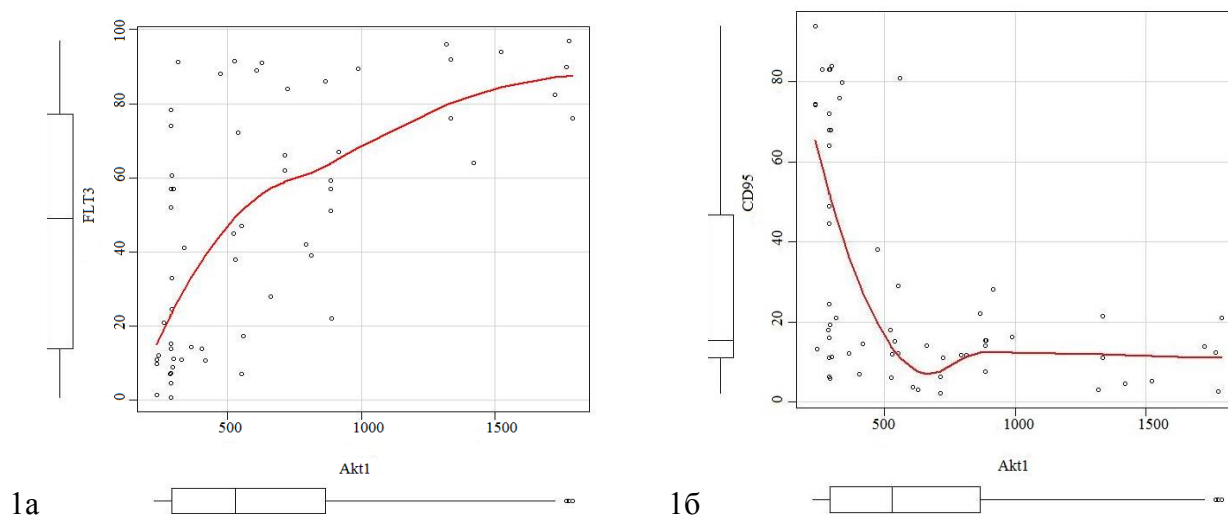


Рисунок 1. - Взаимодействия содержания активированной формы протеина Akt1 в лизатах клеток костного мозга со степенью экспрессии FLT3 (CD135) (рис.1а) и CD95 (рис. 1б) при первичных миелодиспластических синдромах

Такое сочетание разнонаправленности уровня экспрессии рецепторов FLT3 и CD95 на бластных клетках КМ при МДС является отражением патологических процессов, характеризующих прогрессирование заболевания. При МДС высокая апоптотическая активность служит фактором, ограничивающим клоновую прогрессию. Угнетение процессов апоптоза сопровождается потерей контроля над клеточным циклом и процессами пролиферации, что ведет к экспансии патологического клона. То есть, при МДС процесс клеточной клоновой

пролиферации нарастает с угасанием апоптотической активности, что является весьма неблагоприятным прогнозом относительно выживаемости.

Диагностические критерии первичных МДС

Результаты исследований патофизиологических механизмов первичных МДС, изложенные выше, позволили выделить ряд параметров биологической характеристики гемопоэза при МДС для оптимизации диагностики данного заболевания. Были резюмированы клинико-лабораторные тесты для диагностики МДС и проведен анализ диагностической значимости используемых и предложенных для включения в диагностический комплекс тестов. Для характеристики информативности диагностических методов были выбраны такие объективные параметры как диагностическая чувствительность (Se, sensitivity) и диагностическая специфичность (Sp, specificity), на основании которых определялась диагностическая значимость. Высокую диагностическую значимость демонстрируют гиперклеточность КМ (82,6%), наличие признаков дисгемопоэза в ПК и в КМ (97,3% и 99,4% соответственно), иммунофенотипическая характеристика клеток КМ (от 53,4% до 65,2%), гиперэкспрессия CD95 клетками КМ (91,8%). С учетом диагностической значимости лабораторных тестов сформирован обязательный комплекс клинических и лабораторных тестов для обследования пациента с подозрением на МДС. На основании систематизации имеющихся диагностических и дополнительных факторов разработан этапный алгоритм диагностики первичных МДС, который включает в себя мультидисциплинарный подход и комбинацию клинико-гематологических критериев. При анализе додиагностического периода в зависимости от учета особенностей иммунофенотипа МДС, предусмотренных разработанным диагностическим алгоритмом, установлено статистически значимое сокращение периода диагностики заболевания на 42,5%. Длительность додиагностического периода при включении особенностей иммунофенотипа бластов КМ в алгоритм диагностики составила 2,6 (1...4,2) мес. при соответствующем показателе в группе пациентов без анализа иммунофенотипа бластов при инициальной диагностике 4,58 (2,4...38) мес., $p=0,0031$. Метод иммунофенотипического выявления опухолевых клеток для диагностики первичных МДС с использованием специфического набора моноклональных антител обеспечивает экономический эффект в эквиваленте 17600 долларов США в год за счет сокращения расходов на малоинформативные повторяющиеся лабораторные методы.

Факторы прогноза при первичных МДС и стратификация пациентов по терапевтическим группам

Для выделения дополнительных прогностических критериев, которые позволят оптимизировать стратификацию пациентов для начала терапии, проведен анализ клинико-лабораторных характеристик 144 пациентов молодого и среднего возраста с определением прогностической значимости изучаемых

клинико-лабораторных данных в отношении выживаемости пациентов с МДС. На основании данного исследования выделены факторы риска, статистически значимо влияющие на показатель общей выживаемости при МДС: мужской пол, наличие трансформации в лейкоз, вариант заболевания, группа IPSS, наличие бластных клеток в ПК, количество бластных клеток и их скопление в КМ, количество ростков в цитопении, вид цитогенетических аномалий, количество тромбоцитов ПК, омоложение гранулоцитарного ростка КМ, скопление лимфоцитов в КМ, экспрессия CD95 и FLT3 клетками КМ. Среди установленных прогностических критериев ожидаемо оказались факторы, регистрируемые в системе IPSS: количество ростков в цитопении, количество бластных клеток в КМ, вид цитогенетических аномалий и собственно группа риска IPSS. Анализ выживаемости пациентов с МДС в зависимости от группы риска IPSS показал высокую достоверность распределения по данной прогностической шкале. Трехлетняя выживаемость в группе низкого и промежуточного-1 риска составляет 71,9% и 25% при среднем значении продолжительности жизни 52 мес. и 17 мес. соответственно. Группа промежуточного-2 риска по IPSS имеет статистически значимо худшие показатели: однолетняя выживаемость 33,3% с медианой продолжительности жизни 10 мес. Одновременно обнаружено, что наряду с международно признанными факторами прогноза, статистически значимое влияние на показатель общей выживаемости при МДС имеют такие критерии как пол, скопление лимфоцитов в КМ, количество тромбоцитов ПК, омоложение гранулоцитарного ростка КМ, экспрессия CD95 и FLT3 клетками КМ. Наиболее выраженным это влияние оказалось у категорий количество тромбоцитов в ПК ($p < 0,001$), омоложение гранулоцитарного ростка по данным трепанобиопсии ($p < 0,0001$), экспрессия клетками КМ CD95 ($p < 0,0001$) и FLT3 ($p < 0,0001$).

В многофакторный анализ (Кокс-регрессия) влияния различных неблагоприятных факторов на течение МДС включили все вышеперечисленные факторы, достоверно влияющие на общую выживаемость у пациентов в нашем исследовании. Результаты многофакторного анализа представлены в таблице 2, из которой видно, что наиболее сильными независимыми неблагоприятными прогностическими факторами естественного развития МДС являются экспрессия CD95 и FLT3. Низкий уровень CD95 ($\leq 40\%$) и высокий уровень FLT3 ($\geq 60\%$) статистически значимо снижают кумулятивную вероятность выживания при МДС. Так, медиана выживаемости в группе пациентов с уровнем экспрессии CD95 клетками КМ $> 40\%$ имеет значение 64 мес. при показателе 10 мес. в группе пациентов с уровнем экспрессии CD95 $\leq 40\%$. При экспрессии FLT3 до 60% трехлетняя выживаемость составляет 63,4% (медиана продолжительности жизни 39 мес.). В группе с уровнем экспрессии FLT3 бластными клетками КМ

≥60% только 25,6% пациентов имеют показатель общей выживаемости в пределах одного года, а среднее значение продолжительности жизни равно 6 мес.

Таблица 2. - Многофакторный анализ прогностических факторов первичных миелодиспластических синдромов

Параметр	Предварительная модель		Окончательная модель		
	β	p	β	p	HR
Возраст, годы	0,032	0,089	0,033	0,071	1,03 (1,00-0,07)
Пол (мужской)	0,487	0,237	—	—	—
Количество тромбоцитов ПК, $10^9/\text{л} \leq 100$	-0,314	0,490	—	—	—
Омоложение гранулоцитарного ростка КМ	0,510	0,767	—	—	—
Скопление лимфоцитов в КМ	-1,003	0,554	—	—	—
Экспрессия CD95 клетками КМ, % <40	3,345	0,003	2,972	0,005	19,53 (2,48-153,75)
Экспрессия FLT3 клетками КМ, % ≥60	1,832	<0,001	1,898	<0,001	6,67 (2,33-19,11)

HR (Hazard Ratio) – соотношение рисков, β – коэффициент регрессии, ПК – периферическая кровь, КМ – костный мозг

Таким образом, в качестве дополнительных неблагоприятных факторов риска естественного развития МДС можно использовать показатели экспрессии CD95 клетками КМ ≤40% и FLT3 ≥60%. Разнородность МДС создает значительные сложности для клинического ведения пациентов, особенно при принятии решения о виде первоначальной терапии и сроках её проведения. В данном случае перспективными маркерами риска могут служить биологические факторы, отражающие процесс трансформации клеток при МДС в лейкемические. По результатам нашего исследования значения экспрессии CD95 клетками КМ ≤40% и FLT3 ≥60% можно рассматривать как прогностические маркеры прогрессирования первичных МДС и временной момент обязательного старта специфической терапии.

Выделенные в результате многофакторного анализа прогностические параметры были использованы в процессе построения модели множественных состояний для характеристики течения первичных МДС. Состояния кодировались следующим образом: «1» – диагноз первичный МДС; «2» – трансформация в лейкоз; «3» – смерть. Модель построена на анализе данных 70 пациентов с первичными МДС в возрасте от 18 до 60 лет. В исследовании использовались следующие показатели: пол, возраст, группа риска по IPSS-R; составляющие IPSS-R (кариотип, концентрация гемоглобина, количество нейтрофилов и тромбоцитов ПК, количество бластных клеток в КМ) и экспрессия CD95 клетками КМ. Экспрессия антигена CD95 (Fas/APO 1) на клетках КМ пациентов с МДС была выбрана, т.к. предыдущие исследования выявили, что наряду с международно

признанными факторами прогноза, экспрессия CD95 оказывает статистически значимое влияние на показатель общей выживаемости при МДС.

Оценка вероятности нахождения в трех состояниях в зависимости от времени на основе модели трех состояний «заболевание-смерть» показала, что с течением времени вероятность оставаться в состоянии «1» сводится к нулю. Через 12 месяцев от момента заболевания в том же статусе остается 26,6% пациентов, а через 60 месяцев только 11,3%. Вероятность наступления трансформации возрастает в течение первых 12 месяцев и составляет 45,1%. В течение дальнейшего периода этот показатель меняется незначительно (49,3% к 60 месяцам). Вероятность летального исхода повышается с течением времени и имеет значение 28,3% через 12 месяцев и 39,4% через 60 месяцев (таблица 3).

Таблица 3. - Вероятность нахождения в трех состояниях в зависимости от времени на основе модели трех состояний «заболевание-смерть»

Промежуток времени, мес.	Вероятность нахождения в состоянии		
	Состояние 1	Состояние 2	Состояние 3
	m±se	m±se	m±se
12	0,266±0,002	0,451±0,002	0,283±0,002
36	0,170±0,002	0,493±0,002	0,338±0,002
60	0,113±0,002	0,493±0,002	0,94±0,003

Для контроля прогностической значимости критериев, используемых в модели трех состояний для МДС, проведен анализ общей выживаемости в зависимости от категории риска по IPSS-R и экспрессии CD95. Переменные карриотип, концентрация гемоглобина, количество нейтрофилов и тромбоцитов ПК, количество бластных клеток в КМ не включались в прогностический анализ общей выживаемости, поскольку являются составными компонентами категории риска IPSS-R и, соответственно сильно коррелируют с ней. Анализ выживаемости пациентов с МДС в зависимости от группы риска IPSS-R показал статистически значимые различия по данной прогностической шкале. Медиана выживаемости в группе хорошего риска составила 46 месяцев, в группе промежуточного риска – 18 мес., плохого риска – 13 мес. и очень плохого риска – 5 мес. ($p < 0,05$). Сравнение экспрессии CD95 у пациентов различных групп риска по шкале IPSS-R показало статистически значимые различия ($p = 0,004$) средних значений данного параметра. Экспрессия CD95 в группе хорошего прогноза составила 68 (2,96 ... 94)%, в группе промежуточного риска - 22 (3,7 ... 95)%, в группах плохого и очень плохого прогноза - 12 (2,13 ... 22,1) % и 13,8 (2,5 ... 21,4) % соответственно. Таким образом, экспрессия CD95 клетками КМ при МДС соотносится с делением на группы риска по шкале IPSS-R: более неблагоприятному прогнозу соответствует более низкое значение экспрессии CD95.

На этапе исследования отношения рисков (HR) на базе модели Кокс-Маркова для трех переходов: 1→3 (диагноз-смерть), 1→2 (диагноз-

трансформация), 2→3 (трансформация - смерть) были определены факторы, статистически значимо влияющие на вероятность перехода из одного состояния в другое (таблица 4). Количество blasts КМ ($p=0,023$), группа очень плохого прогноза по IPSS-R ($p=0,004$) и низкая экспрессия CD95 ($p=0,002$) являются прогностически неблагоприятными факторами летального исхода, независимо от наличия трансформации в ОЛ. Критериями высокой вероятности перехода в состояние трансформации в ОЛ служат молодой возраст пациентов ($p=0,031$), низкое количество тромбоцитов ПК ($p=0,005$), количество blasts КМ ($p<0,001$), группа риска по IPSS-R ($p<0,001$) и низкая экспрессия CD95 ($p<0,001$). На вероятность летального исхода после трансформации в ОЛ статистически значимо влияет только экспрессия CD95 ($p=0,015$).

В многофакторный анализ модели «заболевание – смерть» были включены переменные, показавшие статистически значимое влияние на переход из одного состояния в другое в однофакторном анализе: возраст, группа по IPSS-R и экспрессия CD95 (таблица 5). Результаты многофакторного анализа показали, что наряду с параметрами шкалы IPSS-R экспрессия CD95 служит независимым статистически значимым прогностическим фактором. Это единственный предиктор, который ассоциирован со всеми тремя переходами, и его низкое значение повышает риск перехода, как в состояние «2» ($p=0,004$), так и в терминальное состояние из состояния «1» ($p=0,003$) и из состояния «2» ($p=0,019$). Наряду с этим фактором, на вероятность перехода в состояние трансформации в ОЛ влияют молодой возраст пациентов ($p=0,03$), группы плохого ($p=0,015$) и очень плохого ($p=0,011$) прогноза по шкале IPSS-R.

Таким образом, анализ течения и исходов МДС показал высокую прогностическую значимость шкалы IPSS-R даже в изолированной возрастной когорте пациентов от 18 до 60 лет. Помимо критериев, включенных в прогностическую систему IPSS-R, обнаружен предиктор, имеющий статистически значимое прогностическое значение в многофакторной модели совместно с IPSS-R. Экспрессия CD95 является единственным фактором, который ассоциирован со всеми тремя переходами, его низкое значение повышает риск перехода, как в состояние трансформации, так и в терминальное состояние. Кроме того, модель трех состояний продемонстрировала, что риск трансформации МДС в ОЛ ассоциирован с более молодым возрастом. Также имеется тенденция увеличения риска перехода в терминальное состояние как без трансформации, так и после трансформации с увеличением возраста пациента.

При проведении сравнительного анализа показателей общей трехлетней выживаемости у пациентов с МДС молодого и среднего возраста в зависимости от вида первой линии терапии при применении стандартных методов статистически значимых различий не обнаружено ($p=0,629$). При этом наиболее многочисленную группу (58,3%) составили пациенты, основным видом лечения

Таблица 4. - Однофакторный анализ влияния исследуемых факторов риска на вероятность переходов из одного состояния в другое на основании множественной модели для МДС

Параметр	События									
	1→3(диагноз-исход) n=70			1→2 (диагноз-трансформация) n=70			2→3 (трансформация-исход) n=36			
	β	HR	p	β	HR	p	β	HR	p	
Возраст (увеличение на 1 год)	0,04	1,04	0,090	-0,03	0,97	0,031	0,02	1,02	0,334	
Пол	Муж	reference		reference			reference			
	Жен	-0,26	0,77	0,590	-0,58	0,56	0,080	-0,04	0,96	0,93
Гемоглобин, г/л	0,00	1,0	0,946	0,00	1,0	0,786	0,02	1,02	0,300	
Лейкоциты, ·10 ⁹ /л	0,03	1,03	0,709	0,00	1,0	0,933	0,13	1,13	0,055	
Нейтрофилы, ·10 ⁹ /л	0,07	1,08	0,526	-0,03	0,97	0,743	0,28	1,33	0,022	
Тромбоциты, ·10 ⁹ /л	0,00	1,0	0,110	-0,006	0,99	0,005	0,00	1	0,238	
Цитогенетические аномалии	нет	reference		reference			reference			
	изолированные	-0,17	0,84	0,800	0,23	1,26	0,574	0,94	2,57	0,121
	комбинированные	0,33	1,39	0,757	0,51	1,67	0,348	1,13	3,10	0,166
	del (5q31)	-0,14	0,87	0,860	-18,1	1,34	<0,001	N/A	N/A	N/A
Бласты в костном мозге, %	0,15	1,16	0,023	0,20	1,22	<0,001	0,04	1,04	0,557	
Группа согласно IPSS-R	Хороший прогноз	reference								
	Промежуточный прогноз	0,54	1,72	0,380	1,26	3,52	0,015	-0,09	0,91	0,932
	Плохой прогноз	1,35	3,84	0,105	2,28	9,77	<0,001	1,17	3,23	0,305
	Очень плохой прогноз	2,49	12,05	0,004	2,68	14,64	<0,001	1,31	3,71	0,257
Экспрессия CD 95, %	-0,046	0,96	0,002	-0,04	0,96	<0,001	-0,06	0,95	0,015	

Таблица 5. - Многофакторный анализ вероятности перехода из одного состояния в другое на основании множественной модели для первичных МДС

Параметр	Состояния									
	1→3(диагноз-исход) n=70			1→2 (диагноз-трансформация) n=70			2→3 (трансформация-исход) n=36			
	B	HR (95% CI)	p	β	HR	p	β	HR	p	
Возраст (повышение на 1 год)	0,05	1,05 (1,0-1,11)	0,061	-0,03	0,97 (0,94-0,997)	0,030	0,05	1,05 (0,98-1,12)	0,164	
Группа риска согласно IPSS-R	Хороший прогноз	reference		reference			reference			
	Промежуточный прогноз	-0,02	0,98 (0,28-3,40)	0,975	0,74	2,09 (0,74-5,92)	0,165	1,34	3,80 (0,36-40,12)	0,267
	Плохой прогноз	-0,05	0,95 (0,18-4,97)	0,953	1,43	4,19 (1,32-13,32)	0,015	1,41	4,08 (0,43-38,87)	0,221
	Очень плохой прогноз	1,31	3,73 (0,69-20,27)	0,128	1,86	6,47 (1,53-27,38)	0,011	1,98	7,22 (0,68-77,20)	0,102
Экспрессия CD 95, %	-0,04	0,96 (0,93-0,99)	0,003	-0,03	0,97 (0,95-0,99)	0,004	-0,08	0,92 (0,86-0,99)	0,019	

для которых была определена выжидательно-наблюдательная тактика с использованием методов сопроводительной терапии (гемотрансфузии, хелаторная терапия перегрузки железом), которая применялась до момента прироста бластных клеток в КМ свыше 15%. На основании анализа данных клинико-гематологической манифестации и параметров биологической характеристики гемопоэза при первичных МДС для индивидуализации лечения предложена стратификация пациентов с МДС по группам, которая предполагает выбор терапии в зависимости от комбинации факторов: варианта МДС, категории риска по IPSS, характеристики цитопении, количества бластных клеток в КМ, наличия хромосомных аномалий, особенностей иммунофенотипа, апоптотической и пролиферативной активности клеток КМ. В предложенной стратификации пациентов с МДС по терапевтическим группам впервые применен прогностический критерий экспрессии CD95 и CD135. Поскольку в предыдущих исследованиях доказано высокое прогностическое значение экспрессии CD95, далее проведен анализ эффективности терапевтических мероприятий в зависимости от использования неблагоприятного прогностического признака (уровень экспрессии CD95 менее 40%) при определении терапевтической тактики для пациентов с МДС в возрасте 18-60 лет. Контроль эффективности терапии проводился по критериям, разработанным международной рабочей группой по изучению МДС (2011г.). Установлено, что эффективность терапии в группе пациентов с экспрессией CD95 <40% и ранним началом интенсивной ХТ (в течение трех месяцев от момента постановки диагноза) статистически значимо выше по сравнению с группой пациентов, которым интенсивная ХТ была отсрочена: на 19% выше количество случаев достижения полной костномозговой ремиссии ($p=0,023$) и на 24% - стабилизации патологического процесса ($p=0,023$), на 43% ниже количество случаев рефрактерных форм ($p=0,023$) и на 33% - ранней летальности ($p=0,032$).

Первичные миелодиспластические синдромы у детей

Как было продемонстрировано выше, у детей клинико-гематологическая манифестация МДС отличается от таковой у взрослых, а варианты рефрактерная анемия с кольцевыми сидеробластами и МДС del5q практически не встречаются. Согласно классификации, предложенной рабочей группой по МДС детского возраста (2003) и разделу в классификации ВОЗ (2008), обследованные дети были распределены следующим образом: рефрактерная цитопения – 38,9% и РАЕВ - 61,1%. При этом внутри себя оба варианта характеризовались значительным разнообразием. Помимо прочего, современные классификационные системы в гематологии строятся с учетом молекулярно-биологической и/или цитогенетической характеристики заболевания, что важно для учета механизмов формирования гемобластозов. Классификации ОЛ детского возраста также имеют молекулярно-биологические данные в стратификации по группам. У де-

тей с МДС подобный подход в настоящее время некорректен вследствие редкой встречаемости заболевания, невысокой частоты обнаружения цитогенетических аномалий и отсутствия специфичных хромосомных поломок. На современном этапе в классификации МДС следует выделять в отдельную группу МДС детского возраста без уточнения варианта.

При цитогенетическом анализе КМ у 77,8% пациентов до 18 лет установлен нормальный кариотип. У остальных детей с МДС хромосомные аномалии были разнообразны, но в основном изменения касались 5, 1 и 13 хромосом. Изолированные и комплексные цитогенетические поломки отмечались с одинаковой частотой. Сопоставление клинико - гематологической манифестации МДС у детей и хромосомных аномалий не выявило каких-либо особенностей. Не установлено также статистически значимых изменений количественных и морфологических показателей ПК и КМ в зависимости от наличия нормального или измененного кариотипа. Кроме того, статистически значимые различия не обнаружены при сравнении показателей выживаемости детей с МДС в зависимости от наличия аномалий кариотипа.

Трансформация в ОЛ произошла у 66,7% детей. Продолжительность периода до трансформации была от 3 до 27 месяцев с медианой 7,42 мес. Срок трансформации в ОЛ находился в прямой зависимости от количества бластов в КМ на момент постановки диагноза. При этом значение имело превышение количества бластных клеток в КМ свыше 5%. В группах детей с МДС и количеством бластных клеток КМ более 5% степень превышения этого значения уже не важна. Так, при количестве бластов до 5% средняя длительность трансформации в ОЛ составила 24,5 месяцев, при количестве бластов КМ 5-10% - 4,6 месяца и при количестве бластов КМ свыше 10% - 3,4 месяца.

Исследования биофизических характеристик мембран эритроцитов и лимфоцитов позволили выявить дезорганизацию мембранных структур этих клеток при МДС у детей. Результаты изучения физического состояния мембран эритроцитов и лимфоцитов с использованием липофильных флуоресцентных зондов свидетельствуют об изменениях микровязкости липидного бислоя клеточных мембран у детей с МДС, более выраженных при вариантах с повышением количества бластов в КМ. При этом средние значения интенсивности собственной люминесценции плазмы крови, указывающие на качественные нарушения белковых компонентов, установлены у всех детей с МДС и не зависят от количества бластов КМ и выраженности цитопении в ПК. Анализ кинетики везикуляции эритроцитов в условиях их метаболического истощения *in vitro* показал, что в эритроцитах детей с МДС отделение части мембранного материала при метаболическом истощении клеток происходит более интенсивно, чем в эритроцитах здоровых детей.

Анализ концентрации микроэлементов (МЭ) в сыворотке крови и содержания МЭ в волосах позволил установить, что у пациентов с МДС в возрасте до 18 лет наблюдается накопление в организме токсических МЭ (свинец и кадмий) при дефиците эссенциальных МЭ (медь, цинк, марганец, селен, хром). Можно предположить, что нарушение микроэлементного гомеостаза является одним из звеньев в патогенетической концепции МДС у детей. Токсическое действие ряда МЭ в результате экологического неблагополучия способно вызвать нарушение иммуногенеза и дестабилизацию генома, что является фоном для последующих мутаций, модификации клеточного цикла, а, следовательно, изменений регуляции количественного и качественного соотношения клеток в ходе пролиферации, дифференцировки и апоптоза. Взаимодействие контрольных механизмов последнего может нарушаться при комбинации влияния канцерогенов и истощения адаптационно – компенсаторных реакций клетки.

Результаты исследования спонтанного апоптоза у детей с МДС показали статистически значимые различия в количестве Annexin V - позитивных клеток в группе МДС (20,3 (6,3...37,2)%) по сравнению с контролем (5,4 (4,7...6,5)%, $p=0,032$) и пациентами группы сравнения с ОМЛ (4,6 (3,8...11,3)%, $p=0,015$). Количество Annexin V-позитивных клеток в группе МДС и СММЛ/ЈММЛ (11,0 (8,2...13,4)%, $p=0,153$) не имело различий. То есть, клетки КМ при МДС у детей, также как и у взрослых пациентов, характеризуются высоким уровнем спонтанного апоптоза, что отличает гемопоэз при данной патологии от ОМЛ.

При исследовании цитокинового профиля супернатантов КМ установлено, что количество IL-1 β , обладающего антиапоптотической активностью, статистически значимо превышало значения контрольной группы при всех нозологических формах (МДС, ОМЛ и СММЛ/ЈММЛ), наиболее высокое значение регистрировалась при ОМЛ. Среди групп сравнения достоверные различия концентрации данного цитокина имелись между ОМЛ и МДС. Содержание проапоптотического цитокина IL-12 имело тенденцию, обратно пропорциональную уровню IL-1 β . Наиболее высокая базовая концентрация IL-12 в супернатантах КМ отмечена при варианте МДС, наиболее низкая – при СММЛ/ЈММЛ. Однако ни в одной группе не было статистически значимых различий уровня IL-12 по отношению к контролю. Концентрация IL-1 β в сыворотке крови была статистически значимо выше по отношению к контролю во всех изучаемых группах. Кроме того, достоверно различались значения содержания IL-1 β в сыворотке крови у детей с МДС и ОМЛ. Концентрация IL-12 в сыворотке крови в группе детей с МДС была статистически значимо выше как по отношению к контрольным значениям, так и по отношению к соответствующим показателям в остальных группах. То есть, при МДС у детей в сыворотке крови и КМ значительно повышена концентрация IL-12 по сравнению с группой ОМЛ. Содержание IL-1 β , напротив, при МДС оказалось намного ниже, чем в группе пациентов с

ОМЛ. Такое разнонаправленное изменение концентрации цитокинов при МДС, возможно, связано с активностью процессов апоптоза при данном заболевании. При сопоставлении результатов исследования спонтанного апоптоза и цитокинового профиля определено, что более высокому проценту апоптоза клеток КМ соответствует повышение концентрации IL-12 и снижение уровня IL-1 β в супернатантах КМ, хотя статистически значимых корреляционных зависимостей не получено ($r_{IL-1\beta} = -0,737, p=0,473$; $r_{IL-12} = 0,775, p=0,435$).

Для определения прогностической значимости изучаемых клинико-лабораторных данных в отношении выживаемости пациентов с МДС проведен анализ общей выживаемости по каждому из параметров. Установлено, что ни один из клинико-лабораторных параметров не имел статистически значимую связь с продолжительностью жизни при МДС. Анализ прогностического потенциала шкалы IPSS в группе детей с МДС проведен как с учетом группы риска IPSS, так и по отдельным факторам, регистрируемым в данной системе: количество ростков в цитопении, количество бластных клеток в КМ, вид цитогенетических аномалий. На основании данного исследования установлено, что распределение по группам риска согласно IPSS не связано с показателем общей выживаемости пациентов с МДС в возрасте до 18 лет. Также не определено достоверное влияние на выживаемость при МДС у детей отдельных факторов категорий риска IPSS: цитогенетические аномалии, количество ростков в цитопении, количество бластов в КМ. Единственным параметром, который демонстрирует статистически значимое влияние на показатель общей выживаемости у детей с МДС является содержание НбF в более чем 8% клеток (таблица 6).

Таблица 6. - Влияние изучаемых факторов на показатель общей выживаемости пациентов до 18 лет с МДС

Параметр	Категория	<i>p</i>
Пол	М vs Д	0,314 ^a
Возраст	год	0,652 ^b
Трансформация в лейкоз	есть vs нет	0,073 ^a
Группа риска по IPSS	низкий vs промежут.1 vs промежут.2	0,110 ^a
Бласты в ПК	есть vs нет	0,192
Количество ростков в цитопении	0-1 vs 2-3	0,925
Количество бластов КМ, %	< 5 vs 5-10 vs >10	0,032 ^b
Цитогенетические аномалии	есть vs нет	0,361 ^a
Содержание НбF, % клеток	$\leq 8\%$ vs $> 8\%$	0,001 ^b
		0,001 ^a

^a –лог-ранговый критерий; ^b – критерий максимального правдоподобия регрессии Кокса

Таким образом, биологическая характеристика гемопоэза при МДС указывает на единые патофизиологические механизмы формирования данной патологии в различных возрастных группах. Выделение МДС у детей в отдельную

форму продиктовано клиническими отличиями взрослого и детского МДС. Система IPSS демонстрирует высокую прогностическую значимость у взрослых пациентов и имеет низкий прогностический потенциал при МДС детского возраста. Предиктором неблагоприятного течения при МДС детского возраста является содержание НбF более 8% клеток ($p=0,001$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Установлено, что у пациентов с МДС в зависимости от возрастной группы (до 18 лет, от 18 до 40 лет и от 40 до 60 лет) клинико-гематологическая манифестация МДС имеет статистически значимые различия, заключающиеся в структуре вариантов, частоте и видах цитогенетических и диспластических аномалий клеток КМ, а также интенсивности прогрессирования заболевания. Наиболее выражены особенности клинико-гематологической манифестации МДС у детей, что указывает на целесообразность выделения в классификации МДС детского возраста. Для всех вариантов МДС характерны несбалансированные хромосомные aberrации с преобладанием делеций. Частота встречаемости всех цитогенетических аномалий при МДС не имеет различий в зависимости от возраста при значительном расхождении по их структуре: в возрастной группе старше 40 лет значительно преобладают хромосомные aberrации в виде комплексных аномалий ($p<0,05$). Изолированная del (5q31) может служить благоприятным прогностическим фактором, характеризующим трехлетнюю общую выживаемость ($p=0,0043$). Неблагоприятным прогностическим критерием относительно общей выживаемости является наличие комплексных аномалий кариотипа ($p=0,0043$). Диспластические изменения клеток крови обусловлены в том числе нарушением физических свойств клеточных мембран и микроэлементного гомеостаза: изменением микровязкости липидного бислоя и белковых компонентов клеточных мембран, повышением процессов везикуляции эритроцитов, накоплением в организме токсических МЭ (свинец и кадмий) при дефиците эссенциальных МЭ (медь, цинк, марганец, селен, хром). Система IPSS демонстрирует высокую прогностическую значимость у взрослых пациентов и имеет низкий прогностический потенциал при МДС детского возраста. Предиктором неблагоприятного течения при МДС детского возраста является содержание НбF более 8% клеток ($p=0,001$) [1, 2, 3, 4, 5, 6-10, 13-18, 22, 24, 28-35, 37, 38, 39, 41, 43, 46, 47, 48, 52, 53, 54, 57-67, 69, 71, 72].

2. Доказано, что высокое диагностическое значение при МДС имеет иммунофенотипический анализ с использованием панели моноклональных антител (CD45, CD34, CD117, CD13, CD33, CD15, CD11c, CD64, CD4, CD8, CD5, CD7, CD2, CD19, CD22, CD10, CD71, CD109, CD25), а также экспрессия CD95 и FLT3. Данные параметры биологической характеристики гемопоэза следует

включать в комплекс клинико-гематологических критериев для диагностики МДС. Предложенный этапный алгоритм диагностики первичных МДС имеет мультидисциплинарный подход с привлечением смежных специалистов и проводится последовательно на базах учреждений здравоохранения различного уровня с соблюдением преемственности на всех этапах, что позволяет определить четкую последовательность и объем действий врача на этапе верификации диагноза и обеспечивает рационализацию использования специального диагностического оборудования и минимизацию диагностических ошибок. Использование диагностического алгоритма при первичных МДС, созданного на основании определения диагностической значимости клинико-лабораторных тестов и параметров биологической характеристики гемопоэза (особенности иммунотипа, экспрессия CD95 и FLT3), обеспечивает экономический эффект в эквиваленте 17600 долларов США в год за счет сокращения расходов на малоинформативные повторяющиеся лабораторные методы и сокращение додиагностического периода на 42,5%, что способствует своевременному направлению пациентов на лечение [3, 4, 12, 21, 23, 36, 40, 42, 49, 70, 74].

3. Установлено разнонаправленное изменение активности процессов апоптоза в зависимости от варианта МДС. Варианты низкого риска характеризуются гиперэкспрессией проапоптотических молекул (Annexin V, CD95, TNF- α) и снижением экспрессии антиапоптотического рецептора p53. Варианты высокого риска имеют обратную зависимость про- и антиапоптотических факторов. При варианте RA регистрируется статистически значимо более высокий процент Annexin V-позитивных клеток КМ ($p=0,0029$), гиперэкспрессия CD95 ($p=0,0005$) и низкая частота встречаемости рецептора P53 ($p=0,0235$) на клетках КМ по отношению ко всем остальным вариантам МДС. Количество Annexin V- позитивных клеток, экспрессия CD95 и TNF- α имеют обратную зависимость от процента бластов КМ. Процент Annexin V - позитивных клеток и экспрессия TNF- α снижаются по мере увеличения количества бластов КМ: от среднего значения 1,1% и 7,1% в группе с количеством бластных клеток в КМ менее 5% до 0,2% и 3,5% в группе с количеством бластных клеток в КМ 15-20% ($p<0,05$). Средний уровень экспрессии CD95 при количестве бластов КМ менее 5% составляет 39(6,3...83)%, при количестве бластов 5-10% - 20,5 (3,7...79,8)% и при количестве бластов 10-15% - 11,8 (2,5...22) % ($p=0,0005$). Экспрессия CD95 на клетках КМ в группе пациентов с трансформацией в ОМЛ (7,84 (1,2...16,1) %) статистически значимо ниже среднего показателя в группе МДС (15,36 (2,13...94)%), $p<0,05$.

Содержание активированной формы Akt1 в лизатах клеток КМ при первичных МДС (528,25 (225,9...1788,3) пг/мл) имеет статистически значимые различия по сравнению с контролем (165,95 (104,5...236,1) пг/мл) и группой ОМЛ (1428 (103...2319) пг/мл), $p<0,01$. Уровень протеинкиназы В при вариантах RA,

5q-синдроме (286,95 (225,9...1788,3) пг/мл) и RCMD (526,7 (235,8...1765,8) пг/мл) статистически значимо ($p < 0,05$) ниже по сравнению с вариантом RAEB (714,3 (235,8...1775,3) пг/мл). Показатели содержания Akt1 в лизатах клеток КМ, экспрессии CD95 и FLT3 обнаруживают нелинейную зависимость. Количество клеток КМ, экспрессирующих CD95, резко снижается, достигая значения менее 20 %, при повышении содержания Akt1 в клеточных лизатах более 500 пг/мл. В то же время при значениях Akt1 в лизатах клеток КМ свыше 500 пг/мл повышается степень экспрессии FLT3 (CD135) клетками КМ более 40 %. Уровень Akt1 более 500 пг/мл является пороговым для начала неконтролируемых биологических процессов, влекущих за собой снижение апоптотической готовности и высокую клоновую пролиферативную активность.

Установлено, что экспрессия тирозинкиназного рецептора FLT3 при вариантах МДС с количеством бластов до 5 % имеет наименьшее значение (22,8 (0,7...91,5)%) по сравнению с вариантами МДС с количеством бластов 5-9% (51,1 (1,4...94,0)%) и количеством бластов $\geq 10\%$ (76,0 (14,3...97,0)%), $p < 0,02$. Процент клеток КМ, имеющих тирозинкиназные рецепторы, при ОМЛ статистически значимо выше по сравнению с группой первичных МДС ($p = 0,0017$), в том числе по сравнению с вариантами RAEB ($p = 0,0438$). Уровень экспрессии FLT3 $\geq 60\%$ имеет связь со скоростью прогрессирования первичных МДС (прирост количества бластных клеток КМ в динамике), $p < 0,03$.

Анализ соотношения экспрессии FLT3 и проапоптотического рецептора CD95 бластными клетками КМ позволил выделить три клеточных кластера. Практически у всех пациентов при уровне экспрессии CD95 $>40\%$ количество рецепторов FLT3 не превышает 60%. В группе пациентов с экспрессией CD95 $\leq 40\%$ уровень FLT3 значительно варьирует, и можно сформировать две подгруппы: экспрессия FLT3 до 60% и CD95 $>40\%$, экспрессия FLT3 $\geq 60\%$ и CD95 $\leq 40\%$. Такое сочетание разнонаправленности уровня экспрессии рецепторов FLT3 ($\geq 60\%$) и CD95 ($\leq 40\%$) на бластных клетках КМ при МДС является отражением патологических процессов, характеризующих прогрессирование заболевания. Высокая активность процессов апоптоза при МДС служит фактором, ограничивающим клоновую прогрессию: при уровне экспрессии CD95 $>40\%$ количество рецепторов FLT3 не превышает 60%. Угнетение апоптотической активности сопровождается усилением пролиферативной готовности, результатом чего является расширение патологического клона: при экспрессии CD95 $>40\%$ и FLT3 $<60\%$ средняя длительность периода до трансформации в острый лейкоз составляет 24,5 (2...78) месяцев, при экспрессии CD95 $>40\%$ и FLT3 $<60\%$ - 8 (2...46) месяцев, при экспрессии CD95 $\leq 40\%$ и FLT3 $\geq 60\%$ - 3 (2...16) месяца ($p < 0,01$) [3, 4, 11, 25, 26, 46, 51, 68, 76].

4. В результате многофакторного анализа установлены прогностические факторы, имеющие статистически значимое влияние на показатель общей вы-

живаемости при МДС и соотносящиеся с международно признанными факторами прогноза, включенными в систему IPSS. К этим факторам относятся количество тромбоцитов в ПК ($p < 0,001$), омоложение гранулоцитарного ростка по данным трепанобиопсии ($p < 0,0001$), экспрессия клетками КМ CD95 ($p < 0,0001$) и FLT3 ($p < 0,0001$). Сочетание экспрессии FLT3 бластными клетками КМ ≥ 60 % с экспрессией CD95 менее 40 % указывает на неблагоприятный прогноз с выраженным ограничением вероятности выживания при МДС [4, 20, 27, 44, 45].

5. В результате построения модели множественных состояний с учетом всех возможных событий при МДС («диагноз-смерть», «диагноз-трансформация», «трансформация – смерть») были определены факторы, статистически значимо влияющие на вероятность перехода из одного состояния в другое: количество бластов КМ ($p = 0,023$), группа очень плохого прогноза по IPSS-R ($p = 0,004$) и низкая экспрессия CD95 ($p = 0,002$) являются прогностически неблагоприятными факторами летального исхода, независимо от наличия трансформации в лейкоз. Критериями высокой вероятности перехода в состояние трансформации в острый лейкоз служат молодой возраст пациентов ($p = 0,031$), низкое количество тромбоцитов ПК ($p = 0,005$), количество бластов КМ ($p < 0,001$), группа риска по IPSS-R ($p < 0,001$) и низкая экспрессия CD95 ($p < 0,001$). На вероятность летального исхода после трансформации в лейкоз статистически значимо влияет только экспрессия CD95 ($p = 0,015$).

Результаты многофакторного анализа модели множественных состояний «заболевание – смерть» показали, что наряду с параметрами шкалы IPSS-R экспрессия CD95 служит независимым статистически значимым прогностическим фактором. Это единственный предиктор, который ассоциирован со всеми тремя переходами, и его низкое значение повышает риск перехода, как в состояние «трансформация» ($p = 0,004$), так и в терминальное состояние из состояния «заболевание» ($p = 0,003$) и из состояния «трансформация» ($p = 0,019$). Наряду с этим фактором, на вероятность перехода в состояние трансформации в лейкоз влияют молодой возраст пациентов ($p = 0,03$), группы плохого ($p = 0,015$) и очень плохого ($p = 0,011$) прогноза по шкале IPSS-R [56].

6. Установлено, что показатели общей трехлетней выживаемости у пациентов с МДС молодого и среднего возраста в зависимости от вида первой линии терапии при применении стандартных методов (иммуносупрессивная терапия, низкодозовая ХТ, интенсивная ХТ, поддерживающая терапия) и разделении по терапевтическим группам в зависимости от категории риска согласно IPSS не имеют статистически значимых различий ($p = 0,629$). В предложенной стратификации пациентов с МДС по терапевтическим группам впервые применен прогностический критерий экспрессии CD95. Дифференцировка пациентов с МДС по группам предполагает выбор терапии в зависимости от комбинации факторов: варианта МДС, категории риска по IPSS, характера цитопении, коли-

чества бластных клеток в КМ, наличия хромосомных аномалий, характеристики иммунофенотипа и апоптотической активности клеток КМ. Анализ эффективности терапевтических мероприятий в зависимости от использования неблагоприятного прогностического признака (уровень экспрессии CD95 менее 40%) при определении терапевтической тактики для пациентов с МДС в возрасте 18-60 лет показал, что эффективность терапии в группе пациентов с экспрессией CD95 <40% и ранним началом интенсивной ХТ (в течение трех месяцев от момента постановки диагноза) статистически значимо выше по сравнению с группой пациентов, которым интенсивная ХТ была отсрочена: на 19% выше количество случаев достижения полной костномозговой ремиссии ($p=0,023$) и на 24% - стабилизации патологического процесса ($p=0,023$), на 43% ниже количество случаев рефрактерных форм ($p=0,023$) и на 33% - ранней летальности ($p=0,032$) [3, 4, 19, 50, 55, 73, 75].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1 В классификации МДС целесообразно выделять в отдельную форму МДС детского возраста без распределения по вариантам. Прогностическая система IPSS имеет низкий потенциал для МДС детского возраста. В качестве предикторов неблагоприятного течения МДС детского возраста рекомендовано использовать фактор: содержание НbF более 8 % клеток.

2 Снижение апоптотической активности клеток КМ при МДС определяет прогрессирование заболевания и должно учитываться при установлении прогноза и определении терапевтической тактики.

3 В комплекс диагностических критериев МДС следует включать параметры биологической характеристики гемопоэза: иммунофенотип, экспрессия CD95 и FLT3.

4 При определении прогностической группы пациентов с МДС молодого и среднего возраста согласно IPSS рекомендовано использовать дополнительные критерии: количество тромбоцитов в ПК, омоложение гранулоцитарного ростка по данным трепанобиопсии, экспрессия клетками КМ CD95 и FLT3. При этом низкая экспрессия CD95 является неблагоприятным критерием перехода как в состояние трансформации, так и в терминальное состояние.

5 При стратификации пациентов с МДС по группам для определения вида и сроков начала терапии рекомендовано использование комбинации факторов: вариант МДС, категория риска по IPSS, характеристика цитопении, количество бластных клеток в КМ, наличие и вид хромосомных аномалий, особенности иммунофенотипа, экспрессия CD95 и FLT3. При экспрессии бластными клетками КМ CD95 менее 40% показано раннее (в течение первых трех месяцев) начало интенсивной ХТ.

Список публикаций соискателя ученой степени по теме диссертации

Монографии (в том числе книги и главы из книг)

1. Козарезова, Т. И. Миелодиспластические синдромы у детей: монография / Т. И. Козарезова, Н. Н. Климович. - Минск: БелМАПО, 2005. - 216 с.

2. Козарезова, Т. И. Микроэлементные нарушения у детей с миелодиспластическими синдромами / Т. И. Козарезова, Н. Н. Климович, С. Н. Козарезов // Микроэлементы и статус жителей Беларуси: экологические, физиологические и патологические аспекты. Монография / под ред. Н. А. Гресь, А. В. Скального. – Минск: Харвест, 2011. – С. 212-214.

3. Климович, Н. Первичные миелодиспластические синдромы / Н. Климович. - Saarbrücken: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2014. – 143 с.

4. Климович, Н. Н. Миелодиспластические синдромы (патобиология, систематизация, прогностические модели, терапия): Монография / Н. Н. Климович. - Минск: БелМАПО, 2015. – 248с.

Статьи в научных журналах (в соответствии с требованиями п.18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь)

5. Стандартизация лечебно – диагностических мероприятий при анемиях и панмиелопатиях / Т. И. Козарезова, Е. П. Иванов, Л. А. Смирнова, Н. Н. Хреновская (Климович) // Здоровоохранение Беларуси. - 1995. - № 5. - С. 34-36.

6. Миелодиспластический синдром у детей (клинико – лабораторная характеристика) / Т. И. Козарезова, Н. Н. Климович, Л. И. Волкова, С. Н. Алешкевич // Гематология и трансфузиология. - 1999. - № 6. – С. 12-15.

7. Морфологическая характеристика гемопоэза у детей с первичным миелодиспластическим синдромом / Т. И. Козарезова, Н. Н. Климович, В. Ф. Кожанова, Т. М. Масловская // Здоровоохранение. - 2002. - № 6. – С. 29-31.

8. Климович, Н. Н. Биологическая характеристика эритрона при первичной миелодисплазии у детей / Н. Н. Климович, Т. И. Козарезова // Гематология и трансфузиология. - 2003. - № 5. – С.7-10.

9. Процессы микровезикуляции эритроцитов у детей с миелодиспластическим синдромом и апластическими анемиями / Г. П. Зубрицкая, Л. М. Лукьяненко, Е. И. Слобожанина, Т. И. Козарезова, Н. Н. Климович // Новости медико-биологических наук. – 2004. - № 1. – С.143-146.

10. Активность глутатион-S-трансферазы и выход конъюгатов глутатиона из эритроцитов детей, больных апластическими анемиями и миелодиспластическим синдромом / Е. И. Слобожанина, Г. П. Зубрицкая, А. Н. Антонович, Н. М. Козлова, Т. И. Козарезова, Н. Н. Климович, Г. Бартош // Известия национальной академии наук Беларуси (серия медицинских наук). – 2005. - № 1. – С. 59-63.

11. Климкович, Н. Н. Первичные миелодиспластические синдромы: современные представления о молекулярных механизмах патогенеза / Н. Н. Климкович, Т. И. Козарезова // Гематология и трансфузиология. – 2005. - № 3. - С.41-46.
12. Климкович, Н. Н. Морфологические критерии диагностики первичных миелодиспластических синдромов / Н. Н. Климкович, Т. И. Козарезова // Белорусский медицинский журнал. – 2005. - № 2. - С.18-20.
13. Климкович, Н. Н. Развитие представлений о систематизации и прогнозе первичных миелодиспластических синдромов у детей / Н. Н. Климкович // Медицинский журнал. – 2005. - № 3. - С.20-23.
14. Козарезова, Т. И. Первичные миелодиспластические синдромы у детей (эпидемиологические исследования) / Т. И. Козарезова, Н. Н. Климкович // Охрана материнства и детства. – 2005. - № 1. - С.80-85.
15. Изменение физического состояния липидов в мембранах эритроцитов детей, страдающих миелодиспластическими синдромами и приобретенными апластическими анемиями / Е. И. Слобожанина, Г. П. Зубрицкая, Н. М. Козлова, Н. Н. Климкович, Т. И. Козарезова // Известия национальной академии наук Беларуси (серия медицинских наук). – 2006. - № 1. - С.76-80.
16. Биофизические параметры мембран эритроцитов и лимфоцитов у детей, страдающих опухолевыми заболеваниями крови / Е. И. Слобожанина, Г. П. Зубрицкая, Н. М. Козлова, Т. И. Козарезова, Н. Н. Климкович // Известия национальной академии наук Беларуси (серия медицинских наук). – 2009. - № 1. - С. 5-10.
17. Климкович, Н. Н. Современные принципы классификации, оценки прогноза и терапии первичных миелодиспластических синдромов / Н. Н. Климкович // Проблемы здоровья и экологии. – 2011. - № 1(27). - С. 34-41.
18. Особенности течения первичных миелодиспластических синдромов в разных возрастных популяциях / Н. Н. Климкович, Т. И. Козарезова, Л. В. Колбаско, А. Л. Усс, Л. А. Смирнова, И. А. Искров // ARSmedica. – 2011. - № 5 (41). - С. 50-55.
19. Климкович, Н. Н. Гипометилирующие препараты как метод лечения первичных миелодиспластических синдромов / Н. Н. Климкович, Т. И. Козарезова // Рецепт. – 2011. - № 4. - С. 77-82.
20. Климкович, Н. Н. Прогностические факторы при первичных миелодиспластических синдромах как обоснование клинического решения / Н. Н. Климкович // ARS medica. - 2012. - № 13(68). - С. 48-56.
21. Оптимизация диагностического алгоритма при первичных миелодиспластических синдромах / Н. Н. Климкович, Т. И. Козарезова, Д. И. Суворов, Л. В. Колбаско // Український журнал гематології та трансфузіології.- 2013.- № 3.- С. 24-28.

22. Флуоресцентное зондирование мембран лимфоцитов при первичных миелодиспластических синдромах / Г. П. Зубрицкая, Н. Н. Климович, Т. И. Козарезова, Е. И. Слобожанина // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. - 2014. - № 1(9). - С. 45-51.

23. Иммунофенотипическая дифференцировка клеток костного мозга в диагностике первичных миелодиспластических синдромов / В. В. Смольникова, Н. Н. Климович, Т. В. Лебедева, В. Ю. Гриневич, А. В. Бакун // Проблемы здоровья и экологии. – 2014. - № 1(39). - С. 51-56.

24. Климович, Н. Н. Клинико-гематологическая манифестация первичных миелодиспластических синдромов / Н. Н. Климович // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2014. - № 46. - С. 24-28.

25. Содержание активированной формы антиапоптотического протеина *Akt1* в лизатах клеток костного мозга при первичных миелодиспластических синдромах / Н. Н. Климович, Н. В. Пивень, О. В. Красько, Т. И. Козарезова, М. Н. Тишкевич // Гематология и трансфузиология. – 2014. - № 2. - С. 9-15.

26. Тирозинкиназный рецептор *FLT3* при первичных миелодиспластических синдромах / Н. Н. Климович, В. В. Смольникова, О. В. Красько, Ж. Н. Пугачева // Медико-биологические проблемы жизнедеятельности. – 2014. - № 2(12). - С. 62-68.

27. Климович, Н. Н. Факторы прогноза при первичных миелодиспластических синдромах у лиц молодого и среднего возраста / Н. Н. Климович, О. В. Красько, Т. И. Козарезова // ScienceRise. - 2015. - № 1/3(6). - С. 29-37.

Материалы конференций, съездов, конгрессов и статьи в сборниках научных работ

28. Влияние неблагоприятных экологических факторов на состояние эритрона и их роль в генезе анемического синдрома у детей Республики Беларусь / Т. И. Козарезова, Е. И. Слобожанина, Н. Н. Климович, Н. А. Гресь, Л. И. Волкова, В. С. Петрова // Экологическая антропология: материалы VI Международ. науч.-практ.конф. «Экология человека в послечернобыльский период». - Минск, 1998. - С. 124-126.

29. Козарезова, Т. И. Микроэлементный состав волос и плазмы крови у детей с миелодиспластическим синдромом / Т. И. Козарезова, Н. Н. Климович // Актуальные вопросы детской онкологии и гематологии: материалы VIII международного симпозиума. - Минск, 2000. - С. 60-63.

30. Климович, Н.Н. Заболеваемость и клинико – лабораторная характеристика миелодиспластического синдрома у детей, проживающих в Гомельской, Брестской и Могилевской областях / Н. Н. Климович, Т. И. Козарезова // Экологическая антропология: ежегодник. - Минск, 2002. - С. 209-212.

31. Козарезова, Т. И. Биологическая роль микроэлементов в генезе миелодиспластического синдрома у детей / Т. И. Козарезова, Н. Н. Климович //

Актуальные проблемы теории, практики медицины, подготовки научных и профессиональных кадров: сб. науч. тр. - Минск, 2002. - Т. II. - С. 320-323.

32. Климкович, Н. Н. Некоторые факторы неопластической трансформации при миелодиспластическом синдроме у детей / Н. Н. Климкович, Т. И. Козарезова // Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии : материалы Российской науч.- практ. конф. - Санкт-Петербург, 2002. - С. 119.

33. Козарезова, Т. И. Миелодиспластический синдром у детей Республики Беларусь (эпидемиология) / Т. И. Козарезова, Н. Н. Климкович // Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии : материалы Российской науч.- практ. конф. - Санкт-Петербург, 2002. - С. 120.

34. Исследование физического состояния липидов в эритроцитарных мембранах детей, страдающих апластическими анемиями и миелодиспластическим синдромом / Г. П. Зубрицкая, Н. М. Козлова, Т. И. Козарезова, Н. Н. Климкович // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : Сб. статей международной научной конференции. - Минск, 2004. - Ч. II. - С. 154-156.

35. Климкович, Н. Н. Прогностические факторы при первичном миелодиспластическом синдроме у детей / Н. Н. Климкович, Т. И. Козарезова // Сб. материалов III съезда онкологов и радиологов СНГ, ч. II. - Минск, 2004. - С. 394-395.

36. Климкович, Н. Н. Иммунофенотипическая характеристика клеток костного мозга при первичных миелодиспластических синдромах / Н. Н. Климкович // Актуальные проблемы медицины : сб. науч. ст. Респ. науч.-практ. конф., посв. 15-й науч. сессии Гомельск. гос. мед. ун-та. - Гомель, 2005. - Вып. 6, Т. 2. - С. 58-60.

37. Клинико-лабораторные аспекты диагностики первичных миелодиспластических синдромов / Н. Н. Климкович, Т. И. Козарезова, Л. А. Смирнова, А. Л. Усс // Настоящее и будущее последипломного образования : материалы респ. науч.-практ. конф., посвящ. 75-летию БелМАПО / БелМАПО. - Минск, 2006. - Т. 2. - С. 178-181.

38. Климкович, Н. Н. Хромосомные аномалии при первичных миелодиспластических синдромах у детей / Н. Н. Климкович, Т. И. Козарезова // Здоровая мать – здоровый ребенок : материалы VIII съезда педиатров. - Минск, 2006. - С. 197-200.

39. Изменение активности глутатион-S-трансферазы в эритроцитах детей, страдающих опухолевыми заболеваниями крови / Г. П. Зубрицкая, Т. И. Козарезова, Н. Н. Климкович, Е. И. Слобожанина // Медико – социальная экология личности: состояние и перспективы : материалы V Международной конференции. - Минск, 2007. - С. 116-118.

40. Климкович, Н. Н. Лабораторная диагностика диспластических изменений гемопоэза при миелодиспластических синдромах у детей / Н. Н. Климкович // Клиническая лабораторная диагностика в XXI веке : материалы VII съезда специалистов клинической лабораторной диагностики. - Минск, 2007. - С. 157-159.

41. Активность глутатионтрансферазы в эритроцитах при злокачественных заболеваниях кроветворной ткани у детей / Г. П. Зубрицкая, Н. Н. Климкович, Т. И. Козарезова, А. Н. Антонович, Е. И. Слобожанина // Актуальные проблемы гематологии и трансфузиологии : материалы VI съезда гематологов и трансфузиологов Республики Беларусь. - Минск, 2007. - С. 159.

42. Климкович, Н. Н. Дифференциально – диагностический поиск при первичных миелодиспластических синдромах у детей / Н. Н. Климкович // Актуальные проблемы гематологии и трансфузиологии : материалы VI съезда гематологов и трансфузиологов Республики Беларусь. - Минск, 2007. - С. 163.

43. Патологическая характеристика эритроцитов при приобретенных апластических и рефрактерных анемиях / Н. Н. Климкович, Т. И. Козарезова, Г. П. Зубрицкая, Н. М. Козлова, Е. И. Слобожанина // Актуальные проблемы гематологии и трансфузиологии : материалы VI съезда гематологов и трансфузиологов Республики Беларусь. - Минск, 2007. - С. 165.

44. Климкович, Н. Н. Поиск молекулярно - биологических критериев прогнозирования первичных миелодиспластических синдромов / Н. Н. Климкович, Т. И. Козарезова // Медико – социальная экология личности: состояние и перспективы : материалы VI Международной конференции. - Минск, 2008. - С. 141-143.

45. Прогностическое значение клинических и морфологических параметров при первичных миелодиспластических синдромах у детей и взрослых / Н. Н. Климкович, Т. И. Козарезова, Л. А. Смирнова, А. Л. Усс // Новое в гематологии и трансфузиологии : сб. науч. статей. - Киев, 2008. - С. 46-49.

46. Биологические критерии реализации сигнала апоптоза при острых лейкозах и миелодиспластических синдромах у детей / Н. Н. Климкович, Г. П. Зубрицкая, Т. И. Козарезова, Н. М. Козлова, Е. И. Слобожанина // Новое в гематологии и трансфузиологии : сб. науч. статей. - Киев, 2008. - С. 50-54.

47. Биофизическая характеристика состояния эритроцитов при опухолевых болезнях крови / Н. Н. Климкович, Т. И. Козарезова, Г. П. Зубрицкая, Н. М. Козлова, Е. И. Слобожанина // Анемический синдром в клинике внутренних болезней : материалы науч.- практ. конф. – Ивано- Франковск, 2008. - С. 21.

48. Микровязкость липидов в мембранах лимфоцитов при неопластических болезнях крови / Г. П. Зубрицкая, А. Г. Кутько, Н. Н. Климкович, Т. И. Козарезова // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования

биосистем : сб. статей Международной научной конференции. - Минск, 2010. - С. 219-221.

49. Аберрантность иммунофенотипа клеток костного мозга при первичных миелодиспластических синдромах / Н. Н. Климович, Т. И. Козарезова, В. В. Смольникова, Л. В. Колбаско, Д. И. Суворов, И. А. Искров // Актуальные вопросы гематологии : материалы науч.-практ. конф. с междунар. участием. - Гомель, 2011. - Проблемы здоровья и экологии. – 2011.- № 2(28), Прил. 2. - С. 37-40.

50. Климович, Н. Н. Стратификация клинико-лабораторных критериев для выбора тактики лечения при первичных миелодиспластических синдромах / Н. Н. Климович, Т. И. Козарезова, И. А. Искров // Актуальные проблемы медицины : сб.статей Республиканской научно-практической конференции.- Гомель, 2011. - С. 72-75.

51. Апоптотическая активность клеток костного мозга при первичных миелодиспластических синдромах / Н. Н. Климович, В. В. Смольникова, Л. В. Колбаско, Д. И. Суворов // Актуальные проблемы гематологии и трансфузиологии: сб. науч. трудов VII съезда гематологов и трансфузиологов Республики Беларусь. - Минск, 2012. - С. 291-293.

52. Изменение уровня SH-групп в белках эритроцитов детей, страдающих апластическими анемиями и миелодиспластическим синдромом / Г. П. Зубрицкая, Н. Н. Климович, Т. И. Козарезова, Н. М. Козлова // Медико-социальная экология личности: состояние и перспективы : материалы X междунар. конф. - Минск, 2012. - С. 161-163.

53. Стресс-реакции мембран лимфоцитов при первичных миелодиспластических синдромах / Н. Н. Климович, Г. П. Зубрицкая, Т. И. Козарезова, Е. И. Слобожанина // Фундаментальные и прикладные проблемы стресса : материалы III международной научно-практической конференции. - 2013. - С. 22-24.

54. Цитогенетические аномалии при первичных миелодиспластических синдромах у пациентов молодого и среднего возраста / Н. Н. Климович, Т. В. Лебедева, А. В. Бакун, И. Н. Козарь // БГМУ: 90 лет в авангарде белорусской науки и практики : сб. науч. статей. - Минск: ГУ РНМБ, 2014. – Вып. 4. - С. 108-112.

55. Климович, Н. Н. Анализ выживаемости в зависимости от вида терапии первичных миелодиспластических синдромов у лиц молодого и среднего возраста / Н. Н. Климович // Медицина: достижения нового века : материалы IV науч.-практ. конф. с междунар. участием. - о.Гоа (Индия), 2015. – Академический журнал Западной Сибири. - 2015.- № 1(56), Т. 11. - С. 26-27.

56. Климович, Н. Н. Прогностическая модель множественных состояний для первичных миелодиспластических синдромов / Н. Н. Климович, О. В. Красько // Теоретические и практические аспекты развития научной мысли :

материалы XI международной науч.-практ. конф. // Inter-Medical. - 2015. - № 10. – С. 15-17.

Тезисы докладов

57. Kozarezowa, T. Zespół mielodysplastyczny i białaczka u dzieci na Białorusi / T. Kozarezowa, N. Klimkovich // Polony medyczne: Streszczenia referatów IV światowy kongres.- Warszawa, 2000. - P. 111-112.

58. MDS in children of Republic Belarus / M. Fugo, T. Kozarezova, N. Klimkovich, L. Volkova // 6th international symposium on myelodysplastic syndromes, Stockholm, Sweden. - Leukemia Research. – 2001. - Vol. 25, Suppl. 1. - P. S40.

59. Abu-Shanab, S. Children's epidemiology of MDS in Belarus / S. Abu-Shanab, T. Kozarezova, N. Klimkovich // 6th international symposium on myelodysplastic syndromes, Stockholm, Sweden. - Leukemia Research. – 2001. - Vol. 25, Suppl. 1. - P. S41.

60. Klimkovich N. Childrens' hypoplastic variant of MDS / N. Klimkovich, T. Kozarezova // 6th international symposium on myelodysplastic syndromes, Stockholm, Sweden. - Leukemia Research. – 2001. - Vol. 25, Suppl. 1. - P. S41.

61. Kozarezova T Etiological factors in children's genesis of MDS / T. Kozarezova, N. Klimkovich // 6th international symposium on myelodysplastic syndromes, Stockholm, Sweden. - Leukemia Research. – 2001. - Vol. 25, Suppl. 1. - P. S41.

62. The activity of glutathione-S-transferase and transport of glutathione conjugates in erythrocytes of children suffering from aplastic anemia and myelodysplastic syndrome / A. Antonovich, G. Zubritskaja, N. Kozlova, N. Klimkovich, T. Kozarezova, E. Slobozhanina // Reactive oxygen and nitrogen species, antioxidants and human health : abstr. International conf. - Smolensk, 2003. - P. 93-94.

63. Klimkovich, N. Children's MDS in Republic Belarus / N. Klimkovich, T. Kozarezova // Abstr. III International symposium on MDS in childhood. - Stresa, Italy, 2003. - P. 12.

64. Luminescence study of lipid state in erythrocyte membrane of children suffering from myelodysplastic syndrome and aplastic anemia / G. Zubritskaja, T. Kozarezova, N. Klimkovich, N. Kozlova // The 38th Annual Scientific Meeting of the European Society for Clinical Investigation , Utrecht, The Netherlands. - European Journal of Clinical Investigation. – 2004. - Vol. 34, Suppl. 1. - P. 13-14.

65. The molecular organization of erythrocyte membrane of children suffering initial myelodysplastic syndrome / N. N. Klimkovich, T. I. Kozarezova, E. I. Slobozhanina, G. M. Zubritskaja // 8th International MDS Symposium, Nagasaki, Japan. - Leukemia Research. - 2005. - Vol. 29, Suppl. 1. - P. S57.

66. Klimkovich, N. Myelodysplastic syndroms in children of Republic Belarus / N. Klimkovich // 12th Congress of the EHA, Vienna, Austria. - Haematologica. – 2007. - Vol. 92, Suppl. 1. - Abstr. 1476.

67. Klimkovich, N. Clinical-hematologic and prognostic features of myelodysplastic syndromes of children in Belarus / N. Klimkovich // 9th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes, Florence, Italy. - Leukemia Research. – 2007. - Vol. 31, Suppl. 1. - P. S42-S43.

68. Экспрессия FLT3 клетками костного мозга при первичных миелодиспластических синдромах / Н. Н. Климкович, В. В. Смольникова, Л. В. Колбаско, Д. И. Суворов, Т. И. Козарезова // Внедрение современных достижений медицинской науки в практику охраны здоровья Украины : материалы II Международного медицинского конгресса. - Киев, 2013. - С. 60.

Инструкции по применению

69. Распространенность и клиничко – лабораторная характеристика апластической анемии, миелодиспластического синдрома и гемофилий у детей, проживающих на загрязненных территориях Республики Беларусь: метод. рекомендации № 169-0012: утв. 28.02.2001 г. / Т. И. Козарезова, Н. Н. Климкович, Е. П. Иванов, Л. П. Шуваева, В. Н. Гапанович, Л. И. Волкова, Р. Ф. Ярошевич, Н. К. Шаповалюк, Г. Г. Винокурова, Н. М. Мельчакова // Современные методы диагностики, лечения и профилактики заболеваний : сб. инструкт. -метод. док. - Минск, 2002. - Вып. 2, Т. 2. - С. 75-90.

70. Метод иммунофенотипического выявления опухолевых клеток при первичных миелодиспластических синдромах: инструкция по применению № 075 – 0714: утв. МЗ РБ 17.10.2014г. / сост. В. В. Смольникова, Н. Н. Климкович, Н. Ф. Миланович, А. Л. Усс. – Минск, 2014. - 8 с.

Учебно-методические материалы

71. Козарезова, Т. И. Миелодиспластические синдромы / Болезни крови у детей: учебное пособие, допущено Министерством образования Республики Беларусь в качестве учебного пособия для студентов медицинских высших учебных заведений / Т. И. Козарезова, Н. Н. Климкович. - Минск: Белорусская наука, 2001. - С. 280-290.

72. Козарезова, Т. И. Первичные миелодиспластические синдромы у детей (современные представления об онкогенезе, эпидемиология и этиология, клинические и диагностические аспекты, терапевтические направления): учебное пособие для врачей / Т. И. Козарезова, Н. Н. Климкович. - Минск: БелМАПО, 2005. - 56 с.

Рационализаторские предложения

73. Способ дифференцировки терапевтических методов при первичных миелодиспластических синдромах : рационализатор. предложение, утв. ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования» : удостоверение №125 от 01.12.2010 г. / Н. Н. Климкович, Т. И. Козарезова, И. А. Искров.

74. Этапы и алгоритм диагностики при первичных миелодиспластических синдромах : рационализатор. предложение, утв. ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования» : удостоверение №33 от 04.04.2013 г. / Н. Н. Климович, А. Л. Усс, В. Г. Бебешко, С. В. Клименко, Т. Ф. Любарец, Т. И. Козарезова, Д. И. Суворов, Л. В. Колбаско.

75. Стратификация пациентов с первичными миелодиспластическими синдромами по терапевтическим группам : рационализатор. предложение, утв. ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования» : удостоверение №34 от 04.04.2013 г. / Н. Н. Климович, А. Л. Усс, В. Г. Бебешко, С. В. Клименко, Т. Ф. Любарец, Т. И. Козарезова, Д. И. Суворов, Л. В. Колбаско.

Патенты на изобретение

76. Способ прогнозирования летального исхода у пациента с первичным миелодиспластическим синдромом / Н. Н. Климович, О. В. Красько, М. Н. Тишкевич, Т. И. Козарезова; заявитель Н. Н. Климович. - № а20140158; заявл. 07.03.2014г.

РЭЗІЮМЭ
Клімковіч Наталля Мікалаеўна

Першасныя міеладіспластычныя сіндромы: медыка-біялагічная характарыстыка, дыягностыка, крытэрыі прагнозу

Ключавыя словы: міеладіспластычныя сіндромы, патафізіялогія, крытэрыі прагрэсавання, дыягностыка, прагноз

Мэта даследавання: павышэнне эфектыўнасці дыягнастычных і тэрапеўтычных мерапрыемстваў у пацыентаў з першаснымі МДС на аснове вызначэння патагенетычных асаблівасцяў, ключавых характарыстык прагрэсавання захворвання і фактараў прагнозу.

Метады даследавання: клінічныя, лабараторныя, марфалагічныя, імуналагічныя, цытагенетычныя, біяфізічныя, статыстычныя.

Атрыманыя вынікі і іх навуковая навізна: праведзена комплекснае даследаванне пра- і антыапапатычных фактараў і вызначана іх ролю ў прагрэсаванні першасных МДС. Устаноўлены асаблівасці клініка-гематалагічнай маніфестацыі і прэдыктар прагрэсавання першасных МДС у дарослых маладога і сярэдняга ўзросту і дзяцей. Вызначана дыягнастычная і прагнастычная значнасць біялагічных характарыстык клеткавага паталагічнага клона (имунафенатып, экспрэсія рэцэптараў CD95 і FLT3, змест Akt1 ў лізатах клетак касцявога мозгу) і аптымізаваны алгарытм дыягностыкі пры першасных МДС з вылучэннем этапаў для ўстаноў аховы здароўя рознага ўзроўню. Распрацавана мадэль многіх станаў натуральнага плыні першасных МДС з усталяваннем фактараў, якія ўплываюць на прагрэсаванне захворвання. Прапанаваная стратыфікацыя пацыентаў з МДС па тэрапеўтычным групам на падставе атрыманых медыка-біялагічнай характарыстыкі і крытэрыяў прагнозу для індывідуалізацыі тэрапіі.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: зніжэнне апапатычнай актыўнасці клетак касцявога мозгу пры МДС вызначае прагрэсаванне захворвання і павінна ўлічвацца пры ўсталяванні прагнозу і вызначэнні тэрапеўтычнай тактыкі. У комплекс дыягнастычных крытэрыяў МДС ўключаць имунафенатып, экспрэсію CD95. Пры экспрэсіі бласнымі клеткамі касцявога мозгу CD95 менш за 40% паказаны ранні пачатак інтэнсіўнай хіміятэрапіі. У класіфікацыі МДС дзіцячага ўзросту вылучаць у асобную форму.

Вобласць ужывання: гематалогія.

РЕЗЮМЕ

Климкович Наталья Николаевна

Первичные миеلودиспластические синдромы: медико-биологическая характеристика, диагностика, критерии прогноза

Ключевые слова: миеلودиспластические синдромы, патофизиология, критерии прогрессирования, диагностика, прогноз

Цель исследования: повышение эффективности диагностических и терапевтических мероприятий у пациентов с первичными МДС на основе определения патогенетических особенностей, ключевых характеристик прогрессирования заболевания и факторов прогноза.

Методы исследования: клинические, гематологические, морфологические, иммунологические, цитогенетические, биофизические, статистические.

Полученные результаты и их научная новизна: проведено комплексное исследование про- и антиапоптотических факторов и определена их роль в прогрессировании первичных МДС. Установлены особенности клинико-гематологической манифестации и предикторы прогрессирования первичных МДС у взрослых молодого и среднего возраста и детей. Определена диагностическая и прогностическая значимость биологических характеристик клеточного патологического клона (иммунофенотип, экспрессия рецепторов CD95 и FLT3, содержание Akt1 в лизатах клеток костного мозга) и оптимизирован алгоритм диагностики при первичных МДС с выделением этапов для учреждений здравоохранения различного уровня. Разработана модель множественных состояний естественного течения первичных МДС с установлением факторов, влияющих на прогрессирование заболевания. Предложена стратификация пациентов с МДС по терапевтическим группам на основании полученных данных медико-биологической характеристики и критериев прогноза для индивидуализации терапии.

Рекомендации по использованию: снижение апоптотической активности клеток костного мозга при МДС определяет прогрессирование заболевания и должно учитываться при установлении прогноза и определении терапевтической тактики. В комплекс диагностических критериев МДС включать иммунофенотип, экспрессию CD95. При экспрессии бластными клетками костного мозга CD95 менее 40% показано раннее начало интенсивной химиотерапии. В классификации МДС детского возраста выделять в отдельную форму.

Область применения: гематология.

Summary

Klimkovich Natallia N.

Primary myelodysplastic syndromes: biomedical characteristics, diagnosis, prognostic criteria

Keywords: myelodysplastic syndromes, pathophysiology, progression criteria, diagnosis, prognosis.

Objective: increase in efficiency of diagnosis and treatment of patients with de novo MDS based on the identification of pathogenic features, the main characteristics of disease progression and prognostic factors.

Methods: clinical, laboratory, morphological, immunological, cytogenetic, biophysical, statistical.

Results and their scientific novelty: a comprehensive study of pro- and anti-apoptotic factors has been conducted and their role in the progression of primary MDS has been determined. There have been set up features of clinical and hematological manifestation and predictors of progression of primary MDS in young and middle-aged adults and children. Diagnostic and prognostic significance of the biological characteristics of the pathological cell clones (immunophenotype, expression of CD95 and FLT3, the content of Akt1 in lysates of bone marrow cells) have been defined and the diagnostic algorithm for primary diagnosis of MDS with division into different stages for health care institutions at various levels has been optimized. A multistate model of natural evolution of primary MDS has been developed and factors affecting the disease progression have been determined. A stratification of patients with MDS by therapeutic groups based on clinical and laboratory criteria and biological characteristics of the disease has been proposed.

Recommendations: reduction of the apoptotic activity of bone marrow cells in MDS defines the progression of the disease and should be considered in determining the prognosis and treatment strategy. The complex of diagnostic criteria of MDS includes immunophenotype and expression of CD95. When the expression of CD95 on bone marrow blasts is less than 40% it is recommended to start an early intensive chemotherapy. The classification of children's MDS should be allocated in a separate form.

Scope: hematology.