

*А.А. Фильченков
Т.С. Ивановская*

*Институт экспериментальной
патологии, онкологии
и радиобиологии
им. Р.Е. Кавецкого
НАН Украины, Киев, Украина*

Ключевые слова:

*миелодиспластический
синдром, рефрактерная анемия,
острый миелоидный лейкоз,
гемопоэтические стволовые
клетки, апоптоз, цитокины,
факторы роста, хемокины,
прогностические факторы.*

НАРУШЕНИЯ АПОПТОЗА ПРИ МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИХ СИНДРОМАХ

Цель обзорной статьи — проанализировать современные представления о роли и механизмах апоптотической гибели клеток у больных при миелодиспластических синдромах (МДС). Многочисленные данные свидетельствуют, что апоптоз (Ap) вовлечен в диспластический и неэффективный гемопоз и неопластическую трансформацию клеток костного мозга (КМ) при МДС. В то время как уровень Ap клеток КМ возрастает при развитии МДС, подавление Ap у больных МДС повышает вероятность развития острого миелоидного лейкоза. В статье представлены последние данные о роли Ap в патогенезе МДС, а также информация о прогностической и предиктивной роли клеточных апоптотических маркеров, уровня ряда цитокинов, факторов роста и хемокинов у пациентов с МДС. Особое внимание уделено таким эффекторам Ap, как «рецепторы смерти», белки семейства BCL-2 и IAP, адапторные белки группы c-FLIP, белок-супрессор опухолевого роста p53.

Миелодиспластические синдромы (МДС) объединяют группу гетерогенных, клонально обусловленных, приобретенных заболеваний кроветворной ткани опухолевой природы, характеризующихся нарушением функции костного мозга (КМ) и угнетением эритроидного, миелоидного и тромбоцитарного ростков, что проявляется признаками цитопении (анемия, нейтропения, тромбоцитопения или их комбинации) и повышенным риском развития острых миелоидных лейкозов (ОМЛ). Согласно данным Национального института рака США, ежегодный уровень заболеваемости МДС составляет примерно 4,6 на 100 000 населения (6,3 — у мужчин и 3,4 — у женщин). МДС является крайне редким у детей, подростков и лиц младше 40 лет (0,1 на 100 000 населения). Частота МДС резко возрастает — до 28,3 на 100 000 населения у людей в возрасте 70–79 лет и составляет 56,8 на 100 000 человек 80 лет и старше (85,1 — у мужчин и 39,9 — у женщин) [1]. Показатели 5-летней выживаемости (за 2008–2014 гг.) больных МДС моложе 65 лет составили 47,1 и 57,7% у мужчин и женщин, а у больных 65 лет и старше — 32,6 и 37,0% соответственно [1]. Заболеваемость МДС в странах Европы практически соответствует таковой в США — 3,8 на 100 000 в Великобритании [2], 4,1 на 100 000 в Германии [3], 3,6 на 100 000 в Швеции [4] и 3,2 на 100 000 во Франции [5]. По сравнению с европейской популяцией, в странах Азии МДС заболевают в более раннем возрасте. Например, средний возраст больных МДС в Таиланде составляет 56 лет [6]. При этом 5-летняя выживаемость больных из Таиланда достигала 29% с медианой выживаемости около 24 мес. К сожалению, объективные статистические данные о заболеваемости МДС и 5-летней выживаемости таких больных в Украине отсутствуют.

В среднем мужчины болеют чаще, чем женщины. Например, в исследовании М. Maunadié и соавторов [5] грубый показатель заболеваемости МДС составил 3,8 на 100 000 населения у мужчин и 2,5 на 100 000 — у женщин, значения аналогичного показателя у больных МДС из Японии были 3,8 и 2,4 на 100 000 населения соответственно [7]. Вместе с тем в других работах подобной гендерной зависимости не установлено [6, 8]. Следует отметить, что показатели смертности от МДС также могут зависеть от пола пациентов. Например, в США у мужчин смертность на 25% выше, чем у женщин [9].

Среди основных этиологических факторов, достоверно повышающих риск развития МДС, можно выделить табакокурение, неумеренное употребление алкоголя, контакт с бензолом, бензином и другими органическими растворителями или агрохимикатами [10–12]. Радиогенная природа МДС доказана в когорте лиц, переживших атомную бомбардировку в Хиросиме и Нагасаки, а позже подтверждена при обследовании ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской атомной электростанции [13]. Важно отметить, что риск возникновения радиационно-ассоциированных МДС сохраняется спустя 40 лет и более после воздействия ионизирующего излучения и особенно высок у лиц, подвергшихся облучению в молодом возрасте [14].

Значительный интерес представляют данные о предрасположенности к развитию МДС у кровных родственников. Хотя случаи семейного заболевания встречаются достаточно редко [15], в последнее десятилетие стало известно о существовании синдромов, связанных с семейной предрасположенностью к МДС/ОМЛ. Последние включают моногенные наследственные синдромы, ассоциированные с мутациями генов *GATA2*, *CEBPA* и *RUNX1*, а также заболевания, объединяемые в группу TBD (telomere

biology disorders), в основе возникновения которых лежат мутации генов *TERT* или *TERC* [16].

Принято различать МДС, возникающие *de novo*, и вторичные МДС, развивающиеся после применения цитотоксических противоопухолевых препаратов (прежде всего алкилирующих агентов, ингибиторов топоизомеразы II, аналогов пуриновых нуклеозидов) и/или лучевой терапии. Больные со вторичными МДС (t-МДС) составляют примерно 10% всех пациентов с МДС [9]. В случае применения химиотерапии риск возникновения t-МДС зависит от дозы препарата [17].

Согласно новой (2016 г.) пересмотренной классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) миелоидных новообразований и острых лейкозов [18], выделяют шесть основных форм заболевания: МДС с мультилинейной дисплазией; МДС с однолинейной дисплазией, МДС с кольцевыми сидеробластами (МДС-КС), МДС с избытком бластов (МДС-ИБ), МДС с изолированной делецией 5-й хромосомы — *del(5q)* и МДС неуточненный. В основу такой классификации положены степень выраженности диспластических изменений и процентное содержание бластов в КМ и периферической крови (ПК). Прогноз у больных МДС-ИБ, как правило, неблагоприятный. Медиана выживаемости составляет примерно 5–12 мес, тогда как средняя выживаемость при МДС-КС с однолинейной дисплазией или МДС-КС колеблется от 3 до 6 лет [19]. В целом заболевание характеризуется высоким (по данным разных авторов, до 30%) риском трансформации в ОМЛ. Определение риска, связанного с характеристикой варианта МДС, базируется на использовании различных прогностических систем оценки, таких как: Международная прогностическая балльная система (International Prognostic Scoring System — IPSS), Пересмотренная

прогностическая балльная система (Revised IPSS — IPSS-R) и Прогностическая балльная система ВОЗ (WHO Classification-Based Prognostic Scoring System — WPSS).

В основе диагностики МДС лежит исследование морфологических особенностей клеток ПК и КМ. Поскольку ведущими симптомами МДС являются анемия, нейтропения, тромбоцитопения или их комбинации, все диагностические процедуры направлены на исключение реактивных цитопений или других клональных заболеваний кроветворной системы. Дифференциальная диагностика МДС проводится с мегалобластной анемией (B_{12} /фолиеводефицитной анемией); апластической анемией (врожденной, приобретенной или идиопатической), анемиями при вирусных инфекциях, с аутоиммунными процессами, изменениями костномозгового кроветворения при метастазировании опухолей и при воздействии ряда лекарственных препаратов.

В соответствии с общепринятой многоступенчатой моделью патогенеза МДС первоначальным является повреждение полипотентных гемопоэтических стволовых клеток и кроветворных клеток-предшественников, что приводит к усилению пролиферации и апоптоза (Ап) в КМ. В случаях прогрессии заболевания (МДС-ИБ/ОМЛ) чаще всего отмечается ослабление процесса Ап. В настоящее время активно изучаются перспективы использования апоптотических маркеров для прогнозирования течения заболевания. В отделе онкогематологии Института экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины в период с 1996 по 2016 г. уточненная диагностика разных форм МДС была выполнена у 629 взрослых и 22 детей. Примеры апоптотических изменений клеток КМ у пациентов с МДС представлены на рисунке. Цель нашей обзорной ра-

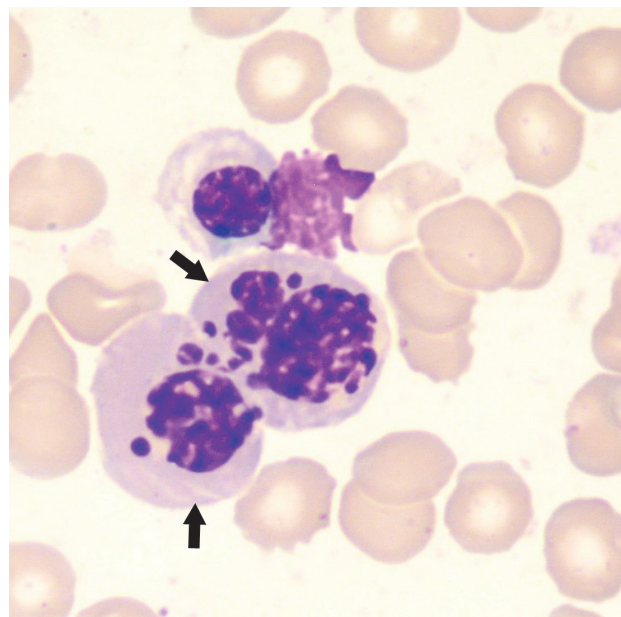
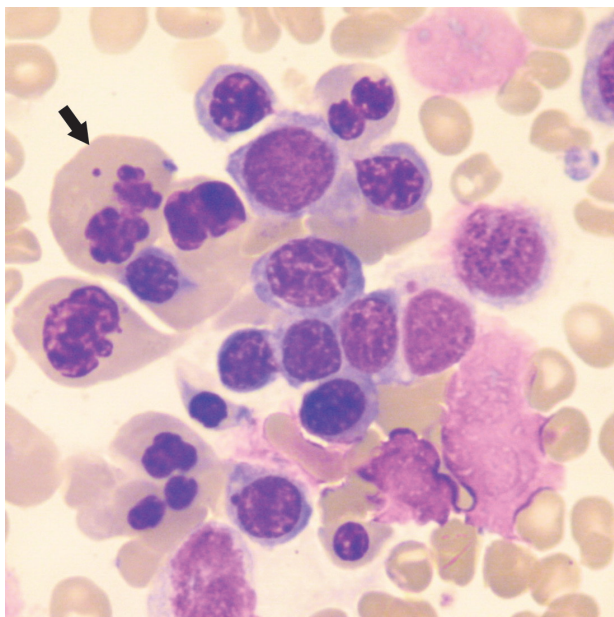


Рисунок. КМ больного с рефрактерной анемией (МДС-РА). Стрелками указаны клетки с фрагментированным ядром. Окраска по Паппенгейму, $\times 1000$

боты — проанализировать современные представления о роли и механизмах апоптотической гибели клеток у больных МДС.

ОСНОВНЫЕ НАРУШЕНИЯ АП У БОЛЬНЫХ МДС

Согласно современным представлениям, Ап рассматривается как форма регулируемой гибели отдельных клеток нормальных и патологически измененных органов и тканей в ответ на различные вне- либо внутриклеточные изменения, несовместимые с жизнедеятельностью клеток. К примерам апоптотических стимулов из микроокружения клеток следует отнести лиганды «рецепторов смерти» (death receptors) либо дефицит лигандов «рецепторов зависимости» (dependence receptors). Наиболее изученными внутриклеточными изменениями, инициирующими Ап, являются повреждения ДНК, стресс эндоплазматического ретикулума, нарушения полимеризации микротрубочек либо дефекты митотического аппарата [20]. На молекулярном уровне процесс Ап базируется на сложном каскаде реакций с участием протеаз, протеинкиназ и эндонуклеаз, в конечном итоге приводящих к дезинтеграции погибающей клетки. Существуют многочисленные доказательства в пользу того, что реализация апоптотической программы находится под контролем эндогенных регуляторов, в том числе белков семейства BCL-2, IAP, FLIP и p53 [20]. Избыточный или недостаточный Ап, связанный в том числе с изменениями содержания или активности указанных выше белков, может лежать в основе патогенеза различных заболеваний, включая опухоли кроветворной и лимфоидной ткани [21–29]. Нарушения в реализации Ап характерны также для МДС, что будет более детально проанализировано ниже.

Насколько нам известно, первое сообщение об обнаружении повышенного содержания мегакариоцитов с гиподольчатыми ядрами в КМ больных МДС появилось в 1992 г. [30]. Позже была выдвинута гипотеза, согласно которой дисплазия мегакариоцитов, отмечаемая в биоптатах КМ больных МДС, связана с высокой частотой апоптотической гибели клеток [31]. У больных МДС с рефрактерной анемией (МДС-РА) и МДС-КС выявлено достоверное повышение частоты Ап CD34⁺ клеток (гемопоэтических клеток-предшественников и стволовых клеток) по сравнению с аналогичной популяцией клеток у здоровых доноров (56,9 и 51,2% в сравнении с 16,7%) [32]. Важно отметить, что у больных МДС-РА и МДС-КС количество апоптотических клеток значительно превышает количество Ki-67⁺ клеток (соотношение Ап/пролиферация составляло 2,08). Однако у больных МДС-ИБ соотношение Ап/пролиферация выравнивалось (составляло 1,14) за счет увеличения пула пролиферирующих клеток. В случаях прогрессии заболевания (рефрактерная анемия с избытком

бластов в стадии трансформации — РАИБ-Т) отмечалось достоверное снижение частоты Ап (до 22%) и индекса пролиферации (16,8% по сравнению с 40,4%) [32]. Эти результаты согласуются с данными других авторов [33], которые выявили увеличение доли апоптотических CD34⁺ клеток в КМ больных МДС-РА по сравнению со здоровыми донорами или больными ОМЛ (9,1% по сравнению с 2,1 и 1,2% соответственно). Показано также, что для МДС с высоким уровнем Ап характерны увеличение клеточности КМ, улучшение показателя общей выживаемости и увеличение сроков, предшествующих трансформации заболевания в ОМЛ [34]. Интересно отметить, что апоптотический индекс при МДС с нарушениями кариотипа существенно не превышал таковой при МДС с нормальным кариотипом [35], что указывает на наличие избыточного Ап даже среди клона клеток, не имеющих хромосомных аномалий.

При ясности общей концепции значения избыточного Ап для патогенеза МДС многочисленные детали оставались неизвестными. Например, какие именно клетки КМ чаще всего подвергаются Ап. Согласно данным А. Raza и соавторов [36], которые при изучении образцов КМ использовали высокочувствительный метод выявления фрагментированной ДНК, около 75% клеток всех трех ростков кроветворения находились в состоянии Ап. Важно отметить, что, помимо гемопоэтических клеток, апоптотические изменения выявлялись в клетках стромы КМ больных МДС, в частности в клетках эндотелия, фибробластах и адипоцитах [36]. Поскольку физиологическое значение Ап сводится к поддержанию тканевого гомеостаза путем удаления избыточных, дефектных и/или потенциально опасных клеток, то важным представлялся вопрос о значении избыточного Ап на ранних стадиях МДС. Результаты ряда цитируемых выше работ [32, 34, 36] свидетельствуют в пользу того, что избыточный Ап клеток КМ можно рассматривать как патофизиологический механизм развития МДС, а не процесс компенсации усиленной пролиферации клеток.

«Рецепторы смерти». Многочисленные исследования были посвящены изучению молекулярных механизмов инициации и реализации Ап при МДС. Особое внимание уделено «рецепторам смерти» как наиболее важному звену в инициации апоптотической гибели клеток. Из шести известных в настоящее время «рецепторов смерти» [37] при МДС наибольшее внимание привлекли специфические рецепторы таких лигандов, как Fas, фактор некроза опухоли альфа (tumor necrosis factor — TNF- α) и цитокин семейства факторов некроза опухоли TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand). В частности, G.M. Gersuk и соавторы [38] изучали экспрессию Fas и FasL в гемопоэтических клетках КМ. Показано существенное повышение уровня мРНК Fas и FasL в CD34⁺ клетках больных

МДС по сравнению с клетками нормального КМ. Примечательно, что в КМ содержание TNF- α , который, как известно, способен стимулировать экспрессию рецептора Fas на CD34⁺ клетках КМ [39], у больных МДС также увеличено [40]. При этом отмечается прямая зависимость содержания TNF- α от того, к какой группе риска относится больной: наибольшие значения уровня этого цитокина характерны для случаев МДС низкого риска. Такие результаты согласуются с данными о том, что в клетках КМ наибольшие значения апоптотического индекса зарегистрированы у больных МДС низкого риска [41]. Более того, инкубация гемопоэтических клеток КМ с антителами против Fas, TNFR или TNF- α приводит к заметному увеличению числа колоний этих клеток в условиях *in vitro* [38].

Известно, что Fas-опосредованный Ап инициируется лигандом FasL, поэтому его экспрессия в клетках КМ при МДС также активно изучается. P. Gupta и соавторы [42] показали, что для больных МДС характерно существенное повышение уровня FasL по сравнению с таковым в КМ здоровых людей. При этом экспрессия FasL выявлена в миелобlastах, эритробlastах, созревающих миелоидных клетках, мегакариоцитах и клетках с признаками дисплазии. Установлена прямая корреляция между экспрессией FasL в клетках из образцов КМ больных МДС с выраженными признаками анемии и необходимостью проведения гемотрансфузий [42]. Кроме того, уровень FasL может быть использован в качестве фактора прогноза выживаемости больных МДС [42].

Роль цитокина TNF- α в индукции Ап клеток КМ не ограничивается его способностью стимулировать экспрессию рецептора Fas (о которой было сказано выше), но также включает прямое цитотоксическое действие через TNFR1-рецепторы. Показано, что уровень мРНК *TNFR1* в клетках КМ больных МДС-РА значительно повышен по сравнению с таковым у здоровых людей [43]. Более того, у таких больных выявлялось повышение экспрессии генов *TRADD* и *FADD*, которые кодируют адаптерные белки, необходимые для реализации TNFR1-опосредуемого Ап. Вместе с тем существенных различий между экспрессией *TNFR1* в образцах, полученных от больных МДС среднего и высокого риска (МДС-ИБ и РАИБ-Т) и контрольной группы (здоровые доноры), не обнаружено [43].

Воздействие цитокина TRAIL на клетки КМ больных МДС, но не на клетки КМ здоровых доноров, в условиях *in vitro* приводило к их гибели путем Ап [44], что может быть связано с более высокими уровнями экспрессии рецепторов TRAIL-R1 и TRAIL-R2 в КМ больных МДС. Важно отметить, что индукция Ап в КМ больных МДС была наиболее заметной в популяции бластных клеток, и преимущественное воздействие TRAIL на клон трансформированных клеток подтверждено результата-

ми цитогенетического анализа и FISH-методом [44]. В целом полученные данные указывают на важную роль, которую играют проапоптотические цитокины Fas, TNF- α и TRAIL в регуляции гемопоэза в КМ у больных МДС.

Семейство BCL-2-подобных белков. Как отмечалось выше, реализация апоптотической программы контролируется рядом внутриклеточных регуляторов, в том числе белками семейства BCL-2, IAP, FLIP и p53. Изучение особенностей их экспрессии и функциональной активности в гемопоэтических клетках у больных МДС позволило установить их роль в патогенезе заболевания. Семейство BCL-2-подобных белков включает более 20 представителей, которые оказывают как про-, так и антиапоптотическое действие, связанное с так называемым митохондриальным путем Ап [45]. Про- и антиапоптотические белки семейства BCL-2 могут связываться друг с другом, образуя сложную систему гомо- и гетеродимерных комплексов. Соотношение про- и антиапоптотических белков при формировании таких комплексов и определяет последующую реализацию или ингибирование Ап в клетках. Например, белки BCL-2 и BCL-X_L, встраиваясь во внешнюю мембрану митохондрий, подавляя Ап за счет образования гетеродимерных комплексов с белком BAX, что препятствует формированию димеров BAX/BAX. Комплексы BAX/BAX или BAK/BAK формируют мембранные поры, через которые цитохром C и другие апоптогенные молекулы покидают митохондрии и попадают в цитоплазму с последующей активацией эффекторной фазы Ап.

В CD34⁺ клетках больных МДС-РА и МДС-КС выявлено достоверное увеличение соотношения проапоптотических (BAX, BAD) и антиапоптотических (BCL-2, BCL-X_L) белков по сравнению с аналогичной популяцией клеток у здоровых людей (2,57 и 1,89 соответственно) [32]. Важно отметить, что при прогрессии заболевания этот показатель снижался до значения 1,16, в первую очередь за счет повышения уровня BCL-2. Показана обратная корреляция между соотношением уровней про- и антиапоптотических BCL-2-подобных белков в популяции CD34⁺ клеток больных МДС и оценками прогноза заболевания по шкале IPSS или согласно анализу цитогенетических маркеров [32]. Эти результаты подтверждаются данными других авторов [46]. Низкомолекулярные ингибиторы антиапоптотических BCL-2-подобных белков оказывают цитотоксическое действие на CD34⁺ клетки КМ больных МДС высокого риска или больных вторичным ОМЛ, но не больных МДС низкого риска [47]. Эти результаты не только подтверждают роль нарушений Ап при МДС, но и указывают на возможность использования ингибиторов отдельных звеньев регуляторной системы Ап у больных МДС высокого риска с терапевтической целью.

IAP-подобные белки. Еще одно семейство эндогенных регуляторов Ап объединяет IAP-подобные белки, которые, в отличие от BCL-2-подобных белков, всегда ингибируют апоптотические регуляторные сигналы [48]. Наиболее выраженной антиапоптотической активностью среди членов указанного семейства обладает белок XIAP, который способен связываться с активированными каспазами-3 и -7, а также предотвращать активацию каспазы-9. Как показали К. Yamamoto и соавторы [49], уровень экспрессии мРНК XIAP и сурвивина (другого представителя семейства IAP) в клетках КМ больных МДС был значительно повышен по сравнению с контрольными образцами, но снижался после трансформации заболевания в ОМЛ. Эти данные свидетельствуют о возможном участии указанных антиапоптотических регуляторов на ранних этапах трансформации МДС в ОМЛ.

c-FLIP белки. Говоря об эндогенных регуляторах Ап, нельзя не упомянуть о белковых продуктах гена *c-FLIP*. Известны 13 вариантов *c-FLIP*, которые образуются в результате альтернативного сплайсинга, но только три из них экспрессируются в качестве белков [50]. Благодаря наличию DED-доменов все три формы *c-FLIP_S*, *c-FLIP_R* и *c-FLIP_L* способны образовывать белковый комплекс DISC (death-inducing signaling complex), опосредующий передачу апоптотического сигнала от «рецепторов смерти». Однако, несмотря на это, белок *c-FLIP_L* может как ингибировать, так и стимулировать Ап [50]. Уровень экспрессии мРНК *FLIP_L* в CD34⁺ клетках КМ больных МДС был достоверно ниже такового у здоровых доноров [51]. Выявлена обратная корреляция между уровнем экспрессии *FLIP_L* и степенью апоптотической гибели CD34⁺ клеток как у здоровых людей, так и у больных МДС. Важно отметить, что при этом уровень экспрессии мРНК другой изоформы — *FLIP_S* — оказался выше в клетках КМ у больных МДС по сравнению с таковым у здоровых доноров, что напрямую соответствовало выраженности Ап CD34⁺ клеток.

Белок p53. Как известно, белок p53 выполняет в клетках множество функций, главная из которых — снижение вероятности накопления в организме клеток с аномальными изменениями генома, включая те, которые обуславливают неопластическую трансформацию клеток [52]. Белок p53 постоянно синтезируется клетками, но очень быстро расщепляется (период его полураспада около 20 мин), и поэтому концентрация p53 в большинстве нормальных клеток и тканей очень низкая. Активация p53 (за счет стабильного повышения его концентрации или фосфорилирования) способствует подавлению процессов, связанных с делением клеток, либо инициации Ап. Выявлен ряд p53-зависимых генов, которые участвуют в регуляции Ап. При этом чаще всего белок p53 активирует митохондриальный путь, в частности стимулирует экспрессию апоптотических генов *BAX*,

BID, *p53AIP1*, *NOXA* и *PUMA*, а также подавляет экспрессию антиапоптотических генов *BCL-2* и *MCL-1*. Кроме того, белок p53 способен стимулировать экспрессию генов «рецепторов смерти» *FAS*, *TRAIL-R1* и *TRAIL-R2*, что приводит к активации рецептор-опосредованного Ап. У больных РАИБ-Т количество p53⁺ клеток в образцах КМ было выше, чем у больных МДС без признаков трансформации [53]. Интересно, что в отличие от больных ОМЛ с изменениями, связанными с миелодисплазией, p53⁺ клетки выявлены лишь в части случаев ОМЛ *de novo*. Иммуногистохимическое определение p53 в клетках-предшественниках КМ больных МДС с делецией *del(5q)* показало, что содержание p53⁺ клеток более 1% ассоциируется с высоким риском трансформации в ОМЛ и сокращением сроков общей выживаемости больных [54].

Следует отметить, что мутации гена *TP53* встречаются в клетках примерно половины всех злокачественных новообразований человека, причем 95% из них приходится на участок, кодирующий ДНК-связывающий домен p53 [55]. Мутации гена *TP53* увеличивают период полураспада белка p53 и уменьшают его ДНК-специфическое связывание и транскрипционную активность. В результате этого у мутантной формы белка p53 значительно ослабляется способность инициировать Ап. Мутации генов, наиболее часто выявляемые у больных МДС, представлены в табл. 1. Как можно видеть, мутации Ап-ассоциированных генов у этой категории больных обнаруживают достаточно редко. Следует отметить, что мутации *TP53* сопряжены с высоким риском трансформации МДС в ОМЛ и с более низкими значениями общей выживаемости больных МДС [57]. Вместе с тем мутации генов, чьи белковые продукты участвуют в сплайсинге РНК (*SF3B1*, *SRSF2*), метилировании ДНК (*TET2*, *DNMT3A*), модификации хроматина (*ASXL1*, *EZH2*) или транскрипции ДНК (*RUNX1*, *ETV6*), выявляют у больных МДС с более высокой частотой.

Таблица 1
Мутации генов, наиболее часто выявляемые у больных МДС
(адаптировано по [56])

Ген	Хромосомная локализация	Встречаемость, %	Участие в Ап
<i>SF3B1</i>	2q33.1	20–28*	
<i>SRSF2</i>	17q25.1	12–15	
<i>TET2</i>	4q24	20	
<i>ASXL1</i>	20q11.2	11–15	
<i>DNMT3A</i>	2p23.3	10	+
<i>RUNX1</i>	21q22	10	
<i>TP53</i>	17p13	5–10	+
<i>JAK2</i>	9p24.1	5**	+
<i>EZH2</i>	7q36.1	5	
<i>ETV6</i>	12p13.2	2–5	
<i>EVI1</i>	3q26	1–2	+
<i>NRAS</i>	1p13.2	5	
<i>CSNK1A1</i>	5q32	7	
<i>BCOR</i>	Xp11.4	4	+

* > 70% у больных МДС-КС.

** 50% у больных МДС-КС, ассоциированным с выраженным тромбоцитозом.

РОЛЬ ЦИТОКИНОВ, ФАКТОРОВ РОСТА И ХЕМОКИНОВ

В последнее время стало очевидно, что возможной причиной нарушений костномозгового кроветворения при МДС могут быть изменения, вызванные избыточной продукцией различных цитокинов, факторов роста и хемокинов. В многочисленных исследованиях установлено увеличение содержания этих регуляторов в ПК и КМ больных МДС. Результаты таких исследований обобщены в табл. 2. Помимо обсуждавшегося выше TNF- α , у больных МДС отмечено увеличение продукции колониестимулирующих факторов (colony stimulating factor — M-CSF, G-CSF), гамма-интерферона (IFN- γ), трансформирующего фактора роста бета (transforming growth factor beta — TGF- β), ряда интерлейкинов (IL) и ангиогенных факторов. Некоторые из указанных цитокинов, действуя пара- или аутокринным путем, способны индуцировать Ап (например TNF- α , TGF- β или IFN- γ). Фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor — VEGF), фактор роста гепатоцитов (hepatocyte growth factor — HGF), TNF- α и ангиопоэтины ответственны за увеличение плотности микрососудов КМ, характерного для больных МДС [59]. В клетках КМ больных МДС повышается экспрессия провоспалительного цитокина IL-1 β [41]. В физиологических концентрациях IL-1 β стимулирует гемопоэз посредством индукции колониестимулирующих факторов [60], а при повы-

шении концентрации подавляет гемопоэз через стимуляцию продукции TNF- α и простагландина E₂ — известного ингибитора пролиферации миелоидных стволовых клеток [61]. Хемокин CXCL10, уровень которого в плазме крови больных МДС существенно повышен [62], действует как мощный хемоаттрактант, регулятор ангиогенеза и гемопоэза [63].

При МДС повышенный уровень некоторых из указанных выше факторов может быть связан с неблагоприятным клиническим течением и прогнозом заболевания. Так, высокий уровень TNF- α в сыворотке крови является неблагоприятным прогностическим фактором для больных МДС группы высокого риска и связан с большим количеством лейкоцитов и более высокими уровнями β_2 -микроглобулина, креатинина, мочевой кислоты и щелочной фосфатазы [64]. Как установлено С.А. Меуерс и соавторами [40], высокие уровни циркулирующих в крови TNF- α , IL-1 и IL-6 коррелируют с повышенной утомляемостью больных МДС. Выявляют обратную корреляцию между повышенным содержанием CXCL10 в сыворотке крови и показателями выживаемости больных МДС [62].

Следует отметить, что важным источником выработки цитокинов и факторов роста при МДС являются стромальные клетки КМ, формирующие гемопоэтические ниши. Показано, например, что мезенхимальные стволовые клетки способны продуцировать M-CSF, TGF- β , IL-1, IL-6, IL-7, IL-8,

Таблица 2

Цитокины, факторы роста и хемокины, уровень которых повышен у больных МДС (адаптировано по [58])

Цитокин/ фактор роста/ хемокин	КМ	ПК (тип клеток)	Плазма крови	Примечания (связь с клиническими, клинико-лабораторными данными, течением заболевания)
M-CSF	+	+		
G-CSF		+	+	Коррелирует с клеточностью костного мозга
TNF- α	+	+	+	Коррелирует с содержанием макрофагов, уровнем Ап клеток КМ; обратная зависимость с уровнем гемоглобина и выживаемостью больных
IFN- γ	+	+		
TGF- β	+			
IL-1 α	+	+	+	Коррелирует с быстрой утомляемостью больных
IL-6	+	+	+	Коррелирует с быстрой утомляемостью больных; обратная зависимость с их выживаемостью
IL-7		+	+	Обратная зависимость с выживаемостью больных
IL-8	+	+	+	Стратификация больных согласно классификации ВОЗ; определение группы риска согласно шкале IPSS
IL-17		+	+	
HGF		+	+	
VEGF	+	+	+	
Ангиогенин		+	+	
CXCL9/MIG		+	+	
CXCL10/IP-10		+	+	Коррелирует с содержанием циркулирующих в крови бластов, уровнем тромбоцитопении; обратная зависимость с выживаемостью больных
CCL2/MCP-1		+	+	
CCL3/MIP-1 α		+	+	
CCL4/MIP-1 β		+	+	

CCL2/MCP-1 – СС-хемокин 2; CCL3/MIP-1 α – СС-хемокин 3; CCL4/MIP-1 β – СС-хемокин 4; CXCL9/MIG – СХС-хемокин 9; CXCL10/IP-10 – СХС-хемокин 10; G-CSF – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор; HGF – фактор роста гепатоцитов; IL – интерлейкин; IPSS – International Prognostic Scoring System (Международная шкала оценки прогноза); M-CSF – макрофагальный колониестимулирующий фактор; VEGF – фактор роста эндотелия сосудов.

хемокины CXCL10, CCL2, CCL3, CCL4 и ряд других биорегуляторов [65]. Интересно, что в мезенхимальных стволовых клетках уровень HGF повышен только у больных МДС высокого риска, тогда как уровень TGF- β понижен только у больных МДС низкого риска [66], что свидетельствует о различных функциях этих клеток у пациентов с МДС группы низкого и высокого риска. Потенциальными продуцентами цитокинов и хемокинов служат также адипоциты, которые образуются из мезенхимальных стволовых клеток и являются постоянным стромальным элементом КМ. В частности, адипоциты способны вырабатывать TNF- α , IL-6, CXCL10 и CCL2 [67]. Понятно, что действие указанных цитокинов и факторов роста, направленное на подавление гемопоэза, проявляется не только индукцией Ап, но и их провоспалительными и ангиогенными эффектами, влиянием на пролиферацию, дифференцировку и ряд других процессов [68], участие которых в патогенезе МДС интенсивно изучается.

Таким образом, данные многочисленных клинических исследований свидетельствуют, что Ап вовлечен в диспластический и неэффективный гемопоэз и неопластическую трансформацию клеток КМ при МДС. Накапливаются и обсуждаются результаты изучения у пациентов с МДС прогностической и предиктивной роли клеточных апоптотических маркеров, а также уровня некоторых цитокинов, факторов роста и хемокинов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. SEER Cancer Statistics Review, 1975–2015, National Cancer Institute. Bethesda, MD, Noone AM, Howlander N, Krapcho M, et al., eds. Section 30. Myelodysplastic syndromes (MDS), chronic myeloproliferative disorders (CMD) and chronic myelomonocytic leukemia (CMML). https://seer.cancer.gov/csr/1975_2015/.
2. Cartwright RA, Alexander FE, McKinney PA, Ricketts TJ. Myelodysplastic states. In: Leukaemia and Lymphoma. An atlas of leukaemia and lymphoma distribution within areas of England and Wales (1984–1988). London: Leukaemia Research Fund, 1990: 32–40.
3. Aul C, Gattermann N, Schneider W. Age-related incidence and other epidemiological aspects of myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 1992; **82** (2): 358–67.
4. Rådlund A, Thiede T, Hansen S, et al. Incidence of myelodysplastic syndromes in a Swedish population. *Eur J Haematol* 1995; **54** (3): 153–6.
5. Maynadié M, Verret C, Moskovtchenko P, et al. Epidemiological characteristics of myelodysplastic syndrome in a well-defined French population. *Br J Cancer* 1996; **74** (2): 288–90.
6. Intragumtornchai T, Prayoonwivat W, Swasdikul D, et al. Myelodysplastic syndromes in Thailand: a retrospective pathologic and clinical analysis of 117 cases. *Leuk Res* 1998; **22** (5): 453–60.
7. Chihara D, Ito H, Katanoda K, et al. Incidence of myelodysplastic syndrome in Japan. *J Epidemiol* 2014; **24** (6): 469–73.
8. Aul C, Giagounidis A, Germing U. Epidemiological features of myelodysplastic syndromes: results from regional cancer surveys and hospital-based statistics. *Int J Hematol* 2001; **73** (4): 405–10.
9. Strom SS, Vélez-Bravo V, Estey EH. Epidemiology of myelodysplastic syndromes. *Semin Hematol* 2008; **45** (1): 8–13.
10. Du Y, Fryczek J, Sekeres MA, Taioli E. Smoking and alcohol intake as risk factors for myelodysplastic syndromes (MDS). *Leuk Res* 2010; **34** (1): 1–5.

11. Strom SS, Gu Y, Gruschkus SK, et al. Risk factors of myelodysplastic syndromes: a case-control study. *Leukemia* 2005; **19** (11): 1912–8.
12. Lv L, Lin G, Gao X, et al. Case-control study of risk factors of myelodysplastic syndromes according to World Health Organization classification in a Chinese population. *Am J Hematol* 2011; **86** (2): 163–9.
13. Gluzman DF, Sklyarenko LM, Koval SV, et al. Myelodysplastic syndromes and ionizing radiation. *Oncology* 2014; **16** (1): 61–4 (in Russian).
14. Kesminiene A, Evrard AS, Ivanov VK, et al. Risk of hematological malignancies among Chernobyl liquidators. *Radiat Res* 2008; **170** (6): 721–35.
15. Marsden K, Challis D, Kimber R. Familial myelodysplastic syndrome with onset late in life. *Am J Hematol* 1995; **49** (2): 153–6.
16. West AH, Godley LA, Churpek JE. Familial myelodysplastic syndrome/acute leukemia syndromes: a review and utility for translational investigations. *Ann N Y Acad Sci* 2014; **1310**: 111–8.
17. Smith RE, Bryant J, DeCillis A, et al. Acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome after doxorubicin-cyclophosphamide adjuvant therapy for operable breast cancer: the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Experience. *J Clin Oncol* 2003; **21** (7): 1195–204.
18. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016; **127** (20): 2391–405.
19. Greenberg PL, Stone RM, Al-Kali A, et al. Myelodysplastic Syndromes, Version 2.2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2017; **15** (1): 60–87.
20. Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ* 2018; **25** (3): 486–541.
21. Perini GF, Ribeiro GN, Pinto Neto JV, et al. BCL-2 as therapeutic target for hematological malignancies. *J Hematol Oncol* 2018; **11** (1): 65.
22. Mohamed MS, Bishr MK, Almutairi FM, Ali AG. Inhibitors of apoptosis: clinical implications in cancer. *Apoptosis* 2017; **22** (12): 1487–509.
23. Testa U. TRAIL/TRAIL-R in hematologic malignancies. *J Cell Biochem* 2010; **110** (1): 21–34.
24. Tognon R, Nunes Nde S, Castro FA. Apoptosis deregulation in myeloproliferative neoplasms. *Einstein (Sao Paulo)* 2013; **11** (4): 540–4.
25. Brinkmann K, Kashkar H. Targeting the mitochondrial apoptotic pathway: a preferred approach in hematologic malignancies? *Cell Death Dis* 2014; **5**: e1098.
26. Fulda S. Inhibitor of apoptosis (IAP) proteins in hematological malignancies: molecular mechanisms and therapeutic opportunities. *Leukemia* 2014; **28** (7): 1414–22.
27. Zaman S, Wang R, Gandhi V. Targeting the apoptosis pathway in hematologic malignancies. *Leuk Lymphoma* 2014; **55** (9): 1980–92.
28. Droin N, Guéry L, Benikhlef N, Solary E. Targeting apoptosis proteins in hematological malignancies. *Cancer Lett* 2013; **332** (2): 325–34.
29. Saha MN, Micallef J, Qiu L, Chang H. Pharmacological activation of the p53 pathway in hematological malignancies. *J Clin Pathol* 2010; **63** (3): 204–9.
30. Hatfill SJ, Fester ED, Steytler JG. Apoptotic megakaryocyte dysplasia in the myelodysplastic syndromes. *Hematol Pathol* 1992; **6** (2): 87–93.
31. Yoshida Y. Hypothesis: apoptosis may be the mechanism responsible for the premature intramedullary cell death in the myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 1993; **7** (1): 144–6.
32. Parker JE, Mufti GJ, Rasool F, et al. The role of apoptosis, proliferation, and the Bcl-2-related proteins in the myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia secondary to MDS. *Blood* 2000; **96** (12): 3932–8.
33. Rajapaksa R, Ginzton N, Rott LS, Greenberg PL. Altered oncoprotein expression and apoptosis in myelodysplastic syndrome marrow cells. *Blood* 1996; **88**: 4275–87.

34. Tsoplou P, Kouraklis-Symeonidis A, Thanopoulou E, *et al.* Apoptosis in patients with myelodysplastic syndromes: differential involvement of marrow cells in 'good' versus 'poor' prognosis patients and correlation with apoptosis-related genes. *Leukemia* 1999; **13**: 1554–63.

35. Bogdanović AD, Trpinac DP, Janković GM, *et al.* Incidence and role of apoptosis in myelodysplastic syndrome: morphological and ultrastructural assessment. *Leukemia* 1997; **11** (5): 656–9.

36. Raza A, Gezer S, Mundle S, *et al.* Apoptosis in bone marrow biopsy samples involving stromal and hematopoietic cells in 50 patients with myelodysplastic syndromes. *Blood* 1995; **86**: 268–76.

37. Philchenkov AA. Apoptosis-reactivating agents for targeted anticancer therapy. *Biomedical Chemistry* 2013; **59** (2): 119–143 (in Russian).

38. Gersuk GM, Beckham C, Loken MR, *et al.* A role for tumour necrosis factor- α , Fas and Fas-ligand in marrow failure associated with myelodysplastic syndrome. *Br J Haematol* 1998; **103** (1): 176–88.

39. Maciejewski J, Selleri C, Anderson S, Young NS. Fas antigen expression on CD34+ human marrow cells is induced by interferon gamma and tumor necrosis factor alpha and potentiates cytokine-mediated hematopoietic suppression *in vitro*. *Blood* 1995; **85**: 3183–90.

40. Meyers CA, Albitar M, Estey E. Cognitive impairment, fatigue, and cytokine levels in patients with acute myelogenous leukemia or myelodysplastic syndrome. *Cancer* 2005; **104** (4): 788–93.

41. Allampallam K, Shetty V, Hussaini S, *et al.* Measurement of mRNA expression for a variety of cytokines and its receptors in bone marrows of patients with myelodysplastic syndromes. *Anticancer Res* 1999; **19** (6B): 5323–8.

42. Gupta P, Niehans GA, LeRoy SC, *et al.* Fas ligand expression in the bone marrow in myelodysplastic syndromes correlates with FAB subtype and anemia, and predicts survival. *Leukemia* 1999; **13** (1): 44–53.

43. Sawanobori M, Yamaguchi S, Hasegawa M, *et al.* Expression of TNF receptors and related signaling molecules in the bone marrow from patients with myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2003; **27** (7): 583–91.

44. Zang DY, Goodwin RG, Loken MR, *et al.* Expression of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, Apo2L, and its receptors in myelodysplastic syndrome: effects on *in vitro* hemopoiesis. *Blood* 2001; **98** (10): 3058–65.

45. Schenk RL, Strasser A, Dewson G. BCL-2: Long and winding path from discovery to therapeutic target. *Biochem Biophys Res Commun* 2017; **482** (3): 459–69.

46. Boudard D, Vasselon C, Berthéas MF, *et al.* Expression and prognostic significance of Bcl-2 family proteins in myelodysplastic syndromes. *Am J Hematol* 2002; **70** (2): 115–25.

47. Jilg S, Reidel V, Müller-Thomas C, *et al.* Blockade of BCL-2 proteins efficiently induces apoptosis in progenitor cells of high-risk myelodysplastic syndromes patients. *Leukemia* 2016; **30** (1): 112–23.

48. Philchenkov A, Miura K. The IAP protein family, SMAC mimetics and cancer treatment. *Crit Rev Oncog* 2016; **21** (3–4): 185–202.

49. Yamamoto K, Abe S, Nakagawa Y, *et al.* Expression of IAP family proteins in myelodysplastic syndromes transforming to overt leukemia. *Leuk Res* 2004; **28** (11): 1203–11.

50. Safa AR, Pollak KE. Targeting the anti-apoptotic protein c-FLIP for cancer therapy. *Cancers (Basel)* 2011; **3** (2): 1639–71.

51. Benesch M, Platzbecker U, Ward J, *et al.* Expression of FLIP(Long) and FLIP(Short) in bone marrow mononuclear and CD34+ cells in patients with myelodysplastic syndrome: correlation with apoptosis. *Leukemia* 2003; **17** (12): 2460–6.

52. Kopnin BP, Kopnin PB, Khromova NV, *et al.* Multifaced p53: variety of forms, functions, tumor-suppressive and oncogenic activities. *Clinical Oncohaematology* 2008; **1** (1): 2–9 (in Russian).

53. Kurotaki H, Tsushima Y, Nagai K, Yagihashi S. Apoptosis, bcl-2 expression and p53 accumulation in myelodysplastic syndrome, myelodysplastic-syndrome-derived acute myelogenous leukemia and *de novo* acute myelogenous leukemia. *Acta Haematol* 2000; **102** (3): 115–23.

54. Saft L, Karimi M, Ghaderi M, *et al.* p53 protein expression independently predicts outcome in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes with del(5q). *Haematologica* 2014; **99** (6): 1041–9.

55. Hollstein M, Hergenahn M, Yang Q, *et al.* New approaches to understanding p53 gene tumor mutation spectra. *Mutat Res* 1999; **431** (2): 199–209.

56. Pellagatti A, Boulwood J. The molecular pathogenesis of the myelodysplastic syndromes. *Eur J Haematol* 2015; **95** (1): 3–15.

57. Zhang L, Padron E, Lancet J. The molecular basis and clinical significance of genetic mutations identified in myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2015; **39** (1): 6–17.

58. Gañán-Gómez I, Wei Y, Starczynowski DT, *et al.* Deregulation of innate immune and inflammatory signaling in myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 2015; **29** (7): 1458–69.

59. Keith T, Araki Y, Ohyagi M, *et al.* Regulation of angiogenesis in the bone marrow of myelodysplastic syndromes transforming to overt leukaemia. *Br J Haematol* 2007; **137** (3): 206–15.

60. Bagby GC, Jr. Interleukin-1 and hematopoiesis. *Blood Rev* 1989; **3** (3): 152–61.

61. Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood* 1996; **87** (6): 2095–147.

62. Pardanani A, Finke C, Lasho TL, *et al.* IPSS-independent prognostic value of plasma CXCL10, IL-7 and IL-6 levels in myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 2012; **26** (4): 693–9.

63. Liu M, Guo S, Stiles JK. The emerging role of CXCL10 in cancer (review). *Oncol Lett* 2011; **2** (4): 583–9.

64. Tsimberidou AM, Estey E, Wen S, *et al.* The prognostic significance of cytokine levels in newly diagnosed acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndromes. *Cancer* 2008; **113** (7): 1605–13.

65. Kastrinaki MC, Pavlaki K, Batsali AK, *et al.* Mesenchymal stem cells in immune-mediated bone marrow failure syndromes. *Clin Dev Immunol* 2013; **2013**: 265608.

66. Zhao Z, Wang Z, Li Q, *et al.* The different immunoregulatory functions of mesenchymal stem cells in patients with low-risk or high-risk myelodysplastic syndromes. *PLoS One* 2012; **7** (9): e45675.

67. Jöhner K, Ploner C, Thangavadiel S, *et al.* Adipocyte-derived players in hematologic tumors: useful novel targets? *Expert Opin Biol Ther* 2015; **15** (1): 61–77.

68. Berezhnaya NM, Chekhun VF. Immunology of malignant growth. Kiev: Naukova Dumka, 2005. 791 p. (in Russian).

ПОРУШЕННЯ АПОПТОЗУ ПРИ МІЕЛОДИСПЛАСТИЧНИХ СИНДРОМАХ

О.О. Фільченков, Т.С. Іванівська

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

Резюме. Мета огляду — проаналізувати сучасні уявлення про роль і механізми апоптотичної загибелі клітин у хворих при мієлодиспластичних синдромах (МДС). Численні дані свідчать, що апоптоз (Ap) залучений у диспластичний та неефективний гемопоєз і неопластичну трансформацію клітин кісткового мозку (КМ) при МДС. У той час як рівень Ap залучений у диспластичний та неефективний гемопоєз і неопластичну трансформацію клітин кісткового мозку (КМ) при МДС, пригнічення Ap у хворих на МДС підвищує вірогідність розвитку гострого мієлоїдного лейкозу. У статті представлено останні дані про роль Ap в патогенезі МДС, а також інформацію щодо прогностичного і предиктивного значення клітинних апоптотичних маркерів.

рів, рівня низки цитокінів, факторів росту і хемокинів у пацієнтів з МДС. Особливу увагу приділено таким ефекторам Ap, як «рецептори смерті», білки родин BCL-2 і IAP, адапторні білки групи c-FLIP, білок-супресор пухлинного росту p53.

Ключові слова: мієлодиспластичний синдром, рефрактерна анемія, гострий мієлоїдний лейкоз, гемопоетичні стовбурові клітини, апоптоз, цитокіни, фактори росту, хемокини, прогностичні чинники.

APOPTOSIS DEREGULATIONS IN MYELODYSPLASTIC SYNDROMES

A.A. Philchenkov, T.S. Ivanovskaya

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

Summary. *The purpose of the review is to analyze modern ideas about the role and mechanisms of apoptotic cell death in patients with myelodysplastic syndromes (MDS). Numerous data suggest that apoptosis (Ap) is involved in dysplastic and ineffective hemopoiesis and neoplastic bone marrow (BM) transformation in MDS. While the level of Ap cells of BM in-*

creases with the development of MDS, the suppression of Ap in MDS patients increases the likelihood of developing acute myeloid leukemia. This article summarizes the latest data on the role of Ap in the pathogenesis of MDS, as well as information on the prognostic and predictive role of cellular apoptotic markers, the levels of a number of cytokines, growth factors and chemokines in MDS patients. Particular attention is paid to such effectors of apoptosis as the death receptors, proteins of the BCL-2 family and the IAP family, the c-FLIP adapter proteins, tumor protein p53.

Key Words: myelodysplastic syndrome, refractory anemia, acute myeloid leukemia, hemopoietic stem cells, apoptosis, cytokines, growth factors, chemokines, prognostic factors.

Адрес для переписки:

Фильченков А.А.
03022, Киев, ул. Васильковская, 45
Институт экспериментальной патологии,
онкологии и радиобиологии
им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины
E-mail: a.philch@gmail.com

Получено: 14.06.2018