

ФГБОУ ВО «ПЕРВЫЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. АКАДЕМИКА И.П. ПАВЛОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Цветков Николай Юрьевич

**ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА ПРИ ТЕРАПИИ ПАЦИЕНТОВ
С МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ ВЫСОКОГО РИСКА**

3.1.28 — гематология и переливание крови

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор И.С. Моисеев

Санкт-Петербург

2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ	2
ВВЕДЕНИЕ.....	3
1.1. Эпидемиология, патогенез, клиническая картина и диагностика миелодиспластического синдрома	9
1.2. Методы определения прогноза при миелодиспластическом синдроме	17
1.3. Биологические факторы прогноза при миелодиспластическом синдроме	24
1.4. Лечение пациентов с миелодиспластическим синдромом.....	29
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	44
2.1. Характеристика пациентов.....	44
2.2. Лабораторные методы	48
2.3. Статистический анализ	50
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	52
3.1. Клинические исходы и факторы прогноза у пациентов с миелодиспластическим синдромом в общей группе	52
3.2. Факторы прогноза в группе консервативной терапии у пациентов с миелодиспластическим синдромом.....	57
3.3. Клинические исходы и факторы прогноза у пациентов с миелодиспластическим синдромом в группе аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток	59
3.4. Сравнение клинических исходов у пациентов с миелодиспластическим синдромом в группах консервативной терапии и аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток	62
3.5. Прогностическая значимость экспрессии молекул иммунных контрольных точек в трепанобиоптатах костного мозга пациентов с миелодиспластическим синдромом	68
3.6. Прогностическая значимость определения мутационного статуса пациентов с миелодиспластическим синдромом методом секвенирования нового поколения	72
3.7. Прогностическая значимость определения экспрессии молекул иммунных контрольных точек на субпопуляциях клеток костного мозга у пациентов с миелодиспластическим синдромом методом проточной цитометрии.....	74
3.8. Прогностическая значимость определения мутационного статуса пациентов с миелодиспластическим синдромом методом прямого секвенирования по Сэнгеру	78
3.9. Комбинация определения экспрессии молекул иммунных контрольных точек на субпопуляциях клеток костного мозга методом проточной цитометрии и мутационного статуса методом прямого секвенирования по Сэнгеру для уточнения прогноза пациентов с миелодиспластическим синдромом.....	83
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	87
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	93
ВЫВОДЫ	94
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	96
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	97
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	99

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Миелодиспластический синдром (МДС) – это гетерогенная группа клональных заболеваний с поражением гемопоэтической стволовой клетки крови [1, 2, 12]. По сравнению с развитием других направлений онкогематологии, до настоящего времени отмечался только умеренный прогресс в лечении пациентов с МДС. До сих пор, несмотря на значительную летальность, связанную с лечением, единственным потенциально излечивающим методом терапии пациентов с МДС является аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) [196]. Использование разработанных за последние десять лет лекарственных препаратов для лечения пациентов с МДС дает возможность в лучшем случае увеличить время до прогрессирования заболевания, что не позволяет говорить о достижении долгосрочной ремиссии и излечении. Развитие методов иммунотерапии также не привело к улучшению результатов лечения пациентов с МДС [73]. Дополнительные сложности связаны с тем, что, ввиду гетерогенности популяции пациентов с МДС, в реальной клинической практике затруднено определение четких показаний и оптимального момента для алло-ТГСК. Несмотря на существующий консенсус по поводу целесообразности выполнения алло-ТГСК у соматически сохраненных пациентов с МДС высокого риска, определение показаний к алло-ТГСК и принятие решения о выполнении трансплантации является сложной клинической задачей в силу высокого риска осложнений, преклонного возраста и высокой частоты сопутствующей патологии у пациентов, труднодоступности полностью совместимого донора костного мозга. В связи с этим первоочередную роль в эффективном отборе пациентов-кандидатов на алло-ТГСК играют методы оценки прогноза МДС [81, 82, 124]. В то же время существующие прогностические инструменты несовершенны и имеют ограниченную предсказательную силу. Аналогичная ситуация наблюдается и в контексте определения вероятности ответа на ту или иную терапию у пациентов с МДС. В связи с этими проблемами продолжается поиск прогностических факторов в отношении выживаемости, которые позволили бы

индивидуализировать лечение. Таким образом, на данный момент прогнозирование исхода терапии пациентов с МДС требует проведения дополнительных исследований.

Степень разработанности научной темы. На данный момент алло-ТГСК является стандартом терапии пациентов с МДС высокого риска [3, 59]. Основными факторами, определяющими успех алло-ТГСК, являются факторы, связанные с заболеванием (группа риска, статус на момент алло-ТГСК), пациентом (возраст, соматический статус, наличие перегрузки железом), донором (возраст, степень совместимости по HLA) [196]. При этом долгосрочная общая выживаемость пациентов с МДС после алло-ТГСК, по данным литературы, составляет от 30 до 50% с высоким уровнем посттрансплантационных рецидивов и летальности, связанной с лечением [14]. Самыми популярными и эффективными инструментами стратификации риска у пациентов с МДС на сегодняшний день являются прогностические шкалы IPSS [81], WPSS [124], IPSS-R [82] и некоторые другие. Большинство из них используют данные клинического анализа крови и миелограммы вместе с результатами кариотипирования. Существующие прогностические инструменты несовершенны, в связи с чем продолжается поиск биологических характеристик МДС, которые имеют прогностическое значение в отношении выживаемости и индивидуального ответа на лечение [194]. Особенно актуальна разработка новых методов построения прогноза при МДС в контексте определения показаний и времени выполнения алло-ТГСК. Для этих целей широко используются уже названные шкалы IPSS, IPSS-R, WPSS. В то же время необходимо отметить, что эти шкалы были разработаны для оценки риска заболевания при постановке диагноза и далее вне зависимости от конкретного метода терапии, часть которых может опосредовать клональную эволюцию заболевания и, как следствие, изменять актуальную группу риска пациентов с МДС. В связи с этим на данный момент предложены отдельные индексы, разработанные непосредственно для предсказания результатов алло-ТГСК [146, 170]. Большинство этих шкал разработано для общей популяции пациентов-кандидатов на алло-ТГСК вне зависимости от

диагноза и не специфичны для МДС, что, в свою очередь, ограничивает их применимость.

На данный момент опубликован ряд работ, в которых анализируется мутационный статус основных генов, участвующих в патогенезе МДС, и их прогностическая ценность в контексте ответа на терапию и общей выживаемости [31, 83]. Уже произведены попытки модификации существующих прогностических моделей с помощью новых данных молекулярной генетики [141]. В то же время молекулярная генетика не единственный метод, способный улучшить сложившуюся ситуацию. В этом также могут помочь данные проточной цитометрии [34], характеристики опухолевого микроокружения [154].

Таким образом, необходим поиск факторов прогноза, позволяющих не только дополнить, но и по возможности принципиально модифицировать шкалы, используемые в настоящее время, с целью персонализации терапии пациентов с МДС.

Цель исследования

Совершенствование стратификации пациентов с миелодиспластическим синдромом высокого риска по результатам молекулярно-генетического и иммунофенотипического обследования с определением срока выполнения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, оптимального для значимого улучшения беспрогрессивной и общей выживаемости.

Задачи исследования

1. Описать результаты аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с миелодиспластическим синдромом высокого риска.
2. Определить оптимальные сроки выполнения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с миелодиспластическим синдромом высокого риска.

3. Выявить значимость существующих прогностических индексов и клинико-лабораторных параметров (возраст, наличие фиброза костного мозга, уровень ферритина сыворотки) на выживаемость у пациентов с миелодиспластическим синдромом в группе аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток и в группе консервативной терапии.
4. Оценить прогностическое значение мутаций у пациентов с миелодиспластическим синдромом.
5. Охарактеризовать прогностическое значение состояния иммунного микроокружения костного мозга у пациентов с миелодиспластическим синдромом.

Основные положения, выносимые на защиту

1. В условиях современной фармакологической терапии аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток определяет лучшие показатели выживаемости пациентов с миелодиспластическим синдромом группы высокого риска при условии отсутствия тяжелой коморбидности и тяжелой перегрузки железом.
2. Выполнение аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток показано в максимально короткие сроки от момента постановки диагноза.
3. Такие клинико-лабораторные параметры, как уровень перегрузки железом, наличие фиброза в костном мозге, возраст и группа риска по шкале IPSS-R, имеют значимое влияние на выживаемость пациентов с миелодиспластическим синдромом.
4. Наличие мутаций в генах ASXL1, TP53, DNMT3A, DROSHA, SRSF2 у пациентов с миелодиспластическим синдромом имеет негативное влияние на выживаемость без прогрессирования и кумулятивную частоту прогрессирования пациентов с миелодиспластическим синдромом.
5. Экспрессия молекул иммунных контрольных точек CD80, PD-L2, PD-L1, Gal-9 и уровень PD-L1+ Т-регуляторных клеток в микроокружении

костного мозга наряду с генетическими факторами прогноза снижают выживаемость без прогрессирования и увеличивают кумулятивную частоту прогрессирования пациентов с миелодиспластическим синдромом.

Научная новизна. Продемонстрирован независимый положительный эффект аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток в отношении выживаемости без прогрессирования пациентов с миелодиспластическим синдромом высокого риска. Определён оптимальный временной период для выполнения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с миелодиспластическим синдромом высокого риска. Проведен качественный и количественный анализ молекулярно-генетических мутаций у пациентов с миелодиспластическим синдромом, показано прогностическое значение мутаций генов ASXL1, TP53, DNMT3A, DROSHA, SRSF2. Проведено исследование уровня экспрессии молекул иммунных контрольных точек у пациентов с миелодиспластическим синдромом, продемонстрирована прогностическая значимость уровня экспрессии CD80, количества PD-L1+ Т-регуляторных клеток. Продемонстрирована связь отдельных мутаций и иммунофенотипических параметров при миелодиспластическом синдроме на примере RUNX1 и TIM3+CD8+.

Практическая значимость. Показана целесообразность выполнения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с миелодиспластическим синдромом высокого риска в течение первого года от момента постановки диагноза.

Продемонстрирована необходимость расширения объема обследования пациентов с миелодиспластическим синдромом как на момент постановки диагноза, так и в процессе терапии.

Разработаны общие принципы молекулярно-генетического и иммунофенотипического методов исследования у пациентов с миелодиспластическим синдромом в повседневной клинической практике.

Результаты исследования внедрены в практику работы Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Городской клинической больницы № 31, Ленинградской областной клинической больницы.

Методология и методы исследования. Методология исследования основывается на системном подходе и комплексном рассмотрении патогенеза и лечения злокачественных заболеваний крови. В работе использованы клинические, лабораторные, статистические и общенаучные методы исследования.

Степень достоверности и апробация результатов. Материалы представлены на XII и XIV Симпозиумах «Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток», посвященных памяти Р.М. Горбачевой (Санкт-Петербург, 2018 и 2020), V Конгрессе гематологов России (Москва, 2020), Международной научно-практической конференции «Современные биотехнологии для науки и практики» (Санкт-Петербург, 2020), Международных конференциях COSTEM 2019 (Берлин, 2019) и ASH-2020. По теме диссертации опубликовано 3 статьи в журналах, индексируемых в базе данных Scopus, 1 статья в журнале, рекомендованном ВАК.

Структура и объем диссертации. Материалы диссертации изложены на 123 страницах, содержат 8 таблиц и 31 рисунок. Указатель литературы включает 12 наименований отечественной и 195 зарубежной литературы. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, главы результатов собственных исследований, главы обсуждения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Эпидемиология, патогенез, клиническая картина и диагностика миелодиспластического синдрома

Миелодиспластический синдром (МДС) – это гетерогенная группа клональных заболеваний с поражением гемопоэтической стволовой клетки крови, в основе которых лежат соматические мутации различных генов и/или нарушения эпигенетической регуляции, индуцированные нарушением микроокружения, а также нарушения в иммунной системе противоопухолевого надзора [1, 2, 12].

У многих пациентов развитию МДС предшествует период неклональных или клональных цитопений неясного значения, что обусловлено появлением соматических мутаций, ассоциированных с возрастом и повышенной вероятностью развития лейкоза [32, 174]. Результатом этого является увеличение пролиферации, нарастание неэффективности клонального и угнетение нормального гемопоэза и, на конечных этапах, нарушение дифференцировки, что приводит к накоплению бластов и риску трансформации в острый лейкоз.

Следует отметить, что мутации, обусловленные геномной нестабильностью, и наличие специфического опухолевого микроокружения являются характерным фундаментальным признаком злокачественных новообразований [84]. Особенностью МДС, в свою очередь, является исключительная гетерогенность этого патологического состояния, что позволяет скорее говорить о спектре миелоидных новообразований нежели об одном заболевании.

В пользу существования специфической популяции лейкозных стволовых клеток (ЛСК) при МДС говорят исследования, описывающие развитие острого лимфобластного лейкоза в исходе заболевания [164], развитие МДС на фоне моноклональной гаммопатии неясного значения [200], а также обнаружение специфических клональных маркеров в зрелых клетках периферической крови [187]. Также в экспериментальных работах по созданию мышиных моделей МДС в сравнении с острым миелоидным лейкозом отмечена значимо меньшая

эффективность приживления бластов МДС у иммунодефицитных мышей, в том числе гуманизированных [111], что может говорить о роли лейкозных стволовых клеток в возникновении и прогрессировании заболевания.

Частота встречаемости МДС составляет около 3–4 случаев на 100 000 населения, при этом риск развития МДС увеличивается с возрастом, медиана которого на момент постановки диагноза составляет 76 лет [122]. Заболевание чаще встречается у белых и у мужчин. По разным оценкам, ежегодно выявляется более 10 000 новых случаев МДС, а в настоящее время в США проживает не менее 60 000 человек с этим диагнозом. Отдельно стоит упомянуть, что в ряде случаев МДС встречается в относительно молодом и детском возрасте, что, с учетом имеющихся на настоящий момент литературных данных, часто является исходом тех или иных наследственных синдромов недостаточности костного мозга (синдромы Швахмана–Даймонда, Даймонда–Блэкфана, врожденный дискератоз и др.) [101]. Эпидемиологических данных о пациентах с МДС в России нет.

Естественной причиной возникновения МДС, по всей видимости, следует считать процесс накопления спонтанных соматических мутаций с течением времени на фоне существующей генетической предрасположенности [127]. В то же время сопутствующие этому процессу факторы определяют индивидуальные особенности заболевания. Так, по данным множества исследований, более 40 генов вовлечены в патогенез МДС, при этом более 80% пациентов имеют мутацию хотя бы в одном из них [31, 83]. Дополнительно описан ряд состояний так называемого клонального гемопоэза [32, 174], зачастую выявляемого у здоровых людей, который, вероятно, может предшествовать развитию МДС (таблица 1). При этом на момент диагноза МДС, по данным ряда исследований, подавляющее большинство миелоидных клеток являются потомками одного клона [19, 35, 87]. Стоит сказать, что аналогичные процессы описаны и в эпителиальных тканях [186].

Таблица 1 – Сравнение различных состояний клонального гемопоэза

	Идиопатическая цитопения неясного значения	Клональный гемопоэз неопределенного потенциала	Клональная цитопения неясного значения	МДС без бластов	МДС с избытком бластов	Вторичный ОМЛ
Уровень нагрузки мутантного аллеля	0	~9%	~10–50%	~30–50%	~40–50%	~40–50%
Дисплазия	–	–	–	+	+	+
Цитопения	+	–	+	+	+	+
% бластов в костном мозге	< 2%	< 2%	< 2%	< 2%	2–19%	> 20%
Риск	Очень низкий	Очень низкий	Низкий	Низкий, промежуточный	Высокий	Очень высокий
Лечение	Наблюдение	Не требуется	Наблюдение, поддерживающая терапия	Наблюдение, поддерживающая терапия, ИСТ	ГМА, ТГСК	ГМА, ПХТ, ТГСК

ОМЛ – острый миелоидный лейкоз; ИСТ – иммуносупрессивная терапия; ГМА – гипометилирующие агенты; ПХТ – полихимиотерапия; ТГСК – трансплантация гемопоэтических стволовых клеток.

На ранних стадиях МДС отмечается преимущественное вовлечение генов эпигенетической регуляции, отвечающих за процессы сплайсинга РНК (SF3B1, SRSF2, U2AF1, ZRSR2 и др.), модификации гистонов и метилирования ДНК (DNMT3A, TET2, ASXL1, EZH2 и др.) [93] и др. Эти процессы опосредуют нарушение дифференцировки гемопоэтических клеток, что морфологически

проявляется дисплазией, неэффективностью гемопоэза и снижением показателей крови. По мере прогрессирования заболевания в мутационный процесс вовлекаются гены белков сигнальных путей (мембранных и цитоплазматических протеинкиназ, ГТФаз, транскрипционных факторов), отвечающих за рост, пролиферацию и апоптоз клеток (FLT3, RAS, TP53 и др.) [144]. Данные изменения приводят к увеличению количества бластов и трансформации в острый лейкоз. Для части этих мутаций известны наследственные формы, при которых МДС развивается в раннем периоде жизни [101]. При этом только отдельные цитогенетические поломки (del5q, -7) и точечные мутации (SF3B1) входят в число патогномоничных признаков МДС, а остальные относительно неспецифичны и могут встречаться при других патологических состояниях, в частности у пациентов с миелопролиферативными заболеваниями или апластической анемией [183].

Особую группу пациентов составляют больные с вторичной природой заболевания, когда МДС развивается как следствие предшествующих лучевой и/или химиотерапии, в первую очередь при облучении костей таза (опухоли мочеполовой системы), терапии алкилирующими агентами, ингибиторами топоизомеразы (рак молочной железы, злокачественные лимфомы и др.). Такие пациенты отличаются высокой частотой неблагоприятных цитогенетических и молекулярно-генетических аномалий, тяжестью клинического течения и плохим прогнозом [36]. Также к факторам, ассоциированным с развитием МДС, по данным литературы, можно отнести контакт с бензином [166], органическими веществами [138], курение [188].

Клетки костномозгового микроокружения и гемопоэтической ниши по имеющимся данным следует воспринимать как ключевое звено в патогенезе МДС [154]. Ниша – анатомическая структура, включающая клеточные и неклеточные компоненты и объединяющая локальные и системные факторы, регулирующие пролиферацию, дифференцировку, жизнеспособность и местоположение стволовых клеток. Мезенхимальные стромальные клетки – ключевой компонент гемопоэтического микроокружения [97]. Также к микроокружению относятся

различные клетки гемопоэтического (лимфоциты, макрофаги, остеокласты и др.) и негемопоэтического происхождения (эндотелий, остеобласты, адипоциты и др.), растворимые молекулы (факторы роста, хемокины, цитокины, гормоны и др.), физико-химические свойства и состав внеклеточного матрикса [204]. В пользу участия элементов микроокружения в патогенезе МДС говорит факт обнаружения клональных aberrаций в клетках стромы костного мозга [37, 132, 169], экспериментально воспроизведенные и описанные клинические случаи развития МДС и острого лейкоза из донорских клеток [69, 195], эксперименты по взаимной модификации бластов МДС и клеток стромы в процессе кокультивирования [129, 155]. Так, экспериментальные исследования показывают, что отключение генов, участвующих в процессинге микро-РНК и внеклеточной передаче сигналов, таких как DICER1, DROSHA и SBDS, может приводить к фенотипу, подобному МДС [155], а в стромальных клетках костного мозга пациентов с МДС выявляется сниженная экспрессия этих белков, что приводит к аномальному профилю экспрессии микро-РНК [162].

Отдельно следует остановиться на иммунном микроокружении МДС. МДС часто диагностируется вместе с различными аутоиммунными состояниями (синдром Свита, рецидивирующий полихондрит и др.) [106, 135]. Для ранних стадий развития заболевания характерно аутоиммунное повреждение здоровых стволовых клеток крови, повышенный уровень провоспалительных цитокинов в костном мозге (в первую очередь, ФНО-альфа [178]) и гибель гемопоэтических предшественников через механизм воспалительной смерти – пироптоза [160]. Это напоминает аналогичные процессы при ряде иммунных цитопений (иммунная тромбоцитопения [24], лейкоз из больших гранулярных лимфоцитов [115], парциальная красноклеточная аплазия [128]) и иммуноопосредованных состояниях недостаточности костного мозга, в первую очередь апластической анемии [158] (так называемый гипопластический вариант МДС [40]).

При прогрессировании заболевания аутоиммунный клон лимфоцитов замещается на иммуносупрессивное микроокружение, состоящее

преимущественно из Т-регуляторных клеток и миелоидных супрессивных клеток, вырабатывающих противовоспалительные цитокины TGF-beta, ИЛ-10 [109].

Вышеперечисленные изменения иммунного микроокружения вносят определяющий вклад в клональную эволюцию МДС и тесно связаны с функционированием молекул иммунных контрольных точек. Так, по мере прогрессирования МДС в костном мозге наблюдается повышение экспрессии молекул PD-1/PD-L1 [199]. Дополнительно в литературе описано функционирование аутокринной петли TIM-3/Gal-9, участвующей в поддержании клона МДС и трансформации в острый лейкоз. Эти процессы опосредуются через активацию сигнальных путей, связанных с белками NF- κ B и β -катенином, которые обеспечивают клональную пролиферацию и ингибирование апоптоза [13, 102]. Доступны данные по коэкспрессии TIM-3 с PD-1 на субпопуляции Т-клеток [182] вместе с их ролью во взаимодействии ЛСК и миелоидных супрессивных клеток [71]. TIM-3 практически отсутствует на нормальных гемопоэтических стволовых клетках, но он обнаруживается на ЛСК при остром миелоидном лейкозе и играет важную роль при приживлении ЛСК человека у мышей [103]. В свою очередь, Gal-9 экспрессируется на миелоидных супрессивных клетках, и после связывания с TIM-3 на ЛСК миелоидные супрессивные клетки дифференцируются в ассоциированные с опухолью макрофаги, которые стимулируют выживание ЛСК [156]. ЛСК способны избегать фагоцитоза путем экспрессии молекулы макрофагальных иммунных контрольных точек CD47, которая связывается с рецептором SIRP-alpha на поверхности ассоциированных с опухолью макрофагов. Связывание CD47 с SIRP-alpha на макрофагах способствует пролиферации кровеносных сосудов опухоли и подавляет действие эффекторных Т-клеток, что приводит к прогрессированию опухоли [95, 123].

Клинические проявления МДС определяются в первую очередь степенью вовлечения здорового кроветворения в патологический процесс. Значительная часть пациентов на начальных стадиях заболевания может не испытывать никаких симптомов, и диагноз устанавливается случайно при плановом анализе крови. В то же время по мере прогрессирования заболевания показатели крови

ухудшаются, и клиническая картина будет преимущественно определяться характером цитопении. Соответственно, пациенты часто испытывают проявления анемического, геморрагического синдромов, рецидивирующие инфекции. Преимущественно преклонный возраст популяции пациентов с МДС определяет спектр сопутствующих хронических заболеваний, которые часто декомпенсируются на фоне неудовлетворительной работы кроветворения, что также определяет клиническую картину.

Отдельно стоит остановиться на анемии, как самом частом проявлении МДС, и трансфузионной зависимости пациентов. Потребность в хронических переливаниях крови может оставаться единственным проявлением заболевания на протяжении 5 и более лет, что является причиной неизбежной перегрузки железом [76]. Перегрузка железом нарушает работу различных органов и тканей, в первую очередь печени и миокарда, посредством окислительного повреждения внутриклеточных структур, в частности ДНК, что способствует мутационному процессу и клональной эволюции заболевания [149]. Это актуальная проблема у пациентов с трансфузионной зависимостью, влияющая не только на качество жизни, но и на выживаемость [20].

Клон пароксизмальной ночной гемоглобинурии (ПНГ), часто выявляемый при апластической анемии, в ряде случаев может определяться у пациентов с МДС [131]. В отдельную группу выделены заболевания, имеющие промежуточные черты МДС и миелопролиферативных заболеваний [183]. Острый миелоидный лейкоз с уровнем бластов от 20 до 30%, ранее определяемый как рефрактерная анемия с избытком бластов и трансформацией (РАЕВ-Т) по классификации FAB, сейчас в связи со снижением диагностического порога бластов для острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) до 20% по критериям ВОЗ часто в литературе выделяется в группу ОМЛ с низким уровнем бластов. При этом по имеющимся данным можно видеть, что особенности клинического течения ОМЛ с низким уровнем бластов имеют больше общего с МДС, нежели с другими формами ОМЛ [52, 56, 86].

Отдельно следует упомянуть вторичные причины цитопений, требующие исключения при постановке диагноза МДС. К ним относятся различные состояния алиментарного дефицита (железо, витамин В12, фолиевая кислота, медь), инфекции, в первую очередь вирусные (герпесвирусы, вирусные гепатиты, ВИЧ, парвовирус В19), ревматологические заболевания, хронические заболевания печени и почек, побочные эффекты лекарственных средств и отравления (цитотоксические препараты, свинец) [173] (рисунок 1).

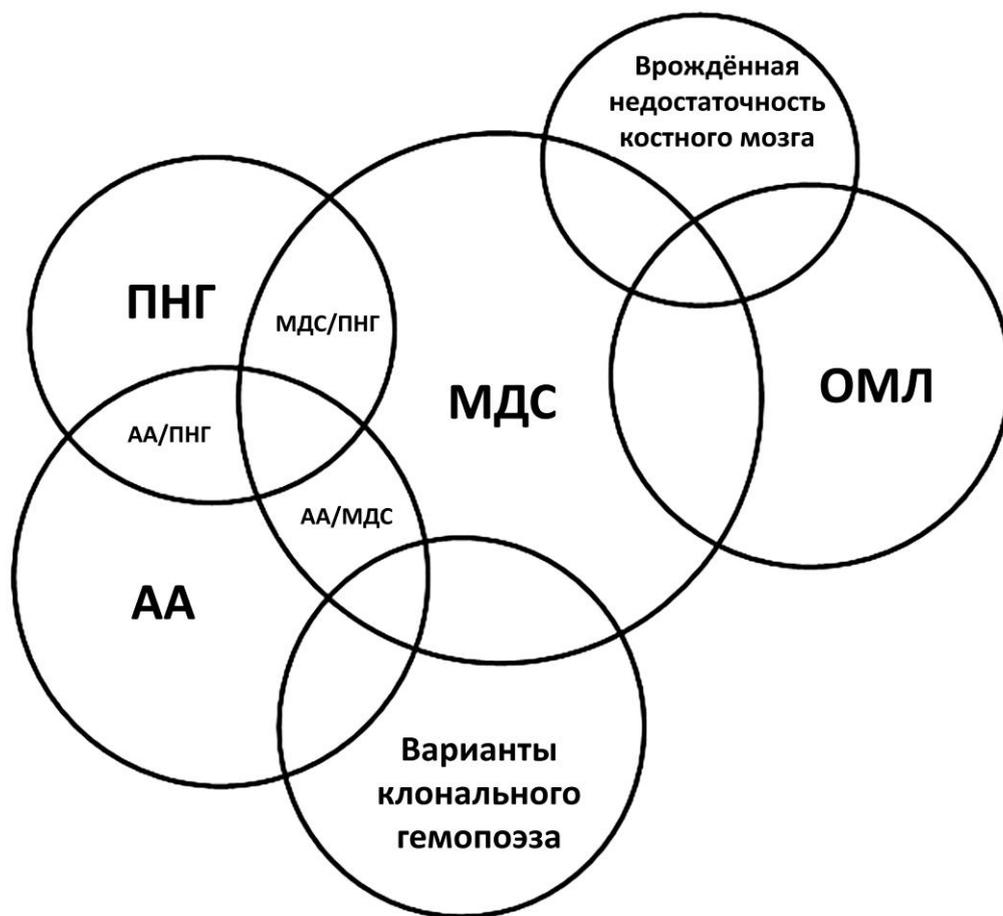


Рисунок 1 – Дифференциальная диагностика МДС.

АА – апластическая анемия; ПНГ – пароксизмальная ночная гемоглобинурия;
МДС – миелодиспластический синдром; ОМЛ – острый миелоидный лейкоз

Упомянутые особенности приводят к тому, что МДС в значительной степени является диагнозом исключения. Действительно, в предложенных на данный момент диагностических критериях [190] обязательным условием диагноза является исключение гематологических и негематологических

заболеваний, потенциально сопровождающихся цитопенией. При этом дополнительно усложняет постановку диагноза тот факт, что МДС часто развивается на фоне уже существующей патологии. Вторым обязательным условием диагноза является, собственно, наличие персистирующей более 4 месяцев цитопении хотя бы в одном ростке кроветворения, что не является специфическим признаком. При этом особенное внимание уделяется наличию и уровню миелобластов, специфическим морфологическим (дисплазия, кольцевые сидеробласты) и цитогенетическим ($del5q$, -7) аномалиям. В отдельных случаях помощь в диагностике могут оказать результаты гистологического и иммуногистохимического исследований костного мозга (кластеры аномально локализованных незрелых предшественников (ALIP), кластеры CD34+ клеток и др.). Дополнительными перспективными методами являются иммунофенотипирование методом проточной цитометрии (Ogata score, Wells' FCSS, Red score и др. [143]) и молекулярно-генетические методы высокопроизводительного секвенирования нового поколения. Следует отметить, что оба этих метода активно исследуются, но до сих пор нет общепринятых стандартов их использования, и они пока не вошли в широкую клиническую практику.

На данный момент актуальна классификация МДС у взрослых пациентов, пересмотренная ВОЗ в 2016 году. [21].

Таким образом, постановка диагноза МДС является сложной клинической задачей, требовательной к опыту и технологической оснащенности соответствующего медицинского учреждения.

1.2. Методы определения прогноза при миелодиспластическом синдроме

Разнообразие клинического течения МДС, включающее широкий диапазон проявлений: от легкой цитопении до быстро прогрессирующего состояния с высокой опухолевой нагрузкой и агрессивным течением, подчеркивает необходимость индивидуального терапевтического подхода, что требует

адекватных методов прогноза заболевания. Самыми популярными и эффективными инструментами стратификации риска при МДС на сегодняшний день являются прогностические шкалы IPSS [81], WPSS [124], IPSS-R [82] и некоторые другие. Большинство из них используют данные клинического анализа крови и миелограммы вместе с результатами кариотипирования.

На данный момент наибольшее распространение в клинической практике получили различные цитогенетические особенности МДС, а именно хромосомные и геномные aberrации опухолевых клеток, выявляемые методами метафазной цитогенетики и флуоресцентной гибридизации *in situ*. На основании этих наблюдений были предложены различные прогностические шкалы, позволяющие разделить пациентов по группам риска с целью риск-адаптированной терапии. Наиболее распространенной и зарекомендовавшей себя системой является предложенная в 2012 году международная прогностическая шкала IPSS-R [82], которая разделяет пациентов на пять групп с различными медианами общей выживаемости: около 10 лет для пациентов очень низкого риска, менее одного года для пациентов очень высокого риска.

Риск определяет предпочтительные варианты лечения. В то время как в случае МДС низкого риска предпочтительно динамическое наблюдение и симптоматическая терапия, алло-ТГСК является ключевым методом лечения для пациентов с МДС высокого риска и единственным потенциально излечивающим вариантом терапии [9, 150].

Следует отметить, что существующие прогностические инструменты имеют ограниченную предсказательную силу в отдельных группах пациентов, в частности в группе высокого и очень высокого риска. Также это касается пациентов промежуточной группы риска и пациентов с нормальным кариотипом, составляющих до 50% популяции пациентов с МДС и считающихся по мере появления новых данных все более и более неоднородными [175, 201].

Аналогичная ситуация наблюдается и в контексте определения вероятности ответа на ту или иную терапию при МДС. Если в группе пациентов низкого риска есть данные по вероятности ответа на эритропоэз-стимулирующие препараты

(уровень эритропоэтина сыворотки, степень трансфузионной зависимости и др.) [90], то в группе пациентов высокого риска, где это часто более актуально, до сих пор нет каких-либо общепринятых методов оценки вероятности ответа на гипометилирующие препараты, способных повлиять на принятие клинического решения [185]. В связи с этими проблемами продолжается поиск биологических характеристик МДС, которые имеют прогностическое значение в отношении выживаемости и индивидуального ответа на лечение.

Особенно актуальна разработка новых методов построения прогноза при МДС в контексте определения показаний и времени выполнения алло-ТГСК. Для этих целей широко используются уже названные шкалы IPSS, IPSS-R, WPSS.

Шкала IPSS была разработана в 1997 году при ретроспективном анализе 816 пациентов с первичным диагнозом МДС и медианой периода наблюдения 1,9 года, при этом в анализ не включались пациенты после интенсивной химиотерапии, с вторичным МДС и с пролиферативным вариантом хронического миеломоноцитарного лейкоза. В исследуемую популяцию также включались пациенты с уровнем бластов костного мозга от 20 до 30%. Значимыми факторами, включенными в шкалу, являлись процент бластов костного мозга, степень цитопении и группа цитогенетического риска. Только 25% пациентов в исследуемой группе были моложе 60 лет. Шкала IPSS делит популяцию пациентов с МДС на четыре группы риска и позволяет оценить медиану общей выживаемости, а также время, за которое у 25% пациентов МДС трансформируется в ОМЛ при естественном течении заболевания. В отдельных исследованиях было показано, что риск по IPSS сохраняет свою значимость в контексте алло-ТГСК [116].

Шкала WPSS была предложена в 2007 году и основывалась на классификации ВОЗ 2002 года. В отличие от IPSS эта шкала динамическая и позволяет оценить группу риска пациента в любой момент в ходе заболевания, а не только на момент постановки диагноза. Шкала WPSS разрабатывалась на популяции 1165 пациентов с МДС с медианой наблюдения около 30 месяцев. Прогностическое значение имели такие факторы, как тип МДС по классификации

ВОЗ 2002 года, кариотип, наличие трансфузионной зависимости. Шкала WPSS делит популяцию пациентов с МДС на пять групп риска со значительно различающимися общей выживаемостью и риском трансформации в ОМЛ. Таким образом, WPSS является зависящей от времени прогностической шкалой, позволяющей проводить риск-адаптированную терапию пациентам с МДС [124]. В итальянском исследовании 2008 года была показана значимость WPSS в предсказании исхода алло-ТГСК при МДС. В исследование включены 406 пациентов с медианой возраста 48 лет (17–72). Только 37% пациентов имели избыток бластов, при этом 10 и 31% пациентов имели хронический миеломоноцитарный лейкоз и ОМЛ, соответственно. Медиана времени от постановки диагноза до алло-ТГСК составила 9 месяцев (1–189). В этом исследовании шкалы IPSS и WPSS имели значимое влияние на посттрансплантационную общую выживаемость и частоту рецидивов [14].

В 2012 году был предложен пересмотренный вариант шкалы IPSS – IPSS-R. В исследование включены 7012 пациентов из разных центров из 11 стран. Все пациенты были старше 16 лет, имели диагноз первичного МДС и не получали терапию, способную повлиять на естественное течение заболевания (гипометилирующие препараты, интенсивную химиотерапию или алло-ТГСК). Медиана возраста в общей популяции составила 71 год, при этом 77% пациентов были старше 60 лет, медиана времени наблюдения составила 3,9 года. Была расширена стратификация цитогенетического риска до пяти групп, детализировано описание степени и вида цитопении, что, в свою очередь, позволило выделить пять групп риска со значительно различающимися общей выживаемостью и риском трансформации в ОМЛ [82].

Описанные три системы построения прогноза при МДС концентрируются в основном на особенностях заболевания, вынося за рамки характеристики пациента (возраст, соматический статус, сопутствующие заболевания). Данное обстоятельство ограничивает эффективность предложенных моделей, несмотря на попытки частично скорректировать это упущение (например, скорректированная по возрасту шкала IPSS-R). Также необходимо отметить, что ни IPSS, ни IPSS-R,

которая на данный момент является наиболее используемой, не валидированы на популяции пациентов, получавших предшествующую терапию, в частности алло-ТГСК и новые методы иммунотерапии. Также они не предоставляют информации относительно вероятности ответа на тот или иной метод лечения. В контексте предложенных шкал остаются не задействованы такие специфические популяции пациентов, как пациенты с вторичным МДС, гипопластическим МДС, МДС с фиброзом костного мозга, хроническим миеломоноцитарным лейкозом.

Последнее обстоятельство попытались исправить при разработке прогностической шкалы в Онкологическом центре им. М.Д. Андерсона в 2008 году, включив 1915 пациентов, при этом только 26% пациентов имели первичный МДС без предшествующей терапии. В шкалу были включены такие факторы, как соматический статус, возраст, уровни тромбоцитов, гемоглобина, лейкоцитов и бластов костного мозга, кариотип, история гемотрансфузий, что позволило выделить четыре группы риска с разными медианами общей выживаемости [99].

Таким образом, основные используемые на данный момент при МДС прогностические шкалы были разработаны для оценки риска заболевания при постановке диагноза и далее вне зависимости от конкретного метода терапии, часть которых может опосредовать патоморфоз заболевания и, как следствие, актуальный прогноз, что особенно важно в контексте алло-ТГСК.

На сегодняшний день предложены отдельные индексы, разработанные непосредственно для предсказания результатов алло-ТГСК.

В 2005 году на популяции из 1055 пациентов был разработан индекс коморбидности, специфичный для алло-ТГСК (HCT-CI). Медиана возраста составила 44,8 лет. В зависимости от наличия сопутствующей патологии из 17 предложенных категорий пациентов удалось разделить на три группы с разными общей выживаемостью и летальностью, связанной с лечением [171]. В дальнейшем прогностическая значимость данного индекса была продемонстрирована в нескольких многоцентровых ретроспективных и проспективных исследованиях. Индекс широко применяется при принятии

решения о выполнении алло-ТГСК в повседневной клинической практике, высокие значения НСТ-СІ ассоциированы с большей трансплантационной летальностью, снижением качества жизни пациентов в посттрансплантационном периоде. Следует, однако, отметить, что в нескольких исследованиях не удалось продемонстрировать прогностическую значимость НСТ-СІ, что, вероятно, связано с ограниченным объемом исследуемой популяции [63].

Индекс риска заболевания (DRI) был разработан на популяции из 1539 пациентов с медианой возраста 49 лет (18–73) и медианой времени наблюдения 4 года и валидирован на популяции из 672 пациентов. Индекс включает тип и стадию заболевания и позволяет разделить популяцию пациентов на четыре группы с различными посттрансплантационными общей выживаемостью и выживаемостью без прогрессирования. Впоследствии DRI был также успешно валидирован на популяции из 13 131 пациента. Основным недостатком DRI является то, что он создавался как единый показатель для большого количества разнородных гематологических заболеваний, в силу чего часто не до конца учитывает особенности конкретного заболевания, например молекулярные маркеры при острых лейкозах [22].

Одним из индексов, комбинирующих как характеристики пациента, так и особенности диагноза, является индекс риска EBMT, изначально разработанный на когорте из 3142 пациентов с хроническим миелоидным лейкозом, а впоследствии валидированный и для других заболеваний. Индекс комбинирует данные по возрасту пациента, стадии заболевания, времени от диагноза до алло-ТГСК, полу донора и степени совместимости по HLA. Индекс EBMT прост в использовании, но имеет ряд недостатков: как и индекс DRI, он не учитывает в полной мере особенности разных диагнозов, стратификация по возрасту также требует большей детализации с учетом увеличения верхней допустимой границы возраста пациентов-кандидатов на алло-ТГСК. Такие факторы, как степень совместимости по HLA и время от диагноза до алло-ТГСК, требуют пересмотра в связи с новыми подходами в терапии ряда заболеваний, а также в протоколах выполнения алло-ТГСК [80].

Другим комбинированным индексом является прогностическая шкала предтрансплантационной оценки летальности (РАМ score), разработанная на популяции из 2802 пациентов и включающая 8 факторов: возраст, тип донора, риск по заболеванию, интенсивность режима кондиционирования, уровень креатинина и аланинаминотрансферазы сыворотки, показатели функции внешнего дыхания. Шкала позволяет оценить двухлетнюю частоту посттрансплантационной летальности, независимо от причины. Недостатками индекса являются низкая степень валидированности в разных центрах, низкая представленность пациентов старше 60 лет и разных гематологических диагнозов в исследованной когорте [146].

Следует помнить, что вышеописанные шкалы разработаны для общей популяции пациентов-кандидатов на алло-ТГСК вне зависимости от диагноза и не специфичны для МДС, что, в свою очередь, ограничивает их применимость. Алло-ТГСК в контексте МДС требует специфических прогностических инструментов в силу более молодого возраста пациентов-кандидатов на алло-ТГСК в сравнении с общей популяцией пациентов с МДС, а также того обстоятельства, что пациенты с МДС, являющиеся кандидатами на алло-ТГСК, относятся, как правило, к пациентам высокого риска по шкалам IPSS, WPSS, IPSS-R.

Первой шкалой, учитывающей вышеуказанную специфичность, является шкала, разработанная Armand et al. в 2008 году. Шкала является результатом ретроспективного анализа 445 пациентов с ОМЛ, острым лимфобластным лейкозом и МДС. Шкала включает 5 факторов риска: возраст, тип диагноза, стадия заболевания на момент алло-ТГСК, кариотип, предтрансплантационный уровень ферритина, и позволяет выделить 3 группы риска с различной пятилетней общей выживаемостью. Медиана времени наблюдения составила 25 месяцев (6–102), медиана возраста 45 лет (18–71), только 39% пациентов имели диагноз МДС, включая 18% с диагнозом вторичного ОМЛ. Основным недостатком исследования является его ретроспективный и одноцентровой характер [23].

Второй прогностической шкалой, специфичной для МДС в контексте алло-ТГСК, является предложенный Kroeger et al. в 2019 году оптимизированный алло-ТГСК-специфичный показатель риска EBMT. Индекс был разработан на популяции из 1059 пациентов с МДС старше 18 лет, медиана времени наблюдения составила 69 месяцев. В шкалу включены следующие факторы риска: возраст, процент бластов в периферической крови, уровень тромбоцитов, тип донор, кариотип, соматический статус и серологический статус по цитомегаловирусу на момент алло-ТГСК. Индекс позволил выделить 4 группы риска с различными результатами выживаемости, частоты рецидивов и летальности, связанной с лечением. Прогностическая значимость предложенной шкалы была несколько выше шкалы IPSS-R, что, впрочем, не позволило авторам говорить о целесообразности отказа от использования последней, а скорее о комбинации данных двух шкал для более точного прогноза [70].

Дальнейшее увеличение эффективности прогностических инструментов возможно лишь с использованием новых массивов данных, в частности молекулярной генетики, которые постоянно пополняются по мере лучшего понимания патофизиологии МДС.

1.3. Биологические факторы прогноза при миелодиспластическом синдроме

Под биологическими факторами прогноза подразумевается совокупность данных исследований в области молекулярной и клеточной биологии МДС, накопленная за последнее десятилетие и призванная усовершенствовать существующие прогностические шкалы, основанные на более традиционных клиничко-лабораторных методах. В первую очередь, это исследования в области генетики МДС с использованием высокопроизводительных методов секвенирования нового поколения, раскрывающие молекулярные механизмы патогенеза МДС, а также пути клональной эволюции этого заболевания. В другую группу можно отнести описание характеристик, патогенетической и

прогностической роли различных субпопуляций клеточного микроокружения МДС, в частности иммунокомпетентных клеток и их фенотипа.

На данный момент опубликован ряд работ, в которых анализируется мутационный статус основных генов, участвующих в патогенезе МДС, и их прогностическая ценность в контексте ответа на терапию и общей выживаемости. Выяснено, что более 80% пациентов с МДС имеют хотя бы одну мутацию в более чем 40 генах [83]. При этом только для некоторых генов показана независимая прогностическая значимость, в том числе в отношении общей выживаемости. В основном это гены TP53, EZH2, RUNX1, NRAS, ASXL1, SF3B1, SRSF2 и несколько других. Основные группы генов, в которых определяются мутации при МДС, это транскрипционные факторы (TP53, RUNX1, BCOR), факторы сплайсинга РНК (SF3B1, SRSF2, U2AF1), белки метилирования ДНК (TET2, IDH1, IDH2), гены модификации хроматина (EZH2, ASXL1), белки комплекса когезина (STAG2), белки сигнального пути RAS (NRAS, CBL) и другие [144]. С учетом того, что более половины случаев МДС – это МДС с нормальным кариотипом, данные молекулярной генетики являются незаменимым источником новой информации о гетерогенности популяции пациентов с этим заболеванием.

Единственной мутацией, для которой на данный момент продемонстрирована благоприятная роль в отношении общей выживаемости, является мутация гена SF3B1, ассоциированная с подтипом МДС с кольцевыми сидеробластами. Ген SF3B1 кодирует белок комплекса U2 snRNP, участвующий в процессе сплайсинга РНК. На данный момент предложено выделить SF3B1-мутированный МДС как особый подтип этого заболевания с дополнительными диагностическими критериями. Мутация SF3B1 одна из самых частых и встречается у более 20% пациентов с МДС [125].

Мутации в других генах, ответственных за сплайсинг РНК, не имеют столь явного благоприятного влияния на прогноз. Ген SRSF2 мутирован примерно у 14% популяции пациентов с МДС. Мутация нарушает связывание белка SRSF2 с пре-мРНК и ассоциирована с пожилым возрастом и нормальным кариотипом. U2AF1 – это белок, входящий в состав U2-сплайсосомы, его мутации встречаются

у 11% пациентов с МДС, ассоциированы с меньшей выживаемостью и увеличением риска трансформации в острый лейкоз. Белок ZRSR2 кодируется геном на X-хромосоме, его мутации встречаются в 5% случаев МДС, чаще у пациентов мужского пола [42].

Процесс метилирования ДНК является компонентом эпигенетической регуляции экспрессии генов. В этом процессе участвуют ферменты ДНК-метилтрансферазы, в частности DNMT3A, мутация которого встречается у 10–15% пациентов с МДС и, по данным отдельных исследований, ассоциирована с меньшей выживаемостью и риском трансформации в ОМЛ. Фермент, кодируемый геном TET2, отвечает за обратный процесс деметилирования ДНК. Его мутации определяются у 30% пациентов с МДС, данные по их прогностической значимости противоречивы, но опубликованы наблюдения о большей вероятности ответа на терапию гипометилирующими препаратами у пациентов с мутацией TET2. Ферменты IDH1 и IDH2 встречаются в 5% случаев МДС и также участвуют в метилировании ДНК, их прогностическая значимость пока не ясна [25].

Другим компонентом эпигенетической регуляции является процесс модификации, в частности метилирования гистонов. За эти процессы отвечают белковые комплексы PRC1 и PRC2. Гены EZH2 и BCOR являются компонентами PRC2 и PRC1, соответственно. Мутации обоих генов встречаются в 5% случаев МДС и ассоциированы с плохим прогнозом. Мутация гена ASXL1 определяется у 20% пациентов с МДС и ассоциирована с меньшей выживаемостью [91].

Гены комплекса когезина (SMC1A, SMC3, RAD21, STAG2) ответственны за организацию хромосом в процессе клеточного деления. Частота встречаемости мутаций этой группы достигает 20%, на данный момент нет однозначного мнения по поводу их прогностической значимости [94].

Белки сигнального пути RAS (KRAS, NRAS, PTPN11), как и белки других сигнальных путей, чаще появляются на поздних стадиях МДС в процессе прогрессирования и трансформации в ОМЛ. Частота их встречаемости менее 5% [25].

Мутации транскрипционных факторов (GATA2, RUNX1, TP53, ETV6) встречаются при МДС как в приобретенном варианте, так и в рамках конституциональных форм недостаточности костного мозга. Их частота достигает 10%, в отдельных исследованиях было показано неблагоприятное влияние мутаций RUNX1 на прогноз. Транскрипционный фактор TP53 является ключевым регулятором клеточного цикла и одним из основных и наиболее изученных антионкогенов, вовлеченных в патогенез множества злокачественных новообразований. Его мутации ассоциированы с комплексными хромосомными перестройками, вторичными формами МДС после предшествующей лучевой и химиотерапии, тенденцией к более быстрой трансформации в острый лейкоз и крайне неблагоприятным прогнозом [25].

Уровень аллельной нагрузки, являясь суррогатным маркером размера мутированного клона, показал свою значимость для ряда генов (TP53, TET2, SF3B1), тогда как для ряда других (NRAS, EZH2) такой значимости продемонстрировано не было [96]. Необходимо отметить негативную роль общего количества мутаций при МДС, а также значимость динамики мутированного клона, в частности скорость его исчезновения после алло-ТГСК [61]. Продемонстрировано, что для МДС характерно одновременное существование нескольких клонов, обусловленное независимым последовательным приобретением соматических мутаций. При этом могут быть выделены наиболее вероятные пути клональной эволюции [139], что потенциально может быть также использовано при построении новых прогностических моделей в будущем.

Уже произведены попытки модификации существующих прогностических моделей с помощью новых данных молекулярной генетики. В исследовании 2011 года выполнялся поиск мутаций в образцах костного мозга 439 пациентов с МДС. Были найдены мутации в 18 генах, хотя бы одна мутация была обнаружена у 51% пациентов. В многофакторном анализе 5 генов (TP53, EZH2, ETV6, RUNX1, ASXL1) сохранили прогностическую значимость независимо от шкалы IPSS [33].

В исследовании 2014 года 944 пациента с МДС скринировали на предмет наличия мутаций в 104 генах. На основании данных по мутациям в 14 генах удалось дополнить шкалу IPSS-R и выделить 4 группы пациентов с различной трехлетней общей выживаемостью. При этом данное разделение оказалось возможным даже без учета шкалы IPSS-R, только лишь на основании молекулярных данных по панели из 14 генов [83].

В исследовании 2016 года на когорте из 508 пациентов с МДС была разработана прогностическая шкала, включающая возраст, показатель IPSS-R, данные по мутациям в генах EZH2, SF3B1, TP53. Были получены 4 популяции пациентов с различной медианой общей выживаемости, при этом предсказательная сила полученного индекса оказалась выше, чем у шкалы IPSS-R в отдельности [142]. В дальнейшем аналогичные результаты были получены в ряде других работ [89], что говорит о высоком потенциале данных молекулярной генетики в отношении задачи усовершенствования существующих прогностических шкал при МДС.

В то же время молекулярная генетика не единственный метод, способный улучшить сложившуюся ситуацию. В этом также могут помочь данные проточной цитометрии и характеристики опухолевого микроокружения. Проточная цитометрия на данный момент играет вспомогательную роль в диагностике МДС. Предложены несколько диагностических индексов, которые также имеют и прогностическое значение [60]. В исследовании 2012 года на когорте из 259 пациентов с МДС с медианой возраста 71 год была продемонстрирована прогностическая значимость диагностического индекса Ogata, включающего такие параметры костного мозга, как процент CD34+ миелобластов, процент CD34+ предшественников В-клеток, отношение CD45+ лимфоцитов к CD45+ миелобластам, отношение интенсивности бокового светорассеяния гранулоцитов и лимфоцитов. В многофакторном анализе индекс Ogata сохранил независимое влияние на пятилетнюю общую выживаемость наряду с такими факторами, как возраст, пол и группа риска IPSS-R [53].

В исследовании 2016 года был предложен цитофлуориметрический индекс, включающий интенсивность бокового светорассеяния, экспрессию CD117 на миелоидных предшественниках, экспрессию CD13 на моноцитах. В исследование включены 212 пациентов. В результате было продемонстрировано значимое влияние полученного индекса на общую выживаемость пациентов, в частности в подгруппе пациентов низкого риска по IPSS-R удалось выделить популяцию с тенденцией к более неблагоприятному течению заболевания [16].

Несмотря на вышеперечисленные результаты, следует отметить, что проточная цитометрия, в отличие от молекулярной генетики, менее популярна в качестве прогностического инструмента при МДС в силу сложности в вопросах стандартизации и воспроизводимости метода. Тем не менее определяющая роль опухолевого микроокружения при МДС, а также новые перспективные методы иммунотерапии говорят о необходимости комбинации генетических исследований с исследованиями иммунофенотипа популяций клеток костного мозга при МДС.

Таким образом, необходим поиск факторов прогноза, позволяющих не только дополнить, но и по возможности принципиально модифицировать шкалы, используемые в настоящее время, с целью более персонализированной терапии гетерогенной популяции пациентов с МДС. Эффективные методы построения прогноза являются краеугольным камнем успеха риск-адаптированной терапии МДС, что особенно актуально в контексте новых методов лечения.

1.4. Лечение пациентов с миелодиспластическим синдромом

Выбор предпочтительного метода терапии пациента с МДС напрямую зависит от соответствующей группы риска, определяемой как на момент постановки диагноза, так и в дальнейшем в процессе наблюдения и терапии [9, 136, 150]. В клинической практике всю популяцию пациентов с МДС делят на пациентов низкой и высокой групп риска. К низкому риску относят пациентов низкого и промежуточного-1 риска по шкале IPSS, очень низкого, низкого и

промежуточного риска по шкалам WPSS и IPSS-R. Такое разделение удобно для понимания характера и планирования требуемой терапии, в частности в контексте определения показаний к алло-ТГСК.

К низкому риску относятся пациенты с относительно невысоким риском трансформации в ОМЛ, без избытка бластов и неблагоприятных цитогенетических аномалий. Эта группа пациентов часто требует только динамического наблюдения, иногда периодических гемотрансфузий и стимуляции ростовыми факторами. На первый план выходит контроль симптомов заболевания, которые в первую очередь связаны с глубиной и характером цитопении. Клинически значимая анемия, как наиболее частое проявление МДС, приводит к увеличению трансфузионной нагрузки и связанной с ней перегрузке железом. В связи с этим особая роль при трансфузионной зависимости отводится хелаторной терапии, способной снизить риск токсических и инфекционных осложнений в будущем. По данным проспективного рандомизированного исследования TELESTO, опубликованного в 2020 году, использование деферазирокса позволило увеличить медиану бессобытийной выживаемости на 1 год по сравнению с группой плацебо (3,9 и 3 года, соответственно). Исследование включало 60 медицинских центров в 16 странах и 225 пациентов с первичным МДС низкого и промежуточного-1 риска с медианой возраста 66 лет (21–88) [20]. В проспективном исследовании на популяции 65 взрослых пациентов с медианой возраста 59 лет (18–81) из 20 гематологических центров России на фоне терапии деферазироксом было продемонстрировано статистически значимое снижение ферритина сыворотки на 40,86% ($p = 0,0014$) [10].

Из ростовых факторов в первую очередь используются эритропоэз-стимулирующие агенты (ЭСА). В рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании третьей фазы 2018 года эпоэтин альфа значимо снижал количество и частоту гемотрансфузий по сравнению с плацебо, эритроидный ответ был достигнут у 31,8% пациентов против 4,4% в группе плацебо ($p < 0,001$). В исследование были включены 130 пациентов низкого и промежуточного-1 риска с медианой возраста 75 лет (36–94) [64]. Длительность ответа на ЭСА

составляет от 15 до 18 месяцев, ранняя потеря ответа ассоциирована с риском трансформации в ОМЛ, при этом добавление дополнительных препаратов (гипометилирующих агентов, леналидомида, фактора роста гранулоцитов) не приводит к значимому улучшению клинических исходов [147]. Наибольшую вероятность ответить на ЭСА имеют пациенты с меньшим уровнем эритропоэтина сыворотки, меньшим количеством баллов по IPSS-R и меньшей степенью трансфузионной зависимости [148].

Альтернативой ЭСА являются новые препараты с другими механизмами действия. Луспатерцепт, антагонист TGF-beta, представляет собой рекомбинантный белок, способный связываться с лигандами рецепторов суперсемейства TGF-beta, блокируя сигнальный путь SMAD2 и SMAD3, что приводит к дифференцировке и созреванию эритроидных предшественников. Эти сигнальные пути играют важную роль в патогенезе МДС за счет снижения экспрессии таких факторов, как SMAD7 и SKI. Луспатерцепт связывает лиганды TGF-beta и нивелирует отрицательную регуляцию эритропоэза [26, 85, 137, 203, 206]. В исследовании второй фазы PACE-MDS у пациентов с МДС низкого риска было продемонстрировано уменьшение трансфузионной зависимости у 29% с высокой и 63% с низкой трансфузионной потребностью, а 36% пациентов стали трансфузионно независимы [151]. В исследовании третьей фазы MEDALIST 37,9% пациентов с МДС низкого риска стали трансфузионно независимыми на фоне лечения луспатерцептом по сравнению с 13,2% в группе плацебо. При медиане наблюдения около 1 года 31,4% пациентов не нуждались в эритроцитарных трансфузиях против 0% в группе плацебо [65]. В рандомизированном клиническом исследовании третьей фазы COMMANDS луспатерцепт сравнивается с текущим стандартом терапии, эритропоэтином альфа [54]. Результаты этого исследования могут повлиять на будущий стандарт лечения пациентов с МДС низкого риска.

Роксадустат, белковый регуляторный фактор HIF-1-alpha, регулирующий активность системы TGF-beta, также проходит фазу клинических испытаний у пациентов с МДС низкого риска. Препарат влияет на продукцию эритропоэтина,

утилизацию железа из макрофагов, ускоряет метаболизм железа, стабилизирует HIF-1-alpha в крови, предотвращает его протеолиз, приводит к стимуляции эритропоэза [43]. Предварительные результаты многоцентрового исследования, включившего 24 пациента с МДС низкого риска, выявили снижение трансфузионной зависимости на 50% [88].

Также в настоящий момент идут преclinical и клинические исследования ингибиторов киназ, входящих в состав сигнального пути TGF-beta. Так, при использовании ингибитора киназы ALK5, участвующей в проведении сигнала при активации рецептора TGF-beta, галунисертиба, во второй фазе клинического исследования у пациентов с МДС низкого и промежуточного риска у 43,9% пациентов было отмечено достижение эритроидного ответа, у 24,4% пациентов отмечено гематологическое улучшение, у 44% пациентов отмечено снижение слабости. Данные исследования, возможно, послужат основанием для применения галунисертиба у пациентов с МДС с зависимостью от гемотрансфузий и не имеющих ответа на ЭСА [163]. Таким образом, в ближайшее время можно ожидать регистрации целого класса препаратов, действующих на TGF-beta.

Отдельно следует упомянуть такую группу пациентов низкого риска, как пациенты с гипопластическим вариантом МДС, когда может быть эффективна иммуносупрессивная терапия. В исследование А.В. Кохно и др. (НМИЦ гематологии, Москва) были включены 52 пациента с МДС, которым проводили монотерапию циклоспорином А. Общая эффективность терапии составила 56 и 55% (1-я и 2-я линии терапии), а полной ремиссии достигли 19 и 20% больных, соответственно. Общая выживаемость статистически значимо зависела от количества бластных клеток в костном мозге, клеточности костного мозга, наличия очаговой поликлональной лимфоидной инфильтрации в костном мозге и цитогенетических аберраций [4]. В метаанализе 2020 года было включено 22 исследования с общим количеством пациентов 570. Наиболее часто используемым вариантом терапии являлся антитимоцитарный глобулин и/или циклоспорин А. Общая частота ответов равнялась 42,5%, полных ответов – 12,5%,

частота достижения независимости от трансфузий – 33,4%. По результатам метаанализа не удалось выявить какие-либо прогностические факторы, влияющие на вероятность ответа на иммуносупрессивную терапию при МДС [172].

Для пациентов с изолированной делецией длинного плеча хромосомы 5 одним из предпочтительных вариантов лечения является леналидомид. По данным исследования MDS-003, в популяции 148 пациентов с МДС у 67% была достигнута трансфузионная независимость [119]. В рандомизированное плацебо-контролируемое исследование третьей фазы MDS-004 было включено 205 пациентов с МДС низкого и промежуточного-1 риска с делецией длинного плеча хромосомы 5. Леналидомид позволил достичь независимости от трансфузий у 56,1% пациентов против 5,9% в группе плацебо ($p < 0,001$). Медиана длительности ответа на леналидомид в разных возрастных группах пациентов составила от 2 до 4 лет [66].

К МДС высокого риска относятся пациенты с неблагоприятными цитогенетическими аномалиями (в первую очередь, перестройки хромосомы 7 и множественные кариологические поломки), избытком бластных клеток в костном мозге, глубокой цитопенией. Эта группа требует принципиально другой тактики ведения, так как медиана выживаемости пациентов высокого риска составляет менее 1 года. В первую очередь, на момент установления диагноза необходимо определить объем требуемой терапии и целесообразность выполнения алло-ТГСК. Для этого необходимо учитывать как характеристики самого заболевания, так и соматический статус и возраст пациента, а также доступность потенциального донора костного мозга.

При МДС высокого риска длительное время стандартом терапии оставались малые дозы цитарабина (МДЦ). МДЦ используются при миелоидных неоплазиях с середины 1980-х годов. Медиана выживаемости при этом составляла около 8 месяцев, максимальная продолжительность жизни в клинических исследованиях не превышала 2–3 лет, частота ответов варьирует от 15 до 30%, хотя некоторые исследования указывают на отсутствие различия в выживаемости между МДЦ и наилучшей сопроводительной терапией [7, 79, 207].

В настоящий момент стандартом терапии МДС высокого риска является гипометилирующая терапия (ГМТ). В регистрационных рандомизированных исследованиях по сравнению с наилучшей доступной терапией децитабин показал увеличение медианы общей выживаемости на 2,7 месяца, а 5-азацитидин – на 10 месяцев. Тем не менее популяционные исследования на пациентах с МДС высокого риска демонстрируют более скромные результаты ГМТ: медиана общей выживаемости 11 и 12 месяцев для децитабина и 5-азацитидина, соответственно [67, 68, 100, 202].

Проведение интенсивной химиотерапии по протоколам ОМЛ у пациентов с МДС сопровождается высокой ранней летальностью и непродолжительностью ремиссии. В связи с этим одним из предложенных на данный момент вариантов является комбинация низкодозных режимов химиотерапии с предшествующим гипометилирующим праймингом. В российском исследовании (НМИЦ гематологии, Москва) 38 больным с МДС и ОМЛ была проведена гипометилирующая терапия (децитабин либо 5-азацитидин) с последующим введением идарубицина и цитарабина. Общий ответ был достигнут в 53 и 57% случаев, соответственно. Частота ответов была сопоставима в группах МДС и ОМЛ [5].

В последние годы установлена значительная роль активации BCL-2 в прогрессировании и резистентности ОМЛ, а ингибитор BCL-2, венетоклак, показал значительное увеличение частоты полных ремиссий в комбинации с МДЦ или ГМТ [57, 108]. В группе пациентов с ОМЛ и МДС, рефрактерных к химиотерапии, общий ответ составил 21% [27, 58]. Иницированы клинические исследования с включением венетоклакса на более ранних этапах терапии МДС.

Другой ингибитор сигнальных путей, гласдегиб, в 2019 году был зарегистрирован для терапии ОМЛ и МДС высокого риска в сочетании с химиотерапией. Препарат ингибирует сигнальный путь Hedgehog, который впервые был описан как один из путей, задействованных в процессе эмбриогенеза. Белки данного сигнального пути отвечают за дифференцировку клеток и тканей. Hedgehog-путь и другие внутриклеточные сигнальные пути играют важную роль в регуляции клеточного цикла опухолевой клетки, а также

задействованы в механизмах формирования резистентности к химиотерапии [92]. В исследовании первой фазы 31% пациентов с ОМЛ и МДС высокого риска на фоне терапии гласдегибом в сочетании с МДЦ и децитабином достигли полной ремиссии [165]. В другом исследовании первой фазы в сочетании с системной химиотерапией по протоколу «7+3» у той же категории пациентов 46% пациентов достигли полной ремиссии [49]. В рандомизированном исследовании сравнения гласдегиба в комбинации с МДЦ против МДЦ было продемонстрировано увеличение общей выживаемости на 3 месяца с достижением у большинства пациентов длительной стабилизации заболевания. При использовании гласдегиба в качестве монотерапии при рефрактерных формах МДС частота ответов составляет всего 6% [50]. Несмотря на невысокую эффективность, хорошая переносимость терапии гласдегибом позволяет предполагать, что он может стать одним из компонентов комбинированной терапии пациентов с МДС.

Около 5% случаев МДС ассоциированы с мутацией в генах IDH1 и IDH2. Мутированный вариант IDH приводит к избыточному образованию онкометаболита R2-гидроксиглутарата, который вызывает функциональную недостаточность гена TET2 [47, 198]. В настоящий момент в клинических испытаниях находятся 2 ингибитора IDH: энаседениб, пероральный ингибитор IDH2, и ивосидениб, пероральный ингибитор IDH1. В исследовании второй фазы у пациентов с ОМЛ и МДС высокого риска энаседениб показал общий ответ у 53% пациентов, включая 7% полных ремиссий [176]. Предварительных результатов эффективности ивосидениба на настоящий момент пока нет.

Еще одним ингибитором сигнальных путей, который тестировался в клинических испытаниях, является ригосертиб, подавляющий активность одновременно нескольких киназ, таких как АКТ и PI3K. В клиническом исследовании у пациентов с МДС было продемонстрировано снижение бластога [48], однако в исследовании третьей фазы у пациентов, резистентных к ГМТ, не было различий в выживаемости между ригосертибом и лучшей сопроводительной терапией [74]. В настоящий момент ригосертиб исследуется в сочетании с 5-азацитидином [140].

Небольшая группа пациентов с МДС имеет FLT3-мутацию, данный вариант МДС имеет тенденцию к быстрой трансформации в ОМЛ, поэтому непосредственно при МДС практически полностью отсутствуют данные об эффективности FLT3-ингибиторов. Тем не менее опыт ОМЛ показывает, что добавление мидостаурина к химиотерапии увеличивает безрецидивную выживаемость на 8% [179]. В комбинации с 5-азациитидином частота ответов составляет 26% [180]. Тем не менее FLT3-ингибиторы второго поколения, гилтеритиниб и квизартениб, демонстрируют более оптимистичные результаты [18, 153], что делает целесообразным добавление этих таргетных агентов при выявлении у пациента с МДС FLT3-мутации.

Для оценки эффективности различных методов терапии пациентов с МДС используются варианты и критерии определения ответов на терапию, предложенные Международной рабочей группой IWG в 2006 году [46]. В последние годы ведутся дискуссии о необходимости модификации этих критериев, в частности в отношении определения эритроидного ответа [152], что особенно актуально в свете появления новых препаратов. В то же время в группе МДС низкого риска на данный момент отсутствуют консервативные методы лечения, способные модифицировать течение заболевания, в связи с чем при рефрактерной клинически значимой цитопении для пациентов с МДС низкого риска может быть рассмотрена алло-ТГСК (таблица 2) [59].

Таблица 2 – Показания к алло-ТГСК (EBMT 2019)

Диагноз	Показания	Родственная	Неродственная совместимая	Гаплоидентичная, частично совместимая	Аутологичная
МДС	РА, ИБ-1, -2, МЛД	С	С	С	НР
	вОМЛ в ремиссии	С	С	С	КО
	Трансформация	С	С	С	НР

РА – рефрактерная анемия; ИБ – избыток бластов; МЛД – мультилинейная дисплазия; вОМЛ – вторичный острый миелоидный лейкоз; НР – не рекомендовано; КО – клиническая опция; С – стандарт.

Последнее обстоятельство позволяет предположить, что часть пациентов, формально относящаяся к низкому риску, имеет менее благоприятный прогноз, ассоциированный с повышенной частотой прогрессирования заболевания. Так, например, показано, что в популяции пациентов с изолированной делецией 5q частым вторичным событием является возникновение клона с мутацией TP53, что приводит к потере ответа на леналидомид и быстрому прогрессированию заболевания [121]. В отдельных работах исследовалось влияние количества соматических мутаций на вероятность ответа на терапию ЭСА [110]. Использование методов молекулярной генетики потенциально позволит лучше определить популяцию пациентов высокого риска и показания к интенсивным методам терапии, в первую очередь, к алло-ТГСК.

Помимо молекулярной генетики, в разработке новых методов лечения большую роль играет исследование микроокружения при МДС. Провоспалительные цитокины и проапоптотические сигналы, преобладающие на ранних стадиях заболевания у пациентов низкого риска, по мере прогрессирования сменяются на иммуносупрессивное цитокиновое и клеточное окружение. Одним из компонентов подавления иммунного ответа при МДС являются молекулы иммунных контрольных точек [199]. Последние экспрессируются как опухолью, так и клетками патологического микроокружения, что позволяет искать механизмы нарушения взаимодействия этих молекул с их лигандами [13, 102].

Ингибиторы контрольных точек (ИКТ) стали прорывом в лечении пациентов с рядом солидных опухолей. Универсальность механизма заключается в реактивации иммунных клеток в результате блока сигнала, ингибирующего их активность, и восстановлении противоопухолевого иммунного ответа. Тем не менее экспрессия различных лигандов контрольных точек сильно варьирует от опухоли к опухоли. Наибольшую вероятность ответа на ИКТ имеют опухоли с высоким процентом неоантигенов или с амплификацией генов лигандов контрольных точек. Наибольшей чувствительностью обладают лимфома Ходжкина, меланома, рак мочевого пузыря, рак легкого, рак головы и шеи,

солидные опухоли с микросателлитной нестабильностью [17]. Хотя для МДС характерен значительный спектр мутаций, число соматических мутаций в клетках, как правило, относительно невелико [145]. Тем не менее для гемопоэтических клеток при МДС характерен высокий уровень экспрессии лигандов контрольных точек, при этом уровень их экспрессии возрастает на фоне ГМТ [199].

В исследованиях не отмечено выраженного ответа на монотерапию ИКТ. Наиболее вероятной причиной неэффективности ниволумаба и ипилимумаба в качестве монотерапии может быть одновременная экспрессия нескольких классов молекул, способных ингибировать иммунный ответ. Однако в исследовании Garcia-Manero et al. общая частота ответов на терапию 5-азацитидином в комбинации с ниволумабом составила 69%, включая достижение у 2 пациентов полной ремиссии [75]. Возможно, ответ на данную схему комбинированной терапии связан со способностью ГМТ стимулировать экспрессию опухолевыми клетками неоантигенов, усиливая Т-клеточный иммунный ответ.

Также причиной неудач лечения ИКТ может быть иммуносупрессивное действие костномозговых ниш при МДС. Среди таких механизмов описаны высокая экспрессия IDO клетками микроокружения, индукция пластичности Т-клеток в сторону Т-регуляторов, подавление экспрессии интерферона альфа Т-клетками, индукция апоптоза Т-клеток посредством активации CD33-S100A9 сигнального пути, повышенный уровень миелоидных супрессорных клеток [44, 130, 193].

По-видимому, в будущем ИКТ войдут в стандарты терапии МДС, однако не в виде монотерапии, а в качестве комбинированной терапии, в частности в виде комбинаций ингибиторов PD-1, CTLA4 и TIM-3 [51]. В настоящее время продолжаются клинические испытания анти-TIM-3 моноклональных антител. В многоцентровом исследовании анти-TIM-3 антитела MBG453 в сочетании с децитабином 50% пациентов с МДС высокого риска достигли гематологической или молекулярной ремиссии [38].

Принципиально новый класс ИКТ – это макрофагальные ИКТ. Ключевой молекулой в подавлении макрофагального ответа является CD47. Эта молекула экспрессируется на макрофагах, а ее взаимодействие с лигандом SIRP-alpha приводит к подавлению фагоцитоза. Данный сигнальный путь активно работает при взаимодействии клеток крови с макрофагами, а также является механизмом резистентности при опухолях кроветворной системы [159]. Магролимаб, или 5F9-антитело, является гуманизированным моноклональным антителом, которое блокирует CD47 и активирует фагоцитоз опухоли. В преclinical модели ОМЛ применение данного препарата в сочетании с 5-азациитидином продемонстрировало высокие показатели выживаемости у лабораторных животных [120]. В исследовании первой фазы терапию 5-азациитидином и магролимабом получали 35 пациентов с МДС высокого риска. Ответ был оценен у 24 пациентов, среди которых у 92% наблюдался гематологический ответ и у 50% полная ремиссия. Дальнейшее наблюдение требуется для определения длительности ответов [161].

Наряду с разработкой новых молекул, ведутся поиски возможных вариантов клеточной терапии МДС [177]. На данный момент единственным методом клеточной иммунотерапии МДС, вошедшим в широкую клиническую практику, является алло-ТГСК. Следует отметить, что алло-ТГСК до сих пор является также единственным излечивающим методом терапии этого заболевания. В связи с этим алло-ТГСК часто играет ключевую роль в судьбе пациентов с МДС, особенно в группе МДС высокого риска, когда вопрос о возможности выполнения алло-ТГСК поднимается в момент постановки диагноза.

Тем не менее пациенты с МДС до сих пор остаются одной из самых «сложных» групп среди кандидатов на алло-ТГСК, что связано с целым рядом дополнительных неблагоприятных факторов. В число этих факторов входят возраст пациентов, определяющий значительное число сопутствующих заболеваний, длительный анамнез терапии, в том числе гемотрансфузионный анамнез. С учетом соматического статуса пациентов в клинической практике

часто используются режимы кондиционирования со сниженной интенсивностью доз [112, 168].

Так, в исследовании Ю.В. Рудницкой и др. (НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой, ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург) при анализе результатов алло-ТГСК с использованием режима кондиционирования со сниженной интенсивностью доз у пациентов с МДС возраст старше 40 лет являлся значимым неблагоприятным фактором, увеличивающим летальность, связанную с лечением, и снижающим общую выживаемость пациентов [8].

Кроме того, у большинства пациентов, в отличие от других нозологий, на момент проведения алло-ТГСК не удается достигнуть полной ремиссии основного заболевания. Эти факторы приводят к большей частоте неприживления и гипофункции трансплантата, а также большей вероятности развития раннего рецидива у пациентов с МДС. Длительный период цитопении после алло-ТГСК ассоциирован со значимо большей частотой инфекционных осложнений, которые являются основной причиной смерти пациентов с МДС в раннем посттрансплантационном периоде. Все вышеперечисленное у пациентов с МДС определяет более высокую по сравнению с другими группами реципиентов алло-ТГСК трансплантационную летальность [113].

Помимо вышеперечисленных аспектов, у значимой части взрослых пациентов с МДС нет совместимого родственного и неродственного донора. Несмотря на успехи проведения гаплоидентичной трансплантации при других нозологиях, при МДС в контексте родственной гаплоидентичной алло-ТГСК трансплантационная летальность может достигать 40%, поэтому этот метод не вошел пока в стандарты терапии [191]. Согласно текущим критериям EBMT алло-ТГСК от гаплоидентичного донора может рассматриваться только после всесторонней оценки потенциальных рисков и преимуществ, связанных с процедурой [59].

В связи с большим количеством факторов, влияющих на успех алло-ТГСК, а также противоречивостью имеющихся литературных данных, в реальной клинической практике при рассмотрении конкретного пациента польза этого

метода часто неочевидна, что затрудняет принятие решения. Тем не менее по результатам опубликованного в 2021 году исследования VidazaAllo 162 пациента с медианой возраста 63 года (55–70) получали терапию 5-азациитидином с последующей алло-ТГСК после 4–6 курсов при наличии подходящего донора либо продолжали терапию 5-азациитидином. Из этих пациентов только 108 были определены в группы алло-ТГСК либо 5-азациитидина по прошествии 4–6 курсов терапии, 54 пациента выбыли из исследования до этого момента в основном по причине смерти и прогрессирования заболевания. В группе алло-ТГСК трехлетняя бессобытийная и общая выживаемости составили 34 и 50% против 0 и 32% в группе 5-азациитидина ($p < 0,0001$ и $p = 0,12$), соответственно. Алло-ТГСК сохранила положительный эффект относительно бессобытийной выживаемости даже с учетом того, что была отсрочена в связи с проведением индукционной терапии, при этом положительная роль последней стала менее очевидна [114].

По Международным рекомендациям 2017 года циторедуктивная терапия перед алло-ТГСК рекомендована пациентам с бластами костного мозга превышающими 10% [196]. В то же время в исследовании 2019 года 165 пациентов с МДС (76%) и вторичным острым лейкозом (24%) были ретроспективно проанализированы относительно использованной предтрансплантационной стратегии. Из них 67 пациентов были трансплантированы без терапии, 64 пациента получили индукционную химиотерапию, 34 пациента получили гипометилирующие препараты. Все три группы продемонстрировали сопоставимые пятилетние общую и безрецидивную выживаемость. Выживаемость в группе алло-ТГСК без предшествующей терапии не зависела от уровня бластов костного мозга. Были сделаны выводы о возможной селекции резистентных клонов МДС в процессе подготовительной терапии перед алло-ТГСК, что может сужать возможности профилактики и лечения посттрансплантационных рецидивов [167]. В ретроспективное исследование Больницы имени Рамона-и-Кахаля (Мадрид, Испания) 2021 года было включено 33 взрослых пациента с МДС и хроническим миеломоноцитарным лейкозом с медианой возраста 59 лет. Всем пациентам выполнялась алло-ТГСК, при этом

пациенты были разделены на 2 группы: с уровнем бластов костного мозга больше и меньше 5% на момент алло-ТГСК. Обе группы включали пациентов, получавших как интенсивную химиотерапию, так и гипометилирующие агенты перед алло-ТГСК. Трём пациентам алло-ТГСК была выполнена без подготовительной терапии. При медиане наблюдения 21,8 месяца в исследовании не удалось обнаружить статистически значимой разницы двухлетней общей и безрецидивной выживаемости [126].

Наряду с необходимостью подготовительной терапии перед алло-ТГСК при МДС, также нет ясности по поводу требуемой интенсивности режима кондиционирования. Рандомизированное исследование RICMAS 2017 года включало 129 пациентов из 18 медицинских центров и не показало значимых различий в общей и безрецидивной выживаемости между миелоаблативным режимом и режимом кондиционирования со сниженной интенсивностью доз [112]. Второе рандомизированное исследование 2017 года включало 272 пациента и также не продемонстрировало значимой разницы в общей выживаемости [168].

Алло-ТГСК, являясь предпочтительным методом лечения при МДС высокого риска, позволяет достигнуть долгосрочного излечения у 30–40% пациентов. Дальнейшее улучшение результатов алло-ТГСК невозможно без улучшения существующих прогностических инструментов и интеграции новых методов лечения в протоколы алло-ТГСК, как это произошло с другими нозологиями. Особенно это актуально с учетом посттрансплантационных рецидивов, являющихся одной из основных причин неудачи алло-ТГСК при МДС. Сочетание имеющихся в настоящий момент подходов к терапии с алло-ТГСК в одноцентровых исследованиях показали определенное клиническое преимущество [62], однако не вошли в широкую клиническую практику.

В исследованиях В.Н. Овечкиной и др. [6] и О.А. Слесарчук и др. [11] (НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой, ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург) оценивался эффект 5-азацитидина и инфузий донорских лимфоцитов, соответственно, для профилактики и лечения рецидивов МДС и ОМЛ после алло-ТГСК. В обоих исследованиях отмечено преимущество профилактического и

превентивного характера используемого метода в сравнении с результатами терапии морфологического рецидива.

Учитывая гетерогенность клинического течения МДС и риски, связанные с процедурой алло-ТГСК, тактика лечения в значительной степени определяется индивидуально для каждого пациента в соответствии с его прогностической группой согласно Российским и Международным клиническим рекомендациям [9, 59, 150, 196]. Известно, что пациенты очень высокой группы риска, в особенности имеющие моносомный или комплексный кариотип, часто ассоциированный с мутацией TP53 и вторичным характером МДС, имеют крайне неблагоприятный прогноз и медиану выживаемости менее 1 года, что не всегда поддается коррекции даже с помощью алло-ТГСК [78]. До сих пор остается открытым вопрос по поводу оптимальных сроков выполнения алло-ТГСК и подготовительной терапии, имеются противоречивые данные по роли интенсивности режима кондиционирования. На данный момент решение этих задач требует проведения дополнительных исследований с целью разработки новых эффективных методов прогноза и стратификации риска пациентов с МДС.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Характеристика пациентов

Исследование выполнено в клинике НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ.

В исследование были включены 115 пациентов с подтвержденным диагнозом МДС. Из них 49 пациентов были включены ретроспективно, и проведен анализ медицинской документации, еще 66 пациентов были включены проспективно в процессе выполнения работы.

На всей группе пациентов определялись двухлетние значения общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования, кумулятивные частоты прогрессирования и летальности, связанной с лечением. Исследовалось влияние таких факторов, как возраст, пол, тип МДС, группа риска, уровни бластов, тромбоцитов, гемоглобина, нейтрофилов, ферритина в дебюте заболевания, наличие зависимости от гемотрансфузий, терапия гипометилирующими препаратами в анамнезе, факт выполнения алло-ТГСК. Основные характеристики пациентов представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Характеристика пациентов

Характеристика	Значение
Количество, N	115
Медиана возраста, лет (диапазон)	46 (18–75)
Пол, М/Ж	58/57
Диагноз	
МДС с мультилинейной дисплазией	10 (9%)
МДС с избытком бластов-I	28 (24%)
МДС с избытком бластов-II	77 (67%)
Группа риска по IPSS-R	
Высокий	49 (43%)

Продолжение таблицы 3

Характеристика	Значение
Очень высокий	66 (57%)
Клинико-лабораторные показатели	
Количество трансплантированных	63 (55%)
Вторичный МДС	17 (15%)
Бласты костного мозга на момент диагноза, медиана % (диапазон)	11,2 (0–19)
Нейтрофилы периферической крови на момент диагноза, медиана клеток в мкл (диапазон)	1100 (20–7000)
Гемоглобин периферической крови на момент диагноза, медиана г/л (диапазон)	77 (15–134)
Тромбоциты периферической крови на момент диагноза, медиана $\times 10^3$ клеток в мкл (диапазон)	75 (2–716)
Потребность в трансфузиях эритроцитной взвеси	89 (77%)
Фиброз костного мозга	34/93 (37%)
Гипопластический МДС	11/92 (12%)
Ферритин сыворотки, медиана мкг/л (диапазон)	872 (12–7350)
Гипометилирующие препараты	67 (58%)
Медиана наблюдения, дней (диапазон)	598 (22–3651)

Шестидесяти трем пациентам с медианой возраста 44 года (от 18 до 67 лет) была выполнена алло-ТГСК. Сорок два процента пациентов были трансплантированы от HLA-совместимого родственного донора, а 73% были трансплантированы от 9–10/10 HLA-совместимых неродственных доноров. МДС с избытком бластов I или II был зарегистрирован у 76% пациентов с алло-ТГСК. Перед трансплантацией 22% пациентов получали терапию гипометилирующими препаратами. Режим кондиционирования был миелоаблативным у 25% пациентов и состоял из перорального приема бусульфана 16 мг/кг и циклофосфана 120 мг/кг. Режим кондиционирования со сниженной интенсивностью доз включал флударабин 180 мг/м² и пероральный бусульфан 8–10 мг/кг. Профилактика реакции трансплантат-против-хозяина (РТПХ) включала посттрансплантационный циклофосфамид у 37% пациентов, остальные пациенты получали

профилактику на основе ингибиторов кальциневрина и короткого курса метотрексата или микофенолата мофетила и антитимоцитарного глобулина в случае неродственной алло-ТГСК. Рестадирирование заболевания, включая аспирационную биопсию костного мозга, обычно выполняли на +30, +60, +100, +180, +365 дни после алло-ТГСК. Первичное неприживание трансплантата определялось как полное отсутствие донорского химеризма в аспирате костного мозга к +40 дню. Время до приживания рассчитывали, как время от алло-ТГСК до восстановления количества нейтрофилов $>500/\text{мкл}$ и количества лейкоцитов $>1000/\text{мкл}$ в течение 3 дней подряд. Определение риска по шкалам НСТ-СІ [170], DRI [22], IPSS [81], IPSS-R [82], WPSS [124], PAM [146], Armand et al. [23], Kroeger et al. [70] выполнялось на основе опубликованных систем оценки.

Всем пациентам при постановке диагноза выполнялись клинический анализ крови с лейкоцитарной формулой, исследование уровня ферритина сыворотки, аспирационная биопсия костного мозга с цитологическим исследованием мазков, оценкой уровня дисплазии, окраской на кольцевые сидеробласты, трепанобиопсия костного мозга с гистологическим исследованием, оценкой степени фиброза и количества CD34+ клеток по данным иммуногистохимии, стандартное кариотипирование клеток костного мозга с подсчетом 20 метафаз, при невозможности выполнения – флуоресцентная гибридизация *in situ* на выявление аномалий 5 и 7 хромосом. На основании полученных данных определялась группа риска пациентов по шкалам IPSS, WPSS, IPSS-R, а для пациентов, которым выполнялась алло-ТГСК, дополнительно вычислялись индексы Kroeger et al., Armand et al., DRI, PAM и НСТ-СІ.

У 55 пациентов исследовался уровень экспрессии молекул контрольных точек в трепанобиоптатах костного мозга. Соотношение мужчин и женщин составило 29:26, медиана возраста – 51 год. У большинства пациентов выявлялся МДС с избытком бластов-I и -II – у 15 и 25, соответственно. Двадцати трем пациентам была выполнена алло-ТГСК. Медиана срока наблюдения составила 900 дней. Оценивались трехлетние общая выживаемость и выживаемость без прогрессирования. Анализировалась связь между уровнем экспрессии молекул

контрольных точек и названными клиническими исходами, возрастом, значениями индексов IPSS/WPSS/IPSS-R, показателями крови, уровнем бластов костного мозга, зависимостью от гемотрансфузий.

У 35 пациентов ретроспективно выполнено исследование замороженных образцов геномной ДНК костного мозга методом секвенирования нового поколения. У 30 пациентов был первичный МДС, у 5 – после предшествующей химио- или лучевой терапии. Медиана возраста пациентов составила 49 лет (диапазон 18–80 лет). Алло-ТГСК выполнена 25 пациентам. Лечение гипометилирующими препаратами получали 28 пациентов. Время до прогрессирования (ВДП) рассчитывалось как время от постановки диагноза до трансформации в острый лейкоз, конкурирующим риском считалась смерть по причинам, связанным с алло-ТГСК или проводимой терапией.

У 38 пациентов проспективно анализировались субпопуляции клеток костного мозга методом проточной цитометрии на момент постановки диагноза. Исследовалась взаимосвязь между измеряемыми параметрами, а также их влияние на двухлетние значения общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования, кумулятивные частоты прогрессирования и летальности, связанной с лечением, в зависимости от таких факторов, как возраст, пол, тип МДС, количество баллов по IPSS-R, уровни бластов, тромбоцитов, гемоглобина, нейтрофилов, ферритина в дебюте заболевания, наличие зависимости от гемотрансфузий, терапия гипометилирующими препаратами в анамнезе, факт выполнения алло-ТГСК.

В двух группах пациентов проспективно выполнялось прямое секвенирование по Сэнгеру геномной ДНК костного мозга на момент постановки диагноза. Параллельно у 27 пациентов из первой группы и у 18 пациентов из второй группы выполнялось исследование субпопуляций клеток костного мозга по вышеописанной методике. Исследовалась взаимосвязь между измеряемыми параметрами, а также их влияние на двухлетние значения общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования, кумулятивные частоты прогрессирования и летальности, связанной с лечением, в зависимости от таких факторов, как возраст,

пол, тип МДС, количество баллов по IPSS-R, уровни бластов, тромбоцитов, гемоглобина, нейтрофилов, ферритина в дебюте заболевания, наличие зависимости от гемотрансфузий, терапия гипометилирующими препаратами в анамнезе, факт выполнения алло-ТГСК (рисунок 2).

	Проспективный анализ	Ретроспективный анализ	
С алло-ТГСК n = 63	Секвенирование по Сэнгеру n = 33	Секвенирование нового поколения n = 35	Без алло-ТГСК n = 52
	Проточная цитометрия n = 38	Иммуногистохимическое исследование n = 55	

Рисунок 2 – Исследованные группы пациентов.

Алло-ТГСК – аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

2.2. Лабораторные методы

В рамках иммуногистохимического исследования экспрессии молекул контрольных точек в трепанобиоптатах костного мозга на гистологическом материале лимфатических узлов пациентов с лимфомой Ходжкина и костного мозга пациентов с МДС была разработана методика обнаружения экспрессии следующих антигенов: PD-1 (ab52587), PD-L1 (ab205921), PD-L2 (ab200377), LAG-3 (ab40465), Gal-9 (ab69630), TIM-3 (ab185703), CD80 (ab64116). Использовались моноклональные антитела производства Abcam (1 Kendall Square, Suite B2304 Cambridge, MA 02139-1517 USA) и BOND-III Fully Automated IHC and ISH Stainer производства Leica Biosystems (1700, Leider Lane, Buffalo Grove, IL 60089 USA). В процессе тестирования методики использовались различные варианты демаскирования антигена, концентрации антител, продолжительности инкубации с антителами, пероксидазный блок, инкубация с хромогеном и окрашивание гематоксилином. В результате испытаний были выбраны режимы, которые позволили получить наиболее удовлетворительное окрашивание.

Экспрессию оценивали полуколичественно по 4-балльной шкале: 0,5 балла – отдельные клетки в отдельных полях; 1 балл – отдельные клетки в каждом поле; 1,5 балла – умеренное количество положительных клеток в некоторых полях; 2 балла – умеренное количество положительных клеток, диффузное распределение; 2,5 балла – количество положительных клеток в некоторых полях превышает 50%; 3 балла – количество положительных клеток больше 50%, клетки образуют кластеры из 5 и более; 4 балла – экспрессия антигена более чем на 90% клеток. Реакция считалась положительной, если наблюдалось окрашивание мембраны. Допускалось мембранно-цитоплазматическое окрашивание. Ядерное окрашивание считалось неспецифическим. Результаты окрашивания сравнивали с количеством и локализацией CD3⁺ и CD34⁺ клеток (Т-клетки и клетки-предшественники, соответственно).

Методом секвенирования нового поколения исследовались гены ASXL1, CD274 (Programmed cell death 1 ligand 1), CD276 (B7-H3), DICER1, DNMT3A, DROSHA, EZH2, IDH1, IDH2, LAG3, MFSD11 (Major facilitator superfamily domain containing 11), PDCD1 (Programmed cell death 1 receptor), PIKFYVE (Phosphoinositide kinase, FYVE-type zinc finger containing), RUNX1, SF3B1, SRSF2, TET2 и TP53. Минимальное покрытие при секвенировании равнялось x1000. Пробоподготовка производилась в соответствии с инструкцией к набору QIAseq Targeted DNA Panel (Human Myeloid Neoplasms Panel), QIAGEN, #DHS-003Z-96. Секвенирование производилось на приборе MiSeq, Illumina с использованием реагентов MiSeq v2 Reagent Kit 300 Cycles PE, Illumina, #15033624.

Для анализа субпопуляций клеток костного мозга использовались 7 восьмицветных панелей для определения экспрессии молекул контрольных точек на Т- и НК-клетках (CD3, CD8, CD4, CD56, CD16), миелоидных предшественниках (CD117, CD34), Т-регуляторах (CD25, CD4), супрессорных клетках миелоидного происхождения (CD15, CD11b, CD14, HLA-DR, CD33). В каждой популяции оценивалась экспрессия CD279, CD152, CD223, TIM-3, CD273, CD274, CD275, CD80 (антитела Miltenyi Biotec, Германия).

Методом секвенирования по Сэнгеру у 33 пациентов исследовались гены SF3B1, DNMT3A, FLT3, SRSF2, TP53, у 23 пациентов – гены SF3B1, DNMT3A, RUNX1, ASXL1, TP53. Для анализа использовалась комплементарная ДНК, синтезированная после выделения тотальной РНК из клеточного материала пациента (TriZ-реагент, набор реактивов обратной транскрипции M-MuLV-RN, Biolabmix, Россия). Выполнялся капиллярный электрофорез очищенных продуктов сиквенс-реакции на приборе ABI PRISM 3500x1. Анализ последовательности ампликона производился с использованием базы NCBI.

2.3. Статистический анализ

Статистическая обработка результатов исследования выполнялась с использованием программ IBM SPSS Statistics 23, EZR version 1.54 [98], R 3.4.1, SAS 9.3 (SAS Institute, Inc.), Morpheus (<https://software.broadinstitute.org/morpheus>). Статистически значимое значение ошибки I рода считалось менее 0,05.

Периодом наблюдения при расчете общей выживаемости считалось время от момента постановки диагноза до смерти пациента или до даты последнего контакта. При анализе трансплантационной группы период наблюдения считался от момента выполнения алло-ТГСК.

Для анализа категориальных данных использовались критерий Хи-квадрат и точный тест Фишера. Анализ количественных данных производился методом ранговой корреляции Спирмена, предпочтение отдавалось зависимостям с абсолютным значением коэффициента корреляции 0,6 и более. При построении корреляционных матриц использовались иерархическая кластеризация и кластеризация по методу k-средних. Сравнение групп выполнялось с использованием непараметрических тестов Манна–Уитни и Краскела–Уоллиса с поправкой Бонферрони на множественные сравнения. Пороговые значения количественных переменных определялись с помощью ROC-анализа. Кривые общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования строились по методу Каплана–Мейера, для оценки различий кривых выживаемости использовался

логранговый критерий. Анализ конкурирующих рисков использовался при оценке кумулятивных частот прогрессирования и летальности, связанной с лечением. Оценка различий кумулятивных частот производилась с использованием теста Грея. Для многофакторного анализа общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования использовалась модель пропорциональных рисков Кокса, а кумулятивных частот прогрессирования и летальности, связанной с лечением, – модель Файна и Грея. Факт выполнения алло-ТГСК включался в многофакторный анализ как зависимая от времени переменная.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Клинические исходы и факторы прогноза у пациентов с миелодиспластическим синдромом в общей группе

В общей группе двухлетняя общая выживаемость пациентов равнялась 53% (95% ДИ: 43,2–61,9, медиана не достигнута, рисунок 3А). Двухлетняя выживаемость без прогрессирования пациентов равнялась 44,8% (95% ДИ: 35,3–53,8, медиана 18,9 месяца, рисунок 3Б). Двухлетняя кумулятивная частота прогрессирования равнялась 34,4% (95% ДИ: 25,8–43,1, рисунок 3В), двухлетняя частота летальности, связанной с лечением, равнялась 20,8% (95% ДИ: 13,8–28,8, рисунок 3Г).

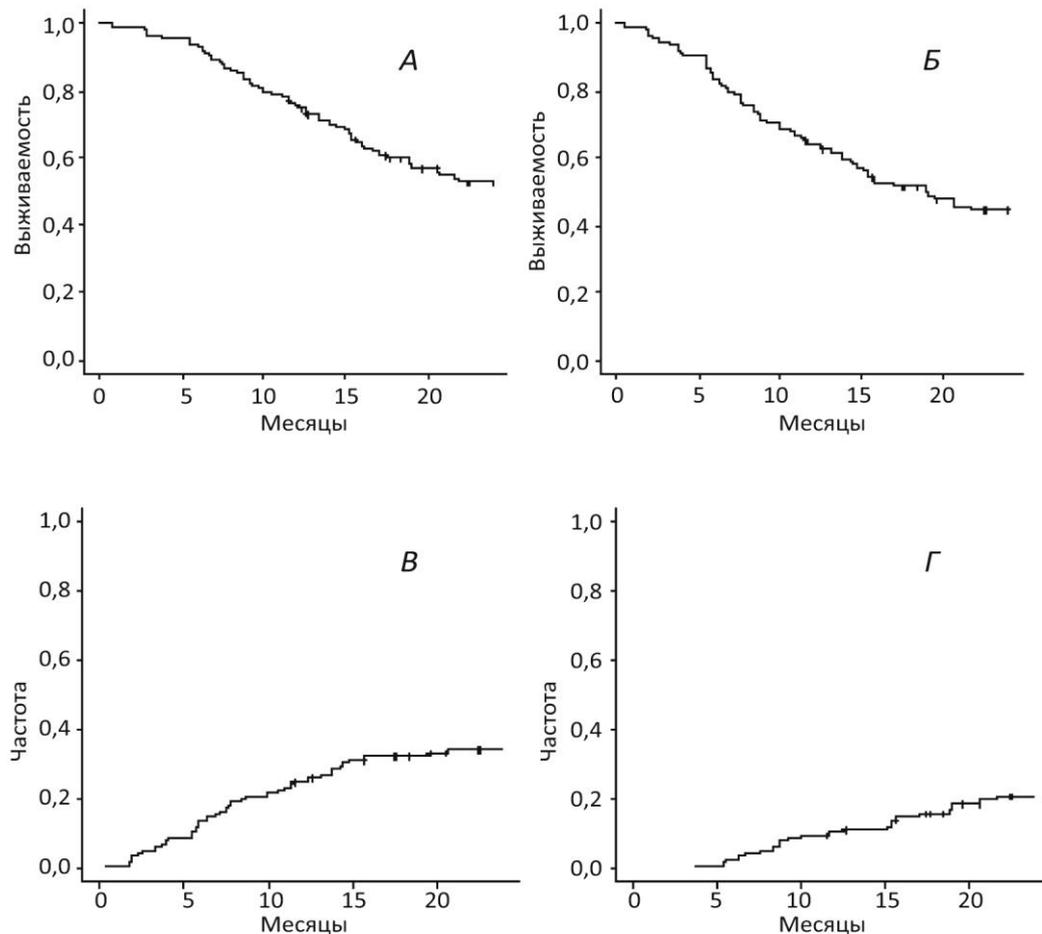


Рисунок 3 – Клинические исходы в общей группе пациентов с МДС:

А – двухлетняя общая выживаемость; Б – двухлетняя выживаемость без прогрессирования; В – двухлетняя частота прогрессирования; Г – двухлетняя частота летальности, связанной с лечением

Пациенты с максимальным уровнем ферритина сыворотки менее 556 мкг/л за период наблюдения имели значимо большую двухлетнюю общую выживаемость: 69,1% (n = 38, 95% ДИ: 51,1–81,6, медиана не достигнута) против 46,7% (n = 59, 95% ДИ: 33,1–59,1, медиана 21,7 месяца) у пациентов с уровнем ферритина выше 556 мкг/л (p = 0,01, рисунок 4А). Аналогичная ситуация наблюдалась относительно двухлетней выживаемости без прогрессирования: 62,9% (n = 28, 95% ДИ: 41,8–78,1, медиана не достигнута) для ферритина менее 386 мкг/л против 40,3% (n = 69, 95% ДИ: 28,4–51,9, медиана 15,7 месяца) у пациентов с уровнем ферритина выше 386 мкг/л (p = 0,02, рисунок 4Б). На частоту прогрессирования статистически значимого влияния уровня ферритина выявлено не было. Двухлетняя летальность, связанная с лечением, равнялась: 17,1% (n = 52, 95% ДИ: 8–29,1) для пациентов с уровнем ферритина менее 1024 мкг/л против 31,2% (n = 45, 95% ДИ: 18,4–44,9) для пациентов с уровнем ферритина более 1024 мкг/л (p = 0,04, рисунок 4В).

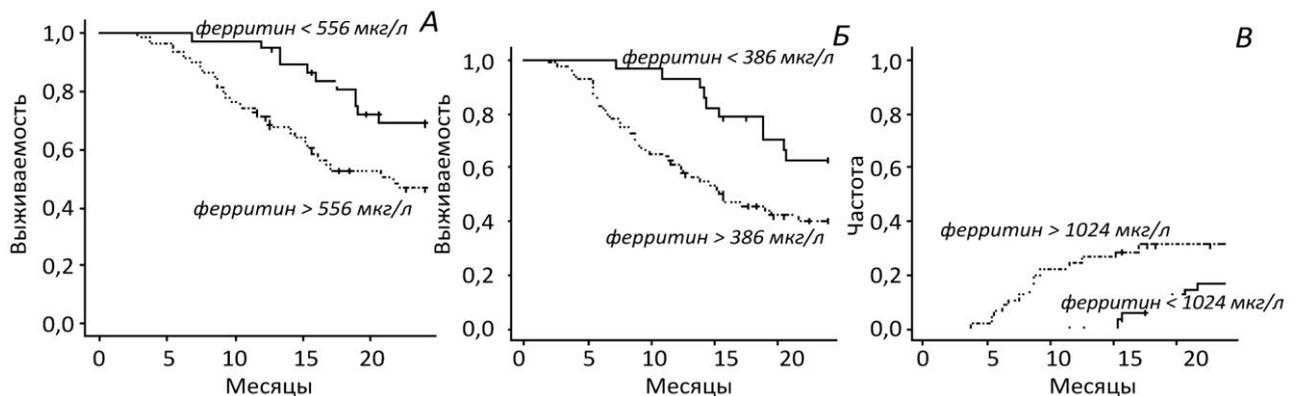


Рисунок 4 – Клинические исходы в общей группе пациентов с МДС

в зависимости от уровня ферритина:

А – двухлетняя общая выживаемость; Б – двухлетняя выживаемость без прогрессирования; В – двухлетняя частота летальности, связанной с лечением

Факт наличия фиброза стромы в костном мозге имел негативное влияние как на двухлетнюю общую выживаемость, так и на двухлетнюю выживаемость без прогрессирования: 67% (n = 59, 95% ДИ: 53,2–77,5, медиана не достигнута) и 56,4% (n = 59, 95% ДИ: 42,5–68,1, медиана не достигнута) против 18,4% (n = 34,

95% ДИ: 7,1–34, медиана 13,3 месяца, $p < 0,001$, рисунок 5А) и 16,8% ($n = 34$, 95% ДИ: 6,5–31,3, медиана 10,9 месяца, $p < 0,001$, рисунок 5Б), соответственно. На частоту прогрессирования статистически значимого влияния фиброза стромы костного мозга выявлено не было. Двухлетняя летальность, связанная с лечением, равнялась: 10,5% ($n = 59$, 95% ДИ: 4,3–20) для пациентов без фиброза стромы против 38,7% ($n = 34$, 95% ДИ: 22,5–54,5) для пациентов с фиброзом стромы ($p = 0,002$, рисунок 5В).

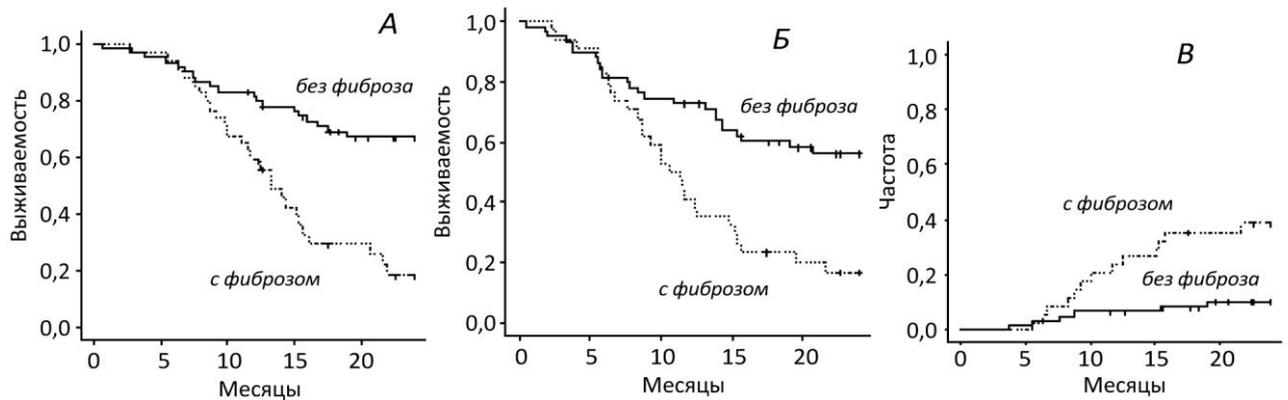


Рисунок 5 – Клинические исходы в общей группе пациентов с МДС

в зависимости от наличия фиброза стромы костного мозга:

А – двухлетняя общая выживаемость; Б – двухлетняя выживаемость без прогрессирования; В – двухлетняя частота летальности, связанной с лечением

МДС с фиброзом стромы чаще сопровождался развитием трансфузионной зависимости ($p = 0,01$, рисунок 6А). Наличие фиброза стромы и трансфузионной зависимости сопровождалось более высокими значениями медианы ферритина сыворотки: 660 мкг/л (12,1–7350) без фиброза, 1127 мкг/л (63–6253) с фиброзом, $p = 0,007$ (рисунок 6Б); 202 мкг/л (12,1–1302) без трансфузионной зависимости, 1127 мкг/л (12–7350) с трансфузионной зависимостью, $p < 0,001$ (рисунок 6В).

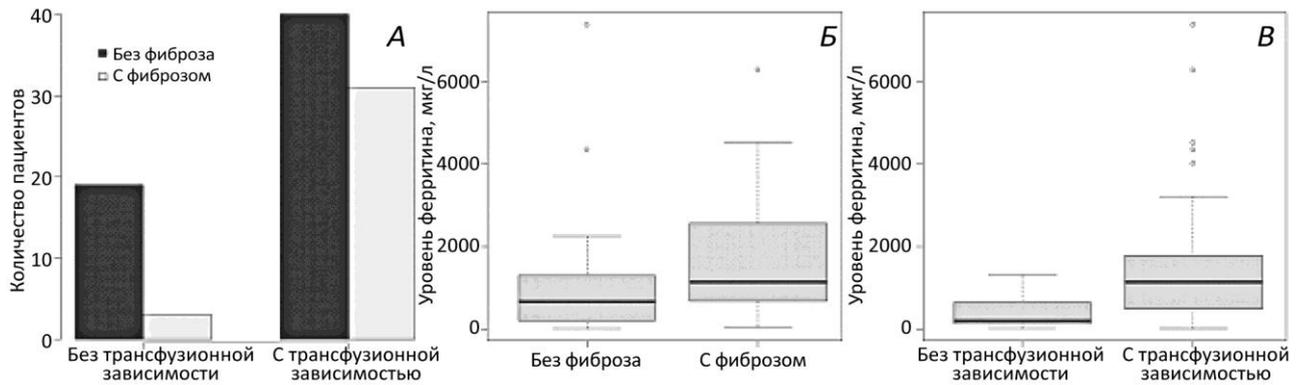


Рисунок 6 – Ассоциация фиброза стромы костного мозга с наличием трансфузионной зависимости и повышенным уровнем ферритина в общей группе пациентов с МДС:

А – ассоциация фиброза с трансфузионной зависимостью; Б – ассоциация фиброза с повышенным уровнем ферритина; В – ассоциация трансфузионной зависимости с повышенным уровнем ферритина

В многофакторном анализе значимое влияние на двухлетнюю общую выживаемость и двухлетнюю частоту прогрессирования имело количество баллов по IPSS-R (рисунок 7А, В). На двухлетнюю выживаемость без прогрессирования значимо влияли количество баллов по IPSS-R, возраст пациента на момент постановки диагноза и максимальный уровень ферритина за время наблюдения (рисунок 7Б). На двухлетнюю летальность, связанную с лечением, независимое прогностическое значение сохранили наличие фиброза стромы костного мозга и уровень ферритина (рисунок 7Г).

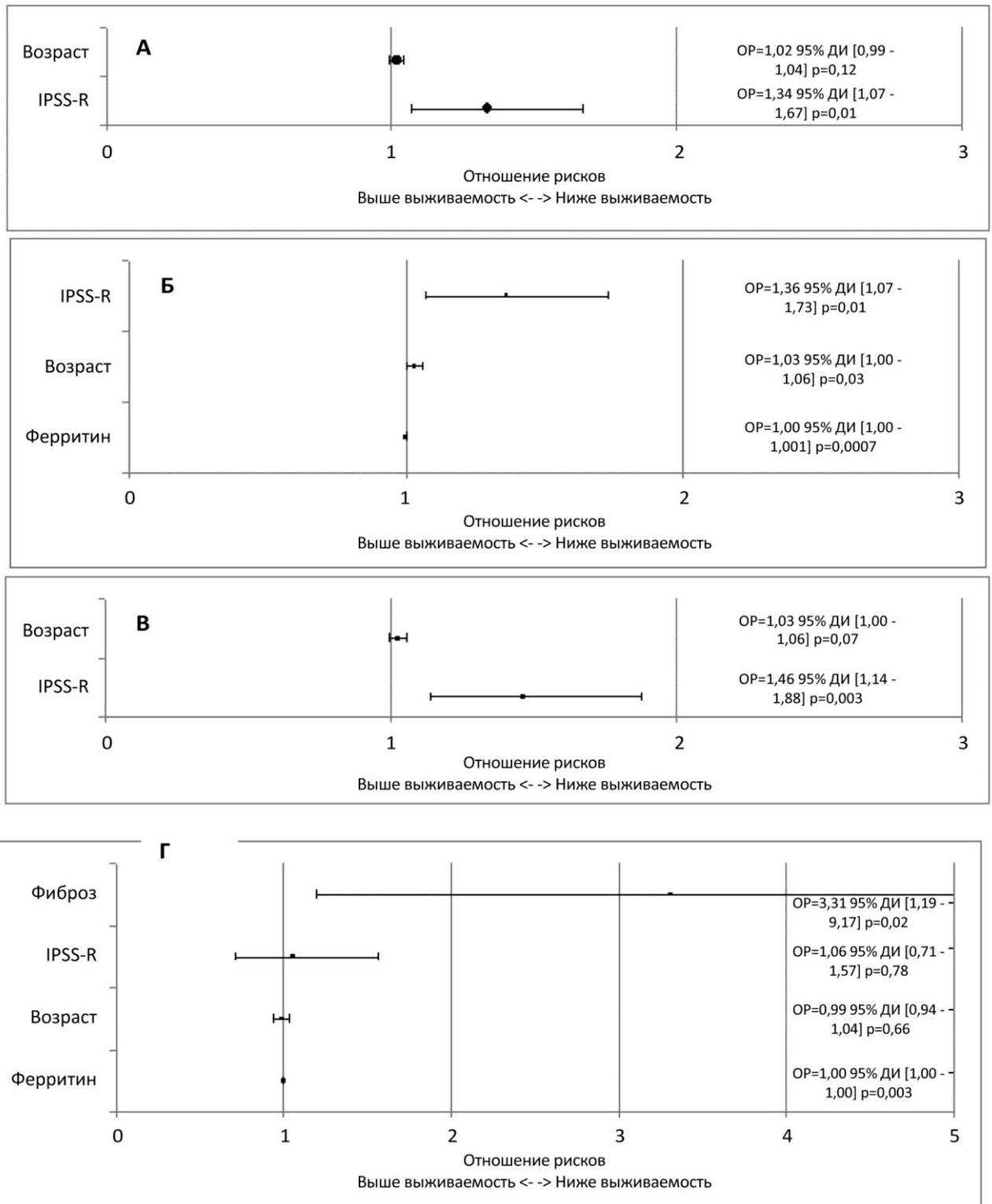


Рисунок 7 – Многофакторный анализ клинических исходов у пациентов с МДС в общей группе:

А – двухлетняя общая выживаемость; Б – двухлетняя выживаемость без прогрессирования; В – двухлетняя частота прогрессирования; Г – двухлетняя летальность, связанная с лечением. ОР – отношение рисков, ДИ – доверительный интервал

3.2. Факторы прогноза в группе консервативной терапии у пациентов с миелодиспластическим синдромом

В многофакторном анализе значимое влияние на однолетнюю общую выживаемость имели возраст пациента, количество баллов по IPSS-R, наличие фиброза стромы костного мозга (рисунок 8А). На однолетнюю выживаемость без прогрессирования значимо влияли количество баллов по IPSS-R, возраст пациента на момент постановки диагноза и максимальный уровень ферритина за время наблюдения (рисунок 8Б). Относительно однолетней частоты прогрессирования значимое влияние сохранило количество баллов по IPSS-R (рисунок 9А). На однолетнюю летальность, связанную с лечением, независимое прогностическое значение сохранил только уровень ферритина (рисунок 9Б).

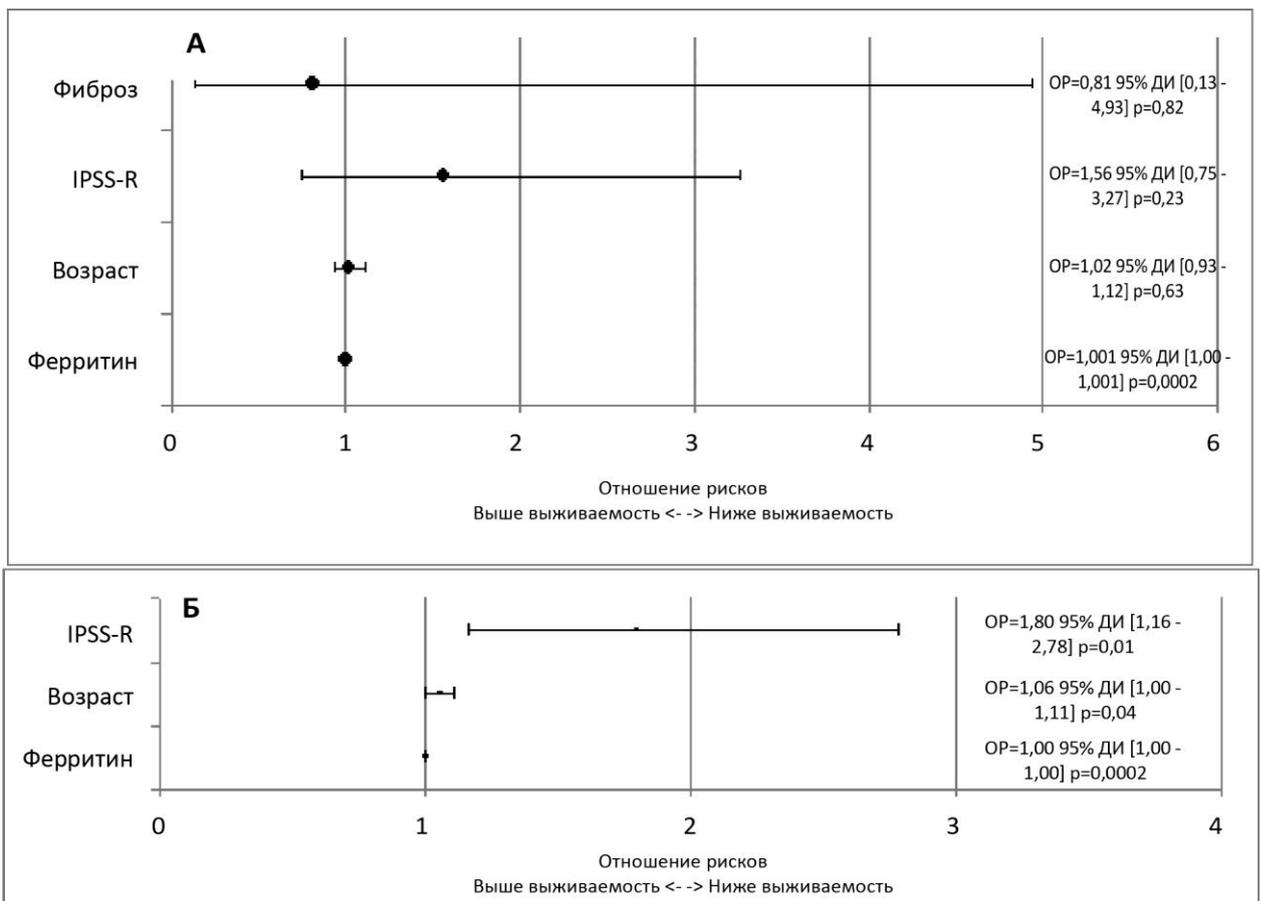


Рисунок 8 – Многофакторный анализ клинических исходов у пациентов с МДС в группе консервативной терапии:

А – однолетняя общая выживаемость; Б – однолетняя выживаемость без прогрессирования. ОР – отношение рисков, ДИ – доверительный интервал

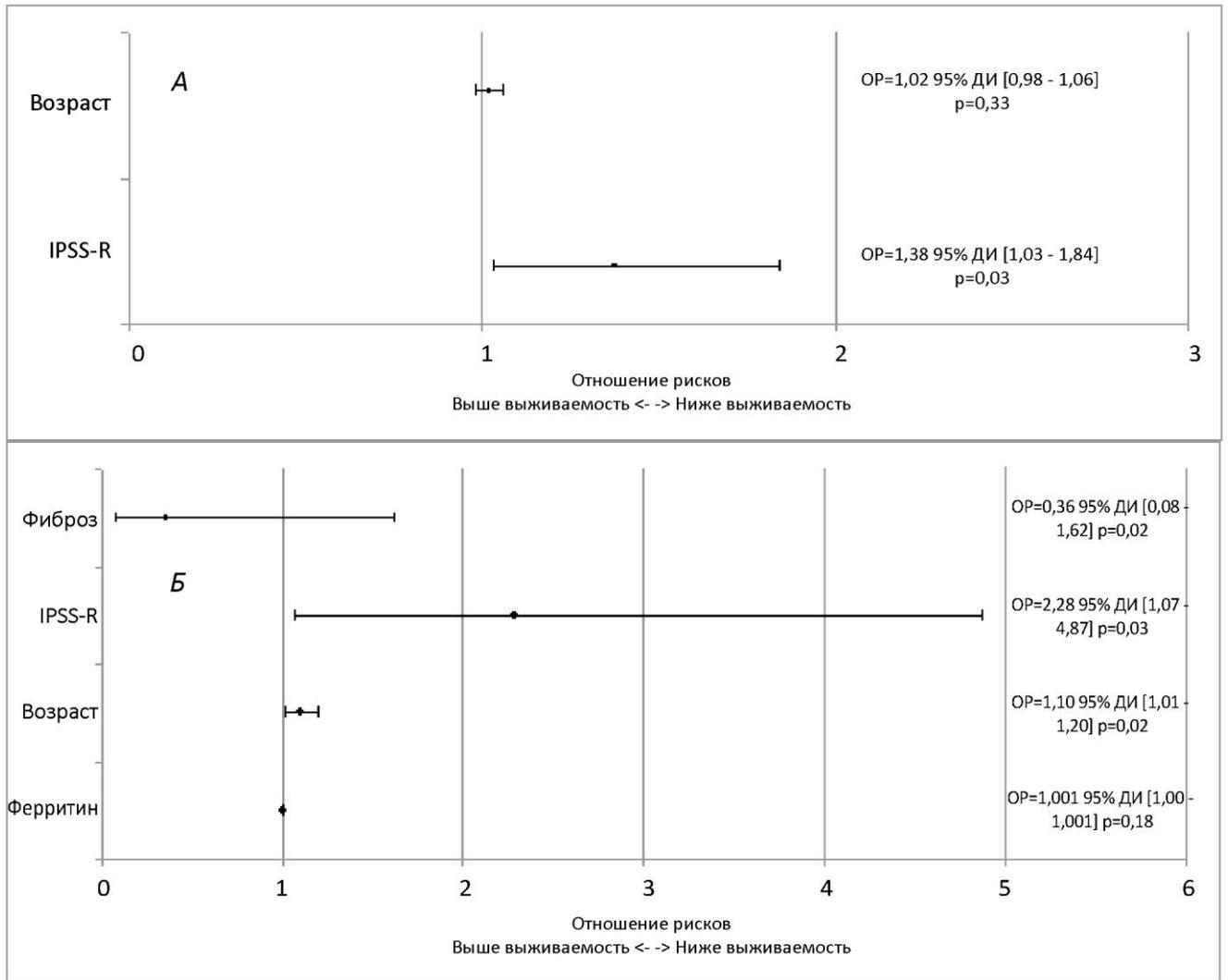


Рисунок 9. Многофакторный анализ клинических исходов у пациентов с МДС в группе консервативной терапии:

А – однолетняя частота прогрессирования; Б – однолетняя летальность, связанная с лечением. ОР – отношение рисков, ДИ – доверительный интервал

3.3. Клинические исходы и факторы прогноза у пациентов с миелодиспластическим синдромом в группе аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

Было проанализировано распределение пациентов по системам оценки IPSS, WPSS и IPSS-R, а также прогностическим индексам, разработанным Kroeger et al. и Armand et al. Приживление тромбоцитов и лейкоцитов зарегистрировано у 48 (81%) пациентов. Первичное неприживление трансплантата наблюдалось в 6 случаях (10%). Из них 4 пациента умерли (в одном случае из-за прогрессирования заболевания и три пациента умерли из-за инфекций). Среднее время приживления лейкоцитов составило 18 дней (диапазон 11–30), приживления нейтрофилов – 20 дней (диапазон 10–30), приживления тромбоцитов – 17 дней (диапазон 11–130). Из них только 15% пациентов перенесли тяжелую РТПХ 3–4-й степени. Частота хронической РТПХ составила 30%, в том числе в распространенной форме 28% (таблица 4).

Таблица 4 – Характеристика пациентов с МДС, которым выполнялась алло-ТГСК

Характеристика	Значение
Медиана возраста, годы (диапазон)	44 (18–67)
Медиана количества CD34+ клеток на кг массы тела пациента (диапазон)	$4,6 \times 10^6$ (1,4–16,4)
Пол, М/Ж	30/29
Тип донора	
Родственный	14 (24%)
Неродственный	43 (73%)
Гаплоидентичный	2 (3%)
Совместимость по HLA	
Полная (10/10)	48 (81%)
Одна несовместимость (9/10)	11 (19%)
Режим кондиционирования	
Со сниженной интенсивностью доз	44 (75%)
Миелоаблативный	15 (25%)

Продолжение таблицы 4

Характеристика	Значение
Профилактика РТПХ	
Циклоспорин А	10 (17%)
Такролимус	42 (71%)
Метотрексат	17 (29%)
Посттрансплантационный циклофосфамид	22 (37%)
Антитимоцитарный глобулин	33 (56%)
РТПХ	51%
Степень 0–2	35%
Степень 3–4	15%
Хроническая РТПХ	30%
Ограниченная	2%
Распространенная	28%
Неприживание	9 (15%)
Токсичность 3–4-й степени	
Печень	9 (15%)
Почки	2 (3%)
Мукозит	8 (15%)
Нейротоксичность	1 (2%)
Тромботическая микроангиопатия	3 (6%)
Геморрагический цистит	4 (7%)
Веноокклюзионная болезнь	3 (6%)
Сепсис	13 (24%)
Тяжелый сепсис	7 (13%)
Инвазивный микоз после алло-ТГСК	10 (18%)
Реактивация цитомегаловируса	25 (46%)

Кумулятивная частота рецидивов через 5 лет составила 37% (95% ДИ 25–57%). Кумулятивная частота летальности, связанной с лечением, через 1 год составила 25% (95% ДИ 16–40%). Основными причинами смерти были

прогрессирование или рецидив заболевания в 26%; РТПХ – 26%; инфекции – 37%; геморрагические события – 7%; острый инфаркт миокарда – в 4% случаев.

Пятилетняя общая, безрецидивная выживаемость и выживаемость без рецидива и РТПХ составили 34%, 33% и 29%, соответственно. При однофакторном анализе значимыми факторами улучшения общей выживаемости были РТПХ 1–2-й степени (62% против 18%, $p = 0,004$), количество донорских клеток CD34+ ($p = 0,006$) и отсутствие септических эпизодов до приживления трансплантата (44% против 17%, $p = 0,003$). Прогностические индексы IPSS, WPSS, IPSS-R и индексы PAM, EBMT, HCT-CI не имели прогностической значимости относительно общей выживаемости. Однако различие в общей выживаемости между группами риска DRI продемонстрировало статистическую значимость ($p = 0,049$). Только наличие острой РТПХ 1–2-й степени ($p = 0,013$), отсутствие септических эпизодов ($p = 0,006$) и DRI ($p = 0,037$) сохранили свою статистическую значимость в многофакторном анализе (рисунок 10).

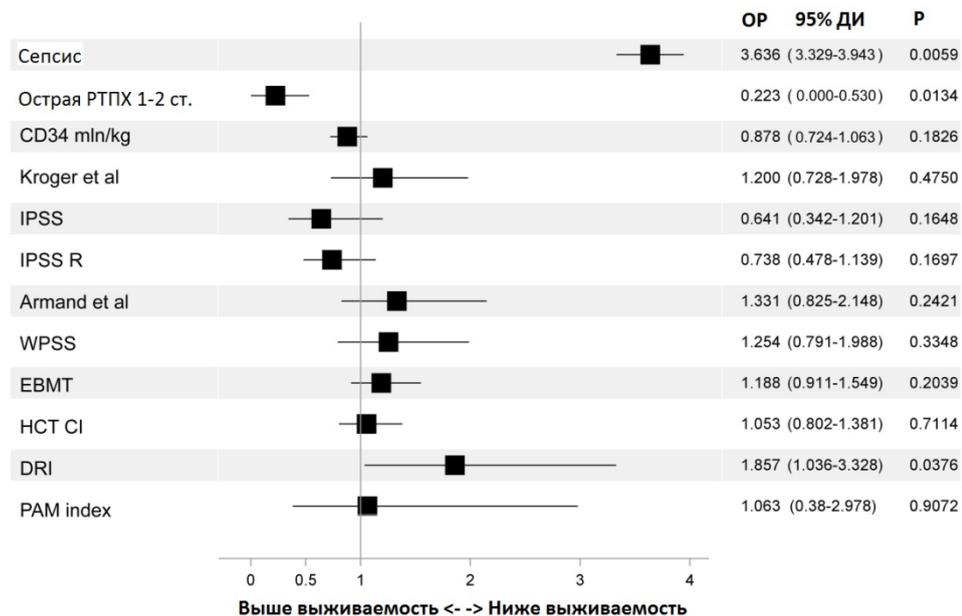


Рисунок 10 – Многофакторный анализ пятилетней общей выживаемости пациентов с МДС в группе алло-ТГСК.

ОР – отношение рисков, ДИ – доверительный интервал, РТПХ – реакция трансплантат-против-хозяина

3.4. Сравнение клинических исходов у пациентов с миелодиспластическим синдромом в группах консервативной терапии и аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

Пациенты, которым была выполнена алло-ТГСК, имели значимо большую двухлетнюю общую выживаемость по сравнению с теми, кому алло-ТГСК не выполнялась: 70,3% (n = 63, 95% ДИ: 57,1–80,2, медиана не достигнута) против 31,1% (n = 52, 95% ДИ: 18,4–44,6, медиана 14,1 месяца), $p < 0,001$ (рисунок 11А). Пациенты, которым была выполнена алло-ТГСК, имели значимо большую двухлетнюю выживаемость без прогрессирования по сравнению с теми, кому алло-ТГСК не выполнялась: 62,4% (n = 63, 95% ДИ: 48,9–73,2, медиана не достигнута) против 23,1% (n = 52, 95% ДИ: 12,4–35,9, медиана 11,1 месяца), $p < 0,001$ (рисунок 11Б). Пациенты, которым была выполнена алло-ТГСК, имели значимо меньшую двухлетнюю частоту прогрессирования по сравнению с теми, кому алло-ТГСК не выполнялась: 16% (n = 63, 95% ДИ: 8,2–26,1, медиана не достигнута) против 57% (n = 52, 95% ДИ: 42,1–69,4, медиана 15,7 месяца), $p < 0,001$ (рисунок 11В). При этом значимых различий в двухлетней летальности, связанной с лечением, обнаружено не было: 21,6% (n = 63, 95% ДИ: 12,3–32,7, медиана не достигнута) в группе алло-ТГСК против 19,9% (n = 52, 95% ДИ: 10,2–31,9, медиана не достигнута), $p = 0,99$ (рисунок 11Г).

В многофакторном анализе значимое влияние на двухлетнюю выживаемость без прогрессирования имели факт выполнения алло-ТГСК, количество баллов по IPSS-R и возраст пациента (рисунок 12).

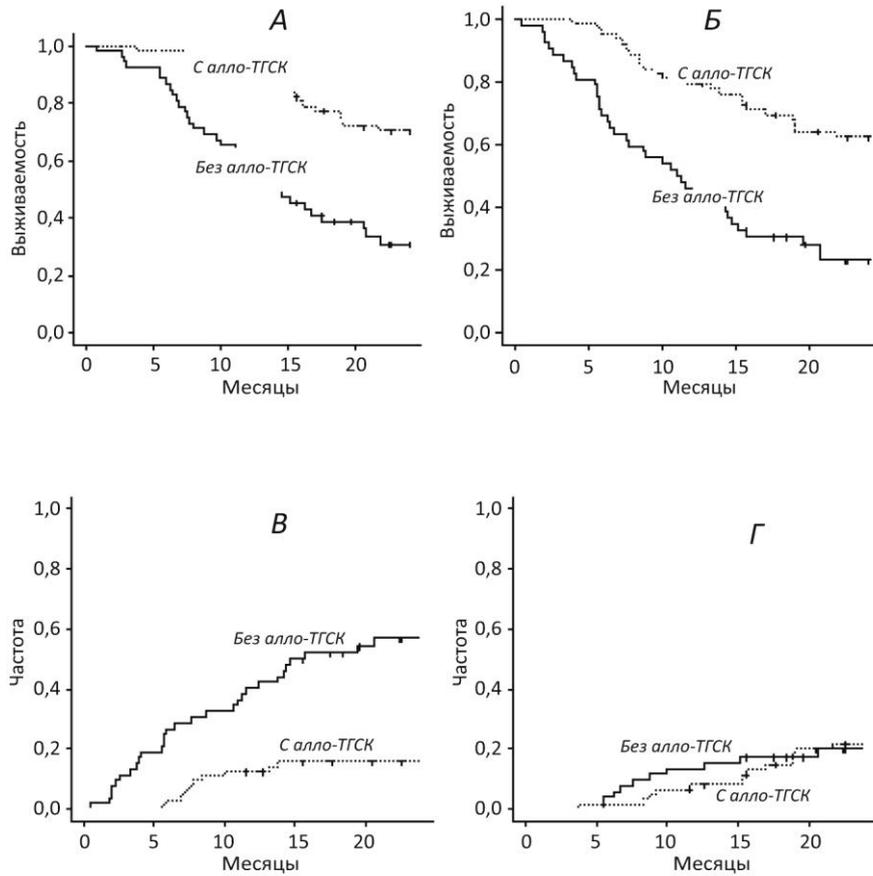


Рисунок 11 – Сравнение клинических исходов у пациентов с МДС в группах консервативной терапии и алло-ТГСК:

А – двухлетняя общая выживаемость; Б – двухлетняя выживаемость без прогрессирования; В – двухлетняя частота прогрессирования; Г – двухлетняя частота летальности, связанной с лечением

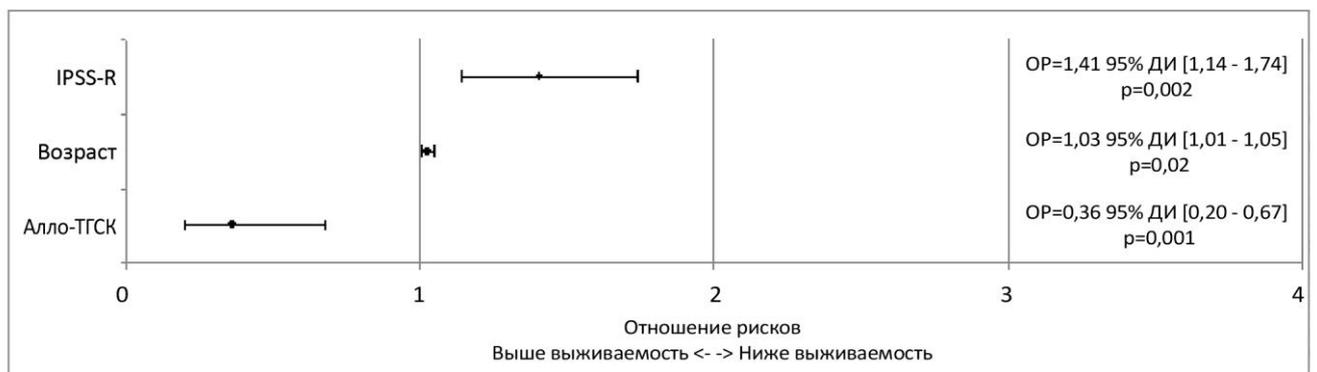


Рисунок 12 – Многофакторный анализ влияния алло-ТГСК на двухлетнюю выживаемость без прогрессирования у пациентов с МДС.

ОР – отношение рисков, ДИ – доверительный интервал

Для определения оптимального момента алло-ТГСК выполнялся ландмарк-анализ. При взятии точки ландмарка 180 дней в анализ были включены 108 пациентов общей группы. При этом пациенты, которым была выполнена алло-ТГСК в течение 180 дней с момента постановки диагноза, имели значимо большую двухлетнюю общую выживаемость по сравнению с теми, кому алло-ТГСК в этот период не была выполнена: 71,5% (n = 62, 95% ДИ: 58, –81,2, медиана не достигнута) против 35,1% (n = 46, 95% ДИ: 20,9–49,7, медиана 16,2 месяца), $p < 0,001$ (рисунок 13А). Пациенты, которым была выполнена алло-ТГСК в течение 180 дней с момента постановки диагноза, имели значимо большую двухлетнюю выживаемость без прогрессирования по сравнению с теми, кому алло-ТГСК в этот период не была выполнена: 63,4% (n = 62, 95% ДИ: 49,8–74,2, медиана не достигнута) против 26,2% (n = 46, 95% ДИ: 14,1–40, медиана 12,5 месяца), $p < 0,001$ (рисунок 13Б). Пациенты, которым была выполнена алло-ТГСК в течение 180 дней с момента постановки диагноза, имели значимо меньшую двухлетнюю частоту прогрессирования по сравнению с теми, кому алло-ТГСК в этот период не была выполнена: 16,3% (n = 62, 95% ДИ: 8,4–26,5, медиана не достигнута) против 55,7% (n = 46, 95% ДИ: 39,8–68,9, медиана 15,7 месяцев), $p < 0,001$ (рисунок 13В). При этом значимых различий в двухлетней летальности, связанной с лечением, обнаружено не было: 20,4% (n = 62, 95% ДИ: 11,2–31,4, медиана не достигнута) в группе алло-ТГСК против 18,1% (n = 46, 95% ДИ: 8,4–30,7, медиана не достигнута), $p = 0,93$ (рисунок 13Г).

При взятии точки ландмарка 180 дней в многофакторном анализе значимое влияние на двухлетнюю выживаемость без прогрессирования имели факт выполнения алло-ТГСК, количество баллов по IPSS-R и возраст пациента (рисунок 14).

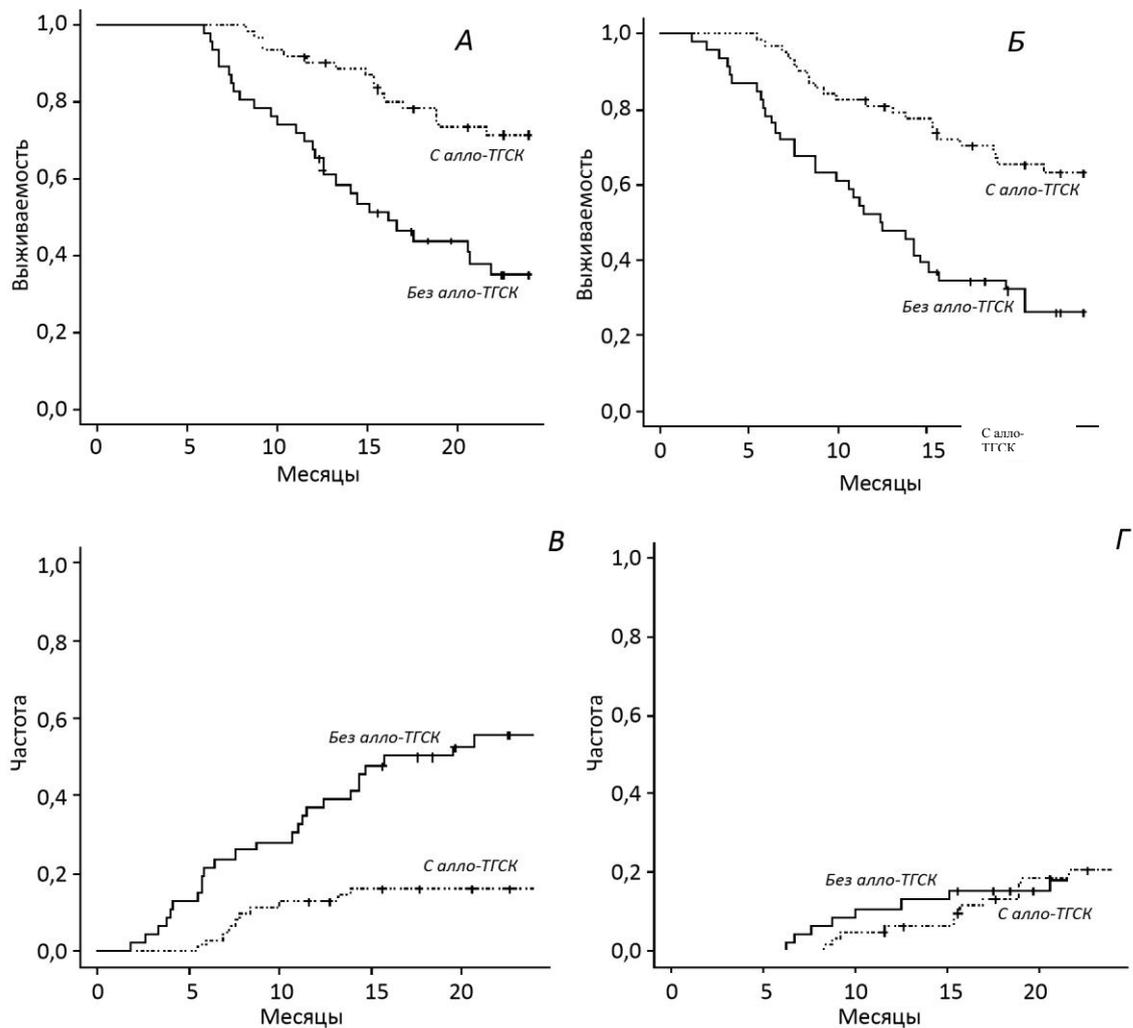


Рисунок 13 – Ландмарк-анализ клинических исходов у пациентов с МДС в группах консервативной терапии и алло-ТГСК. Точка ландмарка алло-ТГСК в течение 180 дней с момента постановки диагноза:

А – двухлетняя общая выживаемость; Б – двухлетняя выживаемость без прогрессирования; В – двухлетняя частота прогрессирования; Г – двухлетняя частота летальности, связанной с лечением

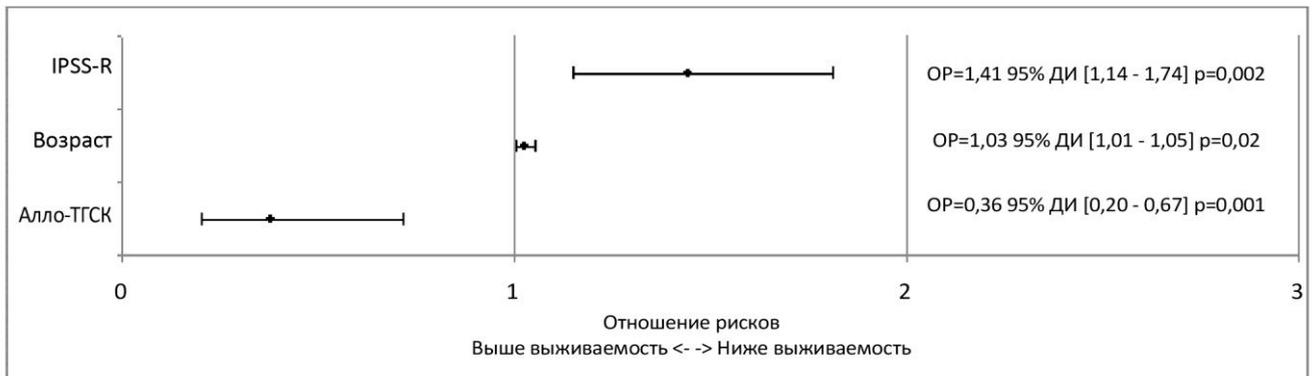


Рисунок 14 – Многофакторный анализ влияния алло-ТГСК на двухлетнюю выживаемость без прогрессирования у пациентов с МДС. Точка ландмарка алло-ТГСК в течение 180 дней с момента постановки диагноза.

ОР – отношение рисков, ДИ – доверительный интервал

При взятии точки ландмарка 365 дней в анализ были включены 86 пациентов общей группы. При этом пациенты, которым была выполнена алло-ТГСК в течение 365 дней с момента постановки диагноза, имели значимо большую двухлетнюю общую выживаемость по сравнению с теми, кому алло-ТГСК в этот период не была выполнена: 79,1% (n = 55, 95% ДИ: 65,5–87,9, медиана не достигнута) против 52,1% (n = 31, 95% ДИ: 31,7–69,1, медиана не достигнута), p = 0,009 (рисунок 15А). Пациенты, которым была выполнена алло-ТГСК в течение 365 дней с момента постановки диагноза, имели значимо большую двухлетнюю выживаемость без прогрессирования по сравнению с теми, кому алло-ТГСК в этот период не была выполнена: 70% (n = 55, 95% ДИ: 55,8–80,5, медиана не достигнута) против 38,8% (n = 31, 95% ДИ: 21,1–56,2, медиана 19,5 месяцев), p = 0,003 (рисунок 15Б). Пациенты, которым была выполнена алло-ТГСК в течение 365 дней с момента постановки диагноза, имели значимо меньшую двухлетнюю частоту прогрессирования по сравнению с теми, кому алло-ТГСК в этот период не была выполнена: 14,6% (n = 55, 95% ДИ: 6,8–25,2, медиана не достигнута) против 50,4% (n = 31, 95% ДИ: 31,2–66,8, медиана 20,7 месяца), p < 0,001 (рисунок 15В). При этом значимых различий в двухлетней летальности, связанной с лечением, обнаружено не было: 15,4% (n = 55, 95% ДИ:

7,2–26,4, медиана не достигнута) в группе алло-ТГСК против 10,8% ($n = 31$, 95% ДИ: 2,7–25,4, медиана не достигнута), $p = 0,62$ (рисунок 15Г).

При взятии точки ландмарка 365 дней в многофакторном анализе значимое влияние на двухлетнюю выживаемость без прогрессирования имели факт выполнения алло-ТГСК и количество баллов по IPSS-R (рисунок 16).

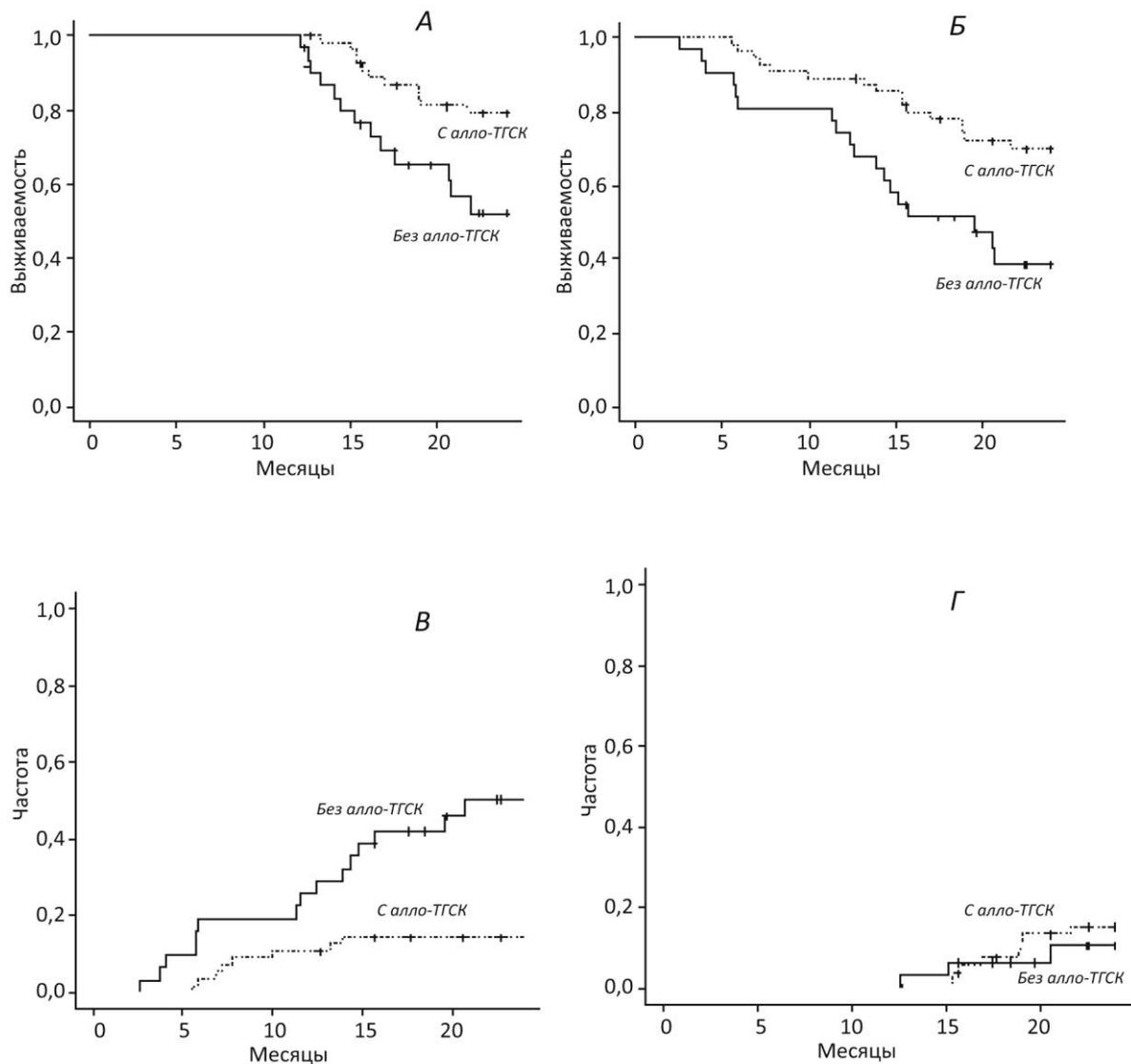


Рисунок 15 – Ландмарк-анализ клинических исходов у пациентов с МДС в группах консервативной терапии и алло-ТГСК. Точка ландмарка алло-ТГСК в течение 365 дней с момента постановки диагноза:

А – двухлетняя общая выживаемость; Б – двухлетняя выживаемость без прогрессирования; В – двухлетняя частота прогрессирования; Г – двухлетняя частота летальности, связанной с лечением

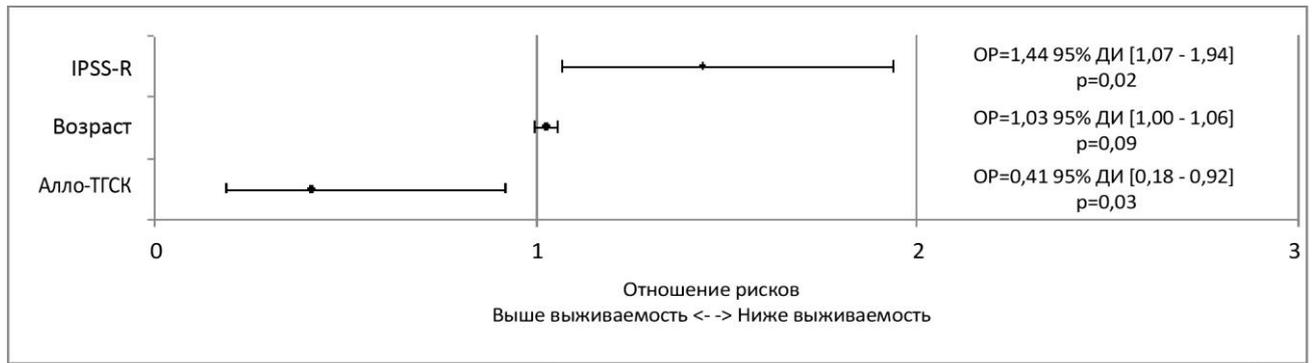


Рисунок 16 – Многофакторный анализ влияния алло-ТГСК на двухлетнюю выживаемость без прогрессирования у пациентов с МДС. Точка ландмарка алло-ТГСК в течение 365 дней с момента постановки диагноза.

ОР – отношение рисков, ДИ – доверительный интервал

При взятии точки ландмарка 545 дней статистически значимых различий в общей выживаемости, выживаемости без прогрессирования, частоте прогрессирования и летальности, связанной с лечением, между пациентами, которым была выполнена алло-ТГСК в течение 545 дней с момента постановки диагноза ($n = 45$), и теми, кому алло-ТГСК в этот период не была выполнена ($n = 17$), обнаружено не было.

3.5. Прогностическая значимость экспрессии молекул иммунных контрольных точек в трепанобиоптатах костного мозга пациентов с миелодиспластическим синдромом

Таблица 5 – Характеристика пациентов с МДС, у которых исследовалась экспрессия молекул иммунных контрольных точек в трепанобиоптатах костного мозга

Характеристика	Значение
Медиана возраста, годы (диапазон)	51 (18–75)
Пол, М/Ж	29/26
Количество трансплантированных пациентов	23 (41,8%)
Вторичный МДС	3 (5,5%)
Терапия	

Продолжение таблицы 5

Характеристика	Значение
Низкие дозы цитарабина	11 (20%)
Гипометилирующие агенты	25 (45,4%)
Леналидомид	1 (1,8%)
Циклоспорин А	7 (12,7%)
Деферазирокс	8 (14,5%)
Эритропоз-стимулирующие агенты	3 (5,5%)

В исследованных трепанобиоптатах костного мозга экспрессия PD-L1 и LAG-3 не наблюдалась ни в одном из случаев, тогда как в контрольных образцах на части клеток было получено мембранное окрашивание. В ряде наблюдений в костном мозге определяли скопление CD3+PD-1+ клеток, в отдельных образцах определяли небольшое количество разбросанных PD-1+ клеток. Не наблюдалось корреляции между количеством PD-1+ и CD34+ клеток.

Во всех случаях наблюдалась интенсивная экспрессия TIM-3, как правило, на клетках миелоидного и эритроидного ряда (рисунок 17А, Б). Кроме того, во многих случаях умеренная экспрессия Gal-9 наблюдалась на отдельных клетках (рисунок 17В, Г). При сравнении параллельных срезов с окрашиванием TIM-3 и Gal-9 нельзя исключить коэкспрессию этих маркеров на гемопоэтических клетках. В кластерах CD3+PD-1+ клеток только отдельные клетки были окрашены антителами к TIM-3.

В общей популяции 75% пациентов имели коэкспрессию PD-L2, TIM-3 и CD80, а 25% пациентов дополнительно коэкспрессировали либо PD-1, либо Gal-9, либо обе этих молекулы.

Трехлетняя общая выживаемость и выживаемость без прогрессирования во всей группе составила 53,4 и 19,7%, соответственно. В однофакторном анализе мы наблюдали значительную связь между уровнями экспрессии CD80, PD-L2, PD-L1, Gal-9 и трехлетним временем до прогрессирования. При трехлетнем наблюдении частота прогрессирования заболевания у пациентов с высоким (более 1 балла) уровнем CD80 составила 72,9%, тогда как у пациентов с низким (менее

1 балла) уровнем CD80 частота прогрессирования заболевания составила 52,1% ($p = 0,04$, рисунок 18А). Аналогичное наблюдение было сделано с общим уровнем экспрессии лигандов иммунных контрольных точек (CD80, PD-L2, PD-L1, Gal-9) – через 3 года наблюдения пациенты с высоким (более 1,5 баллов) уровнем экспрессии лигандов имели частоту прогрессирования заболевания 67,2%, в то время как пациенты с низким (менее 1,5 баллов) уровнем экспрессии лигандов имели частоту прогрессирования заболевания 33,3% ($p = 0,059$, рисунок 18Б).

В многофакторном анализе было продемонстрировано отрицательное влияние как уровня экспрессии CD80 (ОР 3,35, 95% ДИ 1,17–9,75, $p = 0,008$), так и общей экспрессии лигандов контрольных точек (ОР 1,35, 95% ДИ 0,93–1,90, $p = 0,02$) на время до прогрессирования в течение трехлетнего периода. Это негативное влияние не зависело от группы риска по шкале IPSS-R (таблица 6). При кластерном анализе наблюдалась связь между экспрессией молекул контрольных точек CD80, PD-L2, TIM-3, количеством бластов костного мозга и группой риска по шкалам IPSS и IPSS-R.

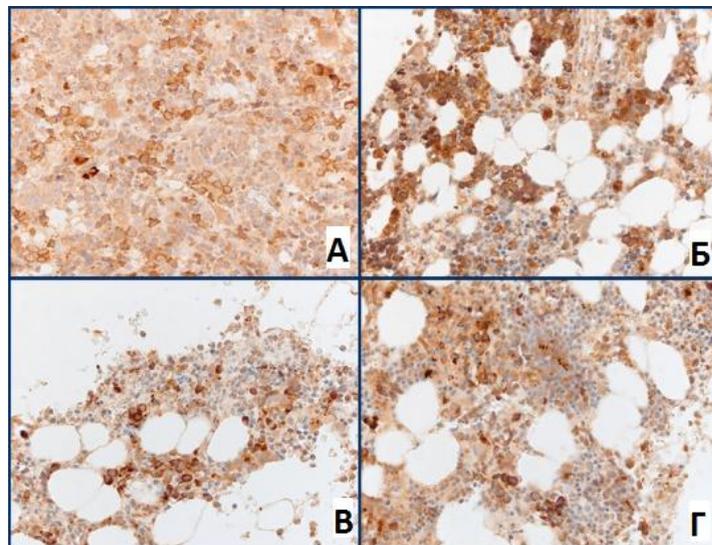


Рисунок 17 – Иммуногистохимическое исследование экспрессии молекул иммунных контрольных точек в трепанобиоптатах костного мозга пациентов с МДС:

А, Б – мембранная экспрессия TIM-3 на клетках миелоидного и эритроидного ряда в костном мозге. Иммуногистохимическая реакция, х400; В, Г – мембранная экспрессия Gal-9 на клетках костного мозга. Иммуногистохимическая реакция, х400

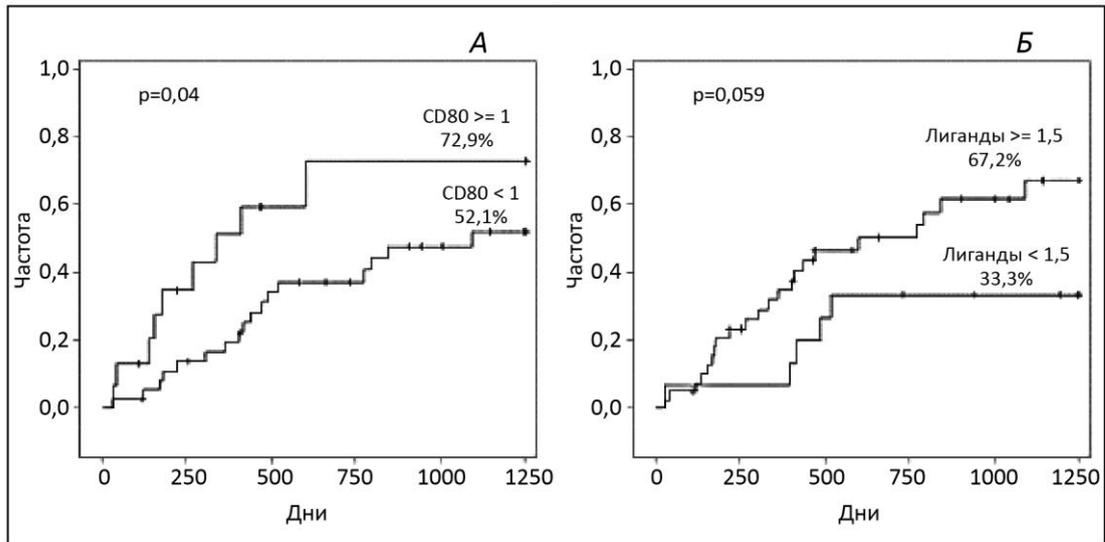


Рисунок 18 – Влияние экспрессии молекул иммунных контрольных точек в трепанобиоптатах костного мозга на клинические исходы пациентов с МДС: А – трехлетняя частота прогрессирования в соответствии с уровнем экспрессии CD80; Б – трехлетняя частота прогрессирования в соответствии с уровнем экспрессии лигандов иммунных контрольных точек

Таблица 6 – Многофакторный анализ влияния экспрессии молекул иммунных контрольных точек в трепанобиоптатах костного мозга пациентов с МДС с коррекцией по IPSS-R в отношении трехлетней частоты прогрессирования

Фактор	ОР	95% ДИ	P
IPSS-R	1,38	1,10–1,70	0,006
PD-L2	1,28	0,76–1,95	0,18
PD-L1	3,12	0,08–37,07	0,45
TIM-3	1,17	0,87–1,54	0,24
GAL-9	0,29	0,04–1,52	0,17
Лиганды	1,35	0,93–1,90	0,02
Рецепторы	1,12	0,84–1,48	0,38
CD80	3,35	1,17–9,75	0,008

ОР – отношение рисков, ДИ – доверительный интервал.

3.6. Прогностическая значимость определения мутационного статуса пациентов с миелодиспластическим синдромом методом секвенирования нового поколения

Таблица 7 – Характеристика пациентов с МДС, у которых исследовался мутационный статус методом секвенирования нового поколения

Параметр	Значение
Медиана возраста, годы (диапазон)	49 (18–80)
Пол, М/Ж	21 (60%) 14 (40%)
Бласты костного мозга	
0–4,9%	8 (23%)
5–10%	16 (46%)
10,1–20%	11 (31%)
Кариотип	
Нормальный	11 (31%)
Моносомный	6 (17%)
Комплексный	5 (14%)
Другое	13 (38%)
Нейтрофилы, медиана (диапазон), 10^9 /л	1,0 (0–9,0)
Тромбоциты, медиана (диапазон), 10^9 /л	90 (10–518)
Зависимость от трансфузий	9 (26%)
Количество трансплантированных пациентов	19 (54%)

В 44% случаев были обнаружены мутации в гене ASXL1, 25% в TET2, 11% в DNMT3A, 6% в IDH1, 19% в RUNX1, 15% в SF3B1, ни одной мутации не было обнаружено в генах IDH2 и SRSF2. Поскольку нет данных о патогенном влиянии мутаций в генах процессинга микро-РНК и генах иммунных контрольных точек, в анализ были включены все мутации, которые имели влияние либо на последовательность белка, либо на экспрессию соответствующего гена. В исследованном наборе генов выявлено 82 типа мутаций, соответствующих критериям отбора. Значительное количество мутаций наблюдалось в генах

иммунных контрольных точек: 86% имели мутации в PD-L1, 80% в B7-H3, 14% в PD-1, 11% в CTLA4 и 11% в LAG-3. Кроме того, распространенность мутаций в генах процессинга микро-РНК также была относительно высокой: 67% в DROSHA и 71% в DICER1. Кумулятивная встречаемость однонуклеотидных полиморфизмов в исследуемом наборе генов независимо от их патогенного значения была самой высокой в ASXL1, TET2, DICER1 и RUNX1.

Кластерный анализ разделил пациентов на две группы. В кластере 1 была более высокая распространенность SF3B1, меньше мутаций DICER1 и меньше мутаций B7-H3 (CD276). Кластер 2 содержал больше мутаций ASXL1, мутаций RUNX1, больше мутаций PD-L1 (CD274). Анализ ассоциаций мутаций показал равномерное возникновение мутаций в известных генах, ассоциированных с МДС, а также в генах DICER1, DROSHA и иммунных контрольных точек. Равномерное распределение указывает на то, что между этими мутациями нет патогенной связи, и они спорадически накапливаются. Не наблюдалось различий между идентифицированными кластерами в частоте выполнения алло-ТГСК (50% против 56%, $p = 0,75$). Не было выявлено связи между выявленными кластерами и количеством баллов по IPSS-R ($p = 0,58$), WPSS ($p = 0,34$), Armand et al. ($p = 0,21$), возрастом пациентов ($p = 0,43$), процентом бластов в костном мозге при постановке диагноза ($p = 0,2$), уровнем гемоглобина при постановке диагноза ($p = 0,84$) и уровнем тромбоцитов при постановке диагноза ($p = 0,085$). Уровень пятилетней общей выживаемости был выше у пациентов кластера 1: 72% (95% ДИ 42–89%) против 27% (95% ДИ 8–51%) в кластере 2 (рисунок 19А). В многофакторном анализе с поправкой на количество баллов IPSS-R выявленная кластеризация оставалась значимым предиктором смертности от всех причин (ОР 4,2, 95% ДИ 1,3–13,6, $p = 0,016$). Наличие мутаций в гене TP53 или ≥ 2 мутаций в генах метилирования (TET2, IDH1,2, ASXL1, DNMT3A) имело неблагоприятное значение в отношении пятилетнего времени до прогрессирования вне зависимости от проведенного консервативного лечения или алло-ТГСК (ОР 7,1; 95% ДИ 2,6–19,6; $p = 0,0001$, рисунок 19Б).

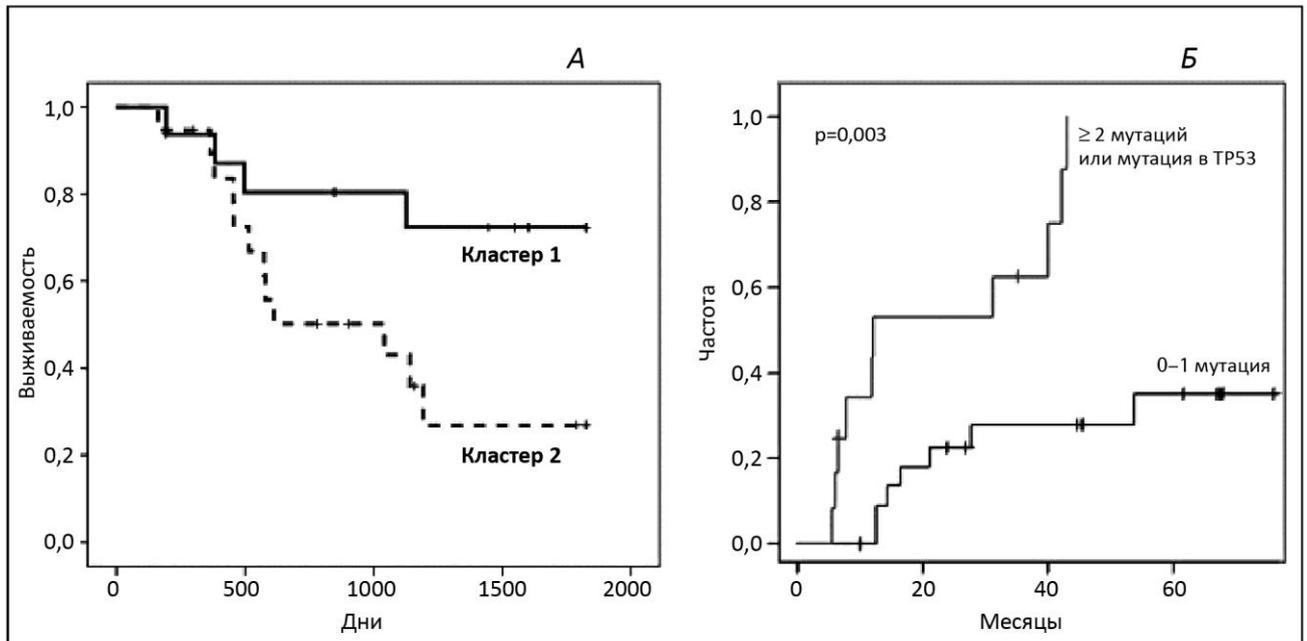


Рисунок 19 – Влияние мутационного статуса по результатам секвенирования нового поколения на клинические исходы пациентов с МДС:

А – пятилетняя общая выживаемость пациентов с МДС с учетом кластерного анализа; Б – пятилетняя частота прогрессирования пациентов с МДС в зависимости от мутационного статуса

3.7. Прогностическая значимость определения экспрессии молекул иммунных контрольных точек на субпопуляциях клеток костного мозга у пациентов с миелодиспластическим синдромом методом проточной цитометрии

Общий вид выявленных зависимостей среди измеренных параметров проиллюстрирован на корреляционной матрице (рисунок 20). Общим наблюдением является обратная взаимосвязь между уровнем популяций иммунокомпетентных клеток и гемопоэтических предшественников. После выполнения кластерного анализа выделенные кластеры соответствовали вышеупомянутым субпопуляциям клеток.

При детальном рассмотрении была выявлена положительная корреляция уровня бластов костного мозга и экспрессии молекулы CD273 (PD-L2)

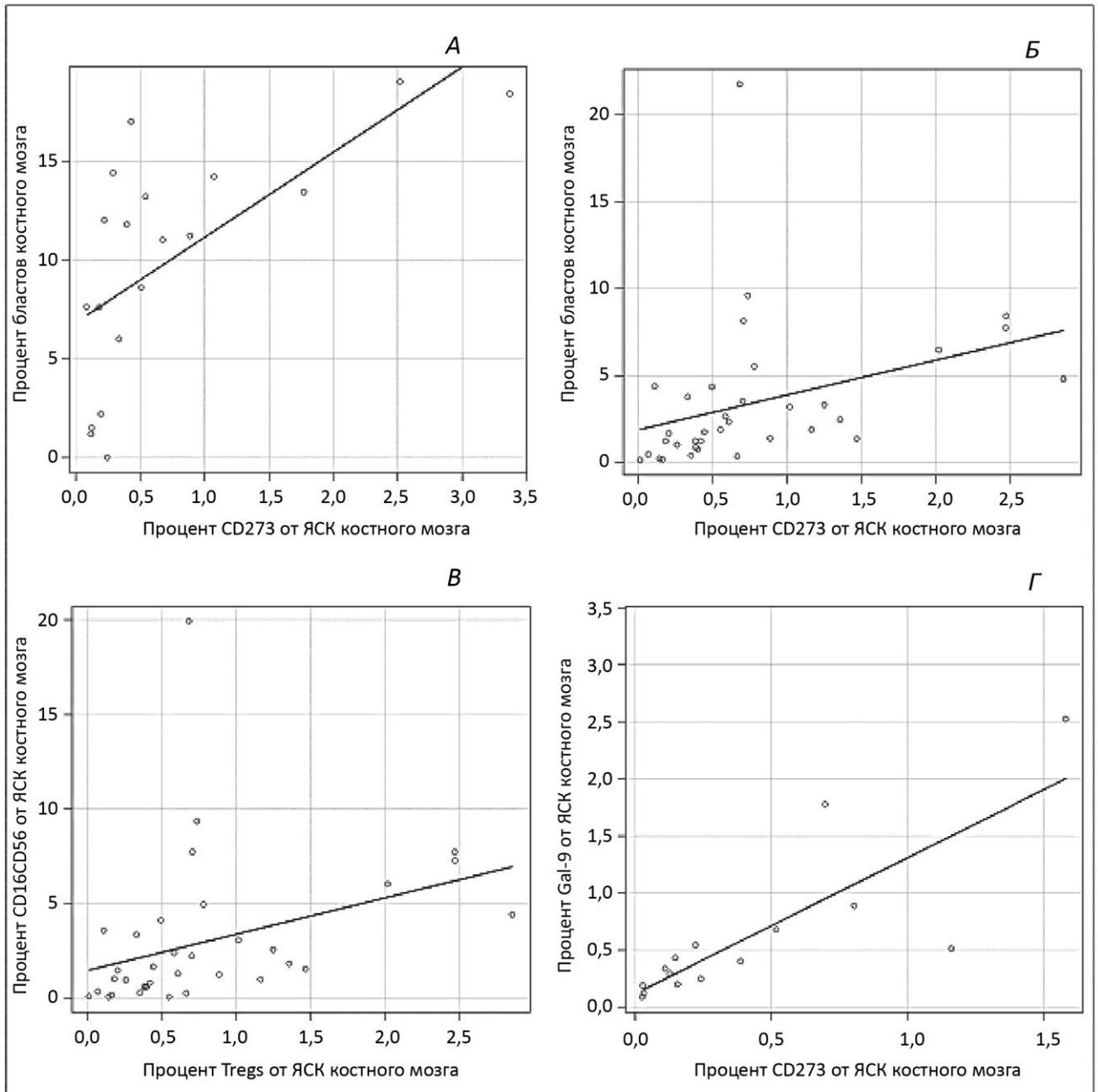


Рисунок 21 – Выявленные корреляции субпопуляций клеток костного мозга у пациентов с МДС по результатам определения экспрессии молекул иммунных контрольных точек методом проточной цитометрии:

А – зависимость уровня бластов костного мозга от экспрессии PD-L2; Б – зависимость уровня CD3-CD56+ клеток от уровня Т-регуляторных клеток; В – зависимость уровня CD16+CD56+ клеток от уровня Т-регуляторных клеток; Г – зависимость уровня Gal-9 от уровня CD273.

ЯСК – ядросодержащие клетки, Tregs – Т-регуляторные клетки

При анализе клинических исходов пациенты с уровнем PD-L1+ Т-регуляторных клеток более 0,003% от всех ядродержащих клеток костного мозга имели значимо меньшую двухлетнюю выживаемость без прогрессирования: 38,8% (n = 26, 95% ДИ 18,8–58,5, медиана не достигнута) против 77,1% (n = 10, 95% ДИ 34,5–93,9, медиана 14,3 месяца, p = 0,04, рисунок 22А), и значимо более высокую двухлетнюю частоту прогрессирования: 42,8% (n = 26, 95% ДИ 22,4–61,8, медиана не достигнута) против 0% (n = 10, медиана не достигнута, p = 0,02, рисунок 2).

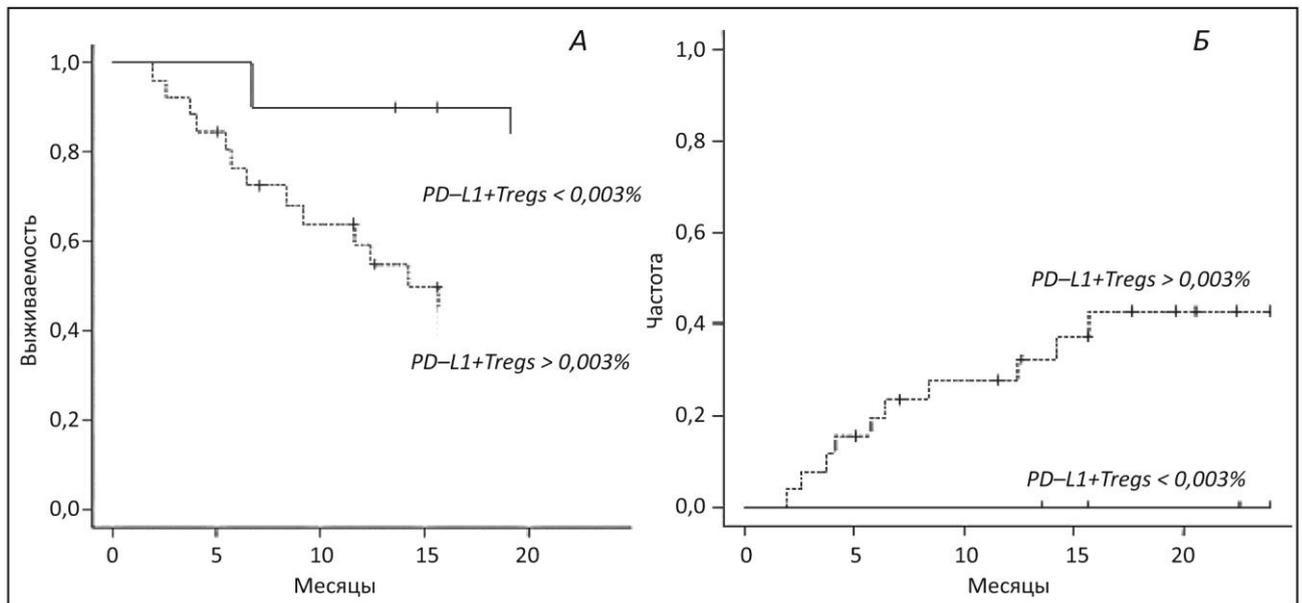


Рисунок 22 – Влияние уровня PD-L1+ Т-регуляторных клеток костного мозга на клинические исходы пациентов с МДС:

А – двухлетняя выживаемость без прогрессирования в зависимости от уровня PD-L1+ Т-регуляторных клеток костного мозга у пациентов с МДС по результатам проточной цитометрии; Б – двухлетняя частота прогрессирования в зависимости от уровня PD-L1+ Т-регуляторных клеток костного мозга у пациентов с МДС по результатам проточной цитометрии

При объединении данных иммуногистохимического исследования и проточной цитометрии был составлен профиль экспрессии молекул иммунных контрольных точек в костном мозге пациентов с МДС (n = 70, рисунок 23).

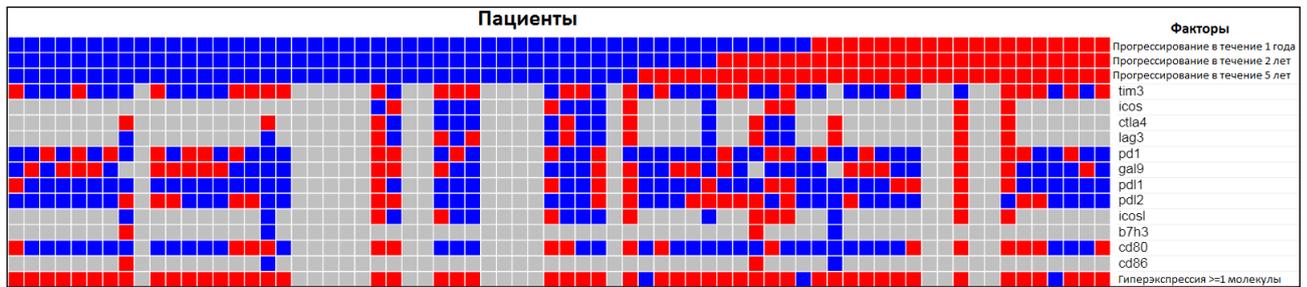


Рисунок 23 – Профиль экспрессии молекул иммунных контрольных точек в костном мозге у пациентов с МДС по результатам иммуногистохимии и проточной цитометрии

3.8. Прогностическая значимость определения мутационного статуса пациентов с миелодиспластическим синдромом методом прямого секвенирования по Сэнгеру

Точечные мутации в генах SF3B1, DNMT3A, FLT3, GATA2, SRSF2, TP53 ($n = 33$) чаще встречались у пациентов старшей возрастной группы: медиана возраста 43 года (21–59) у пациентов без мутаций против 53 года (36–60) у пациентов с мутациями ($p = 0,02$, рисунок 24А). Аналогичная картина наблюдалась для мутаций генов TP53 и SF3B1 в отдельности: медиана возраста 46 лет (21–59) у пациентов без мутаций TP53 против 57 лет (51–60) у пациентов с мутациями TP53 ($p = 0,02$, рисунок 24Б); медиана возраста 45 лет (21–60) у пациентов без мутаций SF3B1 против 55,5 лет (47–58) у пациентов с мутациями SF3B1 ($p = 0,04$, рисунок 24В).

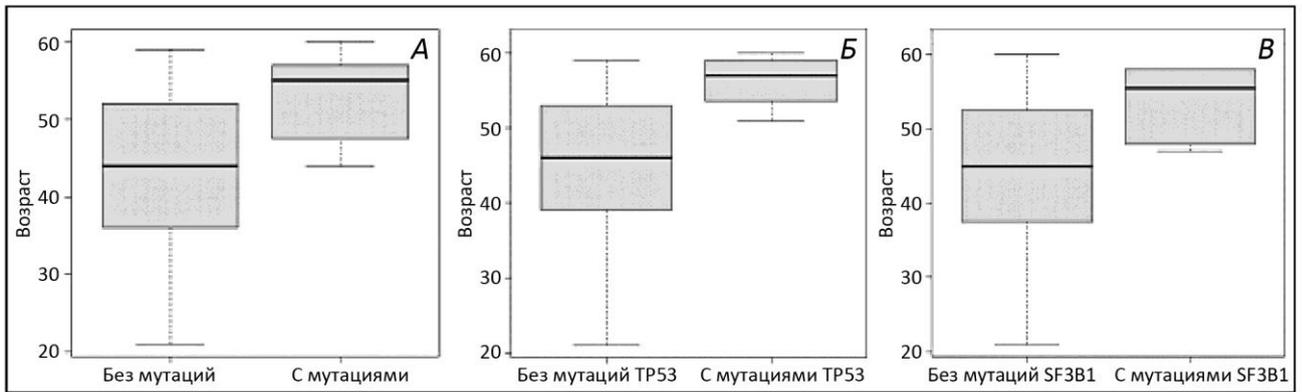


Рисунок 24 – Ассоциация мутационного статуса по результатам прямого секвенирования по Сэнгеру с возрастом у пациентов с МДС:

А – зависимость возраста пациентов с МДС от мутационного статуса генов SF3B1, DNMT3A, FLT3, GATA2, SRSF2, TP53; Б – зависимость возраста пациентов с МДС от мутационного статуса гена TP53; В – зависимость возраста пациентов с МДС от мутационного статуса гена SF3B1

Наличие мутаций в гене RUNX1 значительно влияло на двухлетнюю общую выживаемость и выживаемость без прогрессирования: 72,2% ($n = 16$, 95% ДИ: 40,8–88,9, медиана не достигнута) и 65,6% ($n = 16$, 95% ДИ: 34,9–84,5, медиана не достигнута) для пациентов без мутаций гена RUNX1, 0% ($n = 3$, медиана 14,4 месяца) и 0% ($n = 3$, медиана 12,4 месяца) для пациентов с мутацией гена RUNX1 ($p = 0,004$, рисунок 25А и $p = 0,009$, рисунок 25Б), соответственно. Двухлетняя частота прогрессирования у пациентов с мутациями гена TP53 была значительно выше: 75% ($n = 4$, 95% ДИ: 12,8–96,1) против 17,4% ($n = 29$, 95% ДИ: 5–36,2) у пациентов без мутаций гена TP53, $p = 0,009$ (рисунок 25В).

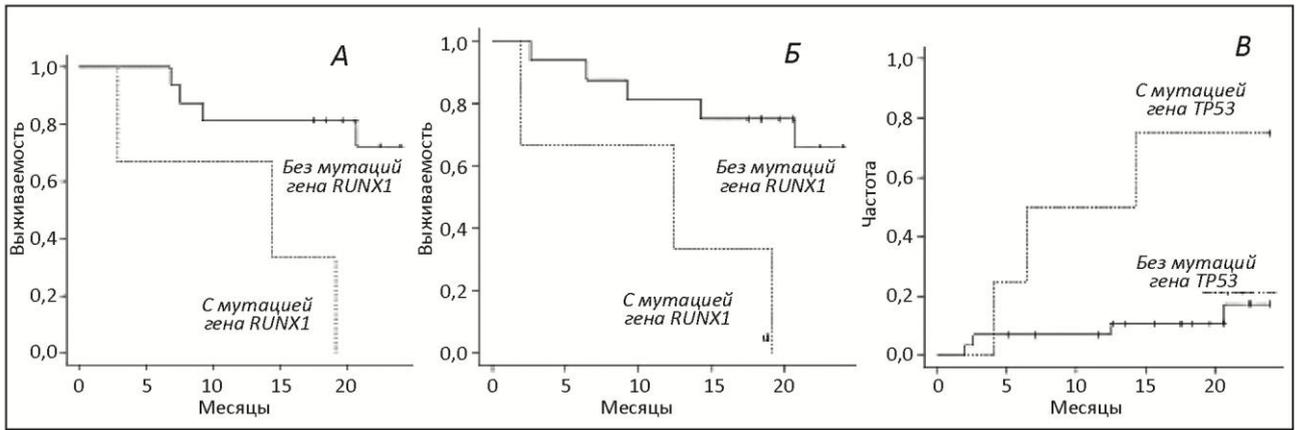


Рисунок 25 – Влияние мутационного статуса по результатам прямого секвенирования по Сэнгеру на клинические исходы пациентов с МДС: А – двухлетняя общая выживаемость пациентов с МДС в зависимости от мутационного статуса гена RUNX1; Б – двухлетняя выживаемость без прогрессирования пациентов с МДС в зависимости от мутационного статуса гена RUNX1; В – двухлетняя частота прогрессирования пациентов с МДС в зависимости от наличия мутаций в гене TP53

В подгруппе пациентов, у которых исследовался мутационный статус генов SF3B1, DNMT3A, FLT3, GATA2, SRSF2, RUNX1, ASXL1, TP53 ($n = 19$) количество мутированных генов значимо влияло на двухлетнюю общую выживаемость и выживаемость без прогрессирования: 75,8% ($n = 11$, 95% ДИ: 50,8–98,7, медиана не достигнута) и 65,5% ($n = 11$, 95% ДИ: 23,6–88,3, медиана не достигнута) для пациентов без мутаций, 60% ($n = 5$, 95% ДИ: 12,6–88,2, медиана не достигнута) и 60% ($n = 5$, 95% ДИ: 12,6–88,2, медиана не достигнута) для пациентов с 1 мутацией, 0% ($n = 3$, медиана 7,5 месяцев) и 0% ($n = 3$, медиана 6,4 месяца) для пациентов с 2 мутациями ($p < 0,001$, рисунок 26А и $p = 0,001$, рисунок 26Б), соответственно. Количество мутированных генов значимо влияло на двухлетнюю частоту прогрессирования: 25,4% ($n = 11$, 95% ДИ: 3,2–58) для пациентов без мутаций, 20% ($n = 5$, 95% ДИ: 0,8–58,2) для пациентов с 1 мутацией, 100% ($n = 3$) для пациентов с 2 мутациями ($p = 0,001$, рисунок 26В).

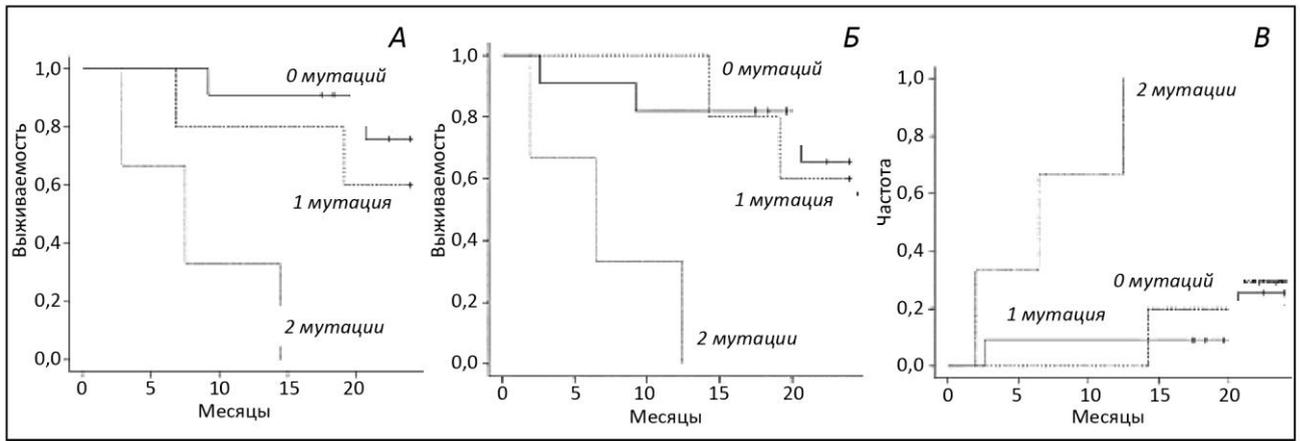


Рисунок 26 – Влияние количества мутаций по результатам прямого секвенирования по Сэнгеру на клинические исходы пациентов с МДС:

А – двухлетняя общая выживаемость пациентов с МДС в зависимости от количества мутаций; Б – двухлетняя выживаемость без прогрессирования пациентов с МДС в зависимости от количества мутаций; В – двухлетняя частота прогрессирования пациентов с МДС в зависимости от количества мутаций

При объединении данных секвенирования нового поколения и прямого секвенирования по Сэнгеру был составлен профиль молекулярных мутаций у пациентов с МДС ($n = 70$, рисунок 27).

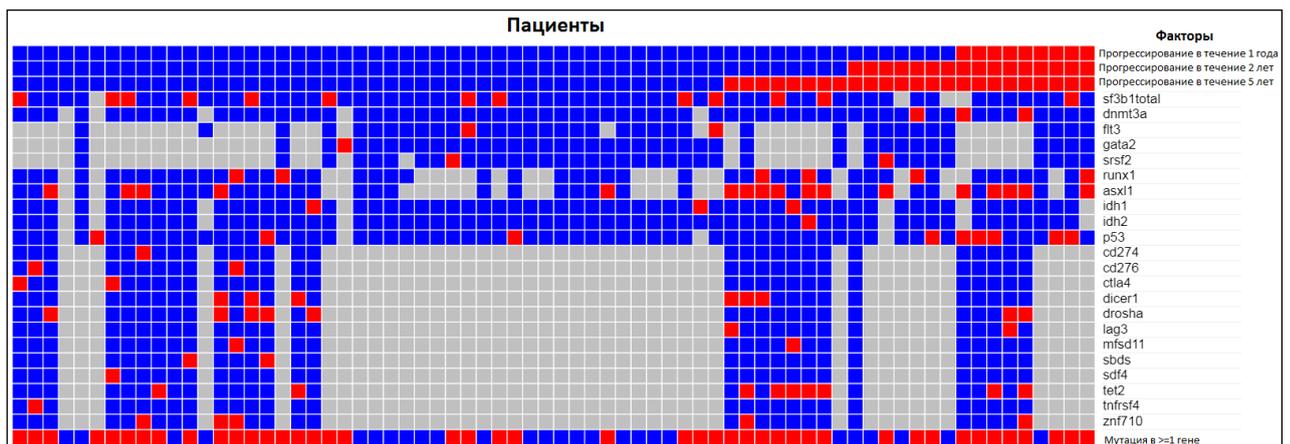


Рисунок 27 – Профиль молекулярных мутаций у пациентов с МДС по результатам секвенирования нового поколения и прямого секвенирования по Сэнгеру

При анализе зависимости клинических исходов от совокупности данных молекулярной генетики удалось выделить группу пациентов с мутацией хотя бы в

одном из генов TP53, DNMT3A, ASXL1, SRSF2, DROSHA, которые имели статистически значимо более высокую двухлетнюю частоту прогрессирования: 40,5% (n = 28, 95% ДИ 22,3–57,9, медиана не достигнута) у пациентов с вышеназванными мутациями против 14,2% (n = 42, 95% ДИ 5,1–27,9, медиана не достигнута) у пациентов без этих мутаций (p = 0,006, рисунок 28).

При выполнении многофакторного анализа наличие мутации хотя бы в одном из генов TP53, DNMT3A, ASXL1, SRSF2, DROSHA сохранило статистически значимое влияние на двухлетнюю частоту прогрессирования пациентов с МДС независимо от количества баллов по IPSS-R (рисунок 29).

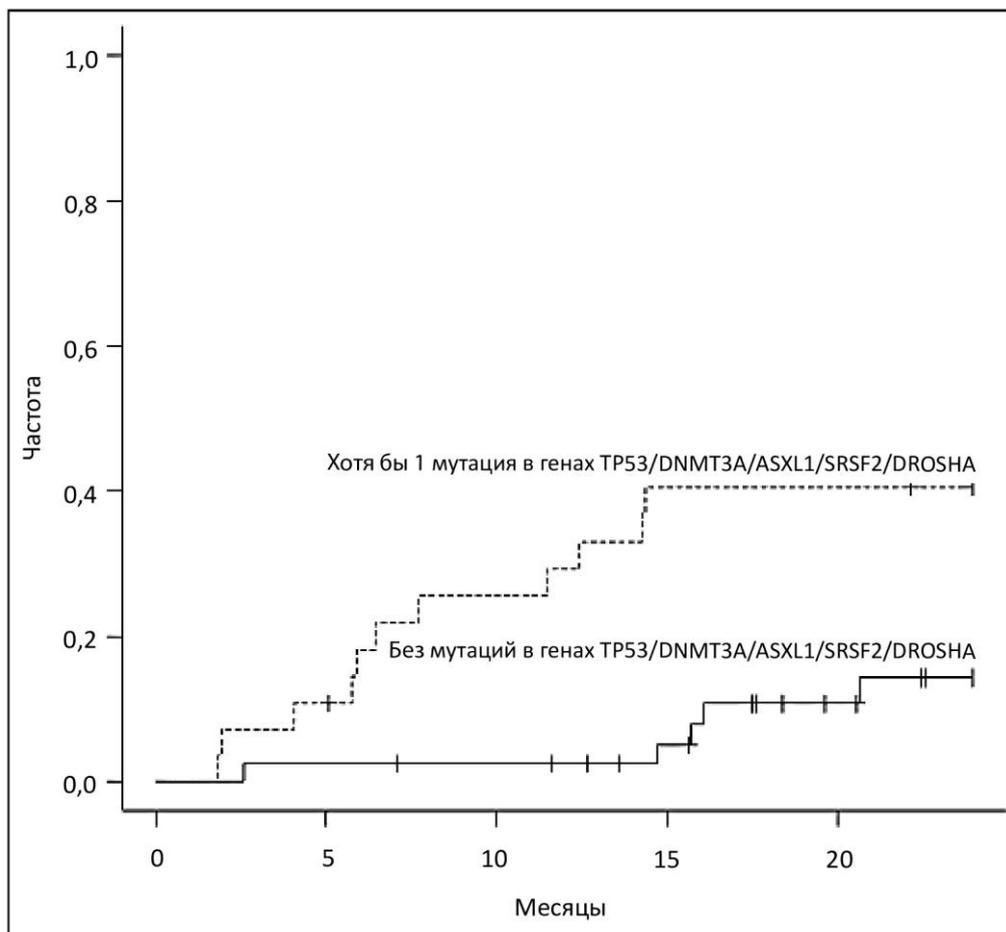


Рисунок 28 – Влияние мутационного статуса генов TP53, DNMT3A, ASXL1, SRSF2, DROSHA на двухлетнюю частоту прогрессирования пациентов с МДС

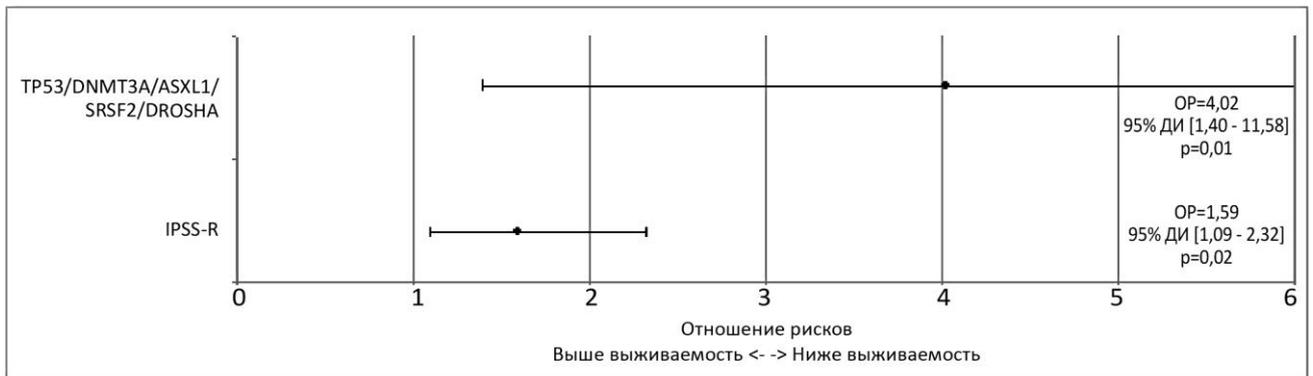


Рисунок 29 – Многофакторный анализ влияния мутационного статуса генов TP53, DNMT3A, ASXL1, SRSF2, DROSHA на двухлетнюю частоту прогрессирования пациентов с МДС

3.9. Комбинация определения экспрессии молекул иммунных контрольных точек на субпопуляциях клеток костного мозга методом проточной цитометрии и мутационного статуса методом прямого секвенирования по Сэнгеру для уточнения прогноза пациентов с миелодиспластическим синдромом

В подгруппе пациентов, у которых исследовался мутационный статус генов SF3B1, DNMT3A, FLT3, GATA2, SRSF2, TP53 вместе с субпопуляциями клеток костного мозга ($n = 27$) уровень CD117+CD34+HLA-DR+ клеток был значимо выше в подгруппе пациентов с мутацией гена TP53: медиана уровня CD117+CD34+HLA-DR+ клеток 2,09% (0,04–22) у пациентов без мутации гена TP53 против 17,17% (7,73–17,9) у пациентов с мутацией гена TP53 ($p = 0,02$, рисунок 30А). Аналогичная картина наблюдалась для следующих субпопуляций: медиана уровня CD117+CD34+HLA-DR^{low}CD274+ клеток 0,46% (0,01–18,4) у пациентов без мутации гена TP53 против 9,41% (3,93–11,25) у пациентов с мутацией гена TP53 ($p = 0,02$, рисунок 30Б); медиана уровня CD117+CD34+HLA-DR-CD273+ клеток 0% (0–0,0008) у пациентов без мутации гена TP53 против 0,002% (0,001–0,01) у пациентов с мутацией гена TP53 ($p = 0,04$, рисунок 30В); медиана уровня CD117+CD34+HLA-DR-CD274+ клеток 0,004% (0–0,17) у

пациентов без мутации гена TP53 против 0,03% (0,02–0,18) у пациентов с мутацией гена TP53 ($p = 0,04$, рисунок 30Г); медиана уровня CD117+CD34+HLA-DR-CD275+ клеток 0% (0–0,005) у пациентов без мутации гена TP53 против 0,002% (0,001–0,008) у пациентов с мутацией гена TP53 ($p = 0,009$, рисунок 30Д), соответственно.

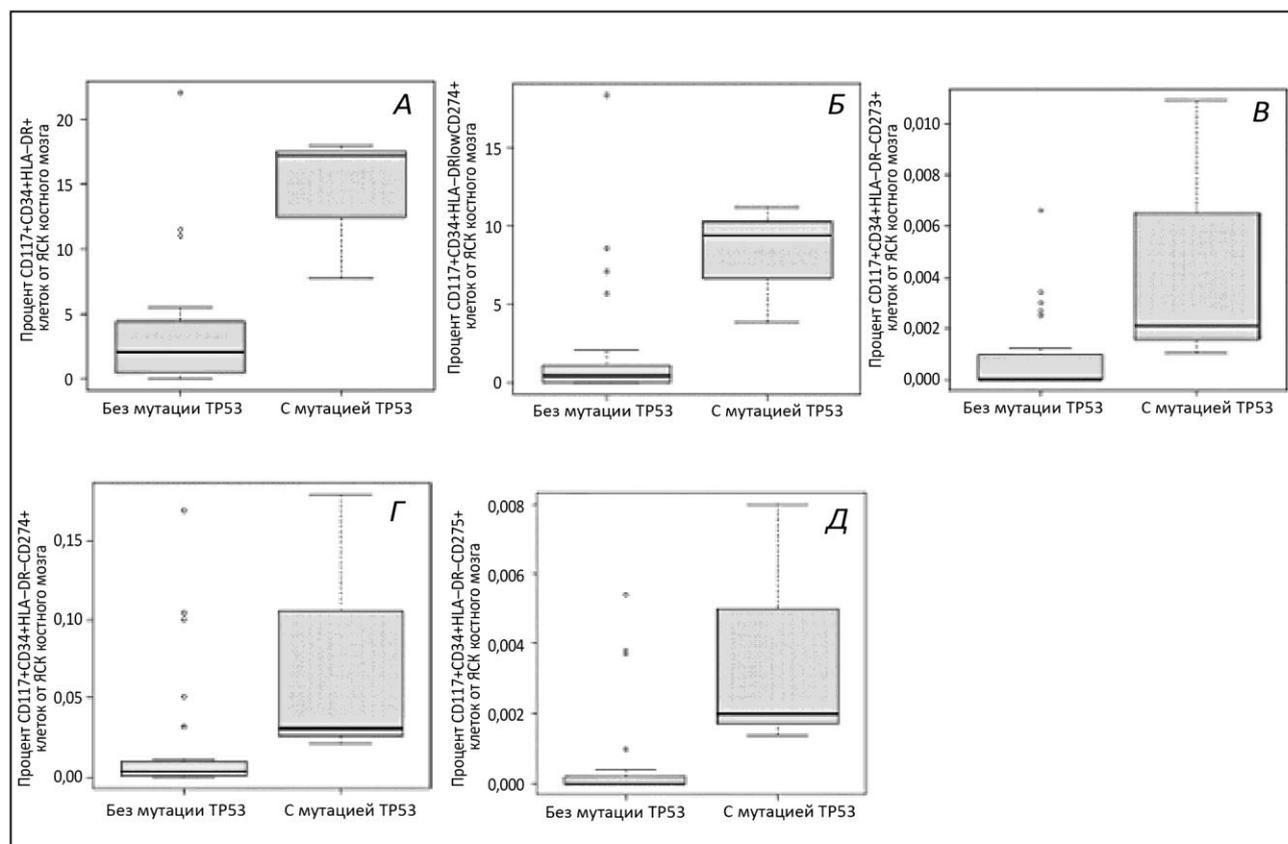


Рисунок 30 – Влияние мутационного статуса гена TP53 по результатам прямого секвенирования по Сэнгеру на процент гемопоэтических предшественников костного мозга по данным проточной цитометрии у пациентов с МДС:

А – зависимость уровня CD117+CD34+HLA-DR+ клеток у пациентов с МДС от мутационного статуса гена TP53; Б – зависимость уровня CD117+CD34+HLA-DRlowCD274+ клеток у пациентов с МДС от мутационного статуса гена TP53; В – зависимость уровня CD117+CD34+HLA-DR-CD273+ клеток у пациентов с МДС от мутационного статуса гена TP53; Г – зависимость уровня CD117+CD34+HLA-DR-CD274+ клеток у пациентов с МДС от мутационного статуса гена TP53; Д – зависимость уровня CD117+CD34+HLA-DR-CD275+ клеток у пациентов с МДС от мутационного статуса гена TP53. ЯСК – ядродержащие клетки

В подгруппе пациентов, у которых исследовался мутационный статус генов SF3B1, DNMT3A, RUNX1, ASXL1, TP53 вместе с субпопуляциями клеток костного мозга (n = 18) уровень CD3+TIM3+ и CD8+TIM3+ клеток был значимо выше в подгруппе пациентов с мутацией гена RUNX1: медиана уровня CD3+TIM3+ клеток 0,15% (0,06–0,93) у пациентов без мутации гена RUNX1 против 3,85% (0,53–6,24) у пациентов с мутацией гена RUNX1 (p = 0,01, рисунок 31А); медиана уровня CD8+TIM3+ клеток 0,1% (0,02–0,65) у пациентов без мутации гена RUNX1 против 2,46% (1,49–5,44) у пациентов с мутацией гена RUNX1 (p = 0,009, рисунок 31Б).

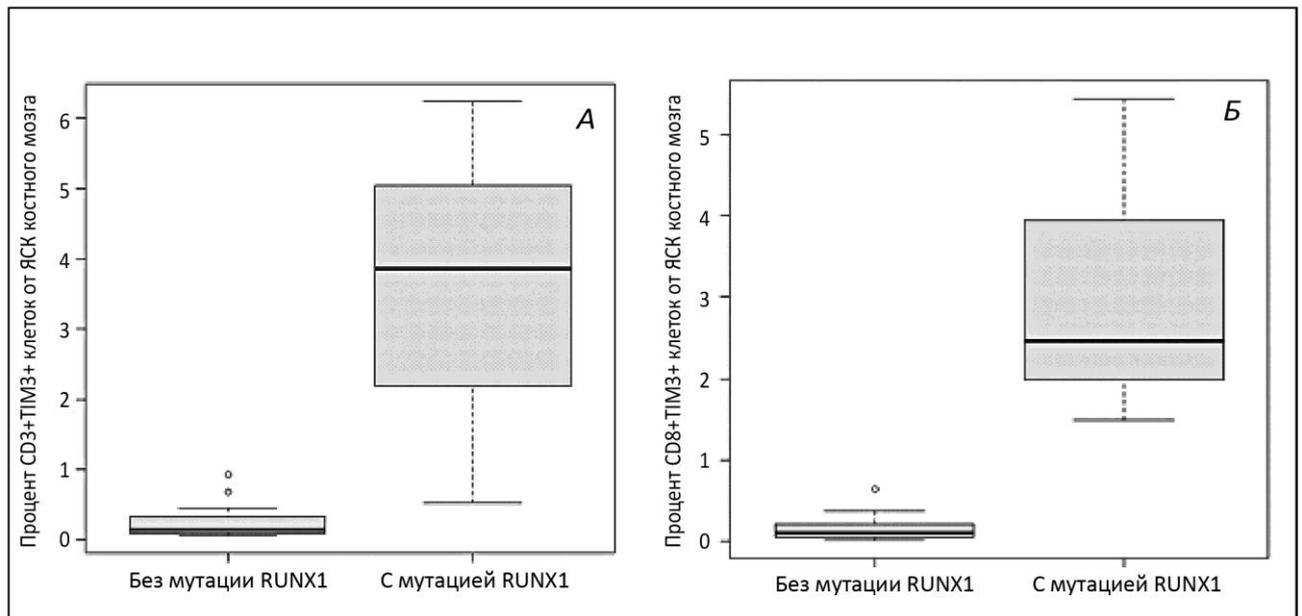


Рисунок 31 – Влияние мутационного статуса гена RUNX1 по результатам прямого секвенирования по Сэнгеру на процент иммунокомпетентных клеток костного мозга по данным проточной цитометрии у пациентов с МДС:
по данным проточной цитометрии у пациентов с МДС:

А – зависимость уровня CD3+TIM3+ клеток у пациентов с МДС от мутационного статуса гена RUNX1; Б – зависимость уровня CD8+TIM3+ клеток у пациентов с МДС от мутационного статуса гена RUNX1. ЯСК – ядродержащие клетки

При объединении показателей уровня PD-L1+ Т-регуляторных клеток костного мозга и факта наличия мутаций в одном из исследованных генов (SF3B1, DNMT3A, RUNX1, ASXL1, TP53) был получен составной индекс, состоящий из

двух бинарных переменных: уровня PD-L1+ Т-регуляторных клеток выше или ниже 0,003% от ядродержащих клеток костного мозга и факта наличия или отсутствия по крайней мере одной молекулярной мутации, что позволило выделить 4 подгруппы пациентов с МДС со значимо различной двухлетней общей выживаемостью. Таким образом, низкий уровень PD-L1+ Т-регуляторных клеток без мутаций (n = 2), повышенный уровень PD-L1+ Т-регуляторных клеток без мутаций (n = 10), низкий уровень PD-L1+ Т-регуляторных клеток с мутациями (n = 2) и повышенный уровень PD-L1+ Т-регуляторных клеток с мутациями (n = 4) имели двухлетнюю общую выживаемость: 100%, 72%, 50% и 0% (p < 0,05), соответственно.

Значимые биологические факторы прогноза пациентов с МДС высокого риска, выявленные в ходе исследования, перечислены в таблице 8.

Таблица 8 – Значимые биологические факторы прогноза пациентов с МДС

Фактор	Эффект	ОР	95% ДИ	P
CD80	Частота прогрессирования ↑	3,35	1,17–9,75	0,008
CD80, PD-L2, PD-L1, Gal-9	Частота прогрессирования ↑	1,35	0,93–1,90	0,02
PD-L1+ Т-регуляторные клетки	Выживаемость без прогрессирования ↓	46,84	1,71–1286	0,02
ASXL1, DICER1, B7-H3, RUNX1, PD-L1	Общая выживаемость ↓	4,2	1,3–13,6	0,02
TP53, TET2, IDH1,2, ASXL1, DNMT3A	Частота прогрессирования ↑	7,1	2,6–19,6	0,0001
TP53, DNMT3A, ASXL1, SRSF2, DROSHA	Частота прогрессирования ↑	4,02	1,4–11,58	0,01

ОР – отношение рисков, ДИ – доверительный интервал.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

МДС высокого риска является гетерогенной группой клональных миелоидных новообразований [139]. Продемонстрированные в ходе исследования клинические исходы в общей группе пациентов сопоставимы с имеющимися литературными данными и подтверждают неудовлетворительную эффективность имеющихся подходов к терапии пациентов с этим диагнозом [113].

Помимо высокой частоты прогрессирования, долгосрочная выживаемость пациентов также ограничивается значительной летальностью, связанной с лечением [191]. Основными клиническими факторами риска, ассоциированными с неблагоприятным исходом, являются преклонный возраст пациентов и трансфузионная зависимость, приводящая к перегрузке железом [76]. Фиброз как аномалия микроокружения костного мозга усугубляет степень неэффективности кроветворения. Перечисленные факторы также сохраняют определяющее значение в группе консервативной терапии пациентов с МДС высокого риска.

В группе пациентов, которым выполнялась алло-ТГСК, отмечена высокая частота неприживлений, что дополнительно подтверждает вовлеченность клеток кроветворных ниш в патогенез МДС [154] и значимое влияние инфекционных осложнений на летальность, связанную с лечением, в раннем посттрансплантационном периоде. При более длительном периоде наблюдения в группе алло-ТГСК обращает внимание высокая частота посттрансплантационных рецидивов, которые по-прежнему являются основной причиной неудачи алло-ТГСК [62, 78]. При этом независимая положительная роль реакции трансплантат-против-хозяина говорит о значимости иммунного эффекта трансплантата и перспективности других методов иммунотерапии при МДС.

В контексте алло-ТГСК на исследованной популяции не продемонстрирована прогностическая роль основных шкал, используемых в повседневной клинической практике, что подчеркивает необходимость дальнейшей персонализации подходов к терапии МДС с учетом индивидуальных особенностей пациентов и используемых методов лечения.

Несмотря на описанные выше наблюдения, ставящие под сомнение вероятность успеха алло-ТГСК при МДС высокого риска, в многофакторном анализе факт выполнения алло-ТГСК имеет независимый благоприятный эффект в отношении основных клинических исходов [192] при отсутствии значимого влияния на летальность, связанную с лечением. Наряду с этим, необходимо особенно подчеркнуть, что по результатам ландмарк-анализа положительный эффект сохраняется только при выполнении алло-ТГСК в течение одного года после диагноза, что говорит о том, что большая часть пациентов прогрессирует в течение этого периода [15].

Следует отметить, что вышеперечисленные наблюдения являются результатом преимущественно ретроспективного анализа опыта одного центра, что говорит о неизбежной селекции в исследуемой группе. Так, пациенты в группе алло-ТГСК имели значимо меньшую медиану возраста (43 года (18–65) против 53 лет (26–75), $p = 0,002$) и значимо большую медиану наблюдения (1126 дней (114–3651) против 395 дней (22–1083), $p < 0,001$) в сравнении с группой консервативной терапии. Этот факт говорит о необходимости многоцентровых проспективных исследований для подтверждения обнаруженных эффектов.

При исследовании микроокружения костного мозга при МДС отмечено наличие PD-1+ лимфоцитов, что уже описано как прогностический фактор при ряде других злокачественных новообразований [45, 104, 117, 118, 181]. Данный факт говорит в пользу уже известного иммуносупрессивного характера микроокружения костного мозга при МДС высокого риска [109]. Отмечен высокий уровень экспрессии молекул TIM-3 и Gal-9 в костном мозге, что позволяет думать об использовании аутокринной стимуляции стволовыми клетками лейкоза при МДС [13, 102]. При этом большая часть пациентов экспрессировала несколько молекул иммунных контрольных точек, включая PD-L2, TIM-3, CD80, PD-1, Gal-9. Данное наблюдение может объяснить невысокую эффективность монотерапии ИКТ при МДС [73] и обосновать необходимость комбинированных методов при использовании этих препаратов.

Отмечена прогностическая роль таких молекул, как CD80, PD-L2, PD-L1, Gal-9 в отношении частоты прогрессирования МДС. При этом PD-L2, TIM-3, CD80 ассоциированы с более высоким риском. Уровни PD-L2, Gal-9 положительно коррелировали с уровнем бластов костного мозга, а уровень T-регуляторных клеток – с уровнем натуральных киллеров. Опухолевый надзор со стороны натуральных киллеров также нарушен при МДС [41, 189, 205], что дает преимущество гаплоидентичным донорам при решении вопроса о выполнении алло-ТГСК. Уровень PD-L1+ T-регуляторных клеток имел негативное влияние на вероятность прогрессирования МДС.

Особую сложность в интерпретации результатов иммуногистохимического исследования создает отсутствие стандартов использованных методов, в частности внутреннего положительного контроля в костном мозге. В будущем подобные работы необходимо дополнить определением уровня соответствующих информационных РНК в цитоплазме исследуемых клеток, а также мультиплексным иммуногистохимическим исследованием для точного определения конкретных субпопуляций клеток, экспрессирующих молекулы иммунных контрольных точек.

По результатам молекулярно-генетических методов значительное количество мутаций выявлено в генах иммунных контрольных точек PD-L1, B7-H3, PD-1, CTLA4, LAG-3. Данные о прогностической роли мутаций генов иммунных контрольных точек при МДС в литературе отсутствуют. В то время как эти мутации могут являться сопутствующими и не играть ведущей роли в патогенезе МДС, нельзя исключить их влияние на экспрессию соответствующих белков, подавление противоопухолевого иммунитета и вероятность ответа на соответствующую иммунотерапию. Эти вопросы требуют дополнительного изучения.

Частота мутаций в генах процессинга микро-РНК DROSHA и DICER1 также была относительно высокой. Потенциальная патогенетическая роль нарушения функции гена DICER1 в развитии МДС уже была продемонстрирована на мышинной модели [155]. В дальнейшем было показано снижение экспрессии

генов DICER1, DROSHA, SBDS в стромальных клетках костного мозга пациентов с МДС [162]. Параллельно в этих клетках наблюдалось снижение уровня ряда микро-РНК. Данное наблюдение в очередной раз подчеркивает значимость эпигенетических нарушений при МДС, которые, по всей видимости, не ограничены опухолевым клоном, но также распространяются на клетки микроокружения. Исследование возможности терапевтического воздействия на ниши стволовых клеток в костном мозге особенно актуально в свете высокой резистентности стволовых клеток лейкоза и значительной частоты посттрансплантационных рецидивов МДС. Известно, что после алло-ТГСК стромальное микроокружение костного мозга не замещается донорским [29, 30, 55, 72, 157].

Данные Krevvata et al. [111] позволяют выдвинуть предположение об относительно невысокой частоте встречаемости ЛСК при МДС в отличие от ОМЛ. В свою очередь, принимая во внимание, что трансформация в ОМЛ в клинических условиях часто наблюдается в течение достаточно короткого периода при МДС высокого риска, можно сделать предположение о вовлеченности механизмов горизонтального переноса генетического материала в процесс увеличения популяции ЛСК при прогрессировании МДС. Данный процесс также может происходить с участием опухолевого микроокружения. При этом имеются литературные данные [107], позволяющие предполагать иммунотерапевтический эффект алло-ТГСК в отношении стромы костного мозга.

В исследованной популяции мутации SF3B1 продемонстрировали уже известный благоприятный эффект, тогда как совокупность мутаций ASXL1, RUNX1, DICER1, B7-H3, PD-L1, TP53, DNMT3A, SRSF2, DROSHA имела негативное влияние на выживаемость и вероятность прогрессирования МДС. Общее количество мутаций также имело негативное прогностическое значение, при этом большее количество мутаций при МДС скорее следует понимать как отражение поликлональной природы заболевания, нежели накопление мутаций в рамках одного клона [139]. Последнее обстоятельство не позволяет использовать общую мутационную нагрузку при МДС в качестве предиктора ответа на терапию

ингибиторами иммунных контрольных точек, как при ряде других злокачественных новообразований [105].

Возраст как независимый неблагоприятный прогностический фактор был также ассоциирован с естественным увеличением общего количества мутаций [127]. При этом было отмечено накопление как прогностически благоприятных (SF3B1), так и неблагоприятных (TP53) мутаций. SF3B1-мутированный МДС на данный момент рассматривается как отдельный подтип этого заболевания с благоприятным течением и относительно невысокой вероятностью трансформации в ОМЛ. Данный подтип чаще встречается у пациентов старше 60–70 лет [125].

При сопоставлении результатов молекулярно-генетического и иммунофенотипического исследований мутации гена TP53 были ассоциированы с увеличением количества бластных субпопуляций в костном мозге, что говорит о быстром прогрессировании пациентов с аномалиями этого гена. Мутации гена RUNX1 были ассоциированы с TIM-3+ лимфоцитами. Белок TIM-3 описан в литературе, в том числе как маркер истощенных иммунокомпетентных клеток [133, 134, 184]. Также известна иммуносупрессивная роль TIM-3+ T-регуляторных клеток [28, 77]. В свою очередь, транскрипционный фактор RUNX1 участвует в функционировании T-лимфоцитов [197], в частности путем регуляции экспрессии транскрипционного фактора FOXP3 и дифференцировки T-регуляторных клеток [39]. Дальнейшие исследования необходимы для уточнения характера встречающихся мутаций в гене RUNX1 и их связи с уровнем экспрессии TIM-3 и особенностями иммунного окружения при МДС.

При выявлении значимых биологических факторов прогноза было отмечено, что на прогноз, как правило, имеют влияние не отдельные мутации и молекулы, а совокупности генов и белков, что еще раз подчеркивает гетерогенность МДС и необходимость использования высокопроизводительных методик при исследовании патогенеза этого заболевания. Отдельно следует отметить ограниченность проанализированной группы пациентов и

необходимость масштабных популяционных исследований для подтверждения выявленных закономерностей.

Перечисленные наблюдения говорят о принципиальной возможности и необходимости комбинации данных молекулярной генетики с данными иммунофенотипирования, а также других новых методов (например, исследование микробиоты и др.) [194]. Именно группа пациентов с МДС высокого риска требует поиска новых терапевтических решений, включая более эффективные прогностические шкалы. Новые данные способны не только помочь в поиске точек приложения для новых препаратов, но также определить вероятность ответа на существующие методы терапии. Вышеописанные результаты подчеркивают значимость дальнейшей работы в этом направлении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

МДС является гетерогенной группой клональных миелоидных новообразований гемопоэтической стволовой клетки. Для судьбы пациентов с МДС высокого риска исключительно важен фактор времени при принятии клинических решений после постановки диагноза. Алло-ТГСК является единственным излечивающим методом терапии этого заболевания, и вопрос о выполнении HLA-типирования и поиске донора должен подниматься незамедлительно у соматически сохраненных пациентов.

Доступность эффективных прогностических инструментов имеет принципиальное значение для улучшения клинических исходов пациентов с МДС высокого риска. Существующие прогностические шкалы возможно далее модифицировать путем включения новых данных молекулярной генетики и иммунофенотипирования, полученных с использованием высокопроизводительных методик на больших популяциях пациентов.

Выбор консервативных методов терапии МДС высокого риска ограничен. Эффективность алло-ТГСК при этом заболевании и свидетельства вовлеченности иммунного микроокружения в патогенез позволяют надеяться на успехи в поиске новых методов иммунотерапии МДС.

ВЫВОДЫ

1. По результатам многофакторного анализа установлено, что факт выполнения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с миелодиспластическим синдромом высокого риска является самостоятельным независимым прогностическим фактором, ассоциированным с показателями двухлетней выживаемости без прогрессирования (ОР 0,36; 95% ДИ 0,20–0,67; $p = 0,001$).
2. Обнаружено, что значимое улучшение двухлетней выживаемости без прогрессирования возможно в случае выполнения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток в срок до одного года от момента постановки диагноза в соответствии с данными ландмарк-анализа: в точках ландмарка 180 дней (ОР 0,36; 95% ДИ 0,20–0,67; $p=0,001$) и 365 дней (ОР 0,41; 95% ДИ 0,18–0,92; $p=0,03$).
3. Выявлено, что универсальными неблагоприятными факторами для всей группы пациентов с миелодиспластическим синдромом являются уровень перегрузки железом (ОР 1,00; 95% ДИ 1,0–1,0; $p=0,003$), наличие фиброза в костном мозге (ОР 3,31; 95% ДИ 1,19–9,17; $p=0,02$), возраст (ОР 1,03; 95% ДИ 1,00–1,06; $p=0,03$) и вариант риска по шкале IPSS-R (ОР 1,36; 95% ДИ 1,07–1,73; $p=0,01$). Эти факторы оказывают значимое влияние на выживаемость, частоту прогрессирования и летальность, связанную с лечением, у пациентов с миелодиспластическим синдромом как в группе аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, так и в группе консервативной терапии независимо от вида выбранного лечебного пособия.
4. Продемонстрировано, что мутации в генах ASXL1, TP53, DNMT3A, DROSNA, SRSF2 у пациентов с миелодиспластическим синдромом являются предикторами высокого риска прогрессирования заболевания (ОР 4,02; 95% ДИ 1,4–11,58; $p = 0,01$).

5. Обнаружено, что экспрессия молекул иммунных контрольных точек CD80, PD-L2, PD-L1, Gal-9 в микроокружении костного мозга пациентов с миелодиспластическим синдромом оказывает негативное влияние на частоту прогрессирования (ОР 1,35, 95% ДИ 0,93–1,90, $p = 0,02$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Выполнение аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у пациентов с миелодиспластическим синдромом высокого риска показано в качестве терапии первой линии при отсутствии тяжелой перегрузки железом.
2. Оптимальным сроком для выполнения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток является период первого года после постановки диагноза. После данного срока выполнение аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток не рационально.
3. У всех пациентов с миелодиспластическим синдромом высокого риска необходимо проводить гистологическую оценку степени фиброза с окраской по Гомори.
4. При отсутствии возможности исследования расширенных панелей мутаций с помощью методов секвенирования нового поколения, целесообразно исследование мутаций в генах TP53, DNMT3A, ASXL1, SRSF2, SF3B1 с помощью секвенирования по Сэнгеру.
5. При определении прогноза пациентов с миелодиспластическим синдромом высокого риска целесообразно оценивать в том числе такие иммунофенотипические параметры, как CD80, PD-L2, PD-L1, Gal-9.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АА – апластическая анемия

Алло-ТГСК – аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

ВДП – время до прогрессирования

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

вОМЛ – вторичный острый миелоидный лейкоз

ГМА – гипометилирующие агенты

ГМТ – гипометилирующая терапия

ДИ – доверительный интервал

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИБ – избыток бластов

ИКТ – ингибиторы контрольных точек

ИСТ – иммуносупрессивная терапия

КО – клиническая опция

ЛСК – лейкозные стволовые клетки

МДС – миелодиспластический синдром

МДЦ – малые дозы цитарабина

МЛД – мультилинейная дисплазия

МПЗ – миелопролиферативные заболевания

НР – не рекомендовано

ОМЛ – острый миелоидный лейкоз

ОР – отношение рисков

ПНГ – пароксизмальная ночная гемоглобинурия

ПХТ – полихимиотерапия

РА – рефрактерная анемия

РНК – рибонуклеиновая кислота

РТПХ – реакция трансплантат-против-хозяина

С – стандарт

ТГСК – трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

ЭСА – эритропоз-стимулирующие агенты

ЯСК – ядродержащие клетки

ALIP – кластеры аномально локализованных незрелых предшественников

ASH – Американское общество гематологов

DRI – индекс риска заболевания

EBMT – Европейская группа по трансплантации костного мозга

FAB – Классификация Франко-Американо-Британской группы экспертов

НСТ-СI – индекс коморбидности, специфичный для алло-ТГСК

HLA – лейкоцитарный антиген человека

IPSS – Международная прогностическая шкала

IPSS-R – Пересмотренная международная прогностическая шкала

IWG – Международная рабочая группа

PAM score – прогностическая шкала предтрансплантационной оценки летальности

RAEB-T – рефрактерная анемия с избытком бластов и трансформацией

Tregs – Т-регуляторные клетки

WPSS – Прогностическая шкала ВОЗ

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Афанасьев, Б.В. Миелодиспластический синдром у детей / Б.В. Афанасьев, Л.С. Зубаровская // Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2018. – № 3. – С. 23–35.
2. Афанасьев, Б.В. Родоначальные кроветворные клетки человека / Б.В. Афанасьев, В.А. Алмазов. – Л.: Наука, 1985. – 204 с.
3. Афанасьев, Б.В. Опыт применения неродственной аллогенной трансплантации стволовых гемопоэтических клеток в клинике ТКМ СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова / Б.В. Афанасьев, Л.С. Зубаровская, Е.В. Семенова [и др.] // Терапевтический архив. – 2007. – № 79 (7). – С. 36–43.
4. Кохно, А.В. Эффективность терапии циклоспорином А у больных миелодиспластическим синдромом / А.В. Кохно, Е.Н. Паровичникова, Е.А. Михайлова [и др.] // Терапевтический Архив. – 2010. – № 82 (8). – С. 48–53.
5. Кохно, А.В. Эффективность низкодозной терапии с гипометилирующим праймингом у больных МДС с избытком бластов (мдс-иб) и ОМЛ с изменениями, связанными с миелодисплазией (омл-мд) / А.В. Кохно, А.Е. Красильникова, В.В. Троицкая [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 2020. – № 65 (S1). – С. 31–31.
6. Овечкина, В.Н. Роль 5-азацитидина при остром миелобластном лейкозе и миелодиспластическом синдроме после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток / В.Н. Овечкина, С.Н. Бондаренко, Е.В. Морозова [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 2014. – № 59 (1-S1). – С. 55.
7. Паттерсон, Д. Терапия больных миелоидными лейкозами малыми дозами цитозин-арабинозида / Д. Паттерсон, В.М. Кравцова, Э.М. Петрова [и др.] // Терапевтический Архив. – 1987. – № 12. – С. 81–86.

8. Рудницкая, Ю.В. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток крови с использованием режимов кондиционирования со сниженной интенсивностью у пациентов с миелодиспластическим синдромом / Ю.В. Рудницкая, Е.В. Морозова, Н.Н. Мамаев [и др.] // Клиническая онкогематология. – 2011. – № 4 (3). – С. 196–200.
9. Савченко, В.Г. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению миелодиспластических синдромов взрослых (2015 г.) / В.Г. Савченко, Е.Н. Паровичникова, А.В. Кохно [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 2016. – № 61 (1S (4)). – С. 1–32.
10. Савченко, В.Г. Открытое многоцентровое исследование деферазирокса в лечении посттрансфузионной перегрузки железом у пациентов с миелодиспластическими синдромами, талассемией и другими формами анемий / В.Г. Савченко, К.М. Абдулкадыров, А.А. Масчан [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 2015. – № 60 (4). – С. 7–14.
11. Слесарчук, О.А. Роль инфузий донорских лимфоцитов в профилактике и лечении онкогематологических заболеваний после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток / О.А. Слесарчук, Е.В. Семенова, С.Н. Бондаренко [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 2012. – № 57 (S3). – С. 24.
12. Тиранова, С.А. К вопросу о существовании гемопоэтических дисплазий (прелейкемий) у детей / С.А. Тиранова, Н.А. Алексеев, Э.М. Петрова [и др.] // Терапевтический архив. – 1982. – № 8. – С. 1–16.
13. Akashi, K. TIM-3 and its ligand, galectin-9 constitute an autocrine loop to maintain stem cells in most human myeloid malignancies / K. Akashi // Experimental Hematology. – 2015. – N 43 (9). – P. S29.
14. Alessandrino, E.P. WHO classification and WPSS predict posttransplantation outcome in patients with myelodysplastic syndrome: a study from the Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo (GITMO) / E.P. Alessandrino, M.G. Della Porta, A. Vacigalupo [et al.] // Blood. – 2008. – N 112 (3). – P. 895–902.

15. Alessandrino, E.P. Optimal timing of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with myelodysplastic syndrome / E.P. Alessandrino, M.G.D. Porta, L. Malcovati [et al.] // *American Journal of Hematology*. – 2013. – N 88 (7). – P. 581–588.
16. Alhan, C. The myelodysplastic syndromes flow cytometric score: a three-parameter prognostic flow cytometric scoring system / C. Alhan, T.M. Westers, E.M.P. Cremers [et al.] // *Leukemia*. – 2016. – N 30 (3). – P. 658–665.
17. Allison, J.P. Checkpoints / J.P. Allison // *Cell*. – 2015. – N 162 (6). – P. 1202–1205.
18. Altman, J.K. Phase 1 study of quizartinib in combination with induction and consolidation chemotherapy in patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia / J.K. Altman, J.M. Foran, K.W. Pratz [et al.] // *American Journal of Hematology*. – 2018. – N 93 (2). – P. 213–221.
19. Anastasi, J. Cytogenetic clonality in myelodysplastic syndromes studied with fluorescence in situ hybridization: lineage, response to growth factor therapy, and clone expansion / J. Anastasi, J. Feng, M.M. Le Beau [et al.] // *Blood*. – 1993. – N 81 (6). – P. 1580–1585.
20. Angelucci, E. Iron chelation in transfusion-dependent patients with low-to intermediate-1-risk myelodysplastic syndromes: A randomized trial / E. Angelucci, J. Li, P. Greenberg [et al.] // *Annals of Internal Medicine*. – 2020. – N 172 (8). – P. 513–522.
21. Arber, D.A. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia / D.A. Arber, A. Orazi, R. Hasserjian [et al.] // *Blood*. – 2016. – N 127 (20). – P. 2391–2405.
22. Armand, P. A disease risk index for patients undergoing allogeneic stem cell transplantation / P. Armand, C.J. Gibson, C. Cutler [et al.] // *Blood*. – 2012. – N 120 (4). – P. 905–913.
23. Armand, P. A prognostic score for patients with acute leukemia or myelodysplastic syndromes undergoing allogeneic stem cell transplantation /

- P. Armand, H.T. Kim, C.S. Cutler [et al.] // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2008. – N 14 (1). – P. 28–35.
24. Audia, S. Pathogenesis of immune thrombocytopenia / S. Audia, M. Mahévas, M. Samson [et al.] // *Autoimmunity Reviews*. – 2017. – N 16 (6). – P. 620–632.
25. Awada, H. The genomics of myelodysplastic syndromes: origins of disease evolution, biological pathways, and prognostic implications / H. Awada, B. Thapa, V. Visconte [et al.] // *Cells*. – 2020. – N 9 (11). – P. E2512.
26. Bachegowda, L. Signal transduction inhibitors in treatment of myelodysplastic syndromes / L. Bachegowda, O. Gligich, I. Mantzaris [et al.] // *Journal of Hematology & Oncology*. – 2013. – N 6 (1). – P. 50.
27. Ball, B.J. Venetoclax and hypomethylating agents (HMAs) induce high response rates in MDS, including patients after HMA therapy failure / B.J. Ball, C.A. Famulare, E.M. Stein [et al.] // *Blood Advances*. – 2020. – N 4 (13). – P. 2866–2870.
28. Banerjee, H. Expression of Tim-3 drives phenotypic and functional changes in Treg cells in secondary lymphoid organs and the tumor microenvironment / H. Banerjee, H. Nieves-Rosado, A. Kulkarni [et al.] // *Cell Reports*. – 2021. – N 36 (11). – P. 109699.
29. Barkhatov, I.M. Impact of recipient marrow stromal cells functional characteristics on engraftment after allo-HSCT / I.M. Barkhatov, N.Y. Tsvetkov, D.E. Ershov [et al.] // *Cellular Therapy and Transplantation*. – 2016. – N 5 (4). – P. 71–77.
30. Bartsch, K. Mesenchymal stem cells remain host-derived independent of the source of the stem-cell graft and conditioning regimen used / K. Bartsch, H. Al-Ali, A. Reinhardt [et al.] // *Transplantation*. – 2009. – N 87 (2). – P. 217–221.
31. Bejar, R. Clinical and genetic predictors of prognosis in myelodysplastic syndromes / R. Bejar // *Haematologica*. – 2014. – N 99 (6). – P. 956–964.
32. Bejar, R. CHIP, ICUS, CCUS and other four-letter words / R. Bejar // *Leukemia*. – 2017. – N 31 (9). – P. 1869–1871.

33. Bejar, R. Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes / R. Bejar, K. Stevenson, O. Abdel-Wahab [et al.] // *The New England Journal of Medicine*. – 2011. – N 364 (26). – P. 2496–2506.
34. Bento, L.C. The use of flow cytometry in myelodysplastic syndromes: A review / L.C. Bento, R.P. Correia, C.L. Pitangueiras Mangueira [et al.] // *Frontiers in Oncology*. – 2017. – N 7. – P. 270.
35. Bernell, P. Clonal cell lineage involvement in myelodysplastic syndromes studied by fluorescence in situ hybridization and morphology / P. Bernell, B. Jacobsson, A. Nordgren [et al.] // *Leukemia*. – 1996. – N 10 (4). – P. 662–668.
36. Bhatia, S. Therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia / S. Bhatia // *Seminars in oncology*. – 2013. – N 40 (6). – P. 666–675.
37. Blau, O. Mesenchymal stromal cells of myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia patients have distinct genetic abnormalities compared with leukemic blasts / O. Blau, C.D. Baldus, W.-K. Hofmann [et al.] // *Blood*. – 2011. – N 118 (20). – P. 5583–5592.
38. Borate, U. Phase Ib study of the anti-TIM-3 antibody MBG453 in combination with decitabine in patients with high-risk myelodysplastic syndrome (MDS) and acute myeloid leukemia (AML) / U. Borate, J. Esteve, K. Porkka [et al.] // *Blood*. – 2019. – N 134 (Supplement 1). – P. 570.
39. Bruno, L. Runx proteins regulate Foxp3 expression / L. Bruno, L. Mazzarella, M. Hoogenkamp [et al.] // *The Journal of Experimental Medicine*. – 2009. – N 206 (11). – P. 2329–2337.
40. Calado, R.T. Immunological aspects of hypoplastic myelodysplastic syndrome / R.T. Calado // *Seminars in oncology*. – 2011. – N 38 (5). – P. 667–672.
41. Carlsten, M. Natural killer cells in myeloid malignancies: Immune surveillance, NK cell dysfunction, and pharmacological opportunities to bolster the endogenous NK cells / M. Carlsten, M. Järås // *Frontiers in Immunology*. – 2019. – N 10. – P. 2357.

42. Chen, S. Splicing factor mutations in hematologic malignancies / S. Chen, S. Benbarche, O. Abdel-Wahab [et al.] // *Blood*. – 2021. – N 138 (8). – P. 599–612.
43. Chen, N. Phase 2 studies of oral hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibitor FG-4592 for treatment of anemia in China / N. Chen, J. Qian, J. Chen [et al.] // *Nephrology Dialysis Transplantation*. – 2017. – N 32 (8). – P. 1373–1386.
44. Chen, X. Induction of myelodysplasia by myeloid-derived suppressor cells / X. Chen, E.A. Eksioglu, J. Zhou [et al.] // *The Journal of Clinical Investigation*. – 2013. – N 123 (11). – P. 4595–4611.
45. Chen, Z. Flow cytometry-assessed PD1/PDL1 status in tumor-infiltrating lymphocytes: A link with the prognosis of diffuse large B-cell lymphoma / Z. Chen, X. Deng, Y. Ye [et al.] // *Frontiers in Oncology*. – 2021. – N 11. – P. 687911.
46. Cheson, B.D. Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia / B.D. Cheson, P.L. Greenberg, J.M. Bennett [et al.] // *Blood*. – 2006. – N 108 (2). – P. 419–425.
47. Chowdhury, R. The oncometabolite 2-hydroxyglutarate inhibits histone lysine demethylases / R. Chowdhury, K.K. Yeoh, Y.M. Tian [et al.] // *EMBO Reports*. – 2011. – N 12 (5). – P. 463–469.
48. Chun, A.W. Preclinical pharmacokinetics and in vitro activity of ON 01910.Na, a novel anti-cancer agent / A.W. Chun, S.C. Cosenza, D.R. Taft [et al.] // *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. – 2009. – N 65 (1). – P. 177–186.
49. Cortes, J.E. Glasdegib in combination with cytarabine and daunorubicin in patients with AML or high-risk MDS: Phase 2 study results / J.E. Cortes, B. Douglas Smith, E.S. Wang [et al.] // *American Journal of Hematology*. – 2018. – N 93 (11). – P. 1301–1310.
50. Cortes, J.E. Randomized comparison of low dose cytarabine with or without glasdegib in patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia or high-risk

- myelodysplastic syndrome / J.E. Cortes, F.H. Heidel, A. Hellmann [et al.] // *Leukemia*. – 2019. – N 33 (2). – P. 379–389.
51. Daver, N. Hypomethylating agents in combination with immune checkpoint inhibitors in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes / N. Daver, P. Boddu, G. Garcia-Manero [et al.] // *Leukemia*. – 2018. – N 32 (5). – P. 1094–1105.
52. De Bellis, E. Treatment of low-blast count AML using hypomethylating agents / E. De Bellis, L. Fianchi, F. Buccisano [et al.] // *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*. – 2017. – N 9 (1). – P. e2017045.
53. Della Porta, M.G. Multicenter validation of a reproducible flow cytometric score for the diagnosis of low-grade myelodysplastic syndromes: results of a European LeukemiaNET study / M.G. Della Porta, C. Picone, C. Pascutto [et al.] // *Haematologica*. – 2012. – N 97 (8). – P. 1209–1217.
54. Della Porta, M. The Commands trial: A phase 3 study of the efficacy and safety of luspatercept versus epoetin alfa for the treatment of anemia due to IPSS-R very low-, low-, or intermediate-risk MDS in erythropoiesis stimulating agent-naïve patients who require RBC transfusions / M. Della Porta, U. Platzbecker, V. Santini [et al.] // *Blood*. – 2020. – N 136 (Supplement 1). – P. 1–2.
55. Dickhut, A. Mesenchymal stem cells obtained after bone marrow transplantation or peripheral blood stem cell transplantation originate from host tissue / A. Dickhut, R. Schwerdtfeger, L. Kuklick [et al.] // *Annals of Hematology*. – 2005. – N 84 (11). – P. 722–727.
56. DiNardo, C.D. Interactions and relevance of blast percentage and treatment strategy among younger and older patients with acute myeloid leukemia (AML) and myelodysplastic syndrome (MDS) / C.D. DiNardo, G. Garcia-Manero, S. Pierce [et al.] // *American Journal of Hematology*. – 2016. – N 91 (2). – P. 227–232.
57. DiNardo, C.D. Safety and preliminary efficacy of venetoclax with decitabine or azacitidine in elderly patients with previously untreated acute myeloid leukaemia:

- a non-randomised, open-label, phase 1b study / C.D. DiNardo, K.W. Pratz, A. Letai [et al.] // *The Lancet Oncology*. – 2018. – N 19 (2). – P. 216–228.
58. DiNardo, C.D. Clinical experience with the BCL2-inhibitor venetoclax in combination therapy for relapsed and refractory acute myeloid leukemia and related myeloid malignancies / C.D. DiNardo, C.R. Rausch, C. Benton [et al.] // *American Journal of Hematology*. – 2018. – N 93 (3). – P. 401–407.
59. Duarte, R.F. Indications for haematopoietic stem cell transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2019 / R.F. Duarte, M. Labopin, P. Bader [et al.] // *Bone Marrow Transplantation*. – 2019. – N 54 (10). – P. 1525–1552.
60. Duetz, C. Clinical implication of multi-parameter flow cytometry in myelodysplastic syndromes / C. Duetz, T.M. Westers, A.A. van de Loosdrecht [et al.] // *Pathobiology*. – 2019. – N 86 (1). – P. 14–23.
61. Duncavage, E.J. Mutation clearance after transplantation for myelodysplastic syndrome / E.J. Duncavage, M.A. Jacoby, G.S. Chang [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2018. – N 379 (11). – P. 1028–1041.
62. El-Cheikh, J. Low-dose 5-azacytidine as preventive therapy for relapse of AML and MDS following allogeneic HCT / J. El-Cheikh, R. Massoud, E. Fares [et al.] // *Bone Marrow Transplantation*. – 2017. – N 52 (6). – P. 918–921.
63. Elsayw, M. Up-to-date tools for risk assessment before allogeneic hematopoietic cell transplantation / M. Elsayw, M.L. Sorrow // *Bone Marrow Transplantation*. – 2016. – N 51 (10). – P. 1283–1300.
64. Fenaux, P. A phase 3 randomized, placebo-controlled study assessing the efficacy and safety of epoetin- α in anemic patients with low-risk MDS / P. Fenaux, V. Santini, M.A.A. Spiriti [et al.] // *Leukemia*. – 2018. – N 32 (12). – P. 2648–2658.
65. Fenaux, P. Luspatercept in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes / P. Fenaux, U. Platzbecker, G.J. Mufti [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2020. – N 382 (2). – P. 140–151.

66. Fenaux, P. A randomized phase 3 study of lenalidomide versus placebo in RBC transfusion-dependent patients with low-/intermediate-1-risk myelodysplastic syndromes with del5q / P. Fenaux, A. Giagounidis, D. Selleslag [et al.] // *Blood*. – 2011. – N 118 (14). – P. 3765–3776.
67. Fenaux, P. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study / P. Fenaux, G.J. Mufti, E. Hellstrom-Lindberg [et al.] // *The Lancet Oncology*. – 2009. – N 10 (3). – P. 223–232.
68. Field, T. 5-Azacitidine for myelodysplasia before allogeneic hematopoietic cell transplantation / T. Field, J. Perkins, Y. Huang [et al.] // *Bone Marrow Transplantation*. – 2010. – N 45 (2). – P. 255–260.
69. Flynn, C.M. Donor cell leukemia: insight into cancer stem cells and the stem cell niche / C.M. Flynn, D.S. Kaufman // *Blood*. – 2007. – N 109 (7). – P. 2688–2692.
70. Gagelmann, N. Optimized EBMT transplant-specific risk score in myelodysplastic syndromes after allogeneic stem-cell transplantation / N. Gagelmann, D.-J. Eikema, M. Stelljes [et al.] // *Haematologica*. – 2019. – N 104 (5). – P. 929–936.
71. Gao, L. Hypothesis: Tim-3/galectin-9, a new pathway for leukemia stem cells survival by promoting expansion of myeloid-derived suppressor cells and differentiating into tumor-associated macrophages / L. Gao, S. Yu, X. Zhang [et al.] // *Cell Biochemistry and Biophysics*. – 2014. – N 70 (1). – P. 273–277.
72. García-Castro, J. Mesenchymal stem cells are of recipient origin in pediatric transplantations using umbilical cord blood, peripheral blood, or bone marrow / J. García-Castro, A. Balas, M. Ramírez [et al.] // *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*. – 2007. – N 29 (6). – P. 388–392.
73. Garcia-Manero, G. A phase II study of nivolumab or ipilimumab with or without azacitidine for patients with myelodysplastic syndrome (MDS) / G. Garcia-Manero, K. Sasaki, G. Montalban-Bravo [et al.] // *Blood*. – 2018. – N 132 (Supplement 1). – P. 465.

74. Garcia-Manero, G. Rigosertib versus best supportive care for patients with high-risk myelodysplastic syndromes after failure of hypomethylating drugs (ONTIME): a randomised, controlled, phase 3 trial / G. Garcia-Manero, P. Fenaux, A. Al-Kali [et al.] // *The Lancet Oncology*. – 2016. – N 17 (4). – P. 496–508.
75. Garcia-Manero, G. A phase II study evaluating the combination of nivolumab (Nivo) or ipilimumab (Ipi) with azacitidine in Pts with previously treated or untreated myelodysplastic syndromes (MDS) / G. Garcia-Manero, N.G. Daver, G. Montalban-Bravo [et al.] // *Blood*. – 2016. – N 128 (22). – P. 344.
76. Gattermann, N. Iron overload in myelodysplastic syndromes (MDS) / N. Gattermann // *International Journal of Hematology*. – 2018. – N 107 (1). – P. 55–63.
77. Gautron, A.-S. Enhanced suppressor function of TIM-3⁺ FoxP3⁺ regulatory T cells / A.-S. Gautron, M. Dominguez-Villar, M. de Marcken [et al.] // *European Journal of Immunology*. – 2014. – N 44 (9). – P. 2703–2711.
78. Gelder, M. van. Monosomal karyotype predicts poor survival after allogeneic stem cell transplantation in chromosome 7 abnormal myelodysplastic syndrome and secondary acute myeloid leukemia / M. van Gelder, L.C. de Wreede, J. Schetelig [et al.] // *Leukemia*. – 2013. – N 27 (4). – P. 879–888.
79. Gerhartz, H.H. Treatment of myelodysplastic syndromes (MDS) and high leukaemic risk with low-dose cytosine arabinoside (LD-AraC) plus granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (rh GM-CSF). The EORTC Leukaemia Group / H.H. Gerhartz, R. Marcus, A. Delmer [et al.] // *Infection*. – 1992. – N 20 (Supplement 2). – P. S116–123.
80. Gratwohl, A. The EBMT risk score / A. Gratwohl // *Bone Marrow Transplantation*. – 2012. – N 47 (6). – P. 749–756.
81. Greenberg, P. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes / P. Greenberg, C. Cox, M.M. LeBeau [et al.] // *Blood*. – 1997. – N 89 (6). – P. 2079–2088.

82. Greenberg, P.L. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes / P.L. Greenberg, H. Tuechler, J. Schanz [et al.] // *Blood*. – 2012. – N 120 (12). – P. 2454–2465.
83. Haferlach, T. Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes / T. Haferlach, Y. Nagata, V. Grossmann [et al.] // *Leukemia*. – 2014. – N 28 (2). – P. 241–247.
84. Hanahan, D. Hallmarks of cancer: the next generation / D. Hanahan, R.A. Weinberg // *Cell*. – 2011. – N 144 (5). – P. 646–674.
85. Hanke, T. A highly selective chemical probe for activin receptor-like kinases ALK4 and ALK5 / T. Hanke, J.F. Wong, B.-T. Berger [et al.] // *ACS Chemical Biology*. – 2020. – N 15 (4). – P. 862–870.
86. Hasserjian, R.P. De novo acute myeloid leukemia with 20–29% blasts is less aggressive than acute myeloid leukemia with $\geq 30\%$ blasts in older adults: a Bone Marrow Pathology Group study / R.P. Hasserjian, F. Campigotto, V. Klepeis [et al.] // *American Journal of Hematology*. – 2014. – N 89 (11). – P. E193–E199.
87. Hast, R. Neutrophil dysplasia is not a specific feature of the abnormal chromosomal clone in myelodysplastic syndromes / R. Hast, M. Eriksson, S. Widell [et al.] // *Leukemia Research*. – 1999. – N 23 (6). – P. 579–584.
88. Henry, D.H. Roxadustat (FG4592; ASP1517; AZD9941) in the treatment of anemia in patients with lower risk myelodysplastic syndrome (LR-MDS) and low red blood cell (RBC) transfusion burden (LTB) / D.H. Henry, J. Glaspy, R.A. Harrup [et al.] // *Blood*. – 2019. – N 134 (Supplement 1). – P. 843.
89. Hou, H.-A. Incorporation of mutations in five genes in the revised International Prognostic Scoring System can improve risk stratification in the patients with myelodysplastic syndrome / H.-A. Hou, C.-H. Tsai, C.-C. Lin [et al.] // *Blood Cancer Journal*. – 2018. – N 8 (4). – P. 39.
90. Houston, B.L. A predictive model of response to erythropoietin stimulating agents in myelodysplastic syndrome: from the Canadian MDS patient registry / B.L. Houston, J. Jayakar, R.A. Wells [et al.] // *Annals of Hematology*. – 2017. – N 96 (12). – P. 2025–2029.

91. Huang, H.-T. Epigenetic deregulation in myeloid malignancies / H.-T. Huang, M.E. Figueroa // *Blood*. – 2021. – N 138 (8). – P. 613–624.
92. Ingham, P.W. Mechanisms and functions of Hedgehog signalling across the metazoan / P.W. Ingham, Y. Nakano, C. Seger [et al.] // *Nature Reviews Genetics*. – 2011. – N 12 (6). – P. 393–406.
93. Itzykson, R. Epigenetics of myelodysplastic syndromes / R. Itzykson, P. Fenaux // *Leukemia*. – 2014. – N 28 (3). – P. 497–506.
94. Jann, J.-C. Cohesin mutations in myeloid malignancies / J.-C. Jann, Z. Tothova // *Blood*. – 2021. – N 138 (8). – P. 649–661.
95. Jiang, H. CD47 is expressed abnormally on hematopoietic cells in myelodysplastic syndrome / H. Jiang, R. Fu, H. Wang [et al.] // *Leukemia Research*. – 2013. – N 37 (8). – P. 907–910.
96. Jiang, L. Impact of mutational variant allele frequency on prognosis in myelodysplastic syndromes / L. Jiang, L. Wang, C. Shen [et al.] // *American Journal of Cancer Research*. – 2020. – N 10 (12). – P. 4476–4487.
97. Jones, D.L. No place like home: anatomy and function of the stem cell niche / D.L. Jones, A.J. Wagers // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. – 2008. – N 9 (1). – P. 11–21.
98. Kanda, Y. Investigation of the freely available easy-to-use software ‘EZR’ for medical statistics / Y. Kanda // *Bone Marrow Transplantation*. – 2013. – N 48 (3). – P. 452–458.
99. Kantarjian, H. Proposal for a new risk model in myelodysplastic syndrome that accounts for events not considered in the original International Prognostic Scoring System / H. Kantarjian, S. O’Brien, F. Ravandi [et al.] // *Cancer*. – 2008. – N 113 (6). – P. 1351–1361.
100. Kantarjian, H.M. Multicenter, randomized, open-label, phase III trial of decitabine versus patient choice, with physician advice, of either supportive care or low-dose cytarabine for the treatment of older patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia / H.M. Kantarjian, X.G. Thomas, A. Dmoszynska [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2012. – N 30 (21). – P. 2670–2677.

101. Kennedy, A.L. Genetic predisposition to MDS: clinical features and clonal evolution / A.L. Kennedy, A. Shimamura // *Blood*. – 2019. – N 133 (10). – P. 1071–1085.
102. Kikushige, Y. A TIM-3/Gal-9 autocrine stimulatory loop drives self-renewal of human myeloid leukemia stem cells and leukemic progression / Y. Kikushige, T. Miyamoto, J. Yuda [et al.] // *Cell Stem Cell*. – 2015. – N 17 (3). – P. 341–352.
103. Kikushige, Y. TIM-3 is a promising target to selectively kill acute myeloid leukemia stem cells / Y. Kikushige, T. Shima, S. Takayanagi [et al.] // *Cell Stem Cell*. – 2010. – N 7 (6). – P. 708–717.
104. Kim, J.R. Tumor infiltrating PD1-positive lymphocytes and the expression of PD-L1 predict poor prognosis of soft tissue sarcomas / J.R. Kim, Y.J. Moon, K.S. Kwon [et al.] // *PLoS ONE*. – 2013. – N 8 (12). – P. e82870.
105. Kim, J.Y. Tumor mutational burden and efficacy of immune checkpoint inhibitors: A systematic review and meta-analysis / J.Y. Kim, A. Kronbichler, M. Eisenhut [et al.] // *Cancers*. – 2019. – N 11. – P. 1798.
106. Komrokji, R.S. Autoimmune diseases and myelodysplastic syndromes / R.S. Komrokji, A. Kulasekararaj, N.H. Al Ali [et al.] // *American Journal of Hematology*. – 2016. – N 91 (5). – P. E280–283.
107. Komrokji, R. Donor cell myelodysplastic syndrome after allogeneic stem cell transplantation responding to donor lymphocyte infusion: Case report and literature review / R. Komrokji, J.J. Ifthikharuddin, R.E. Felgar [et al.] // *American Journal of Hematology*. – 2004. – N 76 (4). – P. 389–394.
108. Konopleva, M. BCL-2 inhibition in AML: an unexpected bonus? / M. Konopleva, A. Letai // *Blood*. – 2018. – N 132 (10). – P. 1007–1012.
109. Kordasti, S.Y. CD4⁺CD25^{high} Foxp3⁺ regulatory T cells in myelodysplastic syndrome (MDS) / S.Y. Kordasti, W. Ingram, J. Hayden [et al.] // *Blood*. – 2007. – N 110 (3). – P. 847–850.
110. Kosmider, O. Are somatic mutations predictive of response to erythropoiesis stimulating agents in lower risk myelodysplastic syndromes? / O. Kosmider,

- M. Passet, V. Santini [et al.] // *Haematologica*. – 2016. – N 101 (7). – P. e280–e283.
111. Krevvata, M. Cytokines increase engraftment of human acute myeloid leukemia cells in immunocompromised mice but not engraftment of human myelodysplastic syndrome cells / M. Krevvata, X. Shan, C. Zhou [et al.] // *Haematologica*. – 2018. – N 103 (6). – P. 959–971.
112. Kröger, N. Dose-reduced versus standard conditioning followed by allogeneic stem-cell transplantation for patients with myelodysplastic syndrome: A prospective randomized phase III study of the EBMT (RICMAC trial) / N. Kröger, S. Iacobelli, G.-N. Franke [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2017. – N 35 (19). – P. 2157–2164.
113. Kröger, N. Allogeneic stem cell transplantation for older advanced MDS patients: improved survival with young unrelated donor in comparison with HLA-identical siblings / N. Kröger, T. Zabelina, L. de Wreede [et al.] // *Leukemia*. – 2013. – N 27 (3). – P. 604–609.
114. Kröger, N. Comparison between 5-azacytidine treatment and allogeneic stem-cell transplantation in elderly patients with advanced MDS according to donor availability (VidazaAllo study) / N. Kröger, K. Sockel, C. Wolschke [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2021. – N 39 (30). – P. 3318–3327.
115. Lamy, T. LGL leukemia: from pathogenesis to treatment / T. Lamy, A. Moignet, T.P. Loughran [et al.] // *Blood*. – 2017. – N 129 (9). – P. 1082–1094.
116. Lee, J.-H. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for myelodysplastic syndrome: prognostic significance of pre-transplant IPSS score and comorbidity / J.-H. Lee, J.-H. Lee, S.-N. Lim [et al.] // *Bone Marrow Transplantation*. – 2010. – N 45 (3). – P. 450–457.
117. Lee, L.H. Patterns and prognostic relevance of PD-1 and PD-L1 expression in colorectal carcinoma / L.H. Lee, M.S. Cavalcanti, N.H. Segal [et al.] // *Modern Pathology*. – 2016. – N 29 (11). – P. 1433–1442.
118. Li, Y. Prognostic impact of programmed cell death-1 (PD-1) and PD-ligand 1 (PD-L1) expression in cancer cells and tumor infiltrating lymphocytes in colorectal

- cancer / Y. Li, L. Liang, W. Dai [et al.] // *Molecular Cancer*. – 2016. – N 15 (1). – P. 55.
119. List, A. Lenalidomide in the myelodysplastic syndrome with chromosome 5q deletion / A. List, G. Dewald, J. Bennett [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2006. – N 355 (14). – P. 1456–1465.
120. Liu, J. Pre-clinical development of a humanized anti-CD47 antibody with anti-cancer therapeutic potential / J. Liu, L. Wang, F. Zhao [et al.] // *PLoS ONE*. – 2015. – N 10 (9). – P. e0137345.
121. Lodé, L. Emergence and evolution of TP53 mutations are key features of disease progression in myelodysplastic patients with lower-risk del(5q) treated with lenalidomide / L. Lodé, A. Ménard, L. Flet [et al.] // *Haematologica*. – 2018. – N 103 (4). – P. e143–e146.
122. Ma, X. Epidemiology of myelodysplastic syndromes / X. Ma // *The American Journal of Medicine*. – 2012. – N 125 (Supplement 7). – P. S2–S5.
123. Majeti, R. CD47 is an adverse prognostic factor and therapeutic antibody target on human acute myeloid leukemia stem cells / R. Majeti, M.P. Chao, A.A. Alizadeh [et al.] // *Cell*. – 2009. – N 138 (2). – P. 286–299.
124. Malcovati, L. Time-dependent prognostic scoring system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes / L. Malcovati, U. Germing, A. Kuendgen [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2007. – N 25 (23). – P. 3503–3510.
125. Malcovati, L. SF3B1-mutant MDS as a distinct disease subtype: a proposal from the International Working Group for the Prognosis of MDS / L. Malcovati, K. Stevenson, E. Papaemmanuil [et al.] // *Blood*. – 2020. – N 136 (2). – P. 157–170.
126. Marin, A.J.S. Survival analysis in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in myelodysplastic syndrome and chronic myelomonocytic leukemia. Importance of the previous situation / A.J.S. Marin, B.A. Mahillo, C. Nunez-Torron [et al.] // *Bone Marrow Transplantation*. – 2021. – N 56 (1). – P. 184–335.

127. Martincorena, I. Somatic mutation in cancer and normal cells / I. Martincorena, P.J. Campbell // *Science*. – 2015. – N 349 (6255). – P. 1483–1489.
128. Means, R.T. Jr. Pure red cell aplasia / R.T. Jr Means // *Blood*. – 2016. – N 128 (21). – P. 2504–2509.
129. Medyouf, H. Myelodysplastic cells in patients reprogram mesenchymal stromal cells to establish a transplantable stem cell niche disease unit / H. Medyouf, M. Mossner, J.-C. Jann [et al.] // *Cell Stem Cell*. – 2014. – N 14 (6). – P. 824–837.
130. Meisel, R. Human bone marrow stromal cells inhibit allogeneic T-cell responses by indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated tryptophan degradation / R. Meisel, A. Zibert, M. Laryea [et al.] // *Blood*. – 2004. – N 103 (12). – P. 4619–4621.
131. Meletis, J. Detection of CD55 and/or CD59 deficient red cell populations in patients with aplastic anaemia, myelodysplastic syndromes and myeloproliferative disorders / J. Meletis, E. Terpos, M. Samarkos [et al.] // *Haematologia*. – 2001. – N 31 (1). – P. 7–16.
132. Menendez, P. Bone marrow mesenchymal stem cells from infants with MLL-AF4+ acute leukemia harbor and express the MLL-AF4 fusion gene / P. Menendez, P. Catalina, R. Rodríguez [et al.] // *Journal of Experimental Medicine*. – 2009. – N 206 (13). – P. 3131–3141.
133. Modabber, Z. TIM-3 as a potential exhaustion marker in CD4+ T cells of COVID-19 patients / Z. Modabber, M. Shahbazi, R. Akbari [et al.] // *Immunity, Inflammation and Disease*. – 2021. – N 9 (4). – P. 1707–1715.
134. Mohammadizad, H. TIM-3 as a marker of exhaustion in CD8+ T cells of active chronic hepatitis B patients / H. Mohammadizad, M. Shahbazi, M.R. Hasanjani Roushan [et al.] // *Microbial Pathogenesis*. – 2019. – N 128. – P. 323–328.
135. Montoro, J. Autoimmune disorders are common in myelodysplastic syndrome patients and confer an adverse impact on outcomes / J. Montoro, L. Gallur, B. Merchán [et al.] // *Annals of Hematology*. – 2018. – N 97 (8). – P. 1349–1356.
136. Morozova, E.V. New therapeutic options in myelodysplastic syndrome: literature review and single-center treatment results / E.V. Morozova, N.Y. Tsvetkov,

- I.O. Turtanova [et al.] // Cellular Therapy and Transplantation. – 2021. –N 10 (1). – P. 24–36.
137. Muench, D.E. SKI controls MDS-associated chronic TGF- β signaling, aberrant splicing, and stem cell fitness / D.E. Muench, K. Ferchen, C.S. Velu [et al.] // Blood. – 2018. – N 132 (21). – P. e24–e34.
138. Nagata, C. Hair dye use and occupational exposure to organic solvents as risk factors for myelodysplastic syndrome / C. Nagata, H. Shimizu, K. Hirashima [et al.] // Leukemia Research. – 1999. – N 23 (1). – P. 57–62.
139. Nagata, Y. Invariant patterns of clonal succession determine specific clinical features of myelodysplastic syndromes / Y. Nagata, H. Makishima, C.M. Kerr [et al.] // Nature Communications. – 2019. – N 10 (1). – P. 5386.
140. Navada, S.C. Phase 2 expansion study of oral rigosertib combined with azacitidine (AZA) in patients (Pts) with higher-risk (HR) myelodysplastic syndromes (MDS): efficacy and safety results in HMA treatment naïve & relapsed (Rel)/refractory (Ref) patients / S.C. Navada, G. Garcia-Manero, E.L. Atallah [et al.] // Blood. – 2018. – N 132 (Supplement 1). – P. 230.
141. Nazha, A. The MDS genomics-prognosis symbiosis / A. Nazha // Hematology: the American Society of Hematology Education Program. – 2018. – N 2018 (1). – P. 270–276.
142. Nazha, A. Incorporation of molecular data into the Revised International Prognostic Scoring System in treated patients with myelodysplastic syndromes / A. Nazha, M. Narkhede, T. Radivoyevitch [et al.] // Leukemia. – 2016. – N 30 (11). – P. 2214–2220.
143. Oelschlaegel, U. Comparison of five diagnostic flow cytometry scores in patients with myelodysplastic syndromes: Diagnostic power and prognostic impact / U. Oelschlaegel, L. Oelschlaeger, M. von Bonin [et al.] // Cytometry Part B: Clinical Cytometry. – 2021. – N n/a.
144. Ogawa, S. Genetics of MDS / S. Ogawa // Blood. – 2019. – N 133 (10). – P. 1049–1059.

145. Papaemmanuil, E. Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes / E. Papaemmanuil, M. Gerstung, L. Malcovati [et al.] // *Blood*. – 2013. – N 122 (22). – P. 3616–3627.
146. Parimon, T. A risk score for mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation / T. Parimon, D.H. Au, P.J. Martin [et al.] // *Annals of Internal Medicine*. – 2006. – N 144 (6). – P. 407–414.
147. Park, S. Outcome of lower-risk patients with myelodysplastic syndromes without 5q deletion after failure of erythropoiesis-stimulating agents / S. Park, J.-F. Hamel, A. Toma [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2017. – N 35 (14). – P. 1591–1597.
148. Park, S. Predictive factors of response and survival in myelodysplastic syndrome treated with erythropoietin and G-CSF: the GFM experience / S. Park, S. Grabar, C. Kelaidi [et al.] // *Blood*. – 2008. – N 111 (2). – P. 574–582.
149. Pilo, F. A storm in the niche: Iron, oxidative stress and haemopoiesis / F. Pilo, E. Angelucci // *Blood Reviews*. – 2018. – N 32 (1). – P. 29–35.
150. Platzbecker, U. Treatment of MDS / U. Platzbecker // *Blood*. – 2019. – N 133 (10). – P. 1096–1107.
151. Platzbecker, U. Luspatercept for the treatment of anaemia in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes (PACE-MDS): a multicentre, open-label phase 2 dose-finding study with long-term extension study / U. Platzbecker, U. Germing, K.S. Götze [et al.] // *The Lancet Oncology*. – 2017. – N 18 (10). – P. 1338–1347.
152. Platzbecker, U. Proposals for revised IWG 2018 hematological response criteria in patients with MDS included in clinical trials / U. Platzbecker, P. Fenaux, L. Adès [et al.] // *Blood*. – 2019. – N 133 (10). – P. 1020–1030.
153. Pratz, K.W. Updated results from a phase 1 study of gilteritinib in combination with induction and consolidation chemotherapy in subjects with newly diagnosed acute myeloid leukemia (AML) / K.W. Pratz, M. Cherry, J.K. Altman [et al.] // *Blood*. – 2018. – N 132 (Supplement 1). – P. 564.
154. Pronk, E. The mesenchymal niche in MDS / E. Pronk, M.H.G.P. Raaijmakers // *Blood*. – 2019. – N 133 (10). – P. 1031–1038.

155. Raaijmakers, M.H.G.P. Bone progenitor dysfunction induces myelodysplasia and secondary leukaemia / M.H.G.P. Raaijmakers, S. Mukherjee, S. Guo [et al.] // *Nature*. – 2010. – N 464 (7290). – P. 852–857.
156. Raggi, C. Cancer stem cells and tumor-associated macrophages: a roadmap for multitargeting strategies / C. Raggi, H.S. Mousa, M. Correnti [et al.] // *Oncogene*. – 2016. – N 35 (6). – P. 671–682.
157. Rieger, K. Mesenchymal stem cells remain of host origin even a long time after allogeneic peripheral blood stem cell or bone marrow transplantation / K. Rieger, O. Marinets, T. Fietz [et al.] // *Experimental Hematology*. – 2005. – N 33 (5). – P. 605–611.
158. Risitano, A.M. (Auto-)immune signature in aplastic anemia / A.M. Risitano // *Haematologica*. – 2018. – N 103 (5). – P. 747–749.
159. Russ, A. Blocking «don't eat me» signal of CD47-SIRP α in hematological malignancies, an in-depth review / A. Russ, A.B. Hua, W.R. Montfort [et al.] // *Blood Reviews*. – 2018. – N 32 (6). – P. 480–489.
160. Sallman, D.A. The central role of inflammatory signaling in the pathogenesis of myelodysplastic syndromes / D.A. Sallman, A. List // *Blood*. – 2019. – N 133 (10). – P. 1039–1048.
161. Sallman, D.A. The first-in-class anti-CD47 antibody magrolimab (5F9) in combination with azacitidine is effective in MDS and AML patients: Ongoing phase 1b results / D.A. Sallman, A.S. Asch, M.M. Al Malki // *Blood*. – 2019. – N 134 (Supplement 1). – P. 569.
162. Santamaría, C. Impaired expression of DICER, DROSHA, SBDS and some microRNAs in mesenchymal stromal cells from myelodysplastic syndrome patients / C. Santamaría, S. Muntión, B. Rosón [et al.] // *Haematologica*. – 2012. – N 97 (8). – P. 1218–1224.
163. Santini, V. Phase II study of the ALK5 inhibitor galunisertib in very low-, low-, and intermediate-risk myelodysplastic syndromes / V. Santini, D. Valcárcel, U. Platzbecker [et al.] // *Clinical Cancer Research*. – 2019. – N 25 (23). – P. 6976–6985.

164. Sato, N. Transformation of myelodysplastic syndrome to acute lymphoblastic leukemia: a case report and review of the literature / N. Sato, T. Nakazato, M. Kizaki [et al.] // *International Journal of Hematology*. – 2004. – N 79 (2). – P. 147–151.
165. Savona, M.R. Phase Ib study of glasdegib, a hedgehog pathway inhibitor, in combination with standard chemotherapy in patients with AML or high-risk MDS / M.R. Savona, D.A. Pollyea, W. Stock [et al.] // *Clinical Cancer Research*. – 2018. – N 24 (10). – P. 2294–2303.
166. Schnatter, A.R. Myelodysplastic syndrome and benzene exposure among petroleum workers: An international pooled analysis / A.R. Schnatter, D.C. Glass, G. Tang [et al.] // *Journal of the National Cancer Institute*. – 2012. – N 104 (22). – P. 1724–1737.
167. Schroeder, T. Comparison between upfront transplantation and different pretransplant cytoreductive treatment approaches in patients with high-risk myelodysplastic syndrome and secondary acute myelogenous leukemia / T. Schroeder, N. Wegener, M. Lauseker [et al.] // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2019. – N 25 (8). – P. 1550–1559.
168. Scott, B.L. Myeloablative versus reduced-intensity hematopoietic cell transplantation for acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes / B.L. Scott, M.C. Pasquini, B.R. Logan [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2017. – N 35 (11). – P. 1154–1161.
169. Shalapour, S. Leukemia-associated genetic aberrations in mesenchymal stem cells of children with acute lymphoblastic leukemia / S. Shalapour, C. Eckert, K. Seeger [et al.] // *Journal of Molecular Medicine*. – 2010. – N 88 (3). – P. 249–265.
170. Sorrow, M.L. Prospective validation of the predictive power of the Hematopoietic Cell Transplantation Comorbidity Index: A Center for International Blood and Marrow Transplant Research study / M.L. Sorrow, B.R. Logan, X. Zhu [et al.] // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2015. – N 21 (8). – P. 1479–1487.

171. Sorror, M.L. Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT / M.L. Sorror, M.B. Maris, R. Storb [et al.] // *Blood*. – 2005. – N 106 (8). – P. 2912–2919.
172. Stahl, M. Use of immunosuppressive therapy for management of myelodysplastic syndromes: a systematic review and meta-analysis / M. Stahl, J.P. Bewersdorf, S. Giri [et al.] // *Haematologica*. – 2020. – N 105 (1). – P. 102–111.
173. Stauder, R. Anemia at older age: etiologies, clinical implications, and management / R. Stauder, P. Valent, I. Theurl [et al.] // *Blood*. – 2018. – N 131 (5). – P. 505–514.
174. Steensma, D.P. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes / D.P. Steensma, R. Bejar, S. Jaiswal [et al.] // *Blood*. – 2015. – N 126 (1). – P. 9–16.
175. Steidl, C. Adequate cytogenetic examination in myelodysplastic syndromes: analysis of 529 patients / C. Steidl, R. Steffens, W. Gassmann [et al.] // *Leukemia Research*. – 2005. – N 29 (9). – P. 987–993.
176. Stein, E.M. Enasidenib (AG-221), a potent oral inhibitor of mutant isocitrate dehydrogenase 2 (IDH2) enzyme, induces hematologic responses in patients with myelodysplastic syndromes (MDS) / E.M. Stein, A.T. Fathi, C.D. DiNardo [et al.] // *Blood*. – 2016. – N 128 (22). – P. 343.
177. Stevens, B.M. CD123 CAR T cells for the treatment of myelodysplastic syndrome / B.M. Stevens, W. Zhang, D.A. Pollyea [et al.] // *Experimental Hematology*. – 2019. – N 74. – P. 52–63.e3.
178. Stifter, G. Over-expression of tumor necrosis factor-alpha in bone marrow biopsies from patients with myelodysplastic syndromes: relationship to anemia and prognosis / G. Stifter, S. Heiss, G. Gastl [et al.] // *European Journal of Haematology*. – 2005. – N 75 (6). – P. 485–491.
179. Stone, R.M. Midostaurin plus chemotherapy for acute myeloid leukemia with a FLT3 mutation / R.M. Stone, S.J. Mandrekar, B.L. Sanford [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2017. – N 377 (5). – P. 454–464.

180. Strati, P. Phase I/II trial of the combination of midostaurin (PKC412) and 5-azacytidine for patients with acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome / P. Strati, H. Kantarjian, F. Ravandi [et al.] // *American Journal of Hematology*. – 2015. – N 90 (4). – P. 276–281.
181. Sun, C. Expression of PD-1 and PD-L1 on tumor-infiltrating lymphocytes predicts prognosis in patients with small-cell lung cancer / C. Sun, L. Zhang, W. Zhang [et al.] // *OncoTargets and Therapy*. – 2020. – N 13. – P. 6475–6483.
182. Tan, J. Increased PD-1+Tim-3+ exhausted T cells in bone marrow may influence the clinical outcome of patients with AML / J. Tan, Z. Yu, J. Huang [et al.] // *Biomarker Research*. – 2020. – N 8 (1). – P. 6.
183. Tanaka, T.N. MDS overlap disorders and diagnostic boundaries / T.N. Tanaka, R. Bejar [et al.] // *Blood*. – 2019. – N 133 (10). – P. 1086–1095.
184. Tang, R. Tim-3: A co-receptor with diverse roles in T cell exhaustion and tolerance / R. Tang, M. Rangachari, V.K. Kuchroo [et al.] // *Seminars in Immunology*. – 2019. – N 42. – P. 101302.
185. Tcvetkov, N.U. Meta-analysis of studies with genome sequencing in myelodysplastic syndrome treated with hypomethylating agents / N.U. Tcvetkov, O.S. Epifanovskaya, Y.V. Rudnitskaya [et al.] // *Cellular Therapy and Transplantation*. – 2018. – N 7 (1). – P. 44–51.
186. Thomas, H. Mutation and clonal selection in the ageing oesophagus / H. Thomas // *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. – 2019. – N 16 (3). – P. 139–139.
187. Tiu, R. Clonality of the stem cell compartment during evolution of myelodysplastic syndromes and other bone marrow failure syndromes / R. Tiu, L. Gondek, C. O’Keefe [et al.] // *Leukemia*. – 2007. – N 21 (8). – P. 1648–1657.
188. Tong, H. A meta-analysis of the relationship between cigarette smoking and incidence of myelodysplastic syndromes / H. Tong, C. Hu, X. Yin [et al.] // *PLoS ONE*. – 2013. – N 8 (6). – P. e67537.
189. Tsirigotis, P. Natural killer cell cytotoxicity is a predictor of outcome for patients with high risk myelodysplastic syndrome and oligoblastic acute myeloid leukemia

- treated with azacytidine / P. Tsirigotis, R. Grigoriou, V. Kapsimalli [et al.] // *Blood*. – 2017. – N 130 (Supplement 1). – P. 2976.
190. Valent, P. Proposed minimal diagnostic criteria for myelodysplastic syndromes (MDS) and potential pre-MDS conditions / P. Valent, A. Orazi, D.P. Steensma [et al.] // *Oncotarget*. – 2017. – N 8 (43). – P. 73483–73500.
191. Wang, Y. Haploidentical transplant for myelodysplastic syndrome: registry-based comparison with identical sibling transplant / Y. Wang, H.-X. Wang, Y.-R. Lai [et al.] // *Leukemia*. – 2016. – N 30 (10). – P. 2055–2063.
192. Warlick, E.D. Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network study 1102 heralds a new era in hematopoietic cell transplantation in high-risk myelodysplastic syndromes: Challenges and opportunities in implementation / E.D. Warlick, C. Ustun, A. Andreescu [et al.] // *Cancer*. – 2021. – N 127 (23). – P. 4339–4347.
193. Wendelbo, Ø. Functional characterization of T lymphocytes derived from patients with acute myelogenous leukemia and chemotherapy-induced leukopenia / Ø. Wendelbo, I. Nesthus, M. Sjo[et al.] // *Cancer Immunology, Immunotherapy*. – 2004. – N 53 (8). – P. 740–747.
194. Winter, S. Integrating the «immunome» in the stratification of myelodysplastic syndromes and future clinical trial design / S. Winter, S. Shoaie, S. Kordasti [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2020. – N 38 (15). – P. 1723–1735.
195. Wiseman, D.H. Donor cell leukemia: a review / D.H. Wiseman // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2011. – N 17 (6). – P. 771–789.
196. Witte, T. de. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for MDS and CMML: recommendations from an international expert panel / T. de Witte, D. Bowen, M. Robin [et al.] // *Blood*. – 2017. – N 129 (13). – P. 1753–1762.
197. Wong, W.F. Interplay of transcription factors in T-cell differentiation and function: the role of Runx / W.F. Wong, K. Kohu, T. Chiba [et al.] // *Immunology*. – 2011. – N 132 (2). – P. 157–164.

198. Xu, W. Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of α -ketoglutarate-dependent dioxygenases / W. Xu, H. Yang, Y. Liu [et al.] // *Cancer Cell*. – 2011. – N 19 (1). – P. 17–30.
199. Yang, H. Expression of PD-L1, PD-L2, PD-1 and CTLA4 in myelodysplastic syndromes is enhanced by treatment with hypomethylating agents / H. Yang, C. Bueso-Ramos, C. DiNardo [et al.] // *Leukemia*. – 2014. – N 28 (6). – P. 1280–1288.
200. Yoshida, Y. Co-occurrence of monoclonal gammopathy and myelodysplasia: a retrospective study of fourteen cases / Y. Yoshida, S. Oguma, H. Ohno [et al.] // *International Journal of Hematology*. – 2014. – N 99 (6). – P. 721–725.
201. Zahid, M.F. Cytogenetic abnormalities in myelodysplastic syndromes: An overview / M.F. Zahid, U.A. Malik, M. Sohail [et al.] // *International Journal of Hematology-Oncology and Stem Cell Research*. – 2017. – N 11 (3). – P. 231–239.
202. Zeidan, A.M. Comparative clinical effectiveness of azacitidine versus decitabine in older patients with myelodysplastic syndromes / A.M. Zeidan, A.J. Davidoff, J.B. Long [et al.] // *British Journal of Haematology*. – 2016. – N 175 (5). – P. 829–840.
203. Zermati, Y. Transforming growth factor inhibits erythropoiesis by blocking proliferation and accelerating differentiation of erythroid progenitors / Y. Zermati, S. Fichelson, F. Valensi [et al.] // *Experimental Hematology*. – 2000. – N 28 (8). – P. 885–894.
204. Zhang, P. The physical microenvironment of hematopoietic stem cells and its emerging roles in engineering applications / P. Zhang, C. Zhang, J. Li [et al.] // *Stem Cell Research & Therapy*. – 2019. – N 10 (1). – P. 327.
205. Zhang, W. Abnormal populations and functions of natural killer cells in patients with myelodysplastic syndromes / W. Zhang, X. Xie, H. Mi [et al.] // *Oncology Letters*. – 2018. – N 15 (4). – P. 5497–5504.
206. Zhou, L. Reduced SMAD7 leads to overactivation of TGF- β signaling in MDS that can be reversed by a specific inhibitor of TGF- β receptor I kinase / L. Zhou,

- C. McMahon, T. Bhagat [et al.] // *Cancer Research*. – 2011. – N 71 (3). – P. 955–963.
207. Zwierzina, H. Low-dose cytosine arabinoside (LD-AraC) vs LD-AraC plus granulocyte/macrophage colony stimulating factor vs LD-AraC plus Interleukin-3 for myelodysplastic syndrome patients with a high risk of developing acute leukemia: final results of a randomized phase III study (06903) of the EORTC Leukemia Cooperative Group / H. Zwierzina, S. Suci, J. Loeffler-Ragg [et al.] // *Leukemia*. – 2005. – N 19 (11). – P. 1929–1933.