

А.А. Фильченков

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

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «СОВРЕМЕННАЯ ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИХ СИНДРОМОВ И ОСТРЫХ МИЕЛОИДНЫХ ЛЕЙКОЗОВ»

4–5 октября 2018 г. в Институте экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии (ИЭПОР) им. Р.Е. Кавецкого Национальной академии наук (НАН) Украины состоялась научно-практическая конференция «Современная диагностика и лечение миелодиспластических синдромов и острых миелоидных лейкозов». Инициатором мероприятия стал ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого совместно с Государственным учреждением (ГУ) «Национальный научный центр радиационной медицины Национальной академии медицинских наук (НАМН) Украины». Спонсором конференции выступило ООО «Др. Редди'с Лабораторис Лимитед» в Украине. В работе конференции приняли участие более 120 врачей-гематологов, онкологов и клинических лаборантов из разных областей Украины.

Открыл конференцию директор ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого, академик НАН Украины **В.Ф. Чехун**. В своем приветственном слове он отметил, что сотрудниками отдела онкогематологии института разработаны и усовершенствованы уникальные подходы к ранней и уточненной диагностике злокачественных новообразований лимфоидной и кровяной ткани. «Являясь передовым научным центром, мы можем предоставить врачам в регионах имеющиеся у нас современные диагностические технологии, которые помогут им в их практической деятельности», — подчеркнул В.Ф. Чехун. Особое внимание выступающий обратил на важность таких вопросов, как привлечение и обучение кадров, использование современного оборудования и внедрение новых медицинских технологий, в том числе определение у больных миелодиспластическими синдромами (МДС) малых некодирующих РНК (микроРНК). Как известно, они представляют собой малые (не более 19–22 нуклеотидов) некодирующие одноцепочечные РНК, которые негативно регулируют экспрессию генов, вызывая расщепление соответствующей мРНК или блокируя ее трансляцию. В геноме человека обнаружено более тысячи микроРНК, каждая из которых потенциально может регулировать сотни мРНК. В целом мишенями микроРНК являются около 60% всех белок-кодирующих генов. Циркулирующие в крови молекулы микроРНК — относительно новый объект изучения для онкогематологии, но уже сейчас получены убедительные данные о важной роли, которую играют микроРНК в регуляции кровяной системы и лимфоцитоза. В случае МДС и острых миелоидных лейкозов (ОМЛ) активация, связанная с механизмами врожденного иммунитета и обусловленная изменениями ми-

кроРНК, особенно выражена в гемопоэтических стволовых клетках (ГСК) и клетках-предшественниках. Например, у больных МДС было установлено нарушение регуляции микроРНК-21, связывающейся непосредственно с 3'-нетранслируемым участком гена *SMAD7*. При МДС отмечается значительное снижение содержания белка *SMAD7*, что приводит к гиперактивации рецептора трансформирующего фактора роста бета, который вызывает нарушения регуляции ГСК при МДС. Снижение экспрессии микроРНК-145 и микроРНК-146а отмечается в 80% случаев МДС с делецией длинного плеча хромосомы 5. Высокий уровень экспрессии микроРНК-181/a/c/d, микроРНК-221, микроРНК-376, микроРНК-155, микроРНК-130а и низкая экспрессия микроРНК-486-5р ассоциированы с высоким риском возникновения МДС. Вместе с тем известно, что при высоких уровнях содержания микроРНК-155, микроРНК-126 и микроРНК-130 отмечается повышение частоты тромбоцитопений, что характерно для прогрессирования МДС. При данном заболевании фиксируют также снижение показателей безрецидивной и общей выживаемости у больных с низким уровнем циркулирующих в крови молекул микроРНК-16 и let-7a. Для проведения анализа важно, что микроРНК характеризуются высокой стабильностью, что позволяет надежно определять их содержание в сыворотке, плазме и цельной крови.

В представленных на конференции докладах ведущих специалистов были освещены актуальные вопросы диагностики и терапии МДС и ОМЛ.

Лекционная часть конференции была открыта докладом «Современная классификация миелодиспластических синдромов», который представили заведующий отделом онкогематологии

ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, доктор медицинских наук, профессор **Д.Ф. Глузман**, доктор медицинских наук **Л.М. Скляренко**, кандидат биологических наук **Т.С. Ивановская**. В новой, пересмотренной в 2017 г. классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в разделе, посвященном миелоидным новообразованиям и острым лейкозам, к числу важнейших критериев для выделения отдельных форм МДС отнесены степень выраженности диспластических изменений и процентное содержание бластов в костном мозге и периферической крови больных. Согласно этим критериям предлагается выделять следующие нозологические формы заболевания: МДС с однолинейной дисплазией, МДС с кольцевыми сидеробластами (МДС-КС) с однолинейной или мультилинейной дисплазией, МДС с изолированной делецией длинного плеча 5-й хромосомы ($\text{del}(5q)$); МДС с избытком бластов 1-го или 2-го типов, МДС неклассифицируемый и рефрактерную цитопению детского возраста. Важно отличать МДС от реактивных цитопений и дисплазий, вызванных действием различных факторов. Порогом для определения дисплазии считается обнаружение 10% и более клеток с диспластическими изменениями, относящихся к любой из линий гемопоэза. Однако следует учитывать, что в некоторых случаях подобный уровень дисплазии может быть обнаружен как у некоторых здоровых людей, так и при цитопениях, не связанных с неопластическим процессом. К числу сравнительно специфических и воспроизводимых при миелодисплазии признаков относят наличие микромегакариоцитов, идентифицированных с помощью иммуноцитохимических маркеров. Процентное содержание бластов миелоидной природы, выявленных в мазках костного мозга и крови, считается ключевым критерием для определения формы МДС. Согласно новой классификации ВОЗ, в случаях, когда объем клеток эритроидного роста превышает 50%, пересчет содержания бластных клеток в костном мозге на незэритроидные элементы проводить не нужно. Вопросы, связанные с точностью идентификации бластных клеток в костном мозге и крови, имеют первостепенное значение для дифференциации МДС и ОМЛ с изменениями, связанными с миелодисплазией, а также при выборе методов терапии.

В докладе были представлены результаты многолетнего опыта проведения цитоморфологических, цитохимических и иммуноцитохимических исследований крови и костного мозга больных МДС в ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого. Показано, что у 90% больных МДС определяются признаки анемии, как правило, макроцитарной. Нейтропения и тромбоцитопения в момент установления диагноза выявляются почти у 30% больных, очень редко — при отсутствии анемии. В ряде случаев может быть обнаружено небольшое количество циркулирующих в крови бластов, которое редко превышает

5%. Исследование костного мозга является обязательным и занимает центральное место в диагностике МДС. Как правило, для распознавания МДС достаточно проведения цитологического исследования мазков из пункта костного мозга. У большинства больных МДС отмечается гиперклеточность костного мозга и признаки диспластических изменений в клетках одной и более линий миелопоэза. Содержание бластных клеток (агранулярных бластов и миелобластов, но не промиелоцитов) обычно не превышает 20%.

Особое внимание в сообщении было уделено иммуногистохимическому изучению трепанобиоптатов подвздошной кости, которое проводится с целью исключения реактивных изменений и вторичной миелодисплазии. При иммуногистохимическом исследовании срезов с помощью моноклональных антител (МкАт) к антигену CD34 удается подтвердить наличие скоплений бластных клеток. Учитывая, что положительная реакция при этом наблюдается и в эндотелиальных клетках, для окончательной верификации бластов используют МкАт к антигену CD117. Метод является крайне важным при наличии у больных миелофиброза (15–20% больных МДС).

В продолжение темы первого доклада прозвучала лекция профессора кафедры внутренней медицины № 1 Национального медицинского университета им. А.А. Богомольца, заведующего отделом медицинской генетики Института экспериментальной радиологии ГУ «Национальный научный центр радиационной медицины НАМН Украины», доктора медицинских наук, профессора **С.В. Клименко** «Цитогенетическая и молекулярная диагностика МДС». Для диагностики МДС необходимо проведение комплексного обследования, одним из обязательных элементов которого является цитогенетический анализ, в частности определение кариотипа клеток костного мозга. Оценка цитогенетических аномалий в костном мозге у больных МДС важна для подтверждения клональной природы заболевания, определения прогноза заболевания и выбора терапевтической тактики. Цитогенетические аномалии в клетках костного мозга выявляют примерно у 40–50% пациентов с МДС, и их разнообразие в значительной степени характеризует течение заболевания. Так, изолированная делеция длинного плеча 5-й хромосомы выявляется у пациентов с отдельной нозологической формой МДС, так называемым $5q^-$ синдромом, характеризующимся хорошим ответом на иммуномодулирующую терапию и благоприятным прогнозом. Изолированная трисомия 8 позволяет отнести пациента к группе промежуточного риска и является прогностическим фактором эффективности иммуносупрессивной терапии. Аномалии 7-й хромосомы (моносомия или делеция длинного плеча) определяют крайне неблагоприятный прогноз и диктуют необходимость выбора агрессивной тактики лечения, в том числе выполнения

трансплантации аллогенных ГСК. Комплексные хромосомные аномалии (3 и более) могут включать $-5/\text{del}(5q)$, $-7/\text{del}(7q)$, $\text{del}(17p)$ и чаще всего ассоциируются со вторичными МДС и неблагоприятным течением заболевания. К другим аномалиям кариотипа, наиболее часто выявляемым в клетках костного мозга больных МДС, относятся $\text{del}(20q)$, $-Y$, $i(17)/t(17p)$, $-13/\text{del}(13q)$, $\text{del}(11q)$, $\text{del}(12p)/t(12p)$ и $\text{del}(9q)$. Следует подчеркнуть, что наличие хромосомных аномалий $+8$, $-Y$ и $\text{del}(20q)$ при отсутствии морфологических критериев не является доказательством наличия МДС. Обнаружение других нарушений, кроме перечисленных выше аномалий, в случаях стойких цитопений без четких морфологических признаков дисплазии позволяет заподозрить наличие МДС.

Докладчик также представил данные о морфологических и цитогенетических особенностях, свойственных больным МДС с $5q^-$ синдромом, который характеризуется своеобразной гематологической и клинической картиной. В частности, он основан на наличии макроцитарной анемии, нормальном или повышенном количестве тромбоцитов в периферической крови, дисэритропоэзе и скоплениях атипичных мегакариоцитов в костном мозге. Как было недавно установлено, наличие одной дополнительной цитогенетической аномалии не ухудшает прогноз для больных МДС с $5q^-$ синдромом (кроме случаев моносомии или делеции длинного плеча хромосомы 7). Для таких больных рекомендовано выявление мутаций гена *TP53* или иммуноцитохимическое выявление белка p53 с целью прогноза заболевания. В случае использования для лечения МДС леналидомида наличие мутаций *TP53* у пациентов с $\text{del}(5q)$ определяет крайне неблагоприятный прогноз.

В качестве практического инструмента по оценке прогноза и выбора тактики лечения для пациентов с впервые установленным диагнозом МДС предложено использовать прогностические шкалы, в частности шкалу International Scoring Prognostic System (IPSS). В ней для оценки прогноза, помимо количества бластных клеток в костном мозге и выраженности цитопении, учитываются данные цитогенетического анализа. В частности, аномалии $-Y$, $\text{del}(5q)$ и $\text{del}(20q)$ относятся к факторам хорошего прогноза. Наличие более трех аномалий или аномалии хромосомы 7 определяет неблагоприятный прогноз, а все другие аномалии кариотипа ассоциируются с категориями 1 и 2 промежуточного риска для больных МДС. В зависимости от суммы баллов, которыми оценивается количество бластов, категория цитогенетического риска и количество пораженных цитопенией линий, принято различать высокий ($\geq 2,5$), промежуточный-2 (1,5–2,0), промежуточный-1 (0,5–1,0) и низкий (0) риск, при которых медиана общей выживаемости соответственно составляет 0,4; 1,2; 3,5 и 5,7 года. Важно подчеркнуть, что согласно шкале IPSS, сроки до перехода

в ОМЛ у 25% пациентов категории высокого риска составляют 0,2 года, а для категории низкого риска — 9,4 года. В 2012 г. предложена пересмотренная шкала IPSS (IPSS-R), которая предполагает разделение больных МДС на 5 категорий риска.

В продолжение своего выступления С.В. Клименко остановился на проблемах, связанных с проведением стандартных цитогенетических исследований. Классическим подходом к проведению хромосомного анализа остается метод G-дифференциального окрашивания хромосом, однако в некоторых ситуациях у больных МДС трудно выявить митозы в культуре клеток костного мозга либо качество препаратов оказывается недостаточным для проведения анализа. В ряде случаев клетки с нормальным кариотипом получают преимущество при культивировании перед клонально-измененными опухолевыми клетками, и их митотическая активность начинает преобладать. В таких ситуациях необходимо использовать метод флюоресцентной *in situ* гибридизации (FISH), который обладает рядом преимуществ перед стандартным исследованием и расширяет возможности лабораторной диагностики. При выполнении хромосомного анализа методом FISH достаточно наличия интерфазных ядер, а следовательно, нет зависимости от эффективности культивирования клеток. Применение метода FISH способствует определению скрытых хромосомных аномалий, которые не выявляются при кариотипировании (примерно у 6–18% больных МДС). Несмотря на явную целесообразность применения метода FISH в дополнение к стандартному исследованию, необходимо учитывать ряд ограничений, связанных с его использованием. К числу наиболее важных ограничений метода FISH относятся следующие: 1) отсутствие полной картины кариотипа; 2) сложность интерпретации результатов (ложноположительные сигналы, различные типы зондов, чувствительность зондов); 3) каждая хромосомная аномалия требует использования отдельного ДНК-зонда. Полагают, что проводить FISH-исследование всем пациентам, не дожидаясь получения результатов кариотипирования, нецелесообразно.

Считается, что возникновение МДС является результатом последовательного возникновения соматических мутаций в ГСК. Наиболее ранними при МДС выявляются мутации генов, участвующих в сплайсинге РНК и метилировании ДНК — таких как *IDH2*, *SF3B1*, *ZRSR2*, *DNMT3A* и *U2AF1*. Увеличение количества мутаций указанных генов, как правило, ассоциировано с уменьшением продолжительности жизни больных МДС и среднего периода до развития ОМЛ. Однако следует подчеркнуть, что подобные клональные мутации могут выявляться и в кроветворных клетках здоровых людей пожилого возраста (так называемый клональный гемопоэз с неопределенным потенциалом). Из большого числа исследованных при МДС генов независимыми факторами неблагоприятного про-

гноза считаются мутации генов *TP53*, *EZH2*, *ETV6*, *RUNX1* и *ASXL1*. Результаты применения секвенирования в диагностике МДС и ОМЛ показали, что мутации *TP53*, *RUNX1* и *ASXL1* также ассоциируются с более высокой частотой рецидивов и снижением выживаемости после трансплантации аллогенных ГСК. На благоприятный прогноз указывает наличие мутаций гена *SF3B1*, обнаруживаемых у 20–30% всех больных МДС и с еще большей частотой — при МДС-КС.

Вопросы возможностей лечения МДС осветила доцент кафедры гематологии и трансфузиологии Львовского национального медицинского университета им. Данила Галицкого, доктор медицинских наук **З.В. Масляк**. В докладе были представлены результаты индивидуализированного лечения больных МДС по многоцентровому протоколу.

С большим вниманием был заслушан доклад доктора медицинских наук **Л.М. Скляренко**, доктора медицинских наук, профессора **Д.Ф. Глузмана**, кандидата биологических наук **Т.С. Ивановской** «Острые миелоидные лейкозы. Классификация ВОЗ (2016) и МКБ-11 (2018)». Заболеваемость острыми лейкозами миелоидного происхождения составляет 2,5–3,0 на 100 тыс. населения (несколько ниже, чем МДС). ОМЛ характеризуются клональной экспансией бластных клеток миелоидного происхождения. Основным требованием для установления диагноза является обнаружение в костном мозге или периферической крови больного не менее 20% бластных клеток. При установлении природы и уровня дифференцировки бластов на современном этапе, помимо морфологических признаков клеток, учитываются данные цитохимических исследований, иммунофенотипирования с использованием панели МкАт, цитогенетического и молекулярно-генетического анализа. В соответствии с модифицированной классификацией ВОЗ (2017 г.) выделяют: ОМЛ с характерными генетическими аномалиями; ОМЛ с изменениями, связанными с миелодисплазией; миелоидные новообразования, обусловленные предшествовавшей терапией; ОМЛ неуточненные; ОМЛ, развившиеся на фоне синдрома Дауна; острые лейкозы неопределенного происхождения.

Авторы уделили основное внимание характеристике ОМЛ неуточненных, сопоставив их с широко применявшейся во многих странах с 1976 г. франко-американо-британской классификацией. Уточнена частота в общей структуре ОМЛ отдельных вариантов заболевания, выделение которых в отделе онкогематологии ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины проводится с использованием цитохимических и иммуноцитохимических критериев, данных проточной цитометрии.

Современный взгляд на лечение ОМЛ представила старший научный сотрудник научного отдела внутренней медицины Государственного научного учреждения «Научно-практический центр профилактической и клинической медицины» Государственного управления делами, кандидат медицинских наук **О.Ю. Мищенко**. В докладе были проанализированы основные протоколы полихимиотерапии больных ОМЛ, которая дополняется трансплантацией аллогенных ГСК.

Для участников конференции была проведена презентация нового научно-методического пособия «Современная классификация и диагностика миелодиспластических синдромов» (авторы: Д.Ф. Глузман, Л.М. Скляренко, С.В. Коваль, Т.С. Ивановская, М.П. Завелевич, А.А. Фильченков, А.С. Полищук, Н.К. Родионова). Киев: ООО «НПП «Интерсервис», 2018. 152 с.

На традиционно проводимых в отделе онкогематологии ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины практических занятиях врачи-гематологи и клинические лаборанты смогли ознакомиться с методами цитохимических и иммуноцитохимических исследований, самостоятельно провести микрофотографирование препаратов крови и костного мозга больных с различными формами гемобластозов и коллективно обсудить проблемы, возникающие в практике диагностики онкогематологических заболеваний.

По итогам конференции принято решение провести в 2019 г. следующую научную конференцию, посвятив ее проблеме иммунофенотипирования и характеристике дифференцировочных антигенов лейкоцитов, используемых в диагностике онкогематологических заболеваний.