

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Александрова Туйара Никоновна

**ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ
МИЕЛОЛЕЙКОЗОМ В РАЗЛИЧНЫЕ ФАЗЫ ЗАБОЛЕВАНИЯ**

3.1.28. Гематология и переливание крови

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Поспелова Татьяна Ивановна

Новосибирск, 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.	4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.	14
1.1 Современные сведения о хроническом миелолейкозе.	14
1.2 Современные принципы терапии хронического миелолейкоза.	17
1.3 Лейкемические стволовые клетки и их роль в патогенезе хронического миелолейкоза.	22
1.4 Роль цитокинов в патогенезе хронического миелолейкоза.	24
1.5 Регуляция клеточного цикла при хроническом миелолейкозе.	32
1.6 Роль р-гликопротеина, белка множественной лекарственной устойчивости, в развитии резистентности к ингибиторам тирозинкиназ.	38
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.	41
2.1 Дизайн исследования.	41
2.2 Клиническая характеристика исследуемой группы.	45
2.3 Специальные методы исследования.	52
2.4 Статистические методы исследования.	53
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ.	55
3.1 Концентрация цитокинов у больных хроническим миелолейкозом.	55
3.2 Концентрация цитокинов у больных хроническим миелолейкозом в различные фазы заболевания.	56
3.3 Взаимосвязь цитокинового дисбаланса с особенностями клинико-лабораторных проявлений хронического миелолейкоза.	63
3.4 Роль цитокинов в прогнозировании эффективности терапии хронического миелолейкоза.	74
3.5 Особенности экспрессии регуляторных молекул (каспаза 3, Ki-67, p53, c-myc и р-гликопротеина) в костном мозге больных хроническим миелолейкозом.	80
3.6 Взаимосвязь между уровнем экспрессии регуляторных молекул (каспаза 3, Ki-67, p53, c-myc и р-гликопротеина) в костном мозге больных	

хроническим миелолейкозом и концентрацией цитокинов в сыворотке крови.	85
ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.	91
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.	110
ВЫВОДЫ.	112
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.	113
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.	114
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.	118
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.	143

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность избранной темы

Хронический миелолейкоз (ХМЛ) – клональное опухолевое миелопролиферативное новообразование, обусловленное злокачественным перерождением стволовых гемопоэтических клеток. На долю ХМЛ приходится до 30 % всех случаев лейкозов [90]. В последние годы в связи с улучшением выживаемости и увеличением средней продолжительности жизни населения во многих развитых странах наблюдается тенденция к росту количества больных ХМЛ [201]. Согласно оценке экспертов, количество пациентов, нуждающихся в длительном лекарственном обеспечении препаратами ИТК, увеличивается с каждым годом, что объясняет рост финансовой нагрузки на систему здравоохранения [12].

Применение ингибиторов тирозинкиназ (ИТК) при ХМЛ позволило кардинально изменить прогноз заболевания, сопоставив среднюю продолжительность жизни пациентов в хронической фазе (ХФ) ХМЛ с общепопуляционной. У больных ХФ ХМЛ, получавших терапию иматинибом в первой линии, 10-летняя общая выживаемость составляет 82–85 % [26, 135]. Однако, несмотря на достигнутые успехи, у 20–30 % пациентов развивается резистентность к ИТК, а у 40–60 % пациентов – рецидив заболевания при попытке отмены терапии [45].

В настоящее время парадигма терапии больных ХМЛ претерпевает изменения. Становится крайне важным достижение стабильного глубокого молекулярного ответа (МО), при котором возможна безопасная отмена ИТК [96]. Однако, результаты многочисленных исследований свидетельствуют о том, что такая стратегия доступна не всем пациентам. В половине случаев причиной недостижения ремиссии без лечения является персистирование лейкемических стволовых клеток (ЛСК), резистентных к таргетному воздействию [132].

Молекулярные механизмы, регулирующие глубину эрадикации опухолевого клона, при ХМЛ мало изучены. В последние годы в рамках поиска

новых терапевтических мишеней активно изучается роль иммунной дисфункции в патогенезе заболевания [97]. В здоровых клетках иммунологический гомеостаз поддерживается цитокинами, секретируемыми гемопоэтическими стволовыми клетками (ГСК) и клетками костномозгового микроокружения. Являясь важным элементом межклеточного взаимодействия, цитокины способствуют поддержанию пролиферативного потенциала опухолевых клеток-предшественников и подавлению противоопухолевого иммунитета, что приводит к прогрессии гемобластоза [38, 169].

Исследования последних десятилетий показывают нарушение секреции цитокинов при многих злокачественных новообразованиях, в том числе миелопролиферативных неоплазиях (МПН) [65, 112]. Результаты фундаментальных и экспериментальных исследований стали основой для изучения возможности применения цитокинов в качестве прогностических маркеров и потенциальных терапевтических мишеней для улучшения исходов лечения некоторых опухолей [113, 115, 122, 141].

Большинство цитокинов оказывают плеiotропное действие. В зависимости от концентрации, типа рецептора и сигнального пути они могут оказывать как проонкогенный, так и антионкогенный эффект [66]. В настоящее время точные механизмы реализации про- и антионкогенных эффектов отдельных цитокинов до конца не ясны. Обилие сигнальных связей дает цитокинам возможность принимать участие в регуляции процессов пролиферации, апоптоза опухолевых клеток, а также транспорта лекарственных препаратов, что влияет на выживаемость опухолевого клона и эффективность терапии [18, 128].

При классических Ph-негативных МПН доказана связь между гиперсекрецией провоспалительных цитокинов и конституциональными симптомами, а также риском развития тромботических осложнений [205]. В то же время при ХМЛ представления о роли цитокинов в патогенезе заболевания и их клинико-прогностическом значении неоднозначны. Описана роль отдельных цитокинов в усилении пролиферативной активности клеток-предшественников ХМЛ. Например, было показано, что TNF- α способствует выживаемости

злокачественных клеток за счет подавления процессов апоптоза [27]. TGF- β , TNF- α , IL-4 и IL-10, являясь антагонистами белков главного комплекса гистосовместимости (МНС) II класса, участвуют в механизмах ускользания ЛСК от иммунного надзора [60]. Гиперэкспрессия рецептора IL-1 (IL-1RA), TNF- α и TGF- β на ЛСК ХМЛ позволяет клеткам персистировать в состоянии покоя и, следовательно, избегать терапевтического воздействия [183]. Большой интерес представляют попытки комбинации ИТК с блокаторами сигнальных путей отдельных цитокинов для преодоления резистентности к терапии [113, 115].

На основании вышеизложенного, комплексная оценка цитокинового статуса и интенсивности экспрессии белков апоптоза (p53, каспазы-3), пролиферативной активности опухолевого процесса (Ki-67, с-Мус) и белка множественной лекарственной устойчивости (p-гликопротеина), а также их влияние на клиническое течение заболевания, прогноз и эффективность лечения представляется актуальным направлением современной науки.

Степень разработанности темы диссертации

Работы, посвященные комплексной оценке цитокинового статуса больных злокачественными новообразованиями, немногочисленны и в основном посвящены изучению прогностического значения отдельных провоспалительных цитокинов. Например, при классических Rh-негативных миелопролиферативных заболеваниях (МПН) доказана связь между гиперсекрецией провоспалительных цитокинов и выраженностью конституциональных симптомов, а также риском развития тромботических осложнений [110, 205].

Не до конца ясны точные механизмы реализации про- и антионкогенных эффектов цитокинов. Исследования показали, что ключевым событием в прогрессировании злокачественных новообразований является нарушение баланса между пролиферативной активностью и программируемой клеточной гибелью – апоптозом [184]. Оценка пролиферативной активности и прогнозирование неблагоприятного течения злокачественных новообразований иммуногистохимическим методом с использованием маркеров ki-67, с-мус, p53

широко применяется при солидных опухолях и лимфопролиферативных заболеваниях [49, 51, 130, 156]. Однако, при ХМЛ данный метод не является рутинной практикой, хотя экспериментально было показано, что двойное воздействие на механизмы пролиферации и апоптоза клеток является эффективным способом эрадикации ИТК-резистентных клонов [76]. Белок множественной лекарственной устойчивости р-гликопротеин, который экспрессируется в различных тканях, принимающих участие в абсорбции и элиминации ИТК (тонкий кишечник, печень, почки), стволовых клетках и циркулирующих лейкоцитах, играет важную роль в фармакокинетике иматиниба [28]. Кроме того, АТФ-связывающие транспортные белки семейства ABC (ATP-binding cassette transporters) способны ингибировать активацию каспаз и, соответственно, процесс апоптоза, что также может оказывать влияние на эффективность терапии [164]. Таким образом, оценка роли цитокинов и регуляторных молекул клеточного цикла, а также их взаимосвязи с особенностями клинического течения ХМЛ и эффективностью терапии является актуальной научной задачей.

Цель исследования

Изучить концентрацию провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных хроническим миелолейкозом в различные фазы заболевания и установить связь данных показателей с клинико-лабораторными проявлениями, выраженностью экспрессии основных регуляторных молекул и эффективностью терапии хронического миелолейкоза.

Задачи исследования

1. Изучить концентрацию провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-18, IFN- α и VEGF-A) в сыворотке крови больных хроническим миелолейкозом в зависимости от фазы заболевания и длительности терапии.
2. Оценить взаимосвязь концентрации цитокинов с клинико-лабораторными

проявлениями заболевания.

3. Определить уровень экспрессии регуляторных молекул пролиферации и апоптоза (Ki-67, c-Мус, p53, каспаза 3) у больных хроническим миелолейкозом в зависимости от фазы заболевания.

4. Выявить взаимосвязь между концентрацией цитокинов, уровнем экспрессии регуляторных молекул (Ki-67, c-Мус, p53, каспаза 3), белком множественной лекарственной устойчивости р-гликопротеином и эффективностью терапии больных хроническим миелолейкозом.

Научная новизна

Впервые у больных ХМЛ проведено комплексное изучение сывороточной концентрации провоспалительных, противовоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-18, IFN- α , VEGF-A) и уровня экспрессии на клетках костного мозга регуляторных молекул клеточного цикла (ki-67, c-Мус, p53, каспаза 3), а также белка множественной лекарственной устойчивости (р-гликопротеина) в зависимости от фазы заболевания, длительности и эффективности терапии. Доказано, что во всех фазах заболевания (хроническая, фаза акселерации и бластного криза) наблюдается гиперсекреция как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов, которая сохраняется на фоне многолетней терапии ИТК, в том числе, при достижении глубокого МО.

Выявлены особенности цитокинового профиля больных ХМЛ, характерные для различных этапов заболевания. Установлено, что наиболее интенсивная продукция провоспалительных цитокинов наблюдается в дебюте заболевания. Отмечена прямая взаимосвязь между концентрацией провоспалительных цитокинов и объемом опухолевой нагрузки, а именно уровнем лейкоцитов, лактатдегидрогеназы и размерами селезенки.

Доказана роль цитокинового дисбаланса за счет повышения концентрации провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-17), фактора роста VEGF-A и снижения концентрации противовоспалительного цитокина IL-10 в неудаче

терапии больных ХМЛ. Впервые выявлена взаимосвязь между высокой концентрацией провоспалительных цитокинов в сыворотке крови, низким уровнем экспрессии белков-регуляторов клеточного цикла p53 и c-Myc и гиперэкспрессией белка множественной лекарственной устойчивости р-гликопротеина в костном мозге больных ХМЛ, оказывающая неблагоприятное влияние на эффективность терапии ИТК.

Определены биомаркеры, прогнозирующие вероятность достижения БМО. Показано, что достижение БМО у больных ХМЛ, получающих терапию ИТК, более вероятно при концентрации IL-1 β менее 2,5 пг/мл и IL-17 менее 2,6 пг/мл, уровне экспрессии на клетках костного мозга белка p53 более 4 % и c-Myc более 6 %. Установлено, что наибольшей диагностической ценностью в прогнозировании риска недостижения БМО обладают провоспалительные цитокины IL-1 β , IL-17 и регуляторные белки p53, c-Myc.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость настоящего исследования заключается в изучении влияния цитокинов на клиническое течение ХМЛ и эффективность его терапии. По результатам работы выявлены особенности цитокинового профиля больных ХМЛ в различные фазы заболевания, позволяющие расширить понимание о роли опухолевого микроокружения в прогрессии заболевания и достижении оптимального ответа на лекарственную терапию. Установлена взаимосвязь между цитокиновым дисбалансом и изменением уровня экспрессии белков, регулирующих процессы пролиферации, апоптоза клеток костного мозга, а также транспорт лекарственных препаратов, что способствует преумножению знаний о BCR::ABL1-независимых механизмах развития резистентности к терапии ИТК.

Результаты проведенного исследования являются основой для разработки прогностических маркеров для оценки вероятности достижения БМО на терапии ИТК. Определение концентрации IL-1 β и IL-17 в клинической практике может способствовать раннему выявлению лиц с высоким риском неудачи терапии и

позволит оптимизировать подходы к мониторингу эффективности терапии. Оценка факторов, ассоциированных с достижением глубокого МО (IL-1 β , IL-17, VEGF-A), дает возможность выявить больных ХМЛ с более высокой вероятностью наблюдения без терапии.

Методология и методы диссертационного исследования

Работа представляет собой одномоментное поперечное исследование, направленное на изучение особенностей цитокинового профиля больных ХМЛ в различные фазы заболевания в зависимости от клинико-лабораторных показателей и эффективности терапии. Объект исследования: пациенты с диагнозом ХМЛ в ХФ, ФА и БК. Предмет исследования: концентрация цитокинов в сыворотке крови (TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-18, IFN- α и VEGF-A), уровень экспрессии химерного гена *BCR::ABL1* в периферической крови, а также регуляторных белков пролиферации (Ki-67, c-Мус), апоптоза (p53, каспазы 3) и множественной лекарственной устойчивости (p-гликопротеин) на цитологических мазках костного мозга у больных ХМЛ. Выводы сделаны в соответствии с результатами сравнительного, корреляционного, регрессионного и ROC анализов.

Положения, выносимые на защиту

1. У больных хроническим миелолейкозом как в дебюте заболевания, так и на фоне длительной таргетной терапии наблюдается цитокиновый дисбаланс за счет повышения концентрации провоспалительных и противовоспалительных цитокинов.
2. Особенности цитокинового профиля при хроническом миелолейкозе сопряжены с эффективностью таргетной терапии, при этом высокая концентрация в сыворотке крови провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-17, VEGF-A и низкая концентрация противовоспалительного цитокина IL-10 ассоциируются с отсутствием большого молекулярного ответа на ингибиторы тирозинкиназ.

3. Уровень экспрессии регуляторных молекул клеточного цикла (с-Мус, p-53, каспазы 3) и p-гликопротеина коррелирует с концентрацией провоспалительных цитокинов в сыворотке крови и эффективностью терапии хронического миелолейкоза.

Степень достоверности

Достоверность результатов исследования подтверждается достаточным объемом выборки, применением современных лабораторных методов исследования, а также проведением корректного статистического анализа.

Апробация работы

Результаты диссертационной работы были представлены на: 3-м конгрессе гематологов России (Москва, 2016); 4-м конгрессе гематологов и 3-м конгрессе трансфузиологов России (Москва, 2022); 12-й Международной научно-практической конференции «Фундаментальные и прикладные исследования: актуальные вопросы современной науки, достижения и инновации» (Уфа, 2023).

Диссертационная работа апробирована на заседании проблемной комиссии «Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии» ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Новосибирск, 2023).

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России в рамках темы «Клинико-морфологические, молекулярно-биологические и эпигенетические основы диагностики и лечения заболеваний внутренних органов и коморбидных состояний в терапевтической клинике», номер государственной регистрации 121061700029-5.

Внедрение результатов исследования

Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс на кафедре терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. Полученные данные и практические рекомендации используются в работе гематологических отделений ГАУ РС(Я) «Республиканская больница № 1 – Национальный центр медицины» (г. Якутск), ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 2» (г. Новосибирск) и ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница».

Публикации

По теме диссертации опубликовано 8 научных работ, в том числе 5 статей в научных журналах и изданиях, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 3 статьи в журналах категории К1 и 2 статьи в журналах категории К2, входящих в список изданий, распределенных по категориям К1, К2, К3, в том числе 3 статьи в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и систем цитирования Scopus, Web of Science.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 145 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и списка иллюстрированного материала. Список литературы представлен 216 источниками, из которых 203 в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 19 таблиц и 7 рисунков.

Личный вклад автора

Личный вклад автора диссертационного исследования заключается в разработке дизайна, формулировке цели и задач работы. Самостоятельно проведен обзор литературы, включение, клиническое обследование и лечение больных ХМЛ, интерпретация данных лабораторных исследований и статистический анализ материала.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Современные представления о хроническом миелолейкозе

Хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) – это клональное опухолевое миелопролиферативное новообразование, обусловленное злокачественным перерождением стволовых гемопоэтических клеток и характеризующееся усилением пролиферации гранулоцитарного ростка без потери способности к дифференцировке, гиперплазией миелоидной ткани, миелоидной метаплазией кроветворных органов, ассоциированное с хромосомной аномалией – транслокацией $t(9;22)(q34;q11)$, в результате которой образуется химерный онкоген *BCR::ABL1* [5].

Хронический миелолейкоз относится к орфанным заболеваниям. Показатель первичной заболеваемости в различных странах варьирует от 0,4 до 1,75 на 100 тыс. населения в зависимости от популяции [90]. По данным Российского популяционного исследования, нормированная на стандартную популяцию Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) заболеваемость составляет 0,7 случаев на 100 тыс. взрослого населения [3]. Заболеваемость ХМЛ в Новосибирской области по данным 2004–2020 гг. составила в среднем 0,62 на 100 тыс. населения в год, а распространенность заболевания в г. Новосибирске увеличилась с 3,27 до 10,89 случая на 100 тыс. населения, в Новосибирской области – с 1,83 до 5,55 случая на 100 тыс. населения [10]. Показатель заболеваемости ХМЛ по Республике Саха (Якутия) за аналогичный период в среднем составил 0,5 на 100 тыс. населения. Отмечается также тенденция к резкому увеличению распространенности заболевания: от 0,84 на 100 тыс. населения в 2004 г. до 6,8 на 100 тыс. населения в 2020 г., что, вероятно, обусловлено улучшением диагностических возможностей в регионе [6]. Заболевание чаще диагностируется у лиц пожилого возраста, пик заболеваемости наблюдается в возрасте старше 85 лет [80, 82].

В 1960 году у больных ХМЛ впервые была описана филадельфийская хромосома (Ph), образуемая в результате реципрокной транслокации между хромосомами 9 и 22 – $t(9;22)(q34;q11)$. Описанная транслокация приводит к слиянию гена *BCR* (breakpoint cluster region), расположенного на 22 хромосоме, и гена *ABL1* (abelson leukemia virus), расположенного на 9 хромосоме [20]. Описано три основных варианта химерного гена *BCR::ABL1* в зависимости от точки разрыва между экзонами *BCR* и *ABL1*. У подавляющего большинства пациентов с ХМЛ, в соответствии с точками разрыва в гене *ABL1*, образуются транскрипты e13a2 (b2a2) или e14a2 (b3a2), при этом точки разрыва в гене *BCR* располагаются в районе major breakpoint cluster region (M-bcr). В результате этой перестройки образуется цитоплазматический белок p210 с молекулярной массой 210 кДа. Значительно реже встречаются другие типы химерных транскриптов, при которых точка разрыва локализуется в экзоне 1 гена *BCR* (minor breakpoint cluster region, m-bcr), что ведет к образованию химерного транскрипта e1a2 и продукции белка p190; в экзоне 19 гена *BCR* – micro breakpoint cluster region (μ-bcr) с образованием химерного транскрипта e19a2 и белка p230 [20]. По результатам крупного международного исследования показано, что у 60 % больных ХМЛ выявляется транскрипт b2a2, у 38 % – b3a2, а в 2 % случаях встречаются более редкие реарранжировки [200].

Гибридный белок *BCR::ABL1* является конституционально активной тирозинкиназой, запускающей каскад сигнальных путей, которые регулируют процессы адгезии, миграции, апоптоза и пролиферации клеток [20]. Активация сигнальных путей инициируется как путем прямого воздействия *BCR::ABL1*, так и аутокринной секрецией различных цитокинов. Среди сигнальных путей с митогенной активностью наиболее важными и хорошо изученными являются RAS/MAPK, PI3K/AKT и JAK/STAT. Вступая во взаимодействие с другими цитоплазматическими молекулами, онкобелок *BCR::ABL1* нарушает нормальное функционирование клеточных процессов. Конечным результатом активации большинства сигнальных путей является потеря контроля над пролиферативной активностью и экспансия опухолевого клона [44, 150].

BCR::ABL1-опосредованная активация белка Ras (англ. retrovirus associated DNA sequences – последовательности ДНК, ассоциированные с ретровирусом) инициирует сигнальный путь MAPK (англ. mitogen-activated protein kinase – митоген-активируемая протеинкиназа), который регулирует транскрипцию многих известных генов, и, таким образом, ведет к усилению пролиферативной активности опухолевых клеток. Активация других путей, RAS/Erk (англ. extracellular signal-regulated kinases – киназы, регулируемые внеклеточными сигналами) и PI3K/AKT (англ. phosphoinositide 3-kinase/RAC-alpha serine/threonine-protein kinase – фосфоинозитид-3-киназа/ RAC-альфа серин/треониновая протеинкиназа), способствует выживаемости клеток и катализирует их пролиферативную активность [50].

Значимый вклад в процесс опухолевой прогрессии вносит PI3K/AKT, который контролирует одновременно процессы клеточного роста и апоптоза. [33]. PI3K/AKT является основным сигнальным путем, при участии которого реализуется BCR::ABL1-индуцированный механизм защиты клеток от апоптоза. Гиперэкспрессия AKT наблюдается при многих видах злокачественных опухолей и приводит к снижению чувствительности опухолевых клеток к апоптозу, повышению пролиферативной активности, усилению ангиогенеза и способности к метастазированию. Активация PI3K/AKT повышает экспрессию антиапоптотического белка BCL-2, а также блокирует выброс цитохрома C из митохондрий и функциональную активность белков семейства каспаз, с помощью которых реализуется программная клеточная гибель [68].

Потеря чувствительности к проапоптотическим сигналам является одним из механизмов развития резистентности к ИТК. Так, результаты экспериментальных исследований показали, что блокада BCL-2 повышает чувствительность клеток-предшественников ХМЛ к таргетному воздействию, а блокада сигнального пути BCL-2/BCL-xL индуцирует апоптоз лейкоэмических клеток у больных ХМЛ в фазе БК [187].

Транскрипционный фактор STAT5 (англ. signal transducers and activators of transcription – преобразователи сигнала и активаторы транскрипции) играет

ключевую роль в патогенезе многих гематологических новообразований. Активация STAT5 при ХМЛ вносит значимый вклад в процесс злокачественной трансформации вследствие ингибирования апоптоза. Кроме того, гиперэкспрессия STAT5 подавляет чувствительность опухолевых клеток к ИТК и повышает концентрацию активных форм кислорода, что ведет к хроническому оксидативному стрессу и накоплению мутаций, приводящих к развитию резистентности к терапии [157].

Химерный ген *BCR::ABL1* является ключевым событием, инициирующим развитие ХМЛ. Однако в прогрессировании заболевания немаловажная роль отводится дополнительным факторам. Накопление различных повреждений генома в совокупности с прогрессирующим ростом уровня химерного транскрипта, стимулирует пролиферативную активность и выживаемость Ph-положительных клеток-предшественников, что способствует дальнейшей экспансии опухолевого клона [213].

1.2 Современные принципы терапии больных хроническим миелолейкозом

Улучшение понимания молекулярных механизмов развития ХМЛ привело к разработке нового класса препаратов – ингибиторов тирозинкиназ (ИТК), избирательно блокирующих *BCR::ABL1* тирозинкиназу. Первый представитель ИТК – иматиниба мезилат (ИМ) был зарегистрирован для лечения больных рефрактерной формой ХМЛ в 2001 г., а затем спустя 2 года для лечения впервые диагностированных больных [54].

До эры тирозинкиназ прогноз ХМЛ был крайне неблагоприятным. Подавляющее большинство больных в течение 3–4 лет прогрессировали до фазы акселерации (ФА) с последующей трансформацией в бластный криз (БК). При этом, иммунофенотипически бластные клетки приблизительно в 70 % случаев относились к миелоидной линии дифференцировки, в 30 % – к лимфоидной. При

БК частота достижения ответа на интенсивную химиотерапию была крайне низкой с медианой выживаемости 4 месяца [45, 140].

Применение ИТК кардинально изменило прогноз заболевания, позволило достигать не только клинико-гематологического ответа, но и полного цитогенетического (ПЦО, при котором Ph-хромосома в метафазах не определяется) и большого молекулярного (БМО, при котором относительная экспрессия $BCR::ABL1 \leq 0,1 \%$), а также значительно улучшило качество жизни больных [82].

В Российской Федерации для назначения в первую линию терапии в настоящее время зарегистрированы ИТК 1 поколения (ИТК1) иматиниб и ИТК 2 поколения (ИТК2) нилотиниб, дазатиниб. Выбор оптимального препарата для терапии первой линии основан на комплексном подходе, учитывающем фазу заболевания, мутационный статус и сопутствующую патологию [5].

Иматиниба мезилат, первый селективный ингибитор $BCR::ABL1$, связываясь с АТФ-связывающим участком каталитического домена ABL, предотвращает фосфорилирование тирозинового остатка, что, в свою очередь, ведет к ингибированию передачи клеточных сигналов к опухолевым клеткам. Кроме того, ИМ ингибирует антиапоптотические белки Bcl-xL, STAT, ядерный нуклеарный фактор κB (NF- κB), протеинкиназу B (PKB) [68].

Клиническая эффективность и безопасность иматиниба доказана результатами многочисленных исследований. В первом рандомизированном многоцентровом исследовании IRIS показатели 5-летней общей (ОВ) и бессобытийной (БСВ) выживаемости составили 89 % и 83 %, соответственно, а частота достижения ПЦО к 12 месяцам терапии – 69 % [89]. Результаты 10-летнего наблюдения подтвердили долгосрочную эффективность, а также показали, что 80,4–93,1 % пациентов способны достичь БМО, а 63,2–69,3 % – глубокого молекулярного ответа (МО, при котором относительная экспрессия $BCR::ABL1 \leq 0,01 \%$) [134, 135].

Однако, в дальнейшем стало очевидно, что иматиниб эффективен не у всех больных ХМЛ. Было показано, что приблизительно у 10 % пациентов развивается

резистентность к препарату [82, 138]. Наиболее распространенной причиной первичной резистентности к иматинибу являются точечные мутации киназного домена гена *BCR::ABL1*, которые препятствуют соединению с ИТК. Среди других механизмов развития резистентности описаны: клональная эволюция, эпигенетические нарушения, гиперэкспрессия белков множественной лекарственной устойчивости, активация сигнальных путей, способствующих выживаемости опухолевого клона и факторы, связанные с опухолевым микроокружением [179]. Ряд исследователей отмечает важную роль *BCR::ABL1*-независимой активации сигнальных путей, регулирующих пролиферацию и апоптоз опухолевых клеток (JAK-STAT, RAS-MAPK, и PI3K-AKT), в развитии резистентности к ИТК [33, 126]. В целом необходимость смены препарата вследствие развития резистентности или непереносимости препарата появляется у 37–50 % больных, получающих терапию первой линии иматинибом [82]. Проблема развития резистентности к иматинибу легла в основу разработок препаратов второго и третьего поколения (ИТК2 и ИТК3), отличающихся по пространственной структуре и спектру нецелевых «off-target» мишеней [138].

Нилотиниб – производное фениламинопиримидина, по химической структуре аналогичное иматинибу, но отличающееся более высокой аффинностью и специфичностью, в 20–30 раз активнее иматиниба. Активность дазатиниба в 300 раз превышает активность иматиниба. В отличие от иматиниба, дазатиниб проявляет активность не только в отношении киназ семейства Src (KYN, LCK, SRC, YES), но и ABL1, c-KIT, PDGFR β , EphA₂, HER₂ и p38 MAP. Бозутиниб, также как и дазатиниб, обладает двойной ингибирующей способностью в отношении SRC/ABL1 киназ и по активности превышает иматиниб в 100 раз [54].

В качестве третьей линии терапии при непереносимости или резистентности к ИТК2 в ряде стран рекомендован понатиниб, который эффективен у пациентов с мутацией T315I. В исследовании PACE было показано, что применение понатиниба позволяет 40 % пациентов с резистентностью и/или

непереносимостью ИТК2 достичь БМО и 24 % пациентов – глубокого МО [163]. Однако, широкое назначение понатиниба лимитировано кардиоваскулярной токсичностью [82]. Более того, документированы случаи развития резистентности к ИТК3, которые могут быть обусловлены комплексными мутациями *BCR::ABL1* и нарушением внутриклеточного транспорта лекарственных препаратов вследствие дерегуляции белков-транспортеров [45]. Рефрактерным пациентам с ХМЛ, которым назначение понатиниба невозможно, в качестве других вариантов терапии рекомендуется включение в клинические исследования или проведение аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) [85].

Альтернативные подходы к терапии третьей линии, в том числе новые препараты (радотиниб, асциминиб, бафетиниб, ребастиниб, тозацертиб, дануцертиб, оolverембатиниб, водобатиниб), активно изучаются [62, 167]. Перспективным путем преодоления резистентности к ИТК является асциминиб – аллостерический ингибитор *BCR::ABL1*-тирозинкиназы, который связывается с ним в области миристоилового сайта *ABL1* [11]. По результатам III фазы исследования ASCEMBL было показано, что у пациентов, получавших как минимум 2 линии терапии ИТК, асциминиб по эффективности превосходит бозутиниб. Частота достижения БМО на 24-й неделе терапии в группе больных, получавших асциминиб, составила 25 %, в то время как в группе бозутиниба – 12 % [15].

Назначение препаратов 2 поколения впервые диагностированным пациентам с ХМЛ позволяет улучшить показатели выживаемости и повысить частоту достижения раннего МО, являющегося важным прогностическим фактором, влияющим на выживаемость пациентов. Так, среди пациентов, получавших нилотиниб в дозе 400 мг 2 раза в сутки в первой линии, частота раннего МО составила 89 % по сравнению с 67 % при применении иматиниба, а дазатиниб – 84 % по сравнению с 64 % [52, 88].

С удлинением сроков терапии ИТК отмечена тенденция к увеличению доли больных ХМЛ с глубоким МО. Кроме того, актуальность приобрела проблема роста кумулятивной токсичности, ухудшающей качество жизни, и значительных

финансовых затрат системы здравоохранения, связанных с многолетним лекарственным обеспечением [12, 135]. В связи с этим в рамках клинических исследований начаты попытки отмены терапии, продемонстрировавшие, что вероятность сохранения глубокого МО у больных с неопределяемым уровнем минимальной остаточной болезни (МОБ) составляет 41 % к 12 месяцам наблюдения [74]. В российской части проспективного наблюдательного многоцентрового исследования EUTOS PBS было показано, что 31 % пациентов в ХФ ХМЛ могут являться кандидатами для наблюдения без терапии [1]. Другие работы показали, что у лиц, достигших раннего МО, вероятность сохранения ремиссии без лечения достоверно выше по сравнению с больными без раннего МО [137]. Согласно промежуточным результатам крупного Европейского многоцентрового исследования Euro-Ski, наиболее важным прогностическим фактором, влияющим на вероятность сохранения ремиссии без лечения, является продолжительность глубокого МО. Так, вероятность сохранения БМО при отмене ИТК у больных с длительностью глубокого МО более 3,1 и менее 3,1 года составила 61 % и 44 % соответственно. Показатель выживаемости без молекулярного рецидива к 24 месяцам наблюдения составил 50 % [75]. Сопоставимые данные получены в Российском проспективном исследовании, в котором выживаемость без молекулярного рецидива в те же сроки составила 52 %. При этом, в качестве наиболее значимых факторов, влияющих на сохранение ремиссии без лечения, в этом исследовании отмечены общая продолжительность терапии ИТК, длительность и глубина МО [7].

Несмотря на достигнутый прогресс, у 5 % больных наблюдается прогрессирование с ХФ ХМЛ до БК, при котором прогноз заболевания остается крайне неблагоприятным. Единственным методом лечения больных с продвинутыми стадиями ХМЛ является проведение алло-ТГСК при достижении ХФ [124].

Таким образом, в настоящее время большинство больных нуждается в пожизненной терапии ИТК, что может стать причиной снижения качества жизни вследствие кумулятивной токсичности. Вместе с тем, существует когорта

больных с непереносимостью или резистентностью к ИТК. Описанные проблемы диктуют необходимость углубленного изучения механизмов, регулирующих глубину эрадикации опухолевого клона, развития резистентности к ИТК, а также поиска надежных предикторов для оценки эффективности терапии.

1.3 Лейкемические стволовые клетки и их роль в патогенезе хронического миелолейкоза

Из иерархической теории канцерогенеза известно, что популяция опухолевых клеток включает опухолевые стволовые клетки (лейкемические стволовые клетки), переходные размножающиеся и дифференцированные опухолевые клетки [185]. Лейкемические стволовые клетки (ЛСК), аналогично нормальным гемопоэтическим стволовым клеткам (ГСК), способны к самовоспроизведению, пролиферации и дифференцировке [37, 169]. Однако, в отличие от нормальных ГСК, находящихся в костном мозге преимущественно в состоянии метаболического покоя (фаза G_0 -клеточного цикла), они характеризуются более высокой пролиферативной активностью и подавлением активности процессов апоптоза и дифференцировки [169].

Нормальные ГСК представляют собой мультипотентные самовосстанавливающиеся стволовые клетки. Являясь вершиной гемопоэтической иерархии, они дают начало мультипотентным клеткам-предшественникам, которые активно пролиферируют и дифференцируются до зрелых форм [169]. Гемопоэтические стволовые клетки локализуются в специализированной области, называемой «ниша». Компоненты костномозговой ниши включают различные клетки, которые могут быть классифицированы на два функциональных класса: основные, включающие эндотелиальные, мезенхимальные клетки, мегакариоциты, и дополнительные – остеобласты, макрофаги и нервные клетки [43, 171]. Лейкемические стволовые клетки и костномозговое микроокружение являются взаиморегулируемой системой. Компоненты опухолевого микроокружения способствуют

прогрессированию лейкемогенеза, повышая пролиферативную активность ЛСК, а ЛСК, в свою очередь, ремоделируют микроокружение, создавая условия для подавления роста нормальных клеток-предшественников [41]. Клетки костномозгового микроокружения являются богатым источником различных ростовых факторов и цитокинов, участвующих в процессах пролиферации лейкемического клона и развития резистентности к ИТК [42, 43, 171].

В последнее десятилетие активно изучаются вопросы, связанные с эрадикацией ЛСК при ХМЛ [53, 215]. Множеством исследований доказано, что ИТК не способны полностью элиминировать ранние клетки-предшественники, хотя эксперименты на моделях ХМЛ показали большую активность понатиниба в отношении ЛСК по сравнению с иматинибом и дазатинибом [189]. Ключевым механизмом, способствующим опухолевым клеткам-предшественникам выживать независимо от активности BCR::ABL1 тирозинкиназы, является активация альтернативных сигнальных путей [17]. Различные механизмы взаимодействия между опухолевыми клетками и их микроокружением, создающие условия для преимущественной пролиферации Ph-положительного клона, регулируются множеством сигнальных путей. Аутокринная и паракринная передача сигналов ингибирует процессы апоптоза, иммунного надзора и защищает от терапевтического воздействия. Дремлющее состояние ЛСК объясняет высокую степень резистентности к химиотерапевтическому и таргетному воздействию [132, 177, 184].

В настоящее время описано несколько ключевых сигнальных молекул и путей, регулирующих процессы выживания и самообновления ЛСК ХМЛ. Среди них выделяют сигнальные пути JAK/STAT, NF- κ B, TGF- β , β -catenin, регуляторные молекулы MYC, SIRT1, BCL6 и p53 [181]. Аберрантная передача межклеточных сигналов и нарушение продукции провоспалительных цитокинов приводят к образованию воспалительного микроокружения, которое способствует повреждению ДНК и накоплению мутаций [37, 76, 180]. Результаты полнотранскриптомного анализа, проведенного у больных ХМЛ, подчеркнули важную роль хронического воспаления в развитии резистентности к ИТК.

Оказалось, что популяция ЛСК, персистирующих в состоянии метаболического покоя, в отличие от нормальных ГСК, характеризуется гиперэкспрессией генов $TGF-\beta$, $TNF-\alpha$ и $IL-6-JAK-STAT$. В результате этого уменьшается чувствительность ЛСК к лекарственным препаратам и повышается их выживаемость. Кроме того, было показано, что уровень экспрессии генов $TGF-\beta$ и $TNF-\alpha$ повышается с удлинением сроков терапии ИТК, свидетельствуя, вероятно, о роли указанных молекул в селекции резистентных опухолевых клонов [183].

Нарушение процессов апоптоза, опосредованное aberrантной экспрессией белков BCL-2, c-Myc, PAD, CD95, p53, позволяет опухолевым клеткам бесконтрольно пролиферировать, накапливая различные повреждения генома [215]. В результате комплекса таких изменений создаются благоприятные условия для прогрессирования опухолевого процесса [177].

1.4 Роль цитокинов в патогенезе хронического миелолейкоза

Цитокины – это группа веществ белковой природы, регулирующих множество биологических процессов в организме человека, включая гемопоэз и иммунный ответ. По механизму действия цитокины подразделяются на провоспалительные, противовоспалительные, ростовые и включают интерфероны (IFN), факторы роста гемопоэтических клеток (CSF), семейство интерлейкина-1, семейство фактора некроза опухолей (TNF), хемокины, факторы роста и дифференцировки Т- и В-лимфоцитов, группу интерлейкина-6, трансформирующие ростовые факторы (TGF) [9]. Провоспалительными цитокинами являются $IL-1\beta$, $IL-6$, $IL-8$, $IL-12$, $TNF-\alpha$ и интерфероны, противовоспалительными – $IL-4$, $IL-10$, $IL-11$, $IL-13$, $IL-RA$, $TGF-\beta$ [67].

Источником цитокинов являются различные клетки организма, включая моноциты, макрофаги, Т- и В-лимфоциты, NK-клетки, дендритные клетки, фибробласты, эндотелиоциты, клетки Лангерганса, купферовские клетки печени, кератиноциты, нейтрофилы, тучные клетки, клетки стромы костного мозга. В периферической крови цитокины продуцируются лимфоцитами, моноцитами,

НК-клетками, гранулоцитами и тромбоцитами [9]. На основании источника продукции цитокины подразделяют на 2 типа: цитокины, продуцируемые CD4⁺ Т-хелперами 1 (T_h1), к которым относятся IL-2, IL-12, IFN- γ , TNF- β , и цитокины, продуцируемые CD4⁺ T_h2-клетками – IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 [67]. Являясь важным элементом межклеточного взаимодействия, они регулируют процессы воспаления, клеточного и гуморального иммунного ответа, а также обладают цитотоксическим и противовирусным эффектом [9, 92].

Цитокины обеспечивают процессы выработки и дифференцировки клеток-предшественников костного мозга, позволяют адаптироваться к различным патологическим состояниям, например, инфекционным процессам. Дерегуляция синтеза цитокинов может приводить к трансформации нормального гемопоэза в клональный и ведет к нарушению процессов дифференцировки, пролиферации и апоптоза кроветворных клеток на различных этапах созревания [46, 53, 60].

Нарушение секреции цитокинов наблюдается при многих злокачественных новообразованиях [9]. Доказано, что концентрация циркулирующих цитокинов имеет важное прогностическое значение при многих солидных опухолях [55, 56, 63]. Ключевым этапом, инициирующим процесс опухолевой трансформации, считается накопление мутаций и/или эпигенетических нарушений, что ведет к потере контроля над пролиферативной активностью. Одним из наиболее распространенных мутаций является мутация гена *TP53*. Белок p53, кодируемый геном *TP53*, является антагонистом NF- κ B – основного регулятора процесса воспаления [82]. Активация сигнального пути NF- κ B ведет к стимуляции синтеза различных провоспалительных цитокинов. Хроническое воспаление, обусловленное гиперсекрецией различных провоспалительных цитокинов, а также продукция активных форм кислорода макрофагами и нейтрофилами способствует накоплению мутаций и опухолевой прогрессии [92]. Помимо NF- κ B, цитокины активируют сигнальные пути RAS/RAF, PI3KPTEN-mTOR, IKK/NF- κ B, MAPK/Fos/Jun и JAK-STAT, что нарушает процессы деления, инвазии и адгезии клеток [125, 128].

В настоящее время многие исследователи сходятся во мнении, что воспалительное микроокружение и иммунная система играют критическую роль также и в лейкемогенезе [165]. Миелоидные клетки, являющиеся носителями различных онкогенных мутаций, продуцируют в большом количестве провоспалительные цитокины и активные формы кислорода, что способствует прогрессии злокачественного процесса [46]. Среди онкогематологических заболеваний роль хронического воспаления в канцерогенезе наиболее изучена при Ph-негативных миелопролиферативных неоплазиях (МПН) [42, 65, 110, 205]. На модели Ph-негативных МПН продемонстрирована тесная взаимосвязь между развитием клонального гемопоэза и состоянием субклинического воспаления. Так, драйверные мутации генов *JAK2*, *CALR* и *MPL* стимулируют продукцию провоспалительных цитокинов, а «воспалительное» костномозговое микроокружение, в свою очередь, способствует процессу злокачественной трансформации [65]. Кроме того, доказана связь между гиперсекрецией провоспалительных цитокинов и конституциональными симптомами, а также риском развития тромботических осложнений при классических Ph-негативных МПН [110, 205].

Роль цитокинового статуса в патогенезе ХМЛ менее изучена, хотя известно, что при данном заболевании наблюдается активация сигнального пути NF-κB, являющегося основным регулятором синтеза провоспалительных цитокинов [39]. В исследованиях *in vivo* было продемонстрировано, что BCR::ABL1-положительные ЛСК индуцируют повышение экспрессии в костном мозге IL-1α, IL-1β, IL-6, G-CSF, TNF-α и LIF. Аберрантная секреция цитокинов способствует выживанию опухолевого клона, как путем прямого воздействия, так и вследствие нарушения функционирования стромальных клеток. Например, цитокины IL-1α, -β и TNF-α способствуют пролиферации ЛСК ХМЛ путем подавления роста нормальных клеток-предшественников, а G-CSF, IL-1, TNF-α – уменьшая экспрессию CXCL12 на остеобластах и фибробластах [20]. Другие цитокины, например IL-3, G-CSF и GM-CSF, защищают клетки ХМЛ от воздействия ИТК, а TGF-β активирует лейкемогенный потенциал стволовых клеток [84].

В механизмах пролиферации лейкемических клеток важная роль принадлежит цитокину IL-1. Семейство IL-1 включает семь молекул-агонистов (IL-1 α , IL-1 β , IL-18, IL-33, IL-36 α , IL-36 β , и IL-36 γ), три рецептора-антагониста (IL-1RA, IL-36 α , и IL-38) и противовоспалительный цитокин IL-37 [98]. Передача сигналов IL-1 осуществляется через рецептор IL-1 1-го типа (IL-1R1) и дополнительный белок рецептора IL-1 (IL-1RAP, IL-1R3) и активирует сигнальные пути NF-kB, JNK, p38 MAPK. Доказано, что для Ph-позитивных клеток-предшественников характерна гиперэкспрессия рецепторов IL-1 и активация сигнального пути NF-kB, что способствует повышению экспрессии ряда других цитокинов – IL-6, CXCL1, CCL2, CCL3, CCL4, TNF- α [115]. Также описано, что уровень экспрессии IL1-RAP коррелирует с фазой заболевания, достоверно увеличиваясь среди больных ХМЛ в ФА и БК [104], а высокая сывороточная концентрация IL-1 β – с количеством бластных клеток в костном мозге и периферической крови, худшим прогнозом и низкой выживаемостью [25]. При ОМЛ повышенная секреция IL-1 β ремоделирует костномозговое микроокружение, создавая, таким образом, условия для преимущественной пролиферации лейкемических клеток [119].

Обращает на себя внимание терапевтический потенциал блокады рецептора IL-1. На экспериментальных моделях было продемонстрировано, что добавление рекомбинантного антагониста рецептора IL-1 к ИТК сопровождается более глубокой эрадикацией ЛСК по сравнению с монотерапией, что обусловлено синергетическим подавлением активности сигнального пути NF-kB, а также стимуляцией противоопухолевого иммунного ответа [103, 115].

На клиничко-лабораторные показатели и прогноз заболевания может оказывать влияние аберрантная секреция и других цитокинов. Повышение концентрации IL-6 и TGF- β ассоциировано с риском недостижения раннего молекулярного ответа, бластной трансформации и высокой частотой развития мутаций *BCR::ABL1* [190]. Важное прогностическое значение IL-6 подтверждено также и в других исследованиях, по результатам которых выявлены достоверно

более высокая концентрация IL-6 среди больных ХМЛ в фазе БК, по сравнению с больными в ХФ [106].

В регуляции синтеза IL-6 непосредственную роль играет гибридный белок BCR::ABL1. BCR::ABL1-зависимая активация сигнального пути STAT5 усиливает продукцию цитокина вследствие блокады супрессорного эффекта BCL-6. Ингибирование активности BCR::ABL1 приводит к повышению уровня BCL-6 и уменьшению активности сигнального пути LIN28/28, что в конечном итоге подавляет экспрессию IL-6. На экспериментальных моделях доказано, что блокада гена *IL-6* замедляет развитие ХМЛ, даже при сохраняющейся активности BCR::ABL1 тирозинкиназы. Полученные результаты позволили предположить, что блокада IL-6 является перспективным путем преодоления резистентности к ИТК и лечения больных продвинутыми стадиями заболевания [106].

Потенциальный терапевтический потенциал описан и для IL-2. Известно, что передача сигналов, регулирующих пролиферативную активность и выживаемость ЛСК ХМЛ, производится через рецептор CD25, блокада которого способствует элиминации ЛСК ХМЛ [143]. В работе Imeri и соавт. было показано, что экспрессия CD25 на клетках-предшественниках увеличивается при бластной трансформации заболевания, что может применяться в качестве раннего маркера прогрессирования заболевания ХМЛ [144].

Критическую роль в патогенезе хронических воспалительных заболеваний и в регуляции неопластической трансформации играет TNF- α [9]. В процессе канцерогенеза TNF- α играет двойственную роль. Во-первых, в качестве онкосупрессора он ремоделирует опухолевое микроокружение, повышает активность цитотоксических Т-клеток, способствует созреванию дендритных клеток и ингибирует процесс ангиогенеза. Кроме того, он стимулирует процесс апоптоза опухолевых клеток и нарушает экспрессию белков системы главного комплекса гистосовместимости (МНС), что делает их более восприимчивыми для Т-клеток и последующей элиминации. Во-вторых, TNF- α повышает продукцию других цитокинов (в частности, CCL2, IL-6), проангиогенных факторов (CCL7, VEGF), способствующих прогрессии опухолевого роста [66]. В работе Agarwal и

соавт. было показано, что TNF- α играет важную роль в ремоделировании костномозгового микроокружения, а именно повышает экспрессию CXCL1 на клетках стромы и его рецептора, CXCR2, на ЛСК. Экспериментально доказано, что CXCL1 усиливает пролиферативную активность ЛСК, а блокада CXCR2 в комбинации с ИТК позволяет элиминировать рефрактерные к таргетной терапии ЛСК ХМЛ [206].

Лейкемические стволовые клетки и клетки-предшественники ХМЛ, в отличие от нормальных ГСК, характеризуются гиперпродукцией TNF- α . TNF- α активирует сигнальный путь NF- κ B/p65, что ведет к подавлению процессов апоптоза и способствует выживаемости злокачественных клеток. Кроме того, он повышает экспрессию рецептора β -цепи гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (CSF2RB), который отвечает за пролиферативную активность стволовых и клеток-предшественников. Ингибирование аутокринной активности TNF- α продемонстрировало усиление процессов апоптоза, подавление пролиферативной активности CD34⁺ клеток ХМЛ, а при комбинации с нилотинибом наблюдалось улучшение результатов терапии [27, 113]. В исследовании Shen и соавт. нокаут гена *TNF- α* приводил к отсроченному развитию ХМЛ у экспериментальных мышей, а совместная инкубация с иматинибом в малой концентрации приводила к усилению процесса апоптоза [207]. Для TNF- α характерен также проапоптотический потенциал. Работы, проведенные на культурах клеток промиелоцитарного и миелоидного лейкоза человека, продемонстрировали усиление продукции активных форм кислорода при воздействии TNF- α , что сопровождалось активацией белков семейства каспаз (каспазы 8, 9, 3) и, в конечном итоге, приводило к усилению апоптоза клеток [91].

TNF- α при многих злокачественных новообразованиях коэкспрессируется с IL-17 [194]. К настоящему времени описано, что IL-17 принимает участие в хронических воспалительных, аутоиммунных и злокачественных процессах. Связываясь со своими рецепторами IL-17RA/IL17RC, он стимулирует выработку других цитокинов и хемокинов – TNF- α , IL-6, CXCL8 и CXCL1. В первое время считалось, что основным источником IL-17 являются Th-17 клетки, которые

представляют собой наивные $CD4^+$ Т-клетки. Позднее было установлено, что важными источниками IL-17 являются также $CD8^+$ -цитотоксические клетки, макрофаги, нейтрофилы и тучные клетки [4].

Точные механизмы участия IL-17 в канцерогенезе до конца не изучены, однако на экспериментальных моделях было показано, что IL-17 обладает проонкогенными свойствами, способствующими прогрессии опухолевого процесса [195]. Например, при раке желудка IL-17 способствует росту и миграции опухолевых клеток, а также поддерживает их способность клеток-предшественников к самообновлению [102]. Описана способность цитокина способствовать инвазии и метастазированию опухолевых клеток, а также развитию резистентности к терапии путем активации антиапоптотического белка BCL-2 [122].

IL-4 и IL-10 являются многофункциональными цитокинами, влияющими на активность противоопухолевого иммунитета [60, 172]. Повышение секреции IL-4 опухолью и его микроокружением активирует опухоль-ассоциированные макрофаги и миелоидные супрессорные клетки, которые способствуют прогрессированию опухолевого процесса. В то же время описано, что IL-4 может подавлять неоангиогенез, ингибируя выработку VEGF и bFGF [9]. IL-10 в большинстве случаев проявляет иммуносупрессивные свойства, способствуя опухолевым клеткам ускользать от иммунного надзора и вырабатывать резистентность к воздействию цитотоксических Т-клеток [172]. Подавление функциональной активности NK и $CD8^+$ Т-клеток, опосредованное противовоспалительным цитокином, снижает эффективность противоопухолевого иммунного надзора [140]. В исследовании Sullivan и соавт. доказано, что селективная блокада IL-10 многократно активирует иммуноопосредованную гибель опухолевых клеток, что подтверждает важную роль этого цитокина в опухолевой прогрессии [40].

Роль интерферонов в злокачественных новообразованиях известна с давних времен. В целом, посредством различных механизмов, интерфероны проявляют противоопухолевую активность. Интерфероны I типа (IFN- α , - β , - κ , - ϵ , - ω)

регулируют активность цитотоксических и иммуносупрессивных клеток, что ведет к активации противоопухолевого иммунного ответа, а также регулируют пролиферацию, дифференцировку, миграцию и апоптоз опухолевых клеток [117]. Также описано нарушение регуляции сигнального пути интерферонов II типа, в частности IFN- γ в *BCR::ABL1*-положительных клетках [20]. Исследования, проведенные до широкого внедрения в клиническую практику ИТК, свидетельствовали о том, что терапия IFN- α приводит к повышению концентрации в сыворотке крови IFN- γ , цитокина, принимающего участие непосредственное участие в формировании противоопухолевого иммунного ответа [111].

До эры тирозинкиназ IFN- α являлся золотым стандартом терапии, позволив впервые достичь ПЦО. Механизм его противоопухолевого эффекта носит комплексный характер. Во-первых, IFN- α ингибирует экспрессию *BCR::ABL1*, адгезию клеток-предшественников ХМЛ к строме костного мозга и активирует транскрипционные факторы, регулирующие пролиферацию, созревание и апоптоз опухолевых клеток. Во-вторых, он стимулирует иммунный ответ, способствуя элиминации злокачественных клеток и, в-третьих, являясь активирующим фактором покоящихся стволовых клеток, в том числе трансформированных, он повышает их чувствительность к терапевтическому воздействию [94].

В механизмах опухолевого роста и прогрессии большую роль играет процесс ангиогенеза. Ангиогенез представляет собой многоступенчатый процесс, включающий деградацию белков внеклеточного матрикса, активацию, пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток и регулируемый различными проангиогенными факторами, секретируемыми опухолевыми клетками [35]. Повышение активности опухоль-ассоциированных макрофагов в очаге хронического воспаления способствует повышению проницаемости сосудистой стенки и диссеминации опухолевого клона за счет активного выброса протеаз (например, MMP9) и VEGF-A [139]. VEGF-A, являясь ключевым проангиогенным фактором, принимает участие в регуляции таких процессов канцерогенеза, как

пролиферация, инвазия, неоваскуляризация, метастазирование опухолевых клеток, а также развитие резистентности к терапии [22].

Среди разных видов острых и хронических лейкозов, наибольшая степень васкуляризации костного мозга характерна для ХМЛ [23]. Известно, что *BCR::ABL1*-положительные клетки, изолированные из костного мозга больных ХМЛ, характеризуются избыточной продукцией ангиогенных цитокинов VEGF, IL-8, HGF и FGF2 [35]. В работе Almenshawu и соавт. показано, что концентрация VEGF у больных ХМЛ в различные фазы заболевания достоверно выше по сравнению с показателями здоровой популяции [21]. Другие исследования свидетельствуют о том, что высокий уровень VEGF ассоциируется со спленомегалией, более высоким уровнем тромбоцитов в дебюте заболевания [78] и продвинутыми фазами заболевания [87]. Предполагается, что *BCR::ABL1* способствует повышению экспрессии гена *VEGF* [30]. В подтверждение этому, необходимо отметить, что терапия ИТК эффективно уменьшает степень костномозговой васкуляризации, а достижение БМО приводит к нормализации плотности микроваскулярной сети [168]. Кроме того, степень плотности и морфометрические параметры микроваскулярной сети могут являться предиктором эффективности лечения, выживаемости пациентов и риска прогрессии заболевания [59].

1.5 Регуляция клеточного цикла при хроническом миелолейкозе

Нарушение баланса между пролиферативным потенциалом и клеточной гибелью является ключевым событием в канцерогенезе, ведущим к неконтролируемой пролиферации клеток. Клеточный цикл состоит из 4 фаз: G1 (пресинтетическая), S (синтетическая), G2 (постсинтетическая), которые объединяются в фазу интерфазы, и митотической (M). Находящиеся в состоянии покоя ГСК, вступают в клеточный цикл и, соответственно, начинают пролиферировать при воздействии сигналов с костномозговой ниши или других систем организма [169, 184].

Общепризнанным маркером пролиферативной активности опухолевых клеток является ядерный белок Ki-67, который экспрессируется в делящихся клетках в фазы G₁, S, G₂ и M [57]. В настоящее время признано, что биологическая роль протеина Ki-67 заключается в предотвращении агрегации хромосом во время митоза, что обеспечивает их эффективное взаимодействие с митотическим веретеном [130, 186]. Экспрессия Ki-67 имеет критическое значение на всех этапах канцерогенеза, регулирует транскрипционную активность опухолевых клеток и их взаимосвязь с микроокружением. В исследовании Mrouj и соавт. показано, что нокаут Ki-67 приводит к торможению процессов неоваскуляризации, роста и метастазирования опухоли [130].

В настоящее время определение уровня экспрессии белка Ki-67 широко применяется в качестве диагностического инструмента при злокачественных новообразованиях, поскольку трансформированные клетки характеризуются высокой пролиферативной активностью [57]. Однако, при миелоидных неоплазиях применение данного маркера в клинической практике весьма ограничено. Из данных современной литературы известно, что пациенты с миелодиспластическим синдромом (МДС) из группы низкого риска характеризуются высокой пролиферативной активностью, когда как пациенты с МДС высокого риска и острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) – низкой [199]. При ХМЛ, на основании опыта отдельных исследовательских групп, предполагается, что высокая пролиферативная активность клеток-предшественников может являться одной из причин резистентности к ИТК. При сравнении больных с различным уровнем экспрессии Ki-67 оказалось, что высокий уровень экспрессии Ki-67 коррелирует с неудачей терапии [86].

Данные о взаимосвязи уровня циркулирующих цитокинов и экспрессии Ki-67 практически отсутствуют. В единичных работах описана корреляция уровня Ki-67 с IL-10 и IL-8 при хронических воспалительных процессах ротовой полости, что позволило предположить возможную роль цитокинов в регуляции пролиферативной активности клеток [212].

Критическим событием в прогрессировании ХМЛ до БК является потеря способности миелоидных клеток к дифференцировке, что ведет к прогрессирующему увеличению количества бластных клеток [145]. В процессе клональной эволюции ХМЛ предполагается важная роль белка Мус, который способен блокировать дифференцировочный потенциал миелоидных предшественников. Активация Мус вследствие различных генетических нарушений наблюдается при многих злокачественных новообразованиях [49, 51, 146, 148].

В настоящее время известно, что *BCR::ABL1* регулирует активность Мус через различные механизмы, например, сигнальные пути PI3K, JAK2, транскрипционный фактор E2F1. Мус, в свою очередь, оказывает влияние на экспрессию *BCR::ABL1* путем прямой регуляции активности промотера *BCR* [32]. Активация Мус приводит к нестабильности генома, блокировке дифференцировки и позволяет трансформированным клеткам накапливать мутации и активно пролиферировать [125]. По результатам экспериментальных исследований было показано, что терапия ИТК приводит к уменьшению экспрессии Мус в костном мозге, а высокая экспрессия онкопротеина в дебюте ХМЛ ассоциирована с неудовлетворительным ответом на иматиниб [147].

Противоположным пролиферации по своей биологической роли процессом является апоптоз – запрограммированная клеточная гибель. Функциональная роль апоптоза заключается в поддержании тканевого гомеостаза, элиминации поврежденных, дефектных клеток и противовирусной, противоопухолевой защите. Наиболее часто апоптоз инициируется при воздействии следующих факторов: активации липосомальных ферментов, активации фосфолипаз, митохондриальной дисфункции, продукции активных форм кислорода, повреждении ДНК, экзо- и эндоантигенов, ишемии, гипоксии, лактат-ацидоза и ионизирующих повреждений [10].

Дефекты на различных этапах апоптоза являются частым событием в канцерогенезе [83]. Нарушение экспрессии про- и антиапоптотических белков в опухолевых клетках способствует развитию резистентности к лекарственным

препаратам, а блокада апоптоза является одним из важных механизмов, способствующих длительному персистированию ЛСК ХМЛ [28].

Выделяют 2 пути развития апоптоза – внутренний (митохондриальный) и внешний (осуществляемый через поверхностные рецепторы клеточной гибели), а также менее известный – эндоплазматический. Внешний путь инициируется при активации рецепторов клеточной гибели, наиболее известными из которых являются TNFR1, Fas (CD95) и их лиганды – TNF и FasL. Связывание лиганда с рецептором и адапторными белками приводит к образованию сигнального комплекса клеточной гибели (DISC), который является пусковым фактором для активации про-каспазы 8 [2, 24].

Внутренний (митохондриальный) путь инициируется в ответ на воздействие таких внутриклеточных сигналов, как мутации, гипоксия, высокая концентрация Ca^{2+} , оксидативный стресс и др. Вслед за этим в цитоплазму клеток происходит выброс проапоптотических молекул, например цитохрома C. Основными регуляторами внутреннего пути апоптоза являются про- и антиапоптотические белки семейства BCL-2, фактор, индуцирующий апоптоз (AIF), второй митохондриальный активатор каспаз (Smac), белки ингибиторы апоптоза (IAP) и сериновые протеазы (HtrA2), которые приводят к активации каспазы 9. Таким образом, конечным результатом внешнего и внутреннего пути является каскадная активация серии каспаз – протеолитических ферментов. Связующим звеном обоих путей является каспаза 3, активирующая дезоксирибонуклеазу, ответственную за процесс апоптоза [212].

Потенциальными мишенями для терапевтического воздействия при ХМЛ является онкосупрессорный белок p53. В исследовании Abraham и соавт. продемонстрировано, что двойное воздействие на механизмы пролиферации и апоптоза клеток, а именно блокада c-Myc и активация p53, является эффективным способом эрадикации ЛСК ХМЛ, включая ИТК-резистентные клоны [76].

P53 – онкосупрессорный белок, поддерживающий стабильность генома и предупреждающий инициацию канцерогенеза. Являясь транскрипционным фактором с множеством биологических эффектов, он регулирует экспрессию

генов, участвующих в координировании клеточного цикла, апоптоза и репарации ДНК. Дикий тип p53 активирует митохондриальный путь апоптоза, в то время как мутантный вариант белка, наоборот, ингибирует процессы апоптоза, повышая выживаемость клеток [154]. В физиологических условиях уровень экспрессии белка поддерживается на низком уровне благодаря протеосомной деградации, опосредованной E3 убиквитин лигазой MDM. Мутации *TP53* с инактивацией продукта гена, белка p53, и потерей его онкосупрессорных свойств встречаются в 50 % случаев злокачественных новообразований, что имеет важное клинко-прогностическое значение [95].

Белок p53 имеет тесную взаимосвязь с системой цитокинов, поскольку является антагонистом сигнального пути NF-κB. В условиях хронического воспаления, а также неопластических клетках наблюдается конституциональное повышение активности NF-κB, что ведет к подавлению активности апоптоза и, соответственно, бесконтрольной пролиферации клеток [156].

Среди больных ХФ ХМЛ мутации *TP53* встречаются редко, но при БК ХМЛ их частота увеличивается, достигая 20 %. Имеющиеся данные позволили предположить, что p53 принимает участие в процессе прогрессирования заболевания. Впоследствии эта гипотеза была доказана как на экспериментальных моделях, так и среди больных ХМЛ [17, 152]. Кроме того, в исследовании Peterson и соавт. было показано, что таргетное воздействие на белок p53 способно преодолеть резистентность к ИТК даже при наличии мутации T315I, индуцируя апоптоз клеток-предшественников ХМЛ. Сильный терапевтический потенциал такого подхода объясняется активацией транскрипционных факторов сигнальных путей Hedgehog и Wnt, запускающих апоптоз опухолевых клеток, как по внутреннему, так и по внешнему пути [155].

Результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о том, что BCR::ABL1 активирует экспрессию белка Mdm2 – антагониста p53. То есть, при ХМЛ наблюдается инактивация p53, ведущая к блокаде апоптоза, накоплению повреждений ДНК в опухолевых клетках и прогрессированию заболевания [166]. В то же время, согласно данным других исследователей, в ответ на повреждение

ДНК, *BCR::ABL1*-положительные клетки накапливают p53, что приводит к развитию резистентности к ИТК [31]. В работе Carter и соавт. также доказано, что покоящиеся CD34⁺ клетки-предшественники ХМЛ, в отличие от активно пролиферирующих клеток, характеризуются низким уровнем экспрессии p53 и, наоборот, гиперэкспрессией Mdm2, что позволяет этим клеткам персистировать в течение длительного времени [187].

Активация *BCR::ABL1* сопровождается ингибированием множества сигнальных путей, регулирующих белки семейства каспаз [79]. Каспазы, участвующие в реализации программ клеточной гибели, подразделяются на иницирующие (каспаза-2, -8, -9, -10 и -12) и эффекторные (каспаза-3, -6 и -7). В ответ на воздействие стрессовых факторов, например, повреждение ДНК химиотерапевтическими агентами, митохондрии выбрасывают в цитозоль цитохром С, который запускает каскад реакций, активирующих каспазы. Иницирующей молекулой митохондриального (внутреннего) пути апоптоза является каспаза 9, которая, в свою очередь, активирует эффекторные каспазы 3 и 7. Известно, что *BCR::ABL1*-тирозинкиназа ингибирует процесс сборки апоптосомы, являющийся критическим этапом в активации каспазы 9 и, соответственно, инициации апоптоза [34].

Ключевой эффекторной каспазой, объединяющей внутренний и внешний пути апоптоза, является каспаза 3. Результаты исследования Vassileva и соавт., проводившегося на животных моделях показали, что в культурах клеток злокачественного новообразования в ответ на воздействие цитостатического агента повышается экспрессия каспазы-3, что ведет к апоптозу и элиминации опухолевых клеток [83]. Традиционно сложилось мнение, что высокий уровень каспазы 3 при злокачественных новообразованиях является индикатором эффективности противоопухолевой терапии за счет усиления процесса апоптоза опухолевых клеток. Однако, ряд исследований свидетельствует о том, что при некоторых опухолях высокий уровень прокаспазы 3 или его активной формы каспазы 3 сопряжен с неблагоприятным прогнозом заболевания. Кроме того, ингибирование каспазы 3 приводило к торможению роста опухоли, а активация,

в свою очередь, способствовала более агрессивному течению неопластического процесса вследствие усиления ангиогенеза [58].

Возможности активации каспаз в качестве терапевтического воздействия при ХМЛ мало изучены. Имеются единичные экспериментальные данные, демонстрирующие потенциальную эффективность такого подхода для преодоления резистентности к ИТК. Например, разработка BCR::ABL1-индуцированной iCaspase-8 (inducible) *in vitro* продемонстрировала эффективность в стимуляции апоптоза как пролиферирующих, так и покоящихся CD34⁺ - клеток-предшественников ХМЛ. Аналогичный продукт каспазы 9 также стимулировал процесс апоптоза BCR::ABL1-экспрессирующих клеток, но в несколько меньшей степени [79].

1.6 Роль р-гликопротеина, белка множественной лекарственной устойчивости, в развитии резистентности к ингибиторам тирозинкиназ

Одним из механизмов развития резистентности к ИТК является угнетение внутриклеточной аккумуляции препаратов, например, вследствие его избыточного экспорта р-гликопротеином, белком-транспортером из суперсемейства ABC-транспортеров [18]. При многих солидных опухолях гиперэкспрессия р-гликопротеина является ключевым механизмом развития множественной лекарственной устойчивости. Согласно литературным данным, более чем у половины больных ХМЛ в костном мозге наблюдается гиперэкспрессия р-гликопротеина [210].

АТФ-связывающие белки семейства ABC (ATP-binding cassette transporters) регулируют активный транспорт различных молекул через клеточную мембрану, что является ключевым звеном в регуляции внутриклеточной концентрации лекарственных препаратов. Р-гликопротеин экспрессируется в различных тканях, принимающих участие в абсорбции и элиминации ИТК (тонкий кишечник, печень, почки), стволовых клетках и циркулирующих лейкоцитах [18]. В норме экспрессия р-гликопротеина на ГСК поддерживает стабильность генома, защищая

их от воздействия генотоксических субстратов. Кроме того описано, что белки семейства ABC способны ингибировать активацию каспаз и, соответственно, процесс апоптоза [164]. Экспрессия р-гликопротеина позволяет регулировать не только процесс внутриклеточного транспорта ИТК, но и их биодоступность. Изучение фармакокинетики иматиниба позволило установить, что снижение внутриклеточной концентрации иматиниба вследствие усиления р-гликопротеин-ассоциированного эффлюкса ведет к селекции и экспансии резистентных опухолевых субклонов. В то же время, результаты исследований показали, что высокий уровень экспрессии р-гликопротеина, в первую очередь, снижает внутриклеточную аккумуляцию дазатиниба и в меньшей степени иматиниба и нилотиниба [18].

В настоящее время известно, что гиперэкспрессия р-гликопротеина в дебюте ХМЛ является важным прогностическим фактором, сопряженным с высоким риском развития резистентности к ИТК и неудачей терапии. Результаты современных исследований свидетельствуют о том, что уровень экспрессии белка-транспортера среди больных с неудовлетворительным ответом на иматиниб достоверно выше по сравнению с больными с БМО [151].

Таким образом, многолетний опыт применения ИТК позволил кардинально изменить прогноз ХМЛ, увеличить показатели выживаемости больных и снизить риск прогрессирования заболевания. В настоящее время основной целью лечения больных ХМЛ является максимальное подавление Ph-положительного опухолевого клона и сохранение качества жизни. Вместе с тем, увеличение доли больных с глубоким МО определяет актуальность исследований, направленных на изучение факторов, влияющих на эффективность терапии и сохранение БМО при отмене ИТК.

Результатами многих исследований показано, что цитокины являются важным компонентом системы опухоли и ее микроокружения. Они регулируют процессы пролиферации, дифференцировки и апоптоза опухолевых клеток. Активно изучается возможность применения цитокинов в качестве прогностических маркеров, разрабатываются терапевтические подходы,

основанные на блокаде сигнальных путей отдельных цитокинов. Однако, особенности цитокинового профиля больных ХМЛ остаются до конца не изученными. Имеются единичные публикации, доказывающие роль провоспалительных цитокинов в усилении пролиферативной активности опухолевых клеток и механизмах защиты от лекарственного воздействия, что может являться причиной развития резистентности к ИТК и прогрессирования заболевания. Кроме того, описана возможность комбинации блокаторов отдельных цитокинов с ИТК, позволяющая достичь более глубокой эрадикации Ph-положительного опухолевого клона.

Обзор современной литературы показал, что исследований, изучавших взаимосвязь между сывороточной концентрацией цитокинов и уровнем экспрессии на клетках костного мозга белков-регуляторов клеточного цикла, апоптоза, а также множественной лекарственной устойчивости, крайне мало. Имеются данные о влиянии транскрипционных факторов p53 и c-Myc, белков семейства каспаз и p-гликопротеина на опухолевую прогрессию и резистентность к терапии при ХМЛ. В большинстве случаев результаты исследований носят противоречивый характер, а клинико-прогностическое значение уровня экспрессии Ki-67 не определено. Таким образом, настоящее исследование, целью которого является изучение взаимосвязи между сывороточной концентрацией цитокинов, выраженностью экспрессии основных регуляторных молекул и особенностями клинического течения, а также эффективностью терапии ХМЛ, является крайне актуальным.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

2.1 Дизайн исследования

Диссертационная работа представляет собой одномоментное поперечное исследование. Поскольку ХМЛ является орфанным заболеванием, для расчета минимального объема выборки применялась формула:

$$n = \frac{2\sigma^2(Z_{\beta} + Z_{\alpha})^2}{\Delta^2}$$

где n – минимальный объем выборки;

σ – генеральная совокупность;

Z_{β} – множитель для мощности $\beta = 0,80$;

Z_{α} – множитель для $\alpha = 0,05$;

Δ^2 – разница между средними значениями выборок.

Согласно расчетам, объем минимальной выборки составил 85 человек, а в исследование включено 87 больных с диагнозом ХМЛ в различные фазы заболевания, наблюдающихся в гематологическом отделении ГАУ Республики Саха (Якутия) Республиканской больницы № 1 – Национальный центр медицины, г. Якутск и ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 2», г. Новосибирск. Учитывая общность полученных результатов, пациенты проанализированы в одной группе.

Критерии включения в исследование:

- возраст старше 18 лет;
- диагноз ХМЛ, подтвержденный наличием транслокации $t(9;22)(q34;q11)$ при стандартном цитогенетическом/FISH-исследовании или

экспрессией мРНК *BCR::ABL1* при количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ);

- информированное добровольное согласие пациента.

Критерии исключения:

- наличие хронического заболевания в стадии обострения.

Определение фазы заболевания и глубины ответа проводилось согласно критериям ELN, 2020 [82]. Всем больным проводилось клиническое обследование согласно Российским клиническим рекомендациям по диагностике и лечению ХМЛ [5]:

- сбор жалоб и анамнеза – дата установления диагноза, информация о лечении (длительность, препарат, доза, токсичность, показания для изменения лечения, дата достижения БМО, а также результаты молекулярного мониторинга за весь период терапии), оценка сопутствующей патологии;

- физикальное обследование с определением размеров печени и селезенки;

- лабораторные диагностические исследования (общий анализ крови с подсчетом лейкоцитарной формулы, общетерапевтический биохимический анализ крови, количественная полимеразная цепная реакция в реальном времени (ПЦР-РВ) на экспрессию *BCR::ABL1*, результаты которой представлялись по международной шкале, IS (%);

- цитологическое исследование мазков костного мозга, при ФА и БК ХМЛ дополнительно проводилось цитохимическое, иммунофенотипическое исследование бластных клеток;

- стандартное цитогенетическое исследование костного мозга;

- инструментально-диагностические исследования (ультразвуковое исследование (УЗИ) брюшной полости с оценкой размеров печени и селезенки).

Стандартное цитогенетическое исследование проводилось согласно временным промежуткам, регламентированным в клинических рекомендациях, а также при неудаче терапии для выявления дополнительных хромосомных аномалий (ДХА).

Впервые выявленные больные стратифицировались на группы риска по шкалам Sokal (1984) [161] и ELTS (2016) [160]. Определение фазы заболевания и глубины ответа проводилось согласно критериям European LeukemiaNet, 2020. Гематологическая и негематологическая токсичность классифицировалась согласно критериям токсичности Национального института рака CTCAE v5.0 [149].

Группу контроля составили 50 клинически здоровых лиц. Средний возраст составил $(51,2 \pm 6,8)$ года (95 % ДИ 48,2–54,2 %); распределение по полу: 30 (60 %) женщин и 20 (40 %) мужчин. Критерием включения в контрольную группу являлось отсутствие хронических заболеваний в стадии обострения.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 129 от 30.11.2020). Всеми пациентами подписано информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

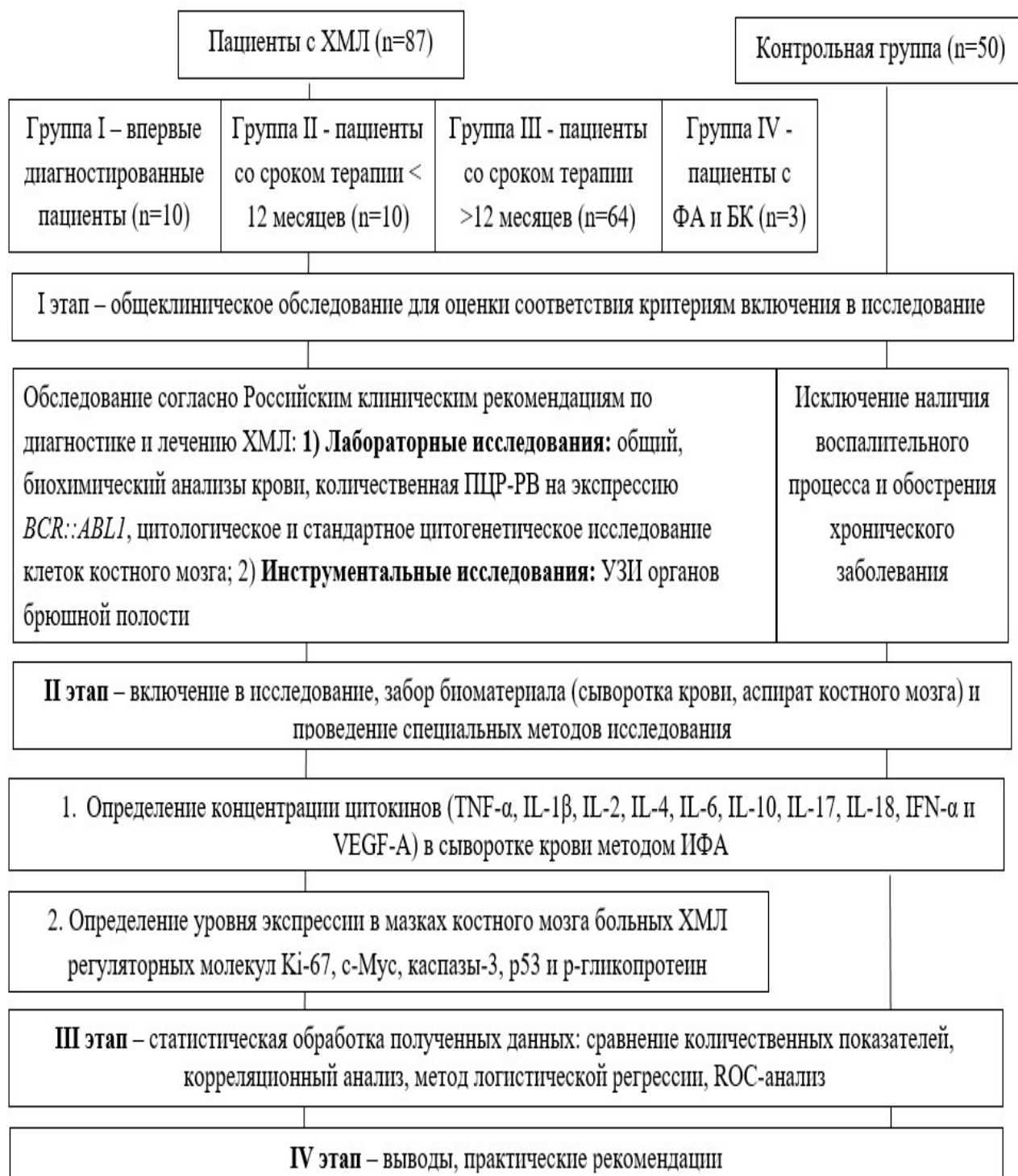


Рисунок 2.1 – Дизайн исследования

2.2 Клиническая характеристика исследуемой группы

Средний возраст больных ХМЛ составил ($53,7 \pm 13,9$) года (95 % ДИ 50,7–56,7 %), соотношение мужчин и женщин: 32 (36,8 %) и 55 (63,2 %). Восемьдесят четыре больных (96,6 %) находились в ХФ, 1 пациент в ФА (1,1 %) и 2 пациента в фазе БК (2,3 %) (Таблица 2.1).

Таблица 2.1 – Клинико-демографическая характеристика больных ХМЛ

Характеристики	Значения
Возраст, М $\pm$ SD (95 % ДИ)	53,7 $\pm$ 13,9 (50,7–56,7)
Мужчины: женщины, n (%)	32 (36,8): 55 (63,2)
Медиана времени наблюдения, лет (min–max)	4 (0–22)
Фаза заболевания	
ХФ, n (%), среди них:	84 (96,6)
Впервые диагностированные больные, n (%)	10 (11,5)
Больные со сроком терапии менее 12 месяцев, n (%)	10 (11,5)
Больные со сроком терапии более 12 месяцев, n (%)	64 (73,6)
Фаза акселерации, n (%)	1 (1,1)
Бластный криз, n (%)	2 (2,3)

В настоящее время в связи со значимыми успехами в терапии ХМЛ и доступностью препаратов ИТК по федеральной программе 14 высокочастотных нозологий (ВЗН) количество пациентов с продвинутыми стадиями заболевания значительно меньше, что объясняет малый объем выборки пациентов с продвинутыми стадиями заболевания.

Медиана наблюдения за больными составила 4 года (от впервые диагностированных до 22 лет), при этом доля лиц с периодом наблюдения более 5 лет – 40,2 % (35 больных).

Несмотря на то, что в современной классификации ХМЛ принято выделять три фазы заболевания (ХФ, ФА и БК) для уточнения цитокинового профиля пациентов на различных этапах заболевания, исследуемые в ХФ ХМЛ были условно разделены на следующие подгруппы: впервые диагностированные

больные (10/11,5 %) – группа I, больные с длительностью терапии менее 12 месяцев (10/11,5 %) – группа II и больные с длительностью терапии более 12 месяцев (64/73,6 %) – группа III. Больные в ФА и БК отнесены к группе IV.

При анализе данных анамнеза выявлено, что у 85 (97,7 %) включенных в исследование пациентов ХМЛ дебютировал с ХФ, у 2 (2,3 %) пациентов с фазы БК. В дебюте заболевания группа риска по Sokal и ELTS среди больных ХФ ХМЛ определена у 75 человек (Таблица 2.2).

Таблица 2.2 – Распределение больных по группам риска в дебюте заболевания

Группа риска	Абс. (%)
группа риска по Sokal на момент установления диагноза	
Низкий риск, n (%)	25 (33,3)
Промежуточный риск, n (%)	33 (44,0)
Высокий риск, n (%)	17 (22,7)
группа риска по ELTS на момент установления диагноза	
Низкий риск, n (%)	41 (54,7)
Промежуточный риск, n (%)	21 (28,0)
Высокий риск, n (%)	13 (17,3)

По шкале Sokal к низкой группе риска отнесены 25 (33,3 %) больных, промежуточной – 33 (44 %), высокой – 17 (22,7 %). Распределение по шкале ELTS выглядело следующим образом: низкая группа риска – 41 (54,7 %), промежуточная – 21 (28 %), высокая – 13 (17,3 %).

В таблице 2.3 представлена клинико-лабораторная характеристика обследованных пациентов в зависимости от фазы ХМЛ и длительности терапии.

Таблица 2.3 – Клинико-лабораторная характеристика больных ХМЛ в зависимости от фазы заболевания

Показатель	Группа I (n = 10)	Группа II (n = 10)	Группа III (n = 64)	Группа IV (n = 3)	p
	Me (Q ₁ –Q ₃) / M ± SD (95 % ДИ)/абс. (%)				
Лейкоциты × 10 ⁹	92,06 (30,20–123,38)	6,04 (4,10–6,95)	5,60 (4,50–6,71)	3,15 (2,67–3,62)	< 0,001 [*] P _{II-I} < 0,001 ^{**} P _{III-I} < 0,001 ^{**} P _{IV-I} < 0,001 ^{**}
Эритроциты × 10 ¹²	4,03 (3,77–4,32)	4,15 (3,66–4,50)	4,14 (3,62–4,64)	4,19 (4,10–4,28)	0,915
Гемоглобин, г/л	122 (102–130)	126 (119–132)	124 (115–133)	130 (124–135)	0,741
Тромбоциты × 10 ⁹ /л	743 (390–1 009)	241 (131–282)	241 (204–284)	74 (64–84)	< 0,001 [*] P _{II-I} < 0,001 ^{**} P _{III-I} < 0,001 ^{**} p _{III-IV} < 0,032 ^{**}
Бласты, %	3 (2–3)	—	—	5 (5–5)	0,295
Промиелоциты, %	2 ± 1 (0–4)	—	—	—	—
Метамиелоциты, %	5 (4–6)	—	1 (1–1)	—	0,127
Миелоциты, %	2 (2–19)	—	1 (1–2)	—	0,030 [*]
Юные, %	—	—	4 (2–7)	—	—
Палочкоядерные, %	16 (5–20)	2 (2–5)	2 (1–4)	1 (1–1)	0,001 [*] p _{III-I} = 0,002 ^{**} p _{IV-I} = 0,017 ^{**}
Сегментоядерные, %	42 (38–50)	52 (41–56)	56 (46–61)	32 (26–38)	0,008 [*] p _{III-I} = 0,023
Лимфоциты, %	7 (4–11)	36 (29–48)	32 (26–36)	46 (43–48)	< 0,001 [*] P _{II-I} < 0,001 ^{**} P _{III-I} < 0,001 ^{**} P _{IV-I} = 0,002 ^{**}
Моноциты, %	2 (1–4)	7 (7–10)	7 (5–9)	20 (13–28)	0,002 [*] P _{II-I} = 0,014 ^{**} P _{III-I} = 0,002 ^{**}

Продолжение таблицы 2.3

Показатель	Группа I (n = 10)	Группа II (n = 10)	Группа III (n = 64)	Группа IV (n = 3)	p
	Me (Q _I –Q ₃) / M ± SD (95 % ДИ)/абс. (%)				
Базофилы, %	6 (3–8)	1 (1–1)	1 (1–2)	0 (0–1)	0,002* P _{II-I} = 0,043** P _{III-I} = 0,003**
Эозинофилы, %	3 (2–8)	1 (1–2)	2 (1–4)	1 (1–1)	0,134
Бласты в костном мозге, %	4 (3–5)	1 (1–1)	1 (1–2)	37 (20–54)	0,003* P _{III-I} = 0,013
АЛТ, Ед/л	33 (18–43)	20 (16–22)	20 (14–34)	15 (12–18)	0,189
АСТ, Ед/л	30 (27–38)	25 (19–28)	26 (20–28)	22 (22–23)	0,100
Креатинин, ммоль/л	74 (63–83)	67 (66–83)	89 (77–106)	89 (81–96)	0,024*
Мочевина, моль/л	6 (5–6)	5 (4–5)	5 (5–6)	6 (6–7)	0,621
ЛДГ, Ед/л	462 (378–735)	198 (179–228)	198 (179–228)	237 (231–243)	0,008* P _{II-I} = 0,009**
Площадь селезенки по УЗИ, см ²	88 (68–101)	54 (30–55)	29 (25–36)	42 (38–46)	0,001* P _{III-I} < 0,001**
Гепатомегалия	4 (40)	4 (40,0)	15 (23,4)	1 (50,0)	0,498
Примечания: группа I – впервые выявленные больные, группа II – больные с периодом наблюдения менее 12 месяцев, группа III – больные с периодом наблюдения более 12 месяцев, группа IV – больные в ФА и БК; * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05, критерий Краскела – Уоллиса); ** – различия показателей статистически значимы (p < 0,05, критерий Данна с поправкой Холма);					

Из таблицы 2.3 видно, что среди анализируемых групп пациентов выявлены статистически значимые различия по уровню лейкоцитов, миелоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, моноцитов, базофилов, тромбоцитов, лактатдегидрогеназы (ЛДГ), креатинина и площади селезенки. Впервые диагностированные больные характеризовались статистически значимо высоким уровнем лейкоцитов за счет сдвига лейкоцитарной формулы влево, проявляющимся статистически значимым повышением содержания бластов, миелоцитов, палочкоядерных нейтрофилов. Лейкоцитоз в пределах $30 \times 10^9/\text{л}$

наблюдался у 3 (27,7 %), $30-100 \times 10^9/\text{л}$ – у 5 (45,5 %), $> 100 \times 10^9/\text{л}$ – у 3 (27,3 %) больных. В дебюте заболевания также был характерен статистически значимо высокий уровень базофилов и низкий уровень лимфоцитов.

Уровень ЛДГ, внутриклеточного фермента, был достоверно выше среди впервые диагностированных больных (группа I) по сравнению с пациентами групп II и III (лица, получающие терапию ИТК) ($p = 0,008$). Площадь селезенки также была достоверно больше среди пациентов с впервые диагностированным ХМЛ по сравнению с лицами, получающими терапию ИТК более 12 месяцев (группа III, $p = 0,01$).

На ранних сроках терапии (до 12 месяцев) у большинства больных (9/81,8 %) наблюдались нормализация уровня лейкоцитов и тромбоцитов, достоверное увеличение содержания лимфоцитов и моноцитов, а также снижение количества базофилов.

При переходе рубежа 12 месяцев терапии отмечалось достоверное снижение содержания миелоцитов, палочкоядерных нейтрофилов, активности ЛДГ, размеров селезенки, а также повышение уровня сегментоядерных нейтрофилов. Кроме того, увеличивалась частота лейкопении, обусловленной гематологической токсичностью ИТК (20,7 %).

Отличительной чертой больных продвинутыми стадиями ХМЛ являлась тромбоцитопения, которая наблюдалась во всех случаях ($Me = 54,31,50-74,00 \times 10^9/\text{л}$). Кроме того, уровень креатинина был достоверно выше среди больных в ХФ, получающих терапию более 12 месяцев, что, вероятно, обусловлено нефротоксичностью препаратов ИТК [109].

До включения в исследование пациенты обследованы на предмет наличия сопутствующих заболеваний (Таблица 2.4). Второй этап исследования инициировали при исключении обострения и декомпенсации хронических заболеваний.

Таблица 2.4 – Структура сопутствующей патологии больных ХМЛ

Сопутствующее заболевание	Абс.	%	95 % ДИ
Сердечно-сосудистые заболевания	30	34,5	24,9–45,9
Сахарный диабет	8	9,2	4,1–17,5
Болезни желудочно-кишечного тракта	6	6,9	2,6–14,6
Болезни органов дыхания	4	4,6	1,0–9,2
Хроническая болезнь почек	3	3,5	0,6–7,9
Хронические вирусные гепатиты	2	2,3	0,3–8,1

Наиболее часто среди сопутствующей патологии встречались сердечно-сосудистые заболевания (30/34,5 %), из них контролируемая гипертоническая болезнь у 18 (20,7 %), ишемическая болезнь сердца I-II функционального класса у 9 (10,34 %), дегенеративные (атеросклеротические) пороки сердца у 4 (4,6 %) и постоянная форма фибрилляции предсердий у 2 (2,3 %) больных. Коморбидная патология сердечно-сосудистой системы в основном имела у лиц пожилого возраста (средний возраст $(60 \pm 10,91)$ года). Реже встречались сахарный диабет (8/9,2 %), заболевания желудочно-кишечного тракта (6/6,9 %), болезни органов дыхания (4/4,6 %), хроническая болезнь почек (3/3,5 %) и хронические вирусные гепатиты (2/2,3 %). Среди заболеваний желудочно-кишечного тракта наиболее часто встречалась желчнокаменная болезнь (6/7,0 %) без признаков холецистита, в единичных случаях (1,2 %) наблюдались хронический панкреатит, хронический гастрит и колит вне обострения. Зарегистрированы по одному случаю хронического вирусного гепатита С в стадии интеграции и хронического вирусного гепатита В без цитолитической активности.

На момент включения в исследование терапия гидроксикарбамидом проводилась 10 (11,5 %) впервые диагностированным больным, терапия иматинибом – 49 (56,3 %), ИТК2 – 26 (29,9 %) больным и цитостатическая терапия 2 (2,3 %) больным с БК (Рисунок 2.2). Ингибиторы тирозинкиназ второго поколения во вторую и последующие линии назначены 26 (29,9 %) больным, из

них нилотиниб в 12 (13,8 %), дазатиниб в 10 (11,5 %) и бозутиниб в 4 (4,6 %) случаях.

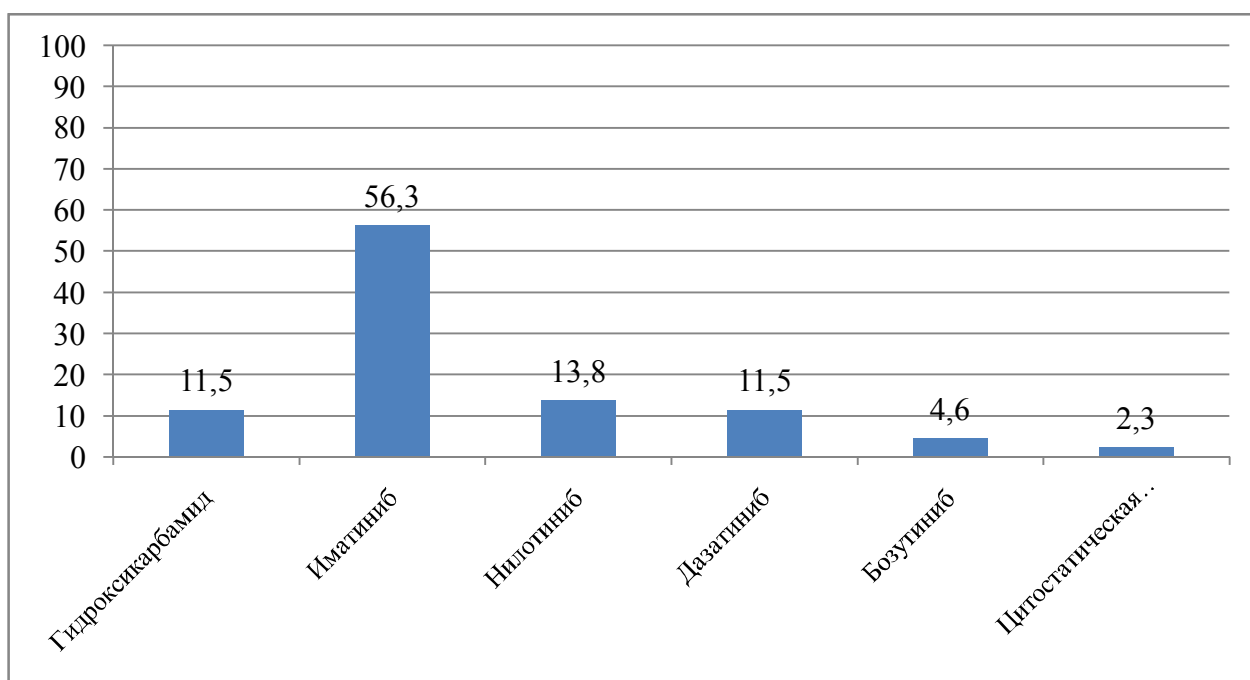


Рисунок 2.2 – Характеристика проводимой терапии больных ХМЛ

На фоне проводимой терапии 50 больных (57,5 %) достигли БМО, из них 50,5 % – глубокого МО ($MO^{4.0}$, $MO^{4.5}$, $MO^{5.0}$) (Таблица 2.5).

Таблица 2.5 – Характеристика молекулярного ответа больных ХМЛ на ИТК

Уровень ответа	Абс. (%)	95 % ДИ
БМО не достигнут	37 (42,5)	31,3–53,0
БМО ($MO^{3.0}$)	50 (57,5)	47,0–68,7
$MO^{4.0}$	8 (9,2)	4,1–17,5
$MO^{4.5}$	15 (17,2)	10,1–27,1
$MO^{5.0}$	21 (24,1)	15,8–34,9
Примечание: БМО – $BCR::ABL1 \leq 0,1 \%$; $MO^{4.0}$ – $BCR::ABL1 \leq 0,01 \%$, $MO^{4.5}$ – $BCR::ABL1 \leq 0,032 \%$, $MO^{5.0}$ – $BCR::ABL1 \leq 0,001 \%$.		

С момента регистрации иматиниба в РФ практически всем больным в ХФ в

качестве препарата первой линии назначался иматиниб в дозе 400 мг. В двух случаях дебюта ХМЛ с БК назначались иматиниб в дозе 600 мг/сут и дазатиниб 140 мг/сут. Перевод на вторую линию терапии документирован у 27 обследуемых (31 %), из них в 18 (20,7 %) случаев назначен нилотиниб, в 8 (9,2 %) – дазатиниб, в 1 (1,2 %) – бозутиниб. Показанием к смене терапии у 20 (23 %) пациентов являлась неудача терапии, у 7 (8 %) – непереносимость иматиниба, причиной которого в 3 (3,5 %) случаях являлась диарея, в 2 (2,3 %) – гематологическая токсичность, в 1 (1,2 %) – ксеростомия и в 1 (1,2 %) – кожная токсичность. Медиана времени до перевода на вторую линию составила 31 месяц (диапазон от 3 до 120 месяцев).

Терапия третьей линии назначена 8 больным (9,2 %), из них в половине случаев – дазатиниб 100 мг (4/4,6 %), другим – бозутиниб 500 мг (4/4,6 %). Причиной перевода на третью линию у 6 больных (6,9 %) явилась непереносимость ИТК второй линии, у 2 (2,3 %) – неудача терапии. Среди причин непереносимости преобладали плевральные выпоты, обусловленные приемом дазатиниба (3/3,5 %). Другие причины перевода на ИТК2 включали диарею – 2 (2,3 %) и гематологическую токсичность в 1 (1,2 %) случае. Медиана времени до перевода на третью линию составила 12 месяцев (диапазон от 4 до 108 месяцев).

На любом этапе наблюдения ДХА методом стандартного цитогенетического исследования выявлены у 5 (4,6 %) больных. У всех больных с дополнительными аномалиями кариотипа регистрировался один и более эпизодов прогрессии в БК, 2 больным (2,3 %) проведена успешная аллогенная трансплантация костного мозга (алло-ТГСК).

2.3 Специальные методы исследования

Больным и лицам контрольной группы проведено количественное определение концентрации цитокинов TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-18, IFN- α и VEGF-A в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью набора реагентов ИФА-БЕСТ (АО «Вектор-Бест, Новосибирск,

Россия). Количественное содержание цитокинов в сыворотке крови выражалось в пг/мл. Метод определения основан на трехстадийном «сэндвич»-варианте твердофазного иммуноферментного анализа с использованием моно- и поликлональных антител к цитокинам. Исследование проведено на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Новосибирского государственного медицинского университета» Минздрава России (зав. лабораторией д-р биол. наук, проф. А. И. Аутеншлюс).

Определение экспрессии белков пролиферации (Ki-67), апоптоза (p53), множественной лекарственной устойчивости (p-гликопротеин), эффекторной каспазы 3, онкопротеина c-Myc проведено на цитологических мазках костного мозга, полученных путем аспирационной биопсии. Для исследования иммунологического фенотипа опухоли использовался иммуноцитохимический метод с моноклональными антителами против антигенов Ki-67, p53, c-Myc, каспазы 3 и p-гликопротеина. В каждом поле подсчитывалось не менее 100 клеток. Число позитивных клеток определялось по следующим критериям: 0 позитивных клеток – отсутствие экспрессии, менее 25 % позитивных клеток – низкая экспрессия, 25–50 % – средняя, более 50 % – высокая. Исследование проведено на базе Регионального центра высоких медицинских технологий (совместно с д-ром мед. наук, проф. Т. А. Агеевой).

2.4 Статистические методы исследования

Статистический анализ проводился с использованием программы StatTech v. 2.8.4 (разработчик – ООО «Статтех», Россия). Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро – Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерия Колмогорова – Смирнова (при числе исследуемых более 50).

Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывались с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD), границ 95 % доверительного интервала (95 % ДИ). В случае

отсутствия нормального распределения количественные данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1–Q3). Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей.

Сравнение двух групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, при условии равенства дисперсий выполнялось с помощью t-критерия Стьюдента, при неравных дисперсиях выполнялось с помощью t-критерия Уэлча, а при распределении, отличающемся от нормального – с помощью U-критерия Манна – Уитни. Сравнение трех и более групп выполнялось с помощью критерия Краскела – Уоллиса, апостериорные сравнения – с помощью критерия Данна с поправкой Холма. Корреляционный анализ между двумя количественными показателями проводился с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Для оценки вероятности достижения БМО в зависимости от изучаемых биомаркеров применялся метод логистической регрессии. Мерой определенности, указывающей на ту часть дисперсии, которая может быть объяснена с помощью логистической регрессии, служил коэффициент R^2 Найджелкерка. Для оценки диагностической значимости прогностических моделей применялся метод анализа ROC-кривых. Разделяющее значение количественного признака в точке cut-off определялось по наивысшему значению индекса Юдена. Влияние фактора считалось достоверным, если значение площади под кривой ROC с нижней границей 95 % ДИ более 0,50, а значение p – менее 0,05.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Концентрация цитокинов у больных хроническим миелолейкозом

По результатам исследования установлено, что в общей группе больных ХМЛ наблюдается достоверное повышение секреции как провоспалительных (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-17, IL-18), так и противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10) и IFN- α (Таблица 3.1), что не противоречит литературным данным, описывающим цитокиновый дисбаланс при миелопролиферативных неоплазиях, в том числе ХМЛ [65].

Таблица 3.1 – Концентрация цитокинов у больных ХМЛ и здоровых лиц (пг/мл)

Цитокин	Больные ХМЛ (n = 87)	Контрольная группа (n = 50)	p
	Me (Q ₁ –Q ₃)		
TNF- α	2,00 (1,32–4,28)	0,45 (0,00–1,08)	< 0,001*
IL-1 β	2,14 (0,88–5,23)	0,88 (0,69–1,68)	< 0,001*
IL-2	0,78 (0,78–2,00)	0,78 (0,00–0,78)	< 0,001*
IL-6	4,00 (2,30–7,80)	0,80 (0,53–1,40)	< 0,001*
IL-18	296,65 (213,7–400)	174,30 (96,80–227,45)	< 0,001*
IL-10	4,55 (2,30–6,33)	0,95 (0,95–1,58)	< 0,001*
IL-4	3,81 (3,19–4,76)	2,31 (1,02–3,48)	< 0,001*
IFN- α	5,60 (5,00–9,80)	4,00 (2,30–5,00)	< 0,001*
IL-17	3,20 (1,10–6,20)	0,10 (0,00–0,10)	< 0,001*
VEGF-A	145,10 (52,05–329,85)	148,55 (90,50–308,50)	0,590
Примечание: * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05, критерий Манна – Уитни).			

Так, концентрация IL-17 у больных ХМЛ превышала таковую у лиц контрольной группы в 32 раза (3,20, 1,10–6,20 пг/мл и 0,10, 0,00–0,10 пг/мл, p < 0,001), IL-6 в 5 раз (4,00, 2,30–7,80 пг/мл и 0,80, 0,53–1,40 пг/мл, p < 0,001), IL-10 в 4,79 раза (4,55, 2,30–6,33 пг/мл и 0,95, 0,95–1,58 пг/мл, p < 0,001), IL-1 β в

2,43 раза (2,14, 0,88–5,23 пг/мл и 0,88, 0,69–1,68 пг/мл, $p = 0,039$), TNF- α в 2 раза (2,00, 1,32–4,28 пг/мл и 0,45, 0,00–1,08 пг/мл, $p < 0,001$), IL-18 в 1,7 раза (296,65, 213,70–400,00 пг/мл и 174,30, 96,80–227,45 пг/мл, $p < 0,001$). Концентрации IL-4 и IFN- α у больных ХМЛ также были статистически значимо выше по сравнению с контрольной группой (3,81, 3,19–4,76 пг/мл и 2,31, 1,02–3,48 пг/мл, $p < 0,001$ и 5,60, 5,00–9,80 пг/мл и 4,00, 2,30–5,00 пг/мл, $p < 0,001$, соответственно).

3.2 Концентрация цитокинов у больных хроническим миелолейкозом в различные фазы заболевания

Проведен анализ концентрации цитокинов среди больных ХМЛ в зависимости от фазы заболевания и длительности терапии (Таблица 3.2).

Таблица 3.2 – Концентрация цитокинов в зависимости от фазы заболевания и длительности терапии (пг/мл)

Группа I	Группа II	Группа III	Группа IV	Контроль	P
Me (Q ₁ –Q ₃)					
TNF-α					
1,80 (1,73–2,05)	2,10 (1,60–3,25)	2,05 (1,20–4,65)	2,15 (1,82–2,47)	0,45 (0,00–1,08)	< 0,001* p _{контроль-I} < 0,001 p _{контроль-II} < 0,001 p _{контроль-III} < 0,001
IL-2					
2,00 (2,00–2,00)	0,78 (0,78–0,78)	0,78 (0,78–0,78)	2,00 (2,00–2,00)	0,78 (0,00–0,78)	< 0,001* P _{III-I} = 0,003 p _{контроль-I} = 0,040 p _{контроль-III} = 0,019
IL-1β					
6,90 (5,83–8,00)	1,82 (0,88–5,25)	1,35 (0,88–3,00)	7,15 (5,67–8,62)	0,88 (0,69–1,68)	< 0,001* p _{III-I} = 0,002 p _{контроль-I} < 0,001 p _{контроль-III} = 0,016

Продолжение таблицы 3.2

Группа I	Группа II	Группа III	Группа IV	Контроль	P
Me (Q _I –Q ₃)					
IL-6					
9,70 (5,55–16,30)	4,15 (2,65–15,18)	3,10 (2,00–5,12)	211,25 (107,88–314,62)	0,75 (0,53–1,40)	< 0,001* p _{контроль-I} < 0,001 p _{контроль-II} < 0,001 p _{контроль-III} < 0,001 p _{контроль-IV} = 0,027
IL-18					
526,00 (479,78–611,32)	294,25 (265,45–345,38)	289,80 (184,90–379,40)	279,40 (238,90–319,90)	174,30 (96,80–227,45)	< 0,001* p _{III-I} = 0,019 p _{контроль-I} < 0,001 p _{контроль-II} = 0,006 p _{контроль-III} < 0,001
IL-10					
6,00 (5,20–9,53)	4,70 (2,95–6,33)	3,65 (1,90–6,10)	4,45 (3,83–5,08)	0,95 (0,95–1,98)	< 0,001* p _{контроль-I} < 0,001 p _{контроль-II} = 0,003 p _{контроль-III} < 0,001
IL-4					
4,45 (3,84–5,77)	3,41 (2,67–4,14)	3,80 (3,27–4,72)	3,70 (3,70–3,70)	2,31 (1,02–3,48)	< 0,001* p _{контроль-I} = 0,001 p _{контроль-III} < 0,001
IFN-α					
5,00 (5,00–5,45)	7,10 (5,00–8,60)	5,60 (4,00–11,0)	10,70 (8,35–13,05)	4,00 (2,30–5,00)	< 0,001 p _{контроль-II} = 0,018 p _{контроль-III} < 0,001
IL-17					
7,60 (6,30–10,8)	1,10 (0,50–4,90)	2,30 (0,60–5,00)	5,10 (4,15–6,05)	0,10 (0,00–0,10)	< 0,001* p _{контроль-I} < 0,001 p _{контроль-III} < 0,001

Окончание таблицы 3.2

Группа I	Группа II	Группа III	Группа IV	Контроль	Р
Me (Q ₁ –Q ₃)					
VEGF-A					
544,50 (544,50– 544,50)	199,30 (65,00– 291,40)	140,25 (49,40– 310,90)	145,10 (145,10– 145,10)	148,55 (90,50– 308,50)	0,650
Примечания: группа I – впервые выявленные больные в ХФ, группа II – больные ХФ со сроком наблюдения менее 12 месяцев, группа III – больные ХФ со сроком наблюдения более 12 месяцев, группа IV – больные в ФА и БК; * – различия показателей статистически значимы (р < 0,05, критерий Краскела – Уоллиса, апостериорные сравнения между группами проведены с помощью критерия Данна с поправкой Холма): рконтроль-I – различия между больными группы I и контрольной группой; рконтроль-II – различия между больными группы II и контрольной группой, рконтроль-III – различия между больными группы III и контрольной группой, рIII-I – различия между больными групп I и III.					

Впервые диагностированные больные (группа I) по сравнению с контрольной группой продемонстрировали статистически значимо более высокие концентрации TNF- α (1,80, 1,73–2,05 пг/мл и 0,45, 0,00–1,08 пг/мл), IL-2 (2,00, 2,00–2,00 пг/мл и 0,78, 0,00–0,78 пг/мл), IL-1 β (6,90, 5,83–8,00 пг/мл и 0,88, 0,69–1,68 пг/мл), IL-6 (9,70, 5,55–16,30 пг/мл и 0,80, 0,53–1,40 пг/мл), IL-18 (526,10, 479,78–611,32 пг/мл и 174,30, 96,80–227,45 пг/мл), IL-17 (7,60, 6,30–10,80 пг/мл и 0,10, 0,00–0,10 пг/мл), а также противовоспалительных цитокинов IL-10 (6,00, 5,20–9,53 пг/мл и 0,95, 0,95–1,58 пг/мл) и IL-4 (4,45, 3,84–5,77 пг/мл и 2,31, 1,02–3,48 пг/мл).

В дебюте заболевания обращает на себя внимание наиболее интенсивная продукция цитокинов провоспалительного спектра: IL-17, IL-6 и IL-1 β , концентрация которых была в 76, 12,9 и 7,8 раза выше по сравнению с показателями контрольной группы. Полученные результаты свидетельствуют о роли воспалительного микроокружения в опухолевой прогрессии в момент инициации канцерогенеза, что не противоречит данным ранее проведенных экспериментальных исследований [103, 106]. В ответ на активный выброс

провоспалительных цитокинов компенсаторно усиливается секреция цитокинов противовоспалительного спектра, о чем свидетельствуют высокие концентрации IL-4 и IL-10.

Показано, что гиперсекреция цитокинов сохраняется даже на фоне непрерывной таргетной терапии. Так, больные в ХФ ХМЛ, получающие терапию ИТК менее 12 месяцев (группа II), по сравнению с контрольной группой показали достоверно более высокие концентрации TNF- α (2,10, 1,60–3,25 пг/мл и 0,45, 0,00–1,08 пг/мл), IL-6 (4,15, 2,65–15,18 пг/мл и 0,80, 0,53–1,40 пг/мл), IL-18 (294,25, 265,45–345,38 пг/мл и 174,30, 96,80–227,45 пг/мл), IL-10 (4,70, 2,95–6,33 пг/мл и 0,95, 0,95–1,58 пг/мл) и IFN- α (7,10, 5,00–8,60 пг/мл и 4,00, 2,30–5,00 пг/мл). На ранних сроках терапии отмечена тенденция к снижению концентрации цитокинов в сыворотке крови по сравнению с показателями больных в дебюте заболевания, однако различия были статистически не значимы.

В группе больных ХМЛ, получающих терапию ИТК более 12 месяцев (группа III), по сравнению с контрольной группой выявлены статистически значимо более высокие концентрации следующих цитокинов: TNF- α (2,05, 1,20–4,65 пг/мл и 0,45, 0,00–1,08 пг/мл), IL-1 β (1,35, 0,88–5,25 пг/мл и 0,88, 0,69–1,68 пг/мл), IL-6 (3,10, 2,00–5,12 пг/мл и 0,80, 0,53–1,40 пг/мл), IL-18 (289,80, 184,90–379,40 пг/мл и 174,30, 96,80–227,45 пг/мл), IL-10 (3,65, 1,90–6,10 пг/мл и 0,95, 0,95–1,58 пг/мл) и IL-17 (2,30, 0,60–5,00 пг/мл и 0,10, 0,00–0,10 пг/мл), IL-4 (3,80, 3,27–4,72 и 2,31, 1,02–3,48 пг/мл) и IFN- α (5,60, 4,00–11,00 пг/мл и 4,00, 2,30–5,00 пг/мл).

При сравнении показателей цитокинового профиля пациентов I и III групп лица, получающие терапию более 12 месяцев, продемонстрировали достоверно более низкие концентрации провоспалительных цитокинов IL-2 (0,78, 0,78–0,78 и 2,00, 2,00–2,00 пг/мл), IL-1 β (0,88, 0,69–1,68 пг/мл и 6,90, 5,83–8,00 пг/мл) и IL-18 (174,30, 96,80–227,45 пг/мл и 526,00, 479,78–611,32 пг/мл), что, вероятно, связано с уменьшением объема опухолевой нагрузки. Кроме того, можно предположить, что ИТК, являясь мощными ингибиторами различных сигнальных путей,

оказывают влияние на цитокин-продуцирующую способность опухоли и иммунокомпетентных клеток.

Среди больных продвинутыми фазами заболевания (группа IV) по сравнению с контрольной группой выявлена достоверно более высокая концентрация IL-6 (211,25, 107,88–314,62 пг/мл и 0,75, 0,60–1,00 пг/мл).

Обращает на себя внимание статистически значимо более высокая концентрация IFN- α в группах больных, получающих терапию ИТК, по сравнению с контрольной группой, что, вероятно, обусловлено компенсаторным повышением синтеза иммуномодулирующего цитокина, направленным на усиление активности противоопухолевого иммунитета [9].

Известно, что система цитокинов является саморегулируемой системой. Для уточнения характера взаимосвязей между отдельными цитокинами проведен корреляционный анализ по методу Спирмена в исследуемых группах, различающихся по фазе заболевания и длительности терапии. Так, у пациентов в дебюте заболевания выявлены сильные прямые корреляционные взаимосвязи между провоспалительными цитокинами IL-17 и IL-1 β ($r = 0,950$, $p < 0,001$), IL-17 и IL-6 ($r = 0,767$, $p = 0,016$), что свидетельствует о взаимостимулирующей способности цитокинов и синергизме их эффектов в опухолевой прогрессии при ХМЛ (Рисунок 3.1). Кроме того, обращает на себя внимание сильная корреляция концентрации IL-18 с ключевым противовоспалительным цитокином IL-10 ($r = 0,805$, $p = 0,005$) и IFN- α ($r = 0,664$, $p = 0,036$), а также обратная связь между цитокинами противовоспалительного характера IL-10 и IL-4 ($r = -0,708$, $p = 0,022$).

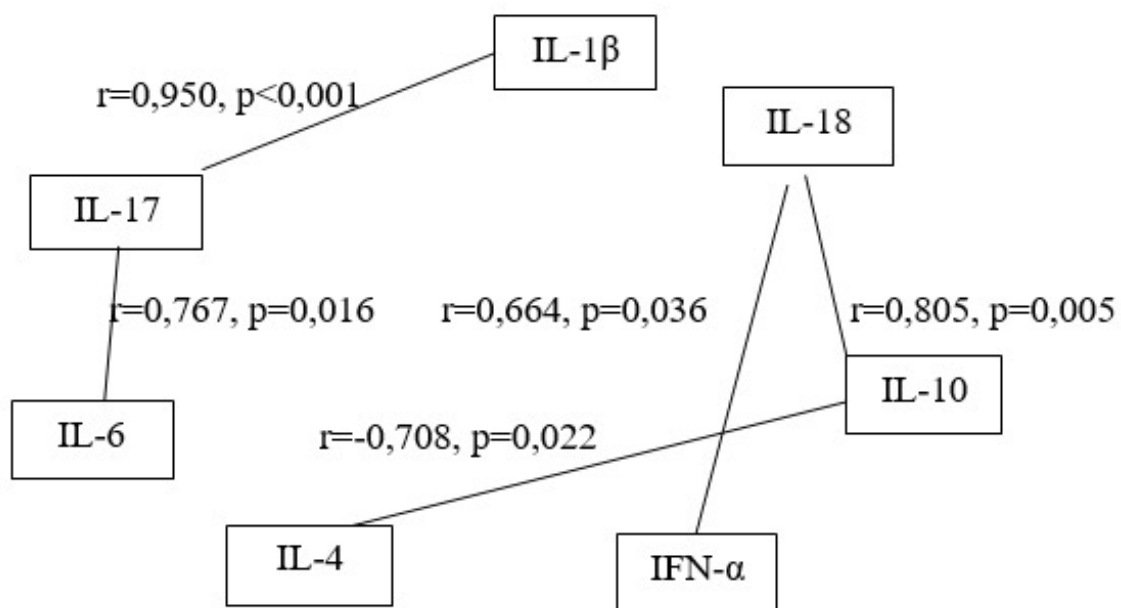


Рисунок 3.1 – Корреляционные взаимосвязи цитокинов между собой среди больных ХМЛ в дебюте заболевания

Пациенты с ХМЛ, получающие терапию ИТК менее 12 месяцев, продемонстрировали наличие сильной прямой корреляционной связи между VEGF-A и IL-4 ($r = 0,945, p = 0,001$), что может свидетельствовать о торможении ангиогенеза при инициации терапии ИТК в условиях сохраняющего воспалительного микроокружения [59].

Больные в ХФ, получающие терапию более 12 месяцев, характеризовались большим разнообразием корреляционных связей, что, вероятно, обусловлено иммунологическими адаптивными механизмами организма, протекающими на фоне терапии ИТК (Рисунок 3.2).

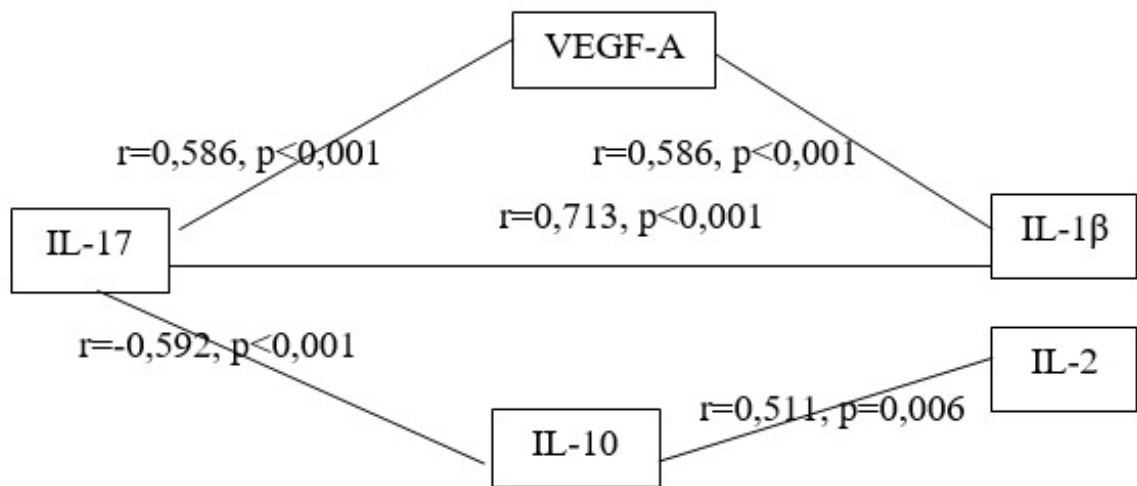


Рисунок 3.2 – Корреляционные взаимосвязи цитокинов между собой среди больных в ХФ, получающих терапию более 12 месяцев

Аналогично впервые диагностированным больным, они характеризовались наличием сильной прямой связи между провоспалительными цитокинами IL-1 β и IL-17 ($r = 0,713$, $p < 0,001$). Обращает на себя внимание корреляция указанных цитокинов с концентраций сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF-A, что может указывать на роль этих цитокинов в регуляции ангиогенеза опухоли, играющего важную роль в опухолевой прогрессии (IL-17 и VEGF-A, $r = 0,617$, $p = 0,003$; IL-1 β и VEGF-A, $r = 0,586$, $p < 0,001$). Концентрация противовоспалительного цитокина IL-10 обратно коррелировала с концентрацией IL-17 и IL-2, что, вероятно, свидетельствует об антагонизме их эффектов.

Таким образом, результаты оценки цитокинового статуса в общей группе больных ХМЛ, включающей лиц с разными фазами заболевания и различной длительностью терапии, продемонстрировали повышение секреции как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов. Выявлены особенности показателей цитокинового профиля больных на различных этапах заболевания. В дебюте заболевания выявлена наиболее высокая концентрация провоспалительных цитокинов IL-17, IL-6 и IL-1 β . Отличительной чертой пациентов с продвинутыми фазами заболевания являлась статистически значимо более высокая концентрация IL-6. Длительная терапия ИТК (более 12 месяцев)

приводила к статистически значимому уменьшению концентрации провоспалительных цитокинов в сыворотке крови (IL-2, IL-1 β и IL-18), однако, несмотря на это, цитокиновый дисбаланс сохраняется, что подтверждено наличием достоверных различий с показателями здоровых лиц.

3.3 Взаимосвязь цитокинового дисбаланса с особенностями клинико-лабораторных проявлений хронического миелолейкоза

Для оценки влияния цитокинового статуса на особенности клинического течения ХМЛ был проведен корреляционный анализ между концентрацией цитокинов и демографическими показателями, длительностью наблюдения, группой риска по шкалам ELTS и Sokal, показателями гемограммы, миелограммы, биохимического анализа крови, а также размерами печени и селезенки. Статистически значимые корреляционные связи между возрастом и концентрацией цитокинов в сыворотке крови пациентов не выявлены, что свидетельствует о том, что продукция цитокинов в первую очередь зависит от биологии самой опухоли. Концентрация цитокинов также достоверно не различалась между больными мужского и женского пола, старше и моложе 60 лет. При сравнительном анализе группа риска пациентов с ХМЛ по прогностическим шкалам ELTS и Sokal не оказывала статистически значимого влияния на концентрацию цитокинов.

Для оценки возможного влияния сопутствующей патологии на особенности секреции цитокинов, проведен сравнительный анализ концентрации цитокинов у больных ХМЛ с различными сопутствующими заболеваниями и без таковых и лиц контрольной группы (Таблица 3.3).

Таблица 3.3 – Концентрация цитокинов у больных ХМЛ в зависимости от сопутствующей патологии и лиц контрольной группы (пг/мл)

Сопутствующая патология	Пациенты с сопутствующей патологией (1)	Пациенты без сопутствующей патологии (2)	Контрольная группа	Р
	Me (Q ₁ –Q ₃)			
IL-1β				
Сердечно-сосудистые заболевания	2,33 (0,88–5,50)	1,90 (0,88–4,46)	0,88 (0,69–1,68)	< 0,001* p _{контроль-2} < 0,001 p _{контроль-1} < 0,001
Сахарный диабет	1,35 (0,88–2,91)	2,14 (0,88–5,24)	0,88 (0,69–1,68)	< 0,001 p _{контроль-2} < 0,001
Болезни органов дыхания	1,62 (1,35–1,88)	2,14 (0,88–5,24)	0,88 (0,69–1,68)	< 0,001 p _{контроль-2} < 0,001
Болезни ЖКТ	1,61 (0,90–2,52)	2,14 (0,88–5,24)	0,88 (0,69–1,68)	< 0,001 p _{контроль-2} < 0,001
IL-6				
Сердечно-сосудистые заболевания	4,20 (2,60–6,92)	3,55 (2,00–8,07)	0,80 (0,53–1,40)	< 0,001* p _{контроль-2} < 0,001 p _{контроль-1} < 0,001
Сахарный диабет	3,55 (2,33–5,97)	4,00 (2,30–7,80)	0,80 (0,53–1,40)	< 0,001 p _{контроль-2} < 0,001 p _{контроль-1} = 0,002
Болезни органов дыхания	8,20 (5,70–10,70)	4,00 (2,25–7,60)	0,80 (0,53–1,40)	< 0,001 p _{контроль-2} < 0,001 p _{контроль-1} = 0,037
Болезни ЖКТ	2,45 (2,08–4,70)	4,10 (2,30–8,07)	0,80 (0,53–1,40)	< 0,001 p _{контроль-2} < 0,001 p _{контроль-1} = 0,030
IL-4				
Сердечно-сосудистые заболевания	3,82 (3,44–4,67)	3,76 (2,96–4,78)	2,31 (1,02–3,48)	< 0,001* p _{контроль-2} < 0,001 p _{контроль-1} < 0,001

Продолжение таблицы 3.3

Сопутствующая патология	Пациенты с сопутствующей патологией (1)	Пациенты без сопутствующей патологии (2)	Контрольная группа	P
	Me (Q ₁ –Q ₃)			
IL-4				
Сахарный диабет	3,81 (3,19–4,76)	3,81 (3,30–4,36)	2,31 (1,02–3,48)	< 0,001 p _{контроль-2} < 0,001 p _{контроль-1} = 0,025
Болезни органов дыхания	4,53 (4,17–4,88)	3,80 (3,16–4,72)	2,31 (1,02–3,48)	< 0,001 p _{контроль-2} < 0,001
Болезни ЖКТ	4,56 (2,87–6,45)	3,81 (3,20–4,70)	2,31 (1,02–3,48)	< 0,001 p _{контроль-2} < 0,001 p _{контроль-1} = 0,018
TNF-α				
Сердечно- сосудистые заболевания	2,20 (1,50–4,28)	1,95 (1,20–3,95)	0,45 (0,00–1,08)	< 0,001* p _{контроль-2} < 0,001 p _{контроль-1} < 0,001
Сахарный диабет	3,75 (2,07–5,60)	1,90 (1,30–4,05)	0,45 (0,00–1,08)	< 0,001 p _{контроль-2} < 0,001 p _{контроль-1} = 0,025
Болезни органов дыхания	4,45 (3,98–4,93)	1,95 (1,30–4,22)	0,45 (0,00–1,08)	< 0,001 p _{контроль-2} < 0,001 p _{контроль-1} = 0,011
Болезни ЖКТ	3,95 (1,32–6,57)	2,00 (1,38–4,05)	0,45 (0,00–1,08)	< 0,001 p _{контроль-2} < 0,001 p _{контроль-1} = 0,001
IL-2				
Сердечно- сосудистые заболевания	0,78 (0,78–2,00)	0,78 (0,78–2,00)	0,78 (0,78–0,78)	< 0,001* p _{контроль-2} = 0,001 p _{контроль-1} = 0,001
Сахарный диабет	0,78 (0,78–0,78)	0,78 (0,78–2,00)	0,78 (0,78–0,78)	< 0,001 p _{контроль-2} = 0,001

Продолжение таблицы 3.3

Сопутствующая патология	Пациенты с сопутствующей патологией (1)	Пациенты без сопутствующей патологии (2)	Контрольная группа	P
	Me (Q ₁ –Q ₃)			
IL-2				
Болезни органов дыхания	0,78 (0,78–0,78)	0,78 (0,78–2,00)	0,78 (0,78–0,78)	< 0,001 p _{контроль-2} < 0,001
Болезни ЖКТ	0,78 (0,78–0,78)	0,78 (0,78–2,00)	0,78 (0,78–0,78)	< 0,001 p _{контроль-2} < 0,001
IL-18				
Сердечно- сосудистые заболевания	303,65 (201,80–479,67)	296,65 (228,05–395,30)	174,30 (96,80–227,45)	< 0,001* p _{контроль-2} < 0,001 p _{контроль-1} < 0,001
Сахарный диабет	351,30 (264,77–387,70)	294,50 (213,70–406,83)	174,30 (96,80–227,45)	< 0,001 p _{контроль-2} = 0,001
Болезни органов дыхания	219,50 (180,20–258,80)	304,35 (217,10–402,27)	174,30 (96,80–227,45)	< 0,001 p _{контроль-2} < 0,001
Болезни ЖКТ	465,08 (38,30–891,85)	329,28 (295,45–363,10)	174,30 (96,80–227,45)	< 0,001 p _{контроль-2} < 0,001
IL-17				
Сердечно- сосудистые заболевания	5,70 (2,60–8,20)	2,50 (0,80–5,65)	0,10 (0,00–0,10)	< 0,001* p _{контроль-2} < 0,001 p _{контроль-1} < 0,001
Сахарный диабет	1,65 (1,10–4,42)	1,65 (1,10–4,42)	0,10 (0,00–0,10)	< 0,001 p _{контроль-2} < 0,001 p _{контроль-1} = 0,013
Болезни органов дыхания	1,50 (1,50–1,50)	3,75 (1,10–6,25)	0,10 (0,00–0,10)	< 0,001 p _{контроль-2} < 0,001
Болезни ЖКТ	2,70 (1,50–3,80)	3,75 (1,10–6,30)	0,10 (0,00–0,10)	< 0,001 p _{контроль-2} < 0,001

Окончание таблицы 3.3

Сопутствующая патология	Пациенты с сопутствующей патологией (1)	Пациенты без сопутствующей патологии (2)	Контрольная группа	P
	Me (Q ₁ –Q ₃)			
IFN-α				
Сердечно- сосудистые заболевания	5,30 (4,25–5,60)	5,60 (5,00–11,00)	4,00 (2,30–5,00)	< 0,001* p _{контроль-2} < 0,001 p _{контроль-1} < 0,001
Сахарный диабет	4,50 (4,00–5,60)	5,60 (5,00–9,80)	4,00 (2,30–5,00)	< 0,001 p _{контроль-2} < 0,001
Болезни органов дыхания	4,00 (4,00–4,00)	5,60 (5,00–9,80)	4,00 (2,30–5,00)	< 0,001 p _{контроль-2} < 0,001
Болезни ЖКТ	5,60 (5,00–9,80)	5,60 (4,40–11,75)	4,00 (2,30–5,00)	< 0,001 p _{контроль-2} < 0,001 p _{контроль-1} = 0,020
Примечание: * – критерий Краскела – Уоллиса; p _{контроль-2} – различия между больными без сопутствующей патологии и контрольной группой; p _{контроль-1} различия между больными без сопутствующей патологии и контрольной группой.				

Концентрация цитокинов у исследуемых пациентов не зависела от наличия сопутствующей патологии, о чем свидетельствуют достоверно более высокие концентрации цитокинов TNF-α, IL-1β, IL-2, IL-6, IL-17, IL-18, IL-4, IL-10 и IFN-α в обеих подгруппах (с сопутствующей патологией и без нее) по сравнению с показателями контрольной группы. При этом, апостериорные сравнения концентраций указанных цитокинов между больными с заболеваниями сердечно-сосудистой, респираторной, пищеварительной систем, сахарным диабетом и без них не выявили достоверных различий.

В исследуемой группе пациентов выявлены слабые обратные корреляционные взаимосвязи между длительностью наблюдения и концентрацией IL-1β ($r = -0,325$, $p = 0,002$), IL-2 ($r = 0,326$, $p = 0,002$) и IL-17 ($r = -0,454$, $p = 0,001$), что указывает на уменьшение секреции провоспалительных цитокинов

на фоне терапии ИТК.

Уровень экспрессии в крови химерного гена *BCR::ABL1* прямо коррелировал с концентрацией в сыворотке крови цитокинов IL-17 ($r = 0,748$, $p < 0,001$), IL-1 β ($r = 0,559$, $p < 0,001$) и IL-6 ($r = 0,328$, $p = 0,002$), что может косвенно указывать на роль этих провоспалительных цитокинов в пролиферации BCR::ABL1-положительных клеток.

В подтверждение гипотезы о влиянии цитокинового дисбаланса на клиническое течение ХМЛ получены статистически значимые корреляционные взаимосвязи между концентрацией отдельных цитокинов в сыворотке крови и уровнем ЛДГ, количеством бластов, базофилов периферической крови, которые являются факторами, влияющими на прогноз заболевания (Рисунок 3.3).

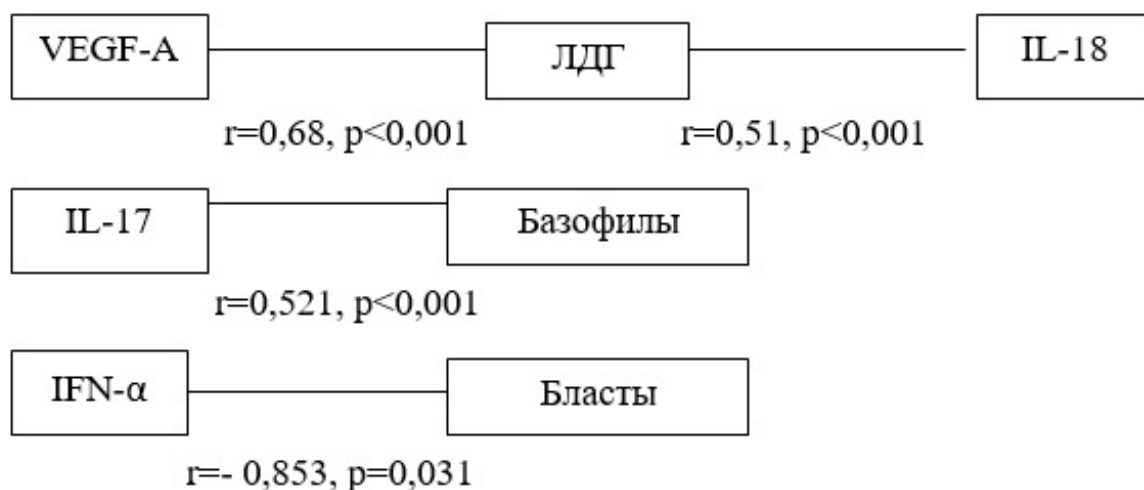


Рисунок 3.3 – Корреляционные связи между концентрацией отдельных цитокинов и лабораторными показателями больных ХМЛ

Одним из наиболее значимых результатов является обратная корреляционная связь между IFN- α и количеством бластных клеток периферической крови ($r = -0,853$, $p = 0,031$), что, вероятно, косвенно отражает антипролиферативные свойства цитокина. Концентрация IL-17 прямо коррелировала с уровнем базофилов в гемограмме ($r = 0,521$, $p < 0,001$). Кроме

того, результаты анализа показали наличие слабых прямых корреляционных связей цитокина с уровнем лейкоцитов ($r = 0,313$, $p = 0,032$), тромбоцитов ($r = 0,414$, $p = 0,004$) и обратных связей с уровнем моноцитов ($r = -0,386$, $p = 0,012$) и лимфоцитов ($r = -0,414$, $p = 0,005$). Принимая во внимание наиболее заметное повышение IL-17 в дебюте ХМЛ, можно предположить, что прямая корреляционная взаимосвязь с уровнем лейкоцитов, базофилов и тромбоцитов обусловлена его преимущественным вкладом в усиление процессов пролиферации клеток миелоидного ростка, что также показано в работе Zhao и соавт. [202].

Уровень лактатдегидрогеназы (ЛДГ), внутриклеточного фермента, являющегося косвенным показателем агрессивности течения злокачественных новообразований [216], прямо коррелировал с концентрацией IL-18 и сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF-A. Литературные данные о биологии IL-18 свидетельствуют о его способности стимулировать синтез G-CSF, что объясняет наличие слабых корреляционных связей между концентрацией цитокина и уровнем лейкоцитов ($r = 0,380$, $p = 0,001$), палочкоядерных нейтрофилов ($r = 0,474$, $p = 0,002$). Кроме того, IL-18 прямо коррелировал с уровнем АЛТ ($r = 0,321$, $p = 0,013$) и площадью селезенки ($r = 0,365$, $p = 0,002$), что можно объяснить усилением продукции цитокина купферовскими клетками и макрофагами селезенки среди больных с функциональными нарушениями печени и спленомегалией [13].

При сравнительном анализе особенностей цитокинового профиля больных с различным уровнем лейкоцитов выявлены статистически значимые различия концентрации IL-2, IL-1 β , IL-6, IL-18, IL-17 (Таблица 3.4).

Таблица 3.4 – Концентрация цитокинов в зависимости от уровня лейкоцитов (пг/мл)

Уровень лейкоцитов	Me	Q ₁ –Q ₃	P
TNF-α			
< 10 × 10 ⁹ /л	2,00	1,40–5,20	0,341
10–30 × 10 ⁹ /л	1,80	1,73–2,10	
> 30 × 10 ⁹ /л	6,00	3,95–6,25	
IL-2			
< 10 × 10 ⁹ /л	0,78	0,78–0,78	0,001* p ₂₋₁ = 0,001**
10–30 × 10 ⁹ /л	2,00	2,00–2,00	
> 30 × 10 ⁹ /л	0,78	0,78–1,39	
IL-1β			
< 10 × 10 ⁹ /л	3,50	2,20–8,05	0,005* p ₂₋₁ = 0,010**
10–30 × 10 ⁹ /л	12,40	5,05–19,03	
> 30 × 10 ⁹ /л	5,40	5,10–5,70	
IL-6			
< 10 × 10 ⁹ /л	3,50	2,20–8,05	0,031* p ₂₋₁ = 0,036**
10–30 × 10 ⁹ /л	12,40	5,05–19,03	
> 30 × 10 ⁹ /л	5,40	5,10–5,70	
IL-18			
< 10 × 10 ⁹ /л	312,72 ± 141,30	274,52–350,92	< 0,024* p ₂₋₁ < 0,004**
10–30 × 10 ⁹ /л	503,37 ± 136,78	405,52–601,22	
> 30 × 10 ⁹ /л	742,90 ± 462,55	406,15–1891,95	
IL-17			
< 10 × 10 ⁹ /л	2,10	0,50–4,47	< 0,001* p ₂₋₁ = 0,001**
10 –30 × 10 ⁹ /л	8,00	6,97–11,50	
> 30 × 10 ⁹ /л	5,50	3,90–7,10	
IL-10			
< 10 × 10 ⁹ /л	3,80	2,25–6,10	0,093
10–30 × 10 ⁹ /л	5,60	4,93–9,23	
> 30 × 10 ⁹ /л	7,20	6,20–9,30	

Продолжение таблицы 3.4

Уровень лейкоцитов	Me	Q ₁ –Q ₃	P
IL-4			
< 10 × 10 ⁹ /л	3,78 ± 1,16	3,47–4,09	0,121
10–30 × 10 ⁹ /л	4,71 ± 2,01	3,27–6,15	
> 30 × 10 ⁹ /л	3,75 ± 0,99	1,30–6,20	
IFN-α			
< 10 × 10 ⁹ /л	5,60	4,00–8,60	0,909
10–30 × 10 ⁹ /л	5,00	5,00–7,70	
> 30 × 10 ⁹ /л	5,60	5,30–7,70	
Примечание: * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05, критерий Краскела – Уоллиса), ** – различия показателей статистически значимы между группами больных с уровнем лейкоцитов < 10 × 10 ⁹ /л и 10–30 × 10 ⁹ /л (p < 0,05, критерий Данна с поправкой Холма).			

Лейкоцитоз является основным клиническим проявлением ХМЛ, а лейкоциты – богатым источником различных цитокинов и ростовых факторов. Так, согласно результатам настоящего исследования, прирост уровня лейкоцитов более $10 \times 10^9/\text{л}$ сопровождался статистически значимым повышением концентрации в сыворотке крови провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-18, IL-17. При апостериорных сравнениях статистически значимые различия в концентрациях вышеуказанных цитокинов выявлены между больными с уровнем лейкоцитов менее $10 \times 10^9/\text{л}$ и больными с лейкоцитозом от 10 до $30 \times 10^9/\text{л}$.

При увеличении содержания в периферической крови базофилов более 2 % отмечается статистически значимое увеличение концентрации цитокинов IL-1 β (5,60, 2,60–8,10 пг/мл по сравнению с 1,50, 0,88–3,27 пг/мл у лиц с нормальным уровнем базофилов, $p < 0,001$), IL-6 (5,40, 3,40–14,30 пг/мл по сравнению с 3,50, 2,00–5,20 пг/мл, $p = 0,028$) и IL-4 (4,20, 3,82–4,80 пг/мл по сравнению с 3,62, 2,96–4,69 пг/мл, $p = 0,006$).

Больные с уровнем ЛДГ > 200 Ед/л по сравнению с обследуемыми с нормальным уровнем фермента продемонстрировали статистически значимо более высокие концентрации провоспалительных цитокинов IL-1 β (3,27,

0,96–6,70 пг/мл и 1,50, 0,88–3,00 пг/мл, $p = 0,011$), IL-6 (5,10, 3,20–13,30 пг/мл и 2,90, 1,90–5,10 пг/мл, $p = 0,001$), фактора роста VEGF-A (267,50, 207,50–452,90 пг/мл и 135,55, 47,00–284,10 пг/мл, $p = 0,047$) и более низкий уровень IFN- α (5,00, 4,00–7,10 пг/мл и 5,60, 5,00–9,80 пг/мл, $p = 0,026$). Полученные результаты позволяют косвенно предположить неблагоприятную прогностическую роль IL-1 β , IL-6 и VEGF-A и, напротив, антионкогенные свойства IFN- α .

Среди больных со спленомегалией (площадь селезенки более 40см² по данным УЗИ) отмечена более высокая концентрация цитокинов IL-1 β , IL-6, IL-17 и VEGF-A по сравнению с больными с нормальными размерами селезенки: 3,30, 0,96–7,10 пг/мл и 1,62, 0,88–3,27 пг/мл, $p = 0,037$, 5,10, 4,20–17,30 пг/мл и 3,20, 2,00–5,20 пг/мл, $p = 0,015$, 6,30, 3,88–8,47 пг/мл и 2,30, 0,50–5,20 пг/мл, $p = 0,005$, 267,50, 207,50–452,90 пг/мл и 135,55, 47,45–299,93 пг/мл, $p = 0,029$, соответственно. Поскольку спленомегалия является характерным признаком ранних и продвинутых стадий ХМЛ, можно предположить, что достоверно более высокая концентрация IL-1 β , IL-6, IL-17 и VEGF-A среди больных отражает корреляцию пула секретируемых провоспалительных цитокинов с объемом опухолевой массы.

При анализе сопряженности показателей цитокинового профиля с данными миелограммы также выявлены статистически значимые корреляции умеренной и слабой силы. С количеством бластов костного мозга прямые корреляции имели провоспалительные цитокины IL-18 ($r = 0,302$, $p = 0,035$), IL-17 ($r = 0,459$, $p = 0,048$) и IL-1 β ($r = 0,308$, $p = 0,039$), с количеством эозинофилов – IL-4 ($r = 0,400$, $p = 0,007$). Суммируя с ранее полученными результатами, показавшими корреляцию концентрации IL-18 с уровнем лейкоцитов и палочкоядерных нейтрофилов, а IL-17, IL-1 β с уровнем экспрессии химерного гена *BCR::ABL1*, можно предположить роль указанных цитокинов в усилении пролиферации клеток-предшественников ХМЛ. Кроме того, доказано, что секреция IL-17, IL-1 β уменьшается при удлинении сроков терапии.

Для оценки влияния проводимой терапии на цитокин-продуцирующую способность клеток, больные разделены на подгруппы в зависимости от вида проводимой терапии (Таблица 3.5).

Таблица 3.5 – Концентрация цитокинов среди больных ХМЛ в зависимости от проводимой терапии (пг/мл)

Цитокин	Иматиниб	Нилотиниб	Дазатиниб	Бозутиниб	p
TNF- α	1,60 (1,10–2,60)	3,20 (1,98–5,20)	5,90 (1,95–15,10)	4,25 (3,50–4,53)	0,008* p** = 0,029
IFN- α	5,60 (5,00–11,00)	7,85 (5,45–10,10)	4,00 (4,00–5,60)	4,00 (4,00–4,40)	0,032*
Примечание: * – различия статистически значимы ($p < 0,05$, критерий Краскела – Уоллиса), ** – различия между группой пациентов, получающих дазатиниб и иматиниб.					

Концентрация TNF- α оказалась достоверно ниже у больных, получающих терапию иматинибом, по сравнению с больными, получающими ИТК2 – дазатиниб. Концентрация IFN- α была статистически значимо ниже у лиц, получающих дазатиниб и бозутиниб, по сравнению с пациентами, получающими иматиниб и нилотиниб. Принимая во внимание отличие препаратов первого и второго поколения по пространственной структуре и спектру нецелевых «off-target» мишеней, можно предположить, что причина выявленных различий заключается в неселективности ИТК и различной степени ингибирования сигнальных путей киназ BRAF, FMS, EGFR, PDGFR, PYK2, TIE2, VEGFR1/2/3 [8].

Таким образом, концентрация провоспалительных и противовоспалительных цитокинов продемонстрировала разнонаправленные корреляционные взаимосвязи с уровнем лейкоцитов, тромбоцитов, ЛДГ, размером селезенки, функциональным состоянием печени. В наибольшей степени на концентрацию цитокинов в сыворотке крови оказывает влияние уровень лейкоцитов, ЛДГ и размеры селезенки, отражающие уровень опухолевой нагрузки. Концентрация TNF- α и IFN- α различалась в зависимости от вида ИТК,

что может оказывать влияние на выраженность конституциональных симптомов и нежелательных явлений.

3.4 Роль цитокинов в прогнозировании эффективности терапии

Для оценки взаимосвязи между цитокиновым статусом и эффективностью терапии ХМЛ проведен сравнительный анализ концентрации изучаемых цитокинов у больных, достигших и не достигших БМО (Таблица 3.6).

Таблица 3.6 – Концентрация цитокинов у больных в зависимости от достигнутого молекулярного ответа (пг/мл)

Цитокин	Больные, достигшие БМО	Больные, не достигшие БМО	Р
	Me (Q ₁ –Q ₃)		
TNF-α	2,30 (1,50–4,88)	1,55 (1,00–2,93)	0,133
IL-2	0,78 (0,78–0,78)	2,00 (2,00–2,00)	< 0,001*
IL-1β	0,88 (0,88–2,10)	4,45 (2,41–6,60)	< 0,001*
IL-6	2,80 (1,75–4,28)	4,75 (2,88–12,35)	0,006*
IL-18	294,25 (213,70–399,43)	252,90 (173,85–346,18)	0,265
IL-10	4,85 (2,28–6,40)	2,65 (1,82–4,75)	0,039*
IL-4	3,67 (2,88–4,69)	3,80 (3,38–4,72)	0,161
IFN-α	5,60 (4,00–9,80)	5,00 (5,00–10,10)	0,947
IL-17	0,70 (0,30–2,00)	4,90 (2,45–5,90)	< 0,001*
VEGF-A	81,80 (45,20–265,40)	295,25 (205,55–442,93)	0,004*
Примечание: * – различия статистически значимы (p < 0,05, критерий Манна – Уитни).			

Результаты анализа показали, что у больных ХМЛ, не достигших БМО, концентрация IL-17 в 7 раз, IL-1 β в 5 раз, VEGF-A в 3,6 раза, IL-2 в 2,6 раза, IL-6 в 1,7 раза превышают таковые у лиц с БМО, что свидетельствует о неблагоприятной прогностической роли указанных цитокинов. В свою очередь, пациенты с БМО характеризовались статистически значимо более высокой концентрацией противовоспалительного цитокина IL-10 по сравнению с

больными без БМО, что, вероятно, обусловлено его антионкогенными свойствами, направленными на лизис опухолевых клеток.

При ранжировании факторов риска наиболее значимыми предикторами неэффективности терапии явились высокая концентрация IL-17 (ОШ = 0,427 95 % ДИ 0,252–0,723, $p < 0,001$) и IL-1 β (ОШ = 0,523, 95 % ДИ 0,365–0,748, $p < 0,001$) (Таблица 3.7).

Таблица 3.7 – Пороговые значения концентрации цитокинов IL-17, IL-1 β и IL-6 и их диагностическая ценность. Результаты ROC-анализа

Цитокин	Площадь под ROC-кривой (95 % ДИ)	Точка «cut-off», пг/мл	Se, %	Sp, %
IL-1 β	0,870 $\pm$ 0,042 (0,788–0,952) $p < 0,001$	2,5	86,0	80,6
IL-17	0,888 $\pm$ 0,058 (0,775–1,000) $p < 0,001$	2,6	94,1	76,7
IL-2	0,803 $\pm$ 0,059 (0,687–0,919) $p < 0,001$	2,0	98,0	62,5
IL-6	0,757 $\pm$ 0,054 (0,651–0,864) $p = 0,006$	4,2	72,0	75
VEGF-A	0,747 $\pm$ 0,067 (0,615–0,879) $p = 0,004$	140,0	62,2	88,9
IL-10	0,641 $\pm$ 0,065 (0,514–0,768) $p = 0,039$	3,5	66,0	66,7

Примечание: Значения площади под кривой 0,9–1 – отличное качество модели; 0,8–0,9 – очень хорошее качество модели; 0,7–0,8 – хорошее качество модели; 0,6–0,7 – среднее качество модели; 0,5–0,6 – неудовлетворительное качество модели. Se – чувствительность, Sp – специфичность.

По результатам ROC-анализа (Рисунок 3.4) выявлены пороговые значения концентраций цитокинов, позволяющие прогнозировать достижение БМО. Так, из таблицы 3.8 видно, что наибольшей диагностической ценностью обладают методы определения концентраций IL-1 β , для которого пороговое значение, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 2,5 пг/мл (чувствительность и специфичность модели – 86 % и 80,6 %, соответственно) и IL-17, для которого пороговое значение концентрации составило 2,6 пг/мл (чувствительность 94,1 %, специфичность – 76,7 %). Достижение БМО можно прогнозировать при концентрациях цитокинов в сыворотке крови менее указанных величин. При этом наибольшая чувствительность была характерна для IL-17 (94,1 %), однако специфичность метода относительно низкая (76,7 %), что, вероятно, объясняется широким спектром его биологических эффектов.

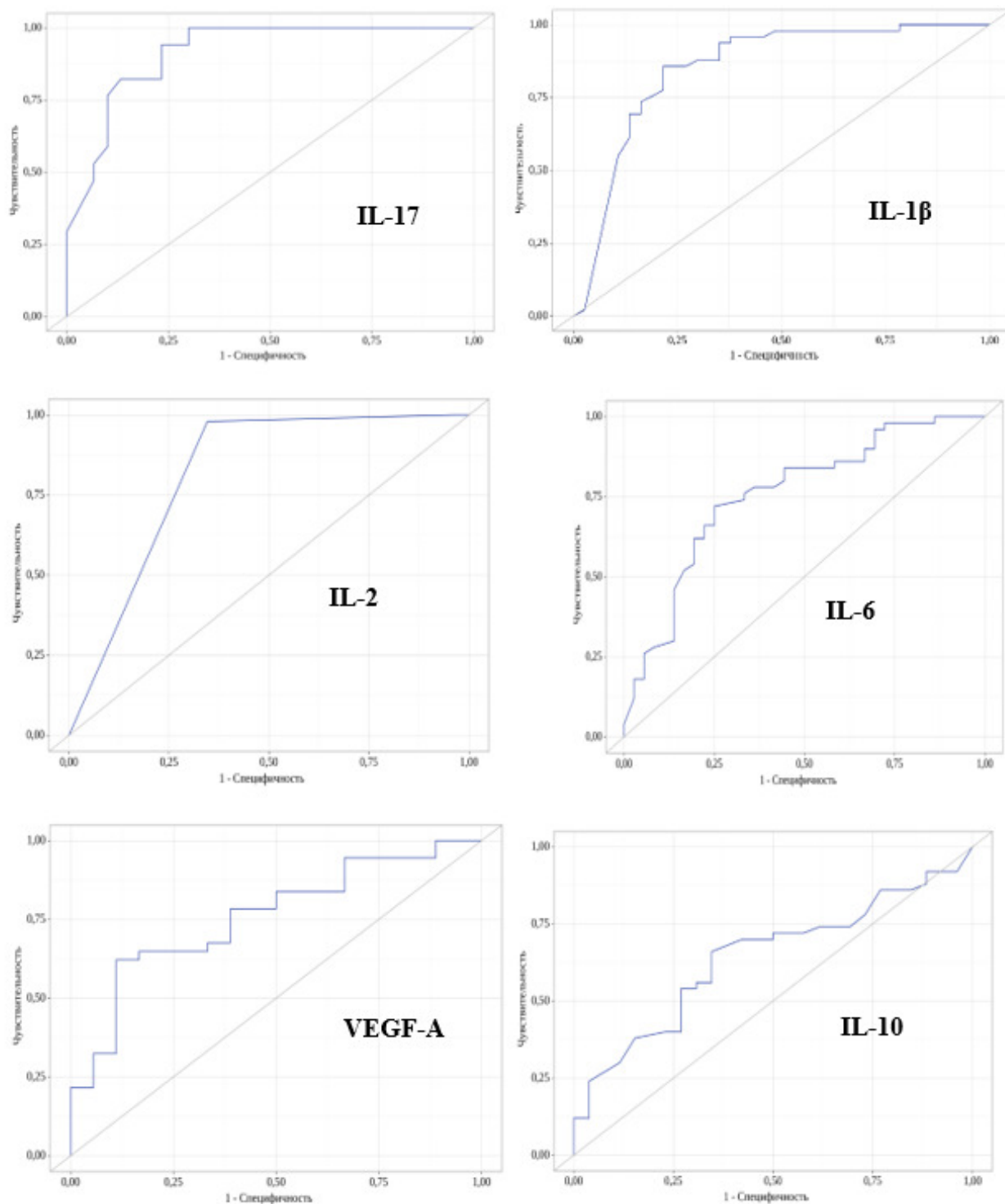


Рисунок 3.4 – Результаты ROC-анализа по оценке диагностической значимости концентрации цитокинов в прогнозировании эффективности терапии больных ХМЛ

Для изучения особенностей цитокинового профиля больных ХМЛ с глубоким молекулярным ответом сформирована группа пациентов с уровнем

экспрессии $BCR::ABL1 \leq 0,01\%$ ($MO^{4.0}$, $MO^{4.5}$ и $MO^{5.0}$), получающих терапию ИТК продолжительностью не менее 3 лет ($n = 27$). При сравнении концентраций цитокинов исследуемой группы с показателями условно здоровых лиц выявлено, что даже при достижении глубокого МО у больных ХМЛ сохраняются статистически значимо высокие концентрации цитокинов $TNF-\alpha$, $IL-6$, $IL-18$, $IL-10$, $IFN-\alpha$, $IL-17$, что свидетельствует о важной роли опухолевого микроокружения в поддержании состояния «хронического воспаления» даже при глубокой эрадикации Ph-положительного опухолевого клона (Таблица 3.8).

Таблица 3.8 – Концентрация цитокинов у больных ХМЛ с глубоким молекулярным ответом и контрольной группы, пг/мл

Цитокин	Больные ХМЛ с глубоким МО (МО ^{4.0} , МО ^{4.5} и МО ^{5.0}) (n = 27)	Контрольная группа (n = 30)	P
	Me (Q ₁ –Q ₃)/M ± SD(95 % ДИ)		
TNF-α	2,60 (2,00–6,00)	1,00 (0,43–1,35)	< 0,001*
IL-6	3,20 (2,60–7,90)	0,75 (0,60–1,00)	< 0,001*
IL-18	362,71 ± 179,05 (297,03–409,49)	153,09 ± 60,18 (130,62–175,57)	< 0,001**
IL-10	5,00 (3,20–7,60)	0,95 (0,95–1,58)	< 0,001*
IFN-α	5,60 (4,00–9,20)	5,00 (4,00–9,20)	0,037*
IL-17	0,60 (0,45–1,62)	0,10 (0,10–0,78)	0,003*
VEGF-A	135,55 (54,17–279,95)	276,90 (107,45–412,95)	0,049*
Примечание: * – критерий Манна – Уитни, ** – критерий Уэлча.			

Обращает на себя внимание отсутствие статистически значимых различий в концентрации $IL-1\beta$ между больными с глубоким МО (0,88, 0,88–2,21 пг/мл) и условно здоровыми лицами (0,88, 0,88–2,19 пг/мл, $p = 0,883$), что свидетельствует, вероятно, о том, что провоспалительный цитокин секретируется в основном $BCR::ABL1$ -положительными опухолевыми клетками. Полученные результаты позволяют рассматривать метод определения концентрации $IL-1\beta$ в сыворотке крови для мониторинга безопасности отмены терапии ИТК. Статистически значимо более низкая концентрация VEGF-A, сосудистого эндотелиального

фактора роста, выявленная у исследуемых с глубоким МО, показывает важную роль процесса ангиогенеза в регуляции глубины регуляции опухолевого клона.

Необходимо отметить, что при сравнении показателей цитокинового профиля пациентов с МО^{5.0} ($BCR::ABL1 \leq 0,001\%$) и условно здоровых лиц выявлено дальнейшее снижение медианы сывороточной концентрации VEGF-A (Таблица 3.9).

Таблица 3.9 – Концентрация цитокинов у больных ХМЛ с МО^{5.0} и контрольной группы, пг/мл

Цитокин	Больные ХМЛ с МО ^{5.0} (n = 15)	Контрольная группа (n = 15)	p
	Me (Q ₁ –Q ₃)		
TNF-α	2,30 (2,00–6,83)	0,50 (0,20–2,00)	0,003
IL-6	3,70 (1,85–9,30)	0,70 (0,40–0,90)	< 0,001
IL-10	3,80 (2,98–5,82)	0,95 (0,95–0,95)	< 0,001
IL-18	315,95 (187,65–406,83)	106,00 (91,70–159,90)	0,003
VEGF-A	79,85 (46,55–271,65)	278,80 (146,45–407,25)	0,023
Примечание: различия показателей статистически значимы, p < 0,05 (критерий Манна – Уитни).			

При максимально глубокой эрадикации опухолевого клона, а именно достижении МО^{5.0}, концентрация IL-17 также снижалась до значений, сопоставимых с показателями условно здоровых лиц ($1,23 \pm 1,23$, $-0,73$ – $3,18$ и $0,10 \pm 0,00$ $0,10$ – $0,10$, $p = 0,165$), что также оправдывает возможность его применения для мониторинга безопасности отмены терапии ИТК. Вместе с тем, концентрации провоспалительных цитокинов TNF- α , IL-6, IL-18 и провоспалительного цитокина IL-10 у больных с МО^{5.0} оставались достоверно более высокими по сравнению со здоровыми лицами [175].

3.5 Особенности экспрессии регуляторных молекул (каспаза 3, Ki-67, p53, с-Мус и р-гликопротеина) в костном мозге больных хроническим миелолейкозом

Проведен сравнительный анализ медиан уровня экспрессии в костном мозге регуляторных молекул среди больных ХМЛ в дебюте заболевания, с БМО, без БМО и продвинутыми фазами заболевания (Таблица 3.10).

Таблица 3.10 – Экспрессия регуляторных молекул в костном мозге больных ХМЛ

Уровень экспрессии белка, %	Впервые выявленные больные (1)	Больные в ХФ с БМО (2)	Больные в ХФ без БМО (3)	Больные в ФА и БК (4)	p
	Me (Q ₁ –Q ₃)				
Каспаза 3	23 (15–30)	18 (15–24)	28 (20–46)	66 (57–77)	$< 0,001^*$ $p_{4-1} < 0,001^{**}$ $p_{4-2} < 0,001^{**}$ $p_{3-2} < 0,001^{**}$ $p_{3-4} < 0,001^{**}$
Ki-67	15 (10–21)	58 (33–63)	50 (42–56)	70 (65–73)	$< 0,001^*$ $p_{2-1} < 0,001^{**}$ $p_{4-1} < 0,001^{**}$ $p_{3-1} < 0,001^{**}$ $p_{4-2} = 0,001^{**}$ $p_{3-4} = 0,001^{**}$
p53	25 (20–32)	7 (5–8)	2 (2–3)	18 (14–21)	$< 0,001^*$ $p_{2-1} < 0,001^{**}$ $p_{3-1} < 0,001^{**}$ $p_{4-2} < 0,001^{**}$ $p_{3-2} = 0,011^{**}$ $p_{3-4} < 0,001^{**}$

Продолжение таблицы 3.10

Уровень экспрессии белка, %	Впервые выявленные больные (1)	Больные в ХФ с БМО (2)	Больные в ХФ без БМО (3)	Больные в ФА и БК (4)	p
	(Q ₁ –Q ₃)				
с-Мус	17 (10–23)	9 (6–11)	2 (1–5)	48 (43–52)	$< 0,001^*$ $p_{2-1} < 0,001^{**}$ $p_{4-1} < 0,001^{**}$ $p_{3-1} < 0,001^{**}$ $p_{4-2} < 0,001^{**}$ $p_{3-2} < 0,001^{**}$ $p_{3-4} < 0,001^{**}$
Примечание: * – критерий Краскела – Уоллиса, ** – апостериорные сравнения (критерий Данна с поправкой Холма).					

Пациенты в дебюте ХМЛ по сравнению с больными с БМО и без БМО характеризовались достоверно более высоким уровнем экспрессии с-Мус, что не противоречит литературным данным, свидетельствующим о важной роли онкопротеина в усилении пролиферации опухолевых клеток [50, 198]. Однако, в отличие от высокоагрессивных злокачественных новообразований, у 74,5 % впервые диагностированных больных ХМЛ уровень экспрессии с-мус не превышал 25 % [50, 146, 148].

Обращает на себя внимание низкий уровень пролиферативной активности, выражаемой маркером Ki-67, по сравнению с больными в ХФ с более длительным периодом наблюдения (как с БМО, так и без БМО), что, вероятно, обусловлено терапевтическим воздействием гидроксикарбамида [129]. При сравнении пролиферативной активности клеток костного мозга больных в зависимости от молекулярного ответа статистически значимых различий получено не было. Также не получено достоверных различий по частоте достижения БМО между группами больных с низким, средним и высоким уровнем экспрессии Ki-67.

Больные в ХФ, не достигшие БМО, по сравнению с больными с БМО характеризовались достоверно более высоким уровнем экспрессии каспазы-3, но

более низким уровнем с-Мус и p53. Для больных в ФА и БК ХМЛ были характерны статистически значимо высокие уровни экспрессии Ki-67, с-Мус, каспазы-3 по сравнению с другими анализируемыми группами и статистически значимо высокий уровень экспрессии p53 по сравнению с больными в ХФ без БМО и с БМО. Необходимо отметить, что у 100 % больных с высоким уровнем экспрессии каспазы-3 и с-Мус (> 50 %) отсутствовал эффект от терапии ИТК (недостижение БМО и/или прогрессирование в ФА и БК).

При оценке влияния уровня регуляторных молекул на вероятность достижения БМО получены статистически значимые модели для p53 (AUC = 0,863), с-Мус (AUC = 0,875) и каспазы-3 (AUC = 0,802) (Рисунок 3.5, Таблица 3.11).

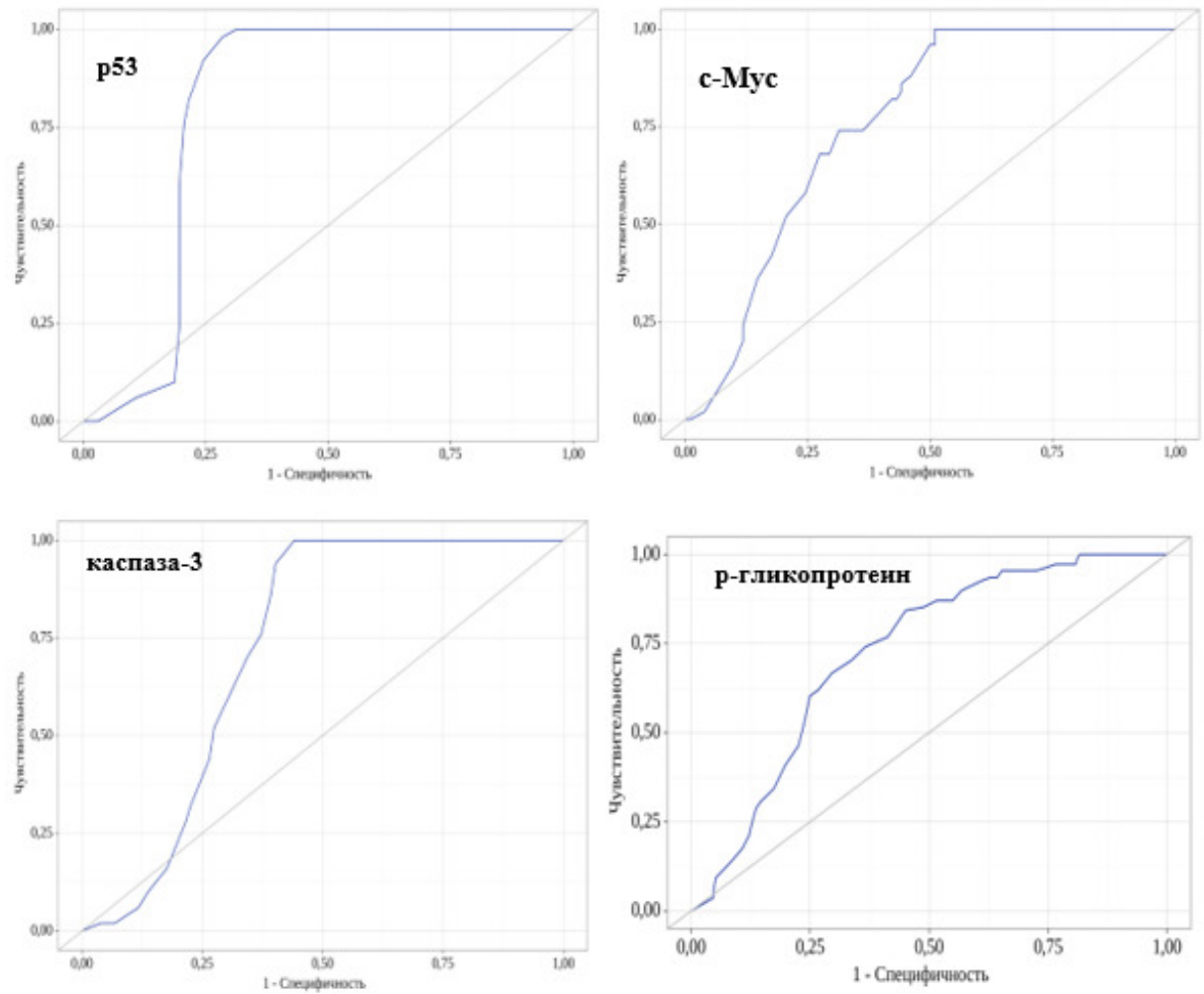


Рисунок 3.5 – Результаты ROC-анализа по оценке диагностической значимости уровня экспрессии регуляторных белков в прогнозировании эффективности терапии больных ХМЛ

Таблица 3.11 – Прогностическое значение регуляторных молекул и их диагностическая ценность. Результаты ROC-анализа

Молекула	ОШ, 95 % ДИ	Площадь под ROC-кривой (95 % ДИ)	p	Точка «cut-off»	Se, %	Sp, %
Каспаза-3	0,880 (0,821–0,943)	0,802 ± 0,039 (0,667–0,928)	< 0,001	22	68,0	70,0
p53	4,883 (1,960–12,170)	0,947 ± 0,035 (0,898 – 0,997)	< 0,001	4	90,0	95,0
c-Мус	1,824 (1,377–2,416)	0,920 ± 0,041 (0,858–0,983)	< 0,001	6	84,0	85,0
Примечание: Значения площади под кривой 0,9–1 – отличное качество модели; 0,8–0,9 – очень хорошее качество модели; 0,7–0,8 – хорошее качество модели; 0,6–0,7 – среднее качество модели; 0,5–0,6 – неудовлетворительное качество модели. Se – чувствительность, Sp – специфичность.						

Среди цитохимических маркеров наиболее значимым предиктором неэффективности ИТК являлся уровень экспрессии белка p53 (ОШ = 4,883), который характеризовался высоким качеством модели и диагностической ценностью (AUC = 0,920, чувствительность – 90 %, специфичность – 95 %). Отличное качество прогностической модели было характерно также и для онкопротеина c-мус (AUC = 0,920, чувствительность – 84 %, специфичность – 85 %), при этом ОШ составило 1,824.

Эффективность терапии ИТК в исследуемой когорте также зависела от экспрессии в костном мозге белка множественной лекарственной устойчивости р-гликопротеина, поскольку все препараты из группы ИТК являются субстратами ABC-транспортеров [167]. Так, у больных с неудачей терапии уровень экспрессии р-гликопротеина превышал таковую больных с БМО в 2 раза: 21 (14–31) % по сравнению с 12 (7–18) %, $p < 0,001$. Полученные результаты согласуются с литературными данными, свидетельствующими о негативном влиянии гиперэкспрессии р-гликопротеина на достижение БМО у больных ХМЛ [51].

При оценке вероятности достижения БМО в зависимости от уровня экспрессии в костном мозге р-гликопротеина с помощью ROC-анализа получена

кривая с площадью $AUC = 0,726 \pm 0,028$ с 95 % ДИ 0,670–0,781 (Рисунок 3.5). Полученная модель была статистически значимой ($p < 0,001$).

Пороговое значение уровня экспрессии цитохимического маркера в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 20 %. То есть, достижение БМО можно прогнозировать при экспрессии р-гликопротеина менее чем в 20 % клеток костного мозга. Чувствительность и специфичность модели составили 84,3 % и 54,9 %.

У пациентов, получающих терапию дазатинибом, уровень экспрессии р-гликопротеина был выше (15 ± 9 %), 95 % ДИ 13–18) по сравнению с больными, получающими нилотиниб (10 ± 7 %), 95 % ДИ 7–12, $p = 0,01$) и иматиниб (9 ± 7 %), 95 % ДИ 7–11, $p < 0,001$), что обусловлено, вероятно, различным уровнем сродства ИТК к белку-транспортеру.

Таким образом, отсутствие и/или минимальная экспрессия белков p53 (менее 4 %) и с-Мус (менее 6 %), а также гиперэкспрессия белка множественной лекарственной устойчивости р-гликопротеина (более 20 %) в костном мозге больных ХМЛ сопряжены с риском неэффективности таргетной терапии, что, вероятно, связано с потерей чувствительности к проапоптотическим сигналам, приводящим к лизису опухолевых клеток при лекарственном воздействии.

3.6 Взаимосвязь между уровнем экспрессии регуляторных молекул (каспаза 3, Ki-67, p53 и с-Мус), р-гликопротеина в костном мозге больных хроническим миелолейкозом и концентрацией цитокинов в сыворотке крови

С целью уточнения взаимосвязей между уровнем экспрессии регуляторных молекул и концентрацией цитокинов проведен корреляционный анализ с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. В группе впервые диагностированных больных выявлены как прямые, так и обратные корреляционные взаимосвязи между изучаемыми биомаркерами (Таблица 3.12).

Таблица 3.12 – Корреляционные взаимосвязи между уровнем экспрессии регуляторных молекул и концентрацией цитокинов в сыворотке крови впервые выявленных больных ХМЛ

Биомаркеры	Ki-67	Каспаза-3	p53	c-Myc
TNF- α	$r = 0,497$ $p < 0,001$	$r = -0,327$ $p = 0,019$	$r = -0,455$ $p < 0,001$	—
IL-1 β	—	$r = 0,341$ $p = 0,014$	—	—
IL-6	—	—	—	$r = -0,318$ $p = 0,023$
IL-18	$r = -0,394$ $p = 0,004$	—	—	$r = 0,489$ $p < 0,001$
IL-10	$r = 0,399$ $p = 0,004$	—	$r = 0,308$ $p = 0,028$	$r = -0,621$ $p < 0,001$
IL-4	$r = 0,697$ $p < 0,001$	—	$r = -0,684$ $p < 0,001$	$r = 0,434$ $p = 0,001$
IFN- α	$r = 0,689$ $p < 0,001$	$r = -0,390$ $p = 0,005$	—	—
IL-17	$r = 0,341$ $p = 0,014$	—	—	—
Примечание: $r < 0,3$ – слабая связь, $r = 0,3-0,5$ – умеренная, $r = 0,5-0,7$ – заметная, $r = 0,7-0,9$ – сильная, $r = 0,9-1,0$ – высокая.				

Обращает на себя внимание разнообразие корреляционных связей между маркером пролиферативной активности Ki-67 и провоспалительными, противовоспалительными цитокинами, что, вероятно, обусловлено созданием благоприятных условий для поддержания пролиферативной активности опухолевого клона при инициации канцерогенеза. Так, экспрессия ki-67 имела статистически значимые прямые взаимосвязи с TNF- α , IL-4, IL-10, IL-17, IFN- α и обратную взаимосвязь с противовоспалительным цитокином IL-10. Наиболее заметна связь с противовоспалительным цитокином IL-4 и IFN- α , что, вероятно, обусловлено компенсаторным повышением секреции указанных цитокинов в

ответ на повышение пролиферативной активности опухолевых клеток-предшественников [9].

Для белков апоптоза преимущественно были характерны обратные корреляционные взаимосвязи с концентрацией цитокинов. Уровень экспрессии каспазы-3 обратно коррелировал с концентрацией TNF- α и IFN- α , но прямо коррелировал с концентрацией IL-1 β , а белок p53 продемонстрировал обратные взаимосвязи с TNF- α , IL-4 и прямую взаимосвязь с IL-10. Обращает на себя внимание заметной силы обратная корреляционная связь с IL-4, который прямо зависит от уровня пролиферативной активности, маркером чего является ki-67. Выраженность экспрессии в костном мозге онкопротеина c-мус, принимающего участие в поддержании пролиферативного потенциала лейкемических клеток, была обратно пропорциональна концентрации другого противовоспалительного цитокина – IL-10.

Разнообразные корреляционные связи были характерны также и для больных в ХФ без БМО (Таблица 3.13).

Таблица 3.13 – Корреляционные взаимосвязи между уровнем экспрессии регуляторных молекул и концентрацией цитокинов в сыворотке крови больных без БМО

Биомаркеры	Ki-67	Каспаза-3	p53	c-Мус
TNF- α	r = 0,902 p < 0,001	r = 0,923 p < 0,001	r = 0,791 p < 0,001	r = 0,488 p = 0,006
IL-1 β	r = -0,423 p = 0,020	r = -0,430 p = 0,018	r = -0,652 p < 0,001	r = -0,933 p < 0,001
IL-6	r = 0,479 p = 0,007	r = 0,493 p = 0,006	—	r = -0,445 p = 0,014
IL-18	r = -0,479 p = 0,007	r = -0,493 p = 0,006	—	r = 0,445 p = 0,014
IL-10	r = 0,765 p < 0,001	r = 0,781 p < 0,001	r = 0,833 p < 0,001	r = 0,821 p < 0,001

Продолжение таблицы 3.13

Биомаркеры	Ki-67	Каспаза-3	p53	c-Мус
IL-4	$r = 0,798$ $p < 0,001$	$r = -0,818$ $p < 0,001$	$r = -0,537$ $p = 0,002$	—
IFN- α	$r = 0,479$ $p = 0,007$	$r = 0,493$ $p = 0,006$	—	$r = -0,445$ $p = 0,014$
IL-17	$r = -0,479$ $p = 0,007$	$r = -0,493$ $p = 0,006$	—	$r = 0,445$ $p = 0,014$

Обращает на себя внимание наличие большого количества сильных корреляционных связей, что указывает на синергизм цитокинов сыворотки крови и белков-регуляторов клеточного цикла в формировании противоопухолевого ответа и лизиса опухолевых клеток, а также развитию резистентности к ИТК. Так, уровень экспрессии Ki-67 имел наиболее заметные прямые корреляционные взаимосвязи имел с TNF- α ($r = 0,902$, $p < 0,001$) и противовоспалительными цитокинами IL-4 ($r = 0,798$, $p < 0,001$) и IL-10 ($r = 0,765$, $p < 0,001$). Каспаза-3 также продемонстрировала сильную прямую взаимосвязь с концентрацией TNF- α ($r = 0,923$, $p < 0,001$), IL-10 ($r = 0,781$, $p < 0,001$) и обратную взаимосвязь с IL-4 ($r = -0,818$, $p < 0,001$). Уровень протеина p53 прямо коррелировал с концентрацией TNF- α ($r = 0,791$, $p < 0,001$) и IL-10 ($r = 0,833$, $p < 0,001$), а c-Мус прямо коррелировал с концентрацией IL-10 ($r = 0,821$, $p < 0,001$).

Среди больных ХМЛ, достигших БМО, наиболее заметными корреляционными связями являлись: прямая связь между Ki-67 и IL-1 β ($r = 0,566$, $p < 0,001$), прямая связь между каспазой-3 и IL-17 ($r = 0,757$, $p < 0,001$), обратная связь между каспазой-3 и IL-4 ($r = -0,506$, $p < 0,001$) (Таблица 3.14).

Таблица 3.14 – Корреляционные взаимосвязи между уровнем экспрессии регуляторных молекул и концентрацией цитокинов в сыворотке крови больных с БМО

Биомаркеры	Ki-67	Каспаза-3	p53	c-мус
TNF- α	r = 0,488 p < 0,001	—	—	—
IL-1 β	r = 0,566 p < 0,001	—	—	—
IL-18	—	r = -0,439 p = 0,001	—	r = 0,366 p = 0,009
IL-10	r = -0,469 p < 0,001	r = -0,439 p < 0,001	—	—
IL-4	r = -0,400 p = 0,004	r = -0,506 p < 0,001	r = -0,436 p = 0,002	—
IFN- α	r = 0,33 p = 0,018	r = 0,490 p < 0,001	r = -0,335 p = 0,017	—
IL-17	—	r = 0,757 p < 0,001	r = -0,414 p = 0,008	—
Примечание: r < 0,3 – слабая связь, r = 0,3–0,5 – умеренная, r = 0,5–0,7 – заметная, r = 0,7–0,9 – сильная, r = 0,9–1,0 – высокая.				

Экспрессия в костном мозге больных ХМЛ белка множественной лекарственной устойчивости р-гликопротеина прямо зависела от концентрации в сыворотке крови провоспалительных цитокинов IL-1 β (r = 0,425, p = 0,019) и IL-17 (r = 0,487, p = 0,02), которые являются наиболее значимыми предикторами неудачи терапии ИТК. Полученные данные, вероятно, косвенно свидетельствуют о том, что избыточная продукция указанных цитокинов активирует синтез р-гликопротеина клетками-предшественниками ХМЛ, что играет роль в развитии резистентности к терапии.

Таким образом, цитокиновый дисбаланс, наблюдаемый у больных ХМЛ, коррелирует с уровнем экспрессии в костном мозге белков, регулирующих процессы пролиферации (Ki-67, c-Мус), апоптоза (p53, каспазы-3), а также

развития резистентности к терапии. Наличие корреляционных связей между провоспалительными цитокинами, концентрация которых была статистически значимо выше у больных ХМЛ без БМО (IL-1 β , IL-17), и белками p53, c-Myc, p-гликопротеин, вероятно, свидетельствует об их синергизме в механизмах развития резистентности к терапии и опухолевой прогрессии.

ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Хронический миелолейкоз является первым онкологическим заболеванием, при котором был выявлен специфический генетический маркер и разработана таргетная терапия. Совершенствование знаний о молекулярно-генетических основах заболевания в течение последних десятилетий позволило радикально изменить подходы к терапии больных ХМЛ. Расширяется спектр препаратов ИТК, позволяющих достичь БМО у большинства больных. Вместе с тем прогресс в терапии ХМЛ и увеличение продолжительности жизни больных, нуждающихся в пожизненном дорогостоящем лечении, закономерно привели к новым нерешенным вопросам, касающимся безопасной отмены ИТК [178].

Не теряет актуальности проблема недостижения оптимального ответа на терапии ИТК. Согласно данным современных исследований, только 20–59 % пациентов, получающих терапию первой линии иматинибом, к 12 месяцам терапии достигает БМО. Применение ИТК2 в первую линию позволило повысить частоту достижения БМО, однако остается когорта больных, которые не достигают оптимального ответа на терапии доступными в настоящее время препаратами [96].

В настоящее время в рамках изучения новых потенциальных терапевтических мишеней для улучшения исходов лечения больных ХМЛ все большее внимание уделяется *BCR::ABL1*-независимым механизмам резистентности к ИТК [29, 182]. Одним из перспективных путей преодоления резистентности к ИТК является таргетное воздействие на различные молекулы и сигнальные пути, регулирующие клеточный цикл опухолевых клеток, а именно пролиферативную активность и интенсивность программированной клеточной гибели.

Современная теория канцерогенеза неотъемлемым условием поддержания выживаемости опухолевых клеток считает ее микроокружение – комплекс различных клеток, которые секретируют большое количество биологически активных веществ, в том числе цитокины [56, 184, 185, 215].

Учитывая вышеизложенное, изучение сывороточной концентрации цитокинов, обеспечивающих межклеточные взаимодействия между опухолью и ее микроокружением, а также другими органами и системами организма, анализ их влияния на эффективность терапии посредством модуляции процессов пролиферации и апоптоза является актуальной задачей современной науки.

Результаты настоящего исследования, включавшего 87 больных ХМЛ в различные фазы заболевания, продемонстрировали достоверное повышение секреции как провоспалительных (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-17, IL-18), так и противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10 и IFN- α) у больных ХМЛ. При этом, в общей когорте больных ХМЛ наиболее заметна гиперпродукция IL-17, IL-6 и IL-10, превышающая показатели контрольной группы в 32, 5,33 и 4,79 раза соответственно. Аберрантная секреция различных цитокинов описана при всех вариантах лейкозов. В работе Sanchez-Correa и соавт. продемонстрировано повышение секреции TNF- α , IL-6 и IL-10 в группе больных ОМЛ [64], а в работе Simioni и соавт. – IL-7, IL-8, IL-15 среди больных острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) [193]. Обзор современной литературы, проведенный Masseli и соавт., показал, что у больных Ph-негативными МПН также наблюдается повышение секреции провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, а именно IL-1 β , IL-2, IL-5, IL-6, IL-12, IL-13, TNF- α , IFN- α , IL-4, IL-10 [65].

Цитокины представляют собой взаимосвязанную систему биологически активных веществ с широким спектром биологических эффектов, которые зависят от источника их выработки, концентрации и клетки-мишени. Благодаря обилию сигнальных путей, они принимают участие во всех этапах канцерогенеза. Накопление мутаций и/или эпигенетических нарушений, активирующих различные сигнальные пути, в том числе NF- κ B, являющегося основным регулятором процесса воспаления, многократно усиливает продукцию провоспалительных цитокинов [142, 194, 214]. При миелоидных неоплазиях активация NF- κ B в большинстве случаев опосредована провоспалительными медиаторами. В частности, в исследовании Fischer и соавт. на экспериментальных моделях ОМЛ и первичного миелофиброза (ПМФ) было продемонстрировано, что

наиболее сильными индукторами NF-κB являются IL-1β и TNF-α [112]. Разнообразие клеток-мишеней и биологических эффектов цитокинов обуславливают их дальнейшую каскадную активацию, приводящую к образованию специфического опухолевого микроокружения и созданию условий для преимущественной пролиферации злокачественного клона, накоплению мутаций и опухолевой прогрессии [66].

Аналогично этому, результаты нашего исследования выявили наиболее интенсивную продукцию провоспалительных цитокинов IL-17, IL-6 и IL-1β в дебюте заболевания, концентрация которых была в 76, 12,9 и 7,8 раза выше по сравнению с показателями контрольной группы. Нами также показано, что концентрация провоспалительных цитокинов IL-2, IL-1β и IL-18 статистически значимо выше среди впервые диагностированных больных по сравнению с больными в ХФ с периодом наблюдения более 12 месяцев, что подтверждает вклад этих цитокинов в механизмы инициации злокачественной трансформации и пролиферации опухолевых клеток.

Кроме того, в исследуемой когорте показано, что концентрация IL-1β достоверно снижается на фоне терапии ИТК, а также обратно коррелирует с уровнем экспрессии *BCR::ABL1*. На основании этого можно предположить более важную роль IL-1β в регуляции пролиферативного потенциала Ph-положительных опухолевых клеток. В исследовании Binder и соавт., включавшем больных ОМЛ, отмечено, что пролиферативная активность опухолевых клеток-предшественников в наибольшей степени зависит от IL-1β, который способствует их выживаемости через сигнальный путь p38MAPK/GATA2 [38].

Нами выявлена сильная прямая корреляционная связь между IL-1β и IL-17, свидетельствующая, вероятно, о взаимостимулирующей способности цитокинов и синергизме их проонкогенных эффектов. Полученные данные подтверждены и в работах других авторов, которые показали способность IL-1 стимулировать продукцию Т-клетками IL-17, что ведет к мобилизации миелоидных клеток-предшественников и их последующей экспансии [100, 202]. Анализ цитокинового профиля больных в дебюте ХМЛ, проведенный в настоящей

работе, показал наиболее высокую концентрацию IL-17 среди всех изученных провоспалительных цитокинов, что доказывает его важную роль в усилении пролиферации миелоидных клеток-предшественников [99].

В нашей работе концентрация IL-17 прямо коррелировала с концентрацией ключевого провоспалительного цитокина – IL-6, что, вероятно, объясняется его способностью активировать синтез IL-6 клетками опухолевого микроокружения [202]. В работе Song и соавт. было показано, что IL-17-опосредованная стимуляция синтеза IL-6 повышает экспрессию проонкогенных и проангиогенных генов, способствующих прогрессированию опухолевых клеток [99]. Многократное повышение секреции IL-6 у впервые диагностированных больных ХМЛ свидетельствует о его немаловажной роли в патогенезе ХМЛ. Действительно, исследование Reynaud и соавт., проведенное на экспериментальных моделях, показало, что блокада гена *IL-6* замедляет развитие ХМЛ, даже при сохраняющейся активности BCR::ABL1 тирозинкиназы. Авторами установлено, что BCR::ABL1-связанная активация сигнального пути STAT5 ингибирует экспрессию BCL-6 – супрессора гена *IL-6* [106].

Другим провоспалительным цитокином, концентрация которого была достоверно выше среди впервые выявленных больных, являлся IL-18. На основании прямой корреляции концентрации IL-18 с уровнем бластов костного мозга, лейкоцитов, палочкоядерных нейтрофилов, ЛДГ и площадью селезенки можно предположить роль IL-18 в усилении пролиферации миелоидных предшественников и миелодной метаплазии селезенки. Действительно, литературные данные свидетельствуют о способности IL-18 стимулировать синтез GM-CSF, который регулирует пролиферацию и дифференцировку клеток-предшественников миелоидного ряда [13]. Роль IL-18 в патогенезе лейкозов, в том числе ХМЛ, мало изучена. В то же время, работа Yalçın и соавт. показала, что носительство полиморфизма rs187238 (G/C) гена *IL-18* ассоциировано с развитием ХМЛ в турецкой популяции, что указывает на вероятную роль этого цитокина в патогенезе заболевания [204]. Исследование Cominal и соавт., проведенное среди больных Ph-негативными МПН, показало прямую корреляцию сывороточной

концентрации IL-18 со степенью фиброза костного мозга. Профибротический потенциал IL-18 описан также и при других состояниях, например, при идиопатическом легочном фиброзе [42].

IL-10 и IL-4 по своей биологической природе являются противовоспалительными цитокинами. Однако, ряд ранее проведенных исследований свидетельствует о противоречивой роли IL-10 в механизмах канцерогенеза. По результатам метаанализа работ, посвященных изучению роли IL-10 в различных неоплазиях, было выявлено, что в большинстве случаев высокая концентрация IL-10 является неблагоприятным прогностическим фактором, ассоциированным с низкими показателями выживаемости [175]. Однако, в работе Zhao и соавт. были доказаны антонкогенные свойства цитокина, реализуемые через ингибирование ангиогенеза опухоли [107].

IL-10 регулирует рост и дифференцировку гемопоэтических клеток. В исследовании Kwaśniak и соавт. было показано, что IL-10, подавляя активность иммунной системы, способствует ускользанию опухолевых клеток от иммунного надзора и прогрессированию злокачественного процесса, что имеет наибольшее значение на ранних этапах канцерогенеза [172]. Действительно, по результатам нашего исследования концентрация IL-10 была наиболее высокой у впервые диагностированных больных ХМЛ (в 6 раз выше по сравнению с контрольной группой), что, вероятно, обусловлено активацией макрофагов в ответ на опухолевую трансформацию и массивным выбросом провоспалительных цитокинов, который компенсаторно активирует синтез IL-10 [9]. Кроме того, нами выявлена прямая корреляционная взаимосвязь между IL-10 и IL-18, свидетельствующая о синергизме их проонкогенных свойств на ранних этапах канцерогенеза. Аналогично этому, в работах Ma и соавт., Li и соавт., включавших больных раком молочной железы и кишечника, было доказано, что высокая коэкспрессия IL-10 и IL-18 коррелирует с неблагоприятным прогнозом основного заболевания [136, 159].

Мнения о роли IL-4 в механизмах опухолевой прогрессии также противоречивы [133]. Результаты исследования Martinez и соавт. свидетельствуют

об антилейкемическом эффекте IL-4 при ОМЛ, проявляющемся в подавлении роста и выживаемости лейкемических стволовых клеток [118]. Также известна его способность ингибировать продукцию провоспалительных цитокинов IL-1 β , TNF- α и стимулировать IL-10 [105], что объясняет выявленную нами прямую корреляционную взаимосвязь между противовоспалительными цитокинами. При анализе сопряженности показателей цитокинового профиля с клинико-лабораторными проявлениями ХМЛ в нашем исследовании выявлена статистически значимая корреляционная взаимосвязь между концентрацией IL-4 и уровнем моноцитов периферической крови, что объясняется участием цитокина в регуляции процесса дифференцировки моноцитов в дендритные клетки через сигнальный путь JAK3-STAT6 [172].

Анализ взаимосвязи цитокинов между собой показал также наличие обратной корреляционной взаимосвязи между TNF- α и IFN- α , что, вероятнее всего, свидетельствует об антагонизме этих цитокинов [208]. Известно, что IFN- α является цитокином с антипролиферативными свойствами [9, 69]. Наши результаты согласуются с этими общеизвестными данными, показывая наличие обратной корреляционной взаимосвязи между концентрацией IFN- α и количеством бластных клеток периферической крови. Кроме того, обращает на себя внимание факт, что у больных ХМЛ с повышенным уровнем ЛДГ концентрация IFN- α статистически значимо ниже, по сравнению с больными с референтными значениями ЛДГ.

IFN- α до эры тирозинкиназ являлся золотым стандартом терапии больных ХМЛ, впервые позволившим достигнуть полного цитогенетического ответа (ПЦО). Однако, частота достижения ПЦО составляла только 10–15 % [82]. Применение IFN- α в качестве терапевтического агента актуально и в настоящее время. Результаты клинических исследований, изучающих эффективность совместного применения ИТК с IFN- α , демонстрируют большую эффективность комбинированной терапии по сравнению с монотерапией ИТК благодаря модуляции механизмов как врожденного, так и адаптивного иммунитета [69].

Больные ХМЛ с высоким уровнем ЛДГ (> 200 Ед/л) продемонстрировали достоверно более высокие концентрации провоспалительных цитокинов IL-1 β и IL-6, что прямо коррелирует с уровнем экспрессии BCR::ABL1. Так, больные, не достигшие БМО, показали статистически значимо высокие концентрации этих провоспалительных цитокинов, что позволяет предположить их неблагоприятную прогностическую, ассоциированную, вероятно, с усилением пролиферации опухолевого клона. Результаты ранее проведенных исследований подтверждают важную роль IL-1 и IL-6 в пролиферации BCR::ABL1-положительных клеток [104, 106]. Так, было доказано, что ЛСК ХМЛ по сравнению с нормальными ГСК экспрессируют рецепторы IL-1 в большем количестве и, соответственно, более чувствительны к сигналам, опосредованным этим провоспалительным цитокином [103, 104]. Гиперсекреция IL-1 клетками костномозгового микроокружения описана также у больных ОМЛ, что ведет к активации ряда сигнальных путей, способствующих пролиферации опухолевого клона [114]. В исследовании Lee и соавт. при анализе больных ХМЛ с различным клиническим фенотипом было продемонстрировано, что концентрация IL-1 β достоверно выше среди больных продвинутыми фазами ХМЛ и рефрактерных к ИТК. Изучение механизма воздействия цитокина позволило авторам подтвердить, что IL-1 β защищает клетки-предшественники ХМЛ от иматиниб-индуцированного апоптоза и ремоделирует опухолевое микроокружение, способствуя миграции опухолевых клеток-предшественников в строму костного мозга [173]. При других злокачественных новообразованиях высокий уровень IL-1 β также ассоциировался с неблагоприятным прогнозом и низкими показателями выживаемости [98, 120]. Кроме того, было показано, что гиперсекреция IL-1 β у пациентов с ХМЛ, получающих терапию нилотинибом, увеличивает риск развития кардиоваскулярных осложнений [191, 197]. Понатиниб также ассоциирован с более высокой частотой кардиоваскулярных осложнений, одним из механизмов которых является ингибирование рецептора VEGF, приводящее к дисфункции эндотелия сосудов [209].

IL-6 в ряде исследований также ассоциировался с неблагоприятным прогнозом, коррелирующим с высоким риском бластной трансформации, неудачей достижения раннего молекулярного ответа и низкими показателями бессобытийной выживаемости [190]. В нашем исследовании концентрация IL-6 была статистически значимо выше среди больных продвинутыми фазами заболевания и в ХФ без БМО. Из литературных данных известно, что также как и IL-1 β , IL-6 регулирует пролиферативную активность BCR::ABL1-положительных клеток ХМЛ и стимулирует дифференцировку мультипотентных клеток-предшественников по миелоидной линии, одновременно подавляя активность ранних лимфоидных клеток-предшественников [106]. Прогностическая ценность IL-6 подтверждена в результатах и других исследований. Так, IL-6, наряду с TGF- β , признан наиболее важной молекулой в прогнозировании раннего молекулярного ответа ($BCR::ABL1 \leq 10\%$ к 3 месяцам терапии) [190].

В отличие от IL-1 β и IL-6, роль IL-17 при злокачественных новообразованиях, в том числе при ХМЛ, менее изучена. Описано, что семейство цитокинов IL-17 участвует в пролиферации опухолевых клеток при раке молочных желез, легких, простаты, матки, яичника, кожи и колоректальном раке [122]. Так, согласно литературным данным, проонкогенный эффект IL-17 заключается в активации генов, повышающих выживаемость и пролиферативную активность опухолевых клеток, а также стимуляции выброса других провоспалительных молекул, ведущих к накоплению воспалительного вала в опухолевом микроокружении и процесса ангиогенеза опухоли. Кроме того, IL-17 ингибирует активность противоопухолевого иммунитета, что также вносит вклад в прогрессирование опухолевого процесса [14, 195].

В нашем исследовании IL-17 продемонстрировал важное клинико-прогностическое значение, а именно, корреляцию с лабораторными показателями (уровнем лейкоцитов, тромбоцитов, лимфоцитов, моноцитов, базофилов), а также высокую диагностическую ценность в прогнозировании вероятности достижения БМО. Аналогично этому, при раке гортани было показано, что IL-17 является

биомаркером раннего рецидива, метастазирования, а также худшего прогноза. Неблагоприятная роль цитокина при данном злокачественном новообразовании, по мнению авторов, обусловлена активацией сигнального пути PI3K/AKT, который блокирует FAS-ассоциированный процесс апоптоза. На основании этого высказано предположение, что подавление активности IL-17 является перспективным путем усиления апоптоза опухолевых клеток и, таким образом, улучшения исходов терапии [99].

В нашем исследовании для больных, не достигших БМО, также был характерен статистически значимо более высокий уровень ангиогенного фактора роста – VEGF-A по сравнению с больными с БМО, что, вероятно, косвенно свидетельствует о большей степени васкуляризации костного мозга больных с неудачей терапии и диссеминации опухолевых клеток в экстрамедуллярные очаги [30, 78]. Прямая корреляция сывороточной концентрации VEGF со степенью васкуляризации костного мозга доказана в работе Yadav и соавт., включавшей больных ОМЛ и ОЛЛ. По данным исследовательской группы, наиболее высокая сывороточная концентрация сосудистого фактора роста наблюдалась у пациентов с бластным кризом ХМЛ [16]. В когорте больных ХМЛ высокая сывороточная концентрация VEGF являлась независимым фактором неблагоприятного прогноза: наиболее высокая концентрация фактора роста была выявлена у больных продвинутыми фазами заболевания, а также коррелировала с общим количеством баллов по прогностической шкале Hasford [176].

В собственных результатах также обращает на себя внимание также прямая корреляция VEGF-A с уровнем ЛДГ и базофилов периферической крови, что демонстрирует неблагоприятную прогностическую роль цитокина, подтвержденную результатами ROC-анализа. Результаты работ других исследовательских групп подтверждают наличие прямой корреляционной взаимосвязи между уровнем экспрессии *BCR::ABL1* и концентрацией VEGF, а достижение БМО приводит к нормализации плотности микроваскулярной сети [59, 108].

Концентрация противовоспалительного цитокина IL-10 была статистически значимо выше в группе больных, достигших БМО. Согласно литературным данным, IL-10 может проявлять как проонкогенные, так и антионкогенные свойства. Множество исследований, проведенных в когортах больных с солидными опухолями, показали неблагоприятную прогностическую роль IL-10, связанную с его способностью подавлять активность иммунной системы и, тем самым способствовать ускользанию опухолевых клеток от иммунного надзора [175]. Однако, нами получены противоречивые данные, показывающие наиболее высокие концентрации цитокина среди больных с оптимальным ответом на ИТК (БМО), что может свидетельствовать о его способности подавлять секрецию провоспалительных цитокинов и способствовать элиминации опухолевых клеток. Кроме того, ингибирование ангиогенеза, свойственное IL-10, также может способствовать подавлению опухолевого роста [107]. Сопоставимые результаты были получены в исследовании Sanchez-Correa и соавт., которое показало, что высокое содержание в сыворотке крови IL-10 и низкое IL-6 является благоприятным прогностическим фактором, коррелирующим с лучшими показателями выживаемости у больных ОМЛ [64].

В настоящее время описано три основных механизма, которые объясняют двойственное влияние IL-10 на опухолевый процесс. Во-первых, он способствует активации CD4⁺ Т-клеток, которые участвуют в процессе лизиса опухолевых клеток. Во-вторых, являясь антагонистом провоспалительных цитокинов, он блокирует ядерную транслокацию NF-κB, что ингибирует рост опухоли вследствие уменьшения влияния воспалительного микроокружения. И, наконец, ингибируя активность антигенпрезентирующих клеток, может парадоксально способствовать выживаемости опухолевых клеток [121].

При построении ROC-кривых подтверждена способность IL-17, IL-1β, IL-2, IL-6, VEGF-A и IL-10 прогнозировать вероятность достижения БМО у больных ХМЛ, получающих терапию ИТК. Наиболее значимыми предикторами риска недостижения БМО являлись IL-1β (ОШ = 0,523, 95 % ДИ 0,365 – 0,748, $p < 0,001$) и IL-17 (ОШ = 0,427, 95 % ДИ 0,252–0,723, $p < 0,001$), что позволяет

рассматривать их в качестве диагностического инструмента для прогнозирования эффективности терапии. Достижение БМО у пациентов с ХМЛ более вероятно при концентрации в сыворотке крови IL-1 β менее 2,5 пг/мл и IL-17 менее 2,6 пг/мл.

Нами также показано, что даже при достижении глубокого МО у больных ХМЛ сохраняется гиперсекреция цитокинов, о чем свидетельствуют достоверно более высокие концентрации TNF- α , IL-6, IL-17, IL-18, IL-10 и IFN- α в исследуемой подгруппе по сравнению с условно здоровыми лицами, сопоставимыми по полу и возрасту. Обращает на себя внимание отсутствие статистически значимых различий в концентрации IL-1 β , а также достоверно более низкая концентрация VEGF-A у анализируемых пациентов по сравнению с контрольной группой. Более глубокая эрадикация опухолевого клона с достижением уровня МО^{5.0} сопровождалась снижением концентрации IL-17 до уровня, сопоставимого с контрольной группой, а также дальнейшим снижением концентрации VEGF-A. Полученные результаты позволяют рассматривать провоспалительные цитокины IL-1 β и IL-17, а также VEGF-A в качестве потенциальных биомаркеров для мониторинга безопасности отмены терапии ИТК при достижении глубокого МО. В ранее проведенных исследованиях на пациентах с Ph-негативными МПН была доказана взаимосвязь между воспалительным микроокружением, неоваскуляризацией костного мозга и исходом заболеваний [211]. В нашем исследовании VEGF-A продемонстрировал наличие прямых корреляционных связей с IL-1 β и IL-17 у больных, получающих терапию более 12 месяцев, что свидетельствует о синергизме их эффектов. Можно предположить, что высокая концентрация провоспалительных цитокинов стимулирует выработку сосудистого эндотелиального фактора роста и, таким образом, поддерживает ангиогенез опухоли, который необходим для роста и инвазии опухолевых клеток. Действительно, литературные данные свидетельствуют о том, что провоспалительные цитокины, в том числе IL-17 и IL-1 β активируют продукцию проангиогенных факторов [170].

Полученные результаты показывают, что на концентрацию цитокинов в сыворотке крови больных ХМЛ оказывает влияние широкий спектр факторов,

обусловленных как самой опухолью и ее микроокружением, так и иммунологическими адаптивными механизмами [73, 192]. Так, в подгруппе больных, получающих терапию иматинибом, концентрация TNF- α была достоверно ниже по сравнению с больными, получающими ИТК2, а концентрация IFN- α у больных, получающих дазатиниб и бозутиниб, достоверно выше по сравнению с больными, получающими иматиниб и нилотиниб. Полученные различия, вероятно, объясняются способностью иматиниба в большей степени ингибировать продукцию TNF- α . Аналогичные результаты были получены в работах других исследовательских групп. Например, работа Wolf и соавт. доказала, что иматиниб замедляет процесс цитолиза клеток при остром гепатите преимущественно за счет подавления продукции TNF- α [196]. В работе Hassan и соавт. также показано, что иматиниб способен ингибировать синтез TNF- α как *in vitro*, так и *in vivo*, а также регулировать функциональную активность Т-клеток – продуцентов различных цитокинов [93, 196].

Различные исследования свидетельствуют о том, что мультитаргетные ингибиторы киназ могут оказывать влияние на цитокин-продуцирующую способность различных клеток. Например, иматиниб нарушает процессы созревания и функционирования моноцитов, Т-лимфоцитов, что сопровождается уменьшением продукции провоспалительных цитокинов и IFN- γ . Применение дазатиниба в большей степени оказывает влияние на функциональную активность макрофагов и подавляет секрецию TNF- α , IL-6, IL-12, с одной стороны, и стимулирует синтез противовоспалительного цитокина IL-10, с другой [36]. Противовоспалительные свойства дазатиниба описаны и другими исследовательскими группами. В работе Ryu и соавт. показано, что дазатиниб уменьшает концентрацию провоспалительных цитокинов в клетках микроглии путем ингибирования сигнальных путей TLR4/ERK и TLR4/AKT [70]. Результаты, описанные в работе Harrington и соавт., свидетельствуют о способности дазатиниба подавлять продукцию IL-2, ключевого провоспалительного цитокина, а также оказывать влияние на деплецию

регуляторных Т-клеток, что может являться одним из перспективных направлений в иммунотерапии злокачественных новообразований [72].

Экспрессия регуляторных молекул пролиферации (Ki-67, c-Мус) и апоптоза (p53, каспазы 3) статистически значимо различалась среди больных ХМЛ в зависимости от фазы заболевания, длительности наблюдения и уровня молекулярного ответа. Экспрессия ядерного белка Ki-67, который традиционно считается маркером пролиферативной активности злокачественных новообразований, был статистически значимо выше среди больных в ФА и БК по сравнению с больными в ХФ, что обусловлено интенсивной пролиферацией ранних клеток-предшественников гемопоэза [127]. В работе Nies и соавт. показано, что экспрессия Ki-67 наиболее интенсивна у ранних клеток-предшественников гемопоэза, постепенно уменьшаясь по мере созревания [71]. Однако, в нашем исследовании индекс пролиферативной активности клеток костного мозга больных в дебюте ХМЛ оказался статистически значимо ниже по сравнению с исследуемыми с более длительным периодом наблюдения (больные в ХФ с БМО и без БМО), что обусловлено, вероятно, мощным антипролиферативным эффектом гидроксикарбамида, который назначается на этапе верификации диагноза с циторедуктивной целью [129].

Известно, что экспрессия ядерного белка Ki-67 характерна для клеток в фазах клеточного цикла G1, S и G2-M. В отношении клеток системы миелопопоэза здорового человека было показано, что CD34⁺ бластные клетки экспрессируют Ki-67 приблизительно в 50 % случаев, тогда как при созревании до конечного этапа способность экспрессировать ядерный белок почти полностью утрачивается [162].

Несмотря на общепринятое мнение, некоторые работы свидетельствуют о том, что наличие белка Ki-67 не является обязательным условием для поддержания пролиферативного потенциала опухолевых стволовых клеток. Предполагается, что роль Ki-67 заключается не в усилении пролиферативной активности клеток-предшественников опухоли, а в ремоделировании его микроокружения, которое создает благоприятные условия для роста

злокачественного клона [130]. Обилие корреляционных связей с провоспалительными (TNF- α , IL-17, IL-18), противовоспалительными цитокинами (IL-4, IL-10), а также IFN- α в дебюте заболевания косвенно подтверждает их роль в регуляции пролиферативной активности клеток. Результаты нашего исследования также показали повышение секреции TNF- α и IL-1 β среди больных с высокой пролиферативной активностью, которые, согласно литературным данным, играют наиболее важную роль в инициации лейкемогенеза, среди больных с более высоким пролиферативным потенциалом.

Состояние хронического воспаления, каким по данным ряда авторов является опухолевый процесс, сопровождается выбросом различных биологически активных веществ, концентрация которых коррелирует с уровнем экспрессии Ki-67 [212]. Аналогично этому, при злокачественных новообразованиях также описана корреляция интенсивности экспрессии Ki-67 с концентрацией цитокинов (например, IL-6, IL-10 и TNF- α), что, по мнению авторов, указывает на их участие в прогрессировании опухоли [77].

Большинство исследователей сходятся во мнении, что высокий уровень Ki-67 является неблагоприятным прогностическим фактором. Нами показано, что наиболее высокий уровень экспрессии Ki-67 характерен для больных продвинутой стадией заболевания, что согласуется с результатами других работ [86].

c-мус является транскрипционным фактором, регулирующим экспрессию множества генов, участвующих в онкогенезе, а также противоопухолевый иммунитет и функционирование микроокружения. При многих злокачественных новообразованиях описана активация c-Мус, способствующая опухолевой прогрессии [50, 188, 198]. В нашем исследовании наиболее интенсивная экспрессия белка c-Мус наблюдалась среди больных продвинутой стадией заболевания и у впервые диагностированных пациентов, что подтверждает роль проонкогенных свойств белка.

Результаты ранее проведенных исследований свидетельствуют о том, что гиперэкспрессия c-Мус характерна как для больных ОМЛ, так и ХМЛ. Благодаря

ряду экспериментальных исследований на животных моделях было выявлено, что при ХМЛ BCR::ABL1-тирозинкиназа стимулирует транскрипцию и трансляцию Мус [32, 158]. Нами показано, что медиана уровня экспрессии с-мус статистически значимо выше у больных в дебюте заболевания по сравнению с лицами с более длительным периодом терапии (без БМО и с БМО). Полученные результаты отражают проонкогенные свойства белка, поскольку гиперэкспрессия с-Мус приводит к активации клеточного цикла и, соответственно, избыточной пролиферации опухолевых клеток [158]. Кроме того, известно, что Мус, является одной из ключевых молекул, способствующих бластной трансформации ХМЛ, что подтверждено результатами настоящего исследования. Так, МУС совместно с белком MAX соединяется с промотером BCR, активируя обратную петлю, активирующую синтез мРНК и химерного белка [32, 177].

Нами показано, что уровень экспрессии с-Мус в костном мозге обладает прогностической значимостью в оценке эффективности терапии. С одной стороны, больные, у которых отсутствовала экспрессия белка или выявлялся минимальный уровень (менее 4 %) характеризовались большей вероятностью недостижения БМО. С другой, высокий уровень (более 50 % клеток, экспрессирующих с-мус), в 100 % случаев был сопряжен с отсутствием ответа на терапию ИТК (недостижение БМО и/или прогрессирование в ФА и БК), что подтверждает неблагоприятную прогностическую роль гиперэкспрессии онкопротеина у больных ХМЛ. Полученные результаты согласуются с данными других исследовательских групп, показавшими взаимосвязь высокого уровня экспрессии МУС с худшим ответом на иматиниб при ХМЛ [147]. Аналогичные данные показаны в работе Strippoli и соавт., где высокий уровень экспрессии с-Мус у больных колоректальным раком был ассоциирован с резистентностью к ингибиторам тирозинкиназы EGFR [61].

При анализе сопряженности уровня экспрессии с-Мус с показателями цитокинового профиля обращает на себя внимание наличие прямой корреляционной связи с концентрацией IL-17, цитокином, который в нашем исследовании показал высокую значимость в отношении прогнозирования

эффективности терапии. Полученные данные, вероятно, косвенно характеризуют способность цитокина регулировать экспрессию транскрипционного фактора *c-Myc* и, таким образом, пролиферативную активность опухолевых клеток.

Подавление активности апоптоза является ключевым моментом, способствующим бесконтрольной пролиферации опухолевых клеток. Работы, посвященные изучению биологии ХМЛ, показали, что для BCR::ABL1-положительных клеток характерна низкая чувствительность к проапоптотическим сигналам, определяющая высокую частоту развития резистентности к лекарственному воздействию [21, 37, 53].

Экспрессия белка p53, супрессора опухолевого роста, была наиболее высокой среди впервые выявленных больных. Из литературных данных известно, что BCR::ABL1-опосредованное фосфорилирование белка MDM2 при инициации ХМЛ приводит к активации гена *TP53* и повышению экспрессии белка p53 [19]. При воздействии стрессовых стимулов, таких как активация онкогенов или повреждение ДНК, активация p53 способствует сохранению геномной стабильности и торможению онкогенеза посредством усиления процессов апоптоза [24]. Можно предположить, что наиболее высокая экспрессия белка p53 среди больных в дебюте заболевания обусловлена компенсаторными механизмами, направленными на торможение процесса лейкемогенеза. В подтверждение этому, результаты других исследований показали, что нормальные пролиферирующие CD34⁺-положительные гемопоэтические стволовые клетки не экспрессируют p53, в отличие от злокачественных клеток-предшественников. Кроме того, зрелая популяция лимфоидных, гранулоцитарных и моноцитарных клеток характеризуется минимальной, но детектируемой экспрессией протеина, что, вероятно, объясняет его роль в процессе созревания гемопоэтических стволовых клеток путем ингибирования пролиферативной активности зрелых предшественников [131].

При сравнении больных различными фазами заболевания гиперэкспрессия белка была наиболее характерна для больных в ФА и БК. Полученные результаты согласуются с результатами ранее проведенных исследований, которые

продемонстрировали прогностическую значимость p53. Так, в исследовании Cavalcanti и соавт. уровень экспрессии p53 прямо коррелировал с группой риска по Sokal, а его гиперэкспрессия – показателем агрессивности течения гемобластозов, в том числе ХМЛ [152]. В нашем исследовании методом ROC-анализа подтверждена прогностическая ценность белка p53 при оценке эффективности терапии. Выявлено, что уровень экспрессии белка у больных, не достигших БМО, статистически значимо ниже по сравнению с пациентами с БМО. Так, достижение БМО более вероятно при значениях уровня экспрессии p53 в костном мозге, превышающих 4 %. Диагностическая модель характеризовалась очень хорошим качеством с уровнем чувствительности метода – 100 % и специфичности – 75 %. Однако, стоит обратить внимание на данные, свидетельствующие о том, что в нашем исследовании у 100 % больных ХМЛ, достигших БМО, уровень экспрессии белка p53 находился в пределах 25 %. Таким образом, высокий уровень экспрессии белка (> 50 %) сопряжен с риском прогрессирования заболевания, а его отсутствие у лиц в ХФ – с неэффективностью таргетной терапии вследствие блокады ИТК-индуцированного апоптоза. Неблагоприятная прогностическая роль регуляторной молекулы была показана и в других работах. Например, исследования, включавшие больных ОМЛ, показали связь гиперэкспрессии p53 с неблагоприятным прогнозом, ассоциированным с низкими показателями выживаемости [153]. Результаты других экспериментальных исследований свидетельствуют о том, что активация p53, приводящая к усилению апоптоза лейкемических клеток-предшественников является перспективным путем преодоления резистентности к терапии при ХМЛ и ОМЛ [76, 174, 203].

Настоящее исследование показало, что одним из факторов, ассоциированных с неудачей терапии ХМЛ, является гиперэкспрессия белка множественной лекарственной устойчивости р-гликопротеина. Так, на клетках костного мозга больных, не достигших БМО на ИТК, экспрессия белка была практически в два раза выше по сравнению с исследуемыми с БМО (21 % и 12 %, $p < 0,001$). Литературные данные подтверждают важное прогностическое

значение р-гликопротеина в развитии резистентности к ИТК, в частности к иматинибу, что обусловлено нарушением внутриклеточного транспорта препарата и его биодоступности [18, 151].

Нами также показано, что уровень экспрессии р-гликопротеина статистически значимо выше среди больных, получающих дазатиниб по сравнению с больными, получающими нилотиниб и иматиниб. Исследований, изучавших фармакокинетику разных видов ИТК в зависимости от уровня экспрессии белков-транспортеров семейства АТФ-связывающих кассет, крайне мало. В работе Hegedűs и соавт. было показано, что р-гликопротеин статистически значимо снижает внутриклеточную концентрацию дазатиниба, в отличие от нилотиниба, фармакокинетика которого в большей степени зависит от другого белка-транспортера – ABCG2 (член 2 подсемейства G АТФ-связывающей кассеты). Внутриклеточный транспорт бозутиниба, в свою очередь, не зависел ни от р-гликопротеина, ни от ABCG2 [116]. Таким образом, можно предположить, что у пациентов с неудачей терапии и гиперэкспрессией р-гликопротеина, целесообразно применение бозутиниба.

Пациенты с ХМЛ в настоящем исследовании продемонстрировали обратную связь концентрации цитокинов IL-1 β с уровнем экспрессии на клетках костного мозга белков p53, c-Myc и прямую связь с уровнем экспрессии р-гликопротеина, который, в свою очередь, прямо коррелировал с концентрацией IL-17. По данным ранее проведенных исследований известно, что гиперсекреция IL-1 β и IL-17 у больных злокачественными новообразованиями подавляет экспрессию p53 и, таким образом, способствует прогрессированию злокачественного процесса, а также развитию резистентности к терапии [101, 120]. Кроме того можно предположить, что повышение концентрации провоспалительных цитокинов одновременно усиливает синтез р-гликопротеина клетками костного мозга больных ХМЛ, что объясняет их синергизм в механизмах опухолевой прогрессии. Достижение оптимального ответа на ИТК, сопровождающееся снижением концентрации провоспалительных цитокинов в сыворотке крови, приводит к нивелированию их ингибирующих свойств,

повышению экспрессии белка p53 и, соответственно, апоптозу опухолевых клеток.

Результаты нашего исследования показали, что уровень экспрессии каспазы 3, эффекторной молекулы, объединяющей внутренний и внешний путь апоптоза, статистически значимо выше среди больных в ФА и БК по сравнению с больными в ХФ. А больные в ХФ без БМО, в свою очередь, продемонстрировали статистически значимо высокий уровень экспрессии белка по сравнению с больными без БМО. Результаты ранее проведенных исследований, изучавших прогностическую роль каспазы 3 в когортах больных различными злокачественными новообразованиями, противоречивы. С одной стороны, показано, что высокий уровень экспрессии белка сопряжен с более агрессивным течением опухолевого процесса, что объясняется стимуляцией ДНК-нуклеаз и повреждением ДНК, приводящим к селекции резистентных клонов. Кроме того, высокий уровень каспазы-3 способствует инвазии и метастазированию злокачественных клеток, а также геномным перестройкам и, таким образом, прогрессированию опухолевого процесса [81]. С другой стороны, результаты работы Huang и соавт. показали, что экспрессия каспазы 3 оказывает антионкогенное влияние в когорте больных с раком желудка. В исследуемой группе больные, у которых биоптаты опухолей экспрессировали каспазу 3, показали лучшие показатели общей и безрецидивной выживаемости по сравнению с больными, у которых экспрессия белка отсутствовала [48].

По аналогии с другими регуляторными молекулами по результатам нашего исследования уровень каспазы-3 продемонстрировал множество корреляционных связей с концентрацией про- и противовоспалительных цитокинов, что согласуется с данными Zhang и соавт., которые показали способность каспазы 3 регулировать гемопоэз посредством модулирования экспрессии цитокинов на мезенхимальных стволовых клетках [47].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, изучение особенностей цитокинового профиля больных злокачественными новообразованиями является актуальным направлением современной науки, позволяющим расширить представления об основах канцерогенеза, развития резистентности к терапии и прогрессирования заболевания. В настоящее время, несмотря на достигнутые успехи в лечении больных ХМЛ, остается ряд нерешенных проблем, связанных с невозможностью полной эрадикации лейкоэмических стволовых клеток, а также развитием резистентности к ИТК у некоторых больных. Различные цитокины, обеспечивающие взаимодействие опухоли с ее микроокружением и регулирующие процессы пролиферации, апоптоза клеток-предшественников, могут являться потенциальной терапевтической мишенью для преодоления резистентности к терапии и улучшения исходов терапии больных.

По результатам проведенного исследования установлено, что больные ХМЛ характеризуются повышением секреции как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов, концентрация которых в сыворотке крови зависит от объема опухолевой нагрузки, длительности терапии и уровня молекулярного ответа. Многолетняя терапия ИТК приводит к достоверному снижению концентрации провоспалительных цитокинов в результате уменьшения опухолевой массы, являющейся богатым источником различных биологически активных веществ. Однако, концентрация отдельных цитокинов (TNF- α , IL-6, IL-10, IL-18) в исследуемой группе сохранялась высокой даже при достижении глубокого МО, что доказывает немаловажную роль клеток костномозговой ниши в поддержании состояния хронического воспаления, оказывающего неблагоприятное влияние на эффективность таргетной терапии. Так, цитокиновый дисбаланс с повышением концентрации провоспалительных и снижением концентрации противовоспалительных цитокинов ассоциировался с недостижением БМО у больных ХМЛ. Гиперпродукция провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-17) создает благоприятные условия для селекции

резистентного клона опухолевых клеток, предположительно, благодаря повреждению ДНК и накоплению мутаций, а также стимулирует неоангиогенез, усиливая синтез фактора роста VEGF-A, что, в конечном итоге, приводит к прогрессии опухолевого роста.

Высокая сывороточная концентрация провоспалительных цитокинов IL-1 β и IL-17, являющихся наиболее диагностически значимыми предикторами неэффективности терапии ИТК, сопряжена с низким уровнем экспрессии в костном мозге антиапоптотического белка p53, а также гиперэкспрессией белка множественной лекарственной устойчивости р-гликопротеина. На основании этого можно предположить синергизм указанных биомаркеров в развитии резистентности к ИТК и прогрессировании ХМЛ.

ВЫВОДЫ

1. Цитокиновый дисбаланс за счет гиперпродукции провоспалительных и противовоспалительных цитокинов наблюдается у всех больных хроническим миелолейкозом независимо от фазы заболевания, проводимой терапии и глубины молекулярного ответа.

2. У больных, не достигших большого молекулярного ответа, отмечаются статистически значимо более высокие концентрации провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-17 и VEGF-A, что коррелирует с объемом опухолевой нагрузки: уровнем лейкоцитов $> 10 \times 10^9/\text{л}$, ЛДГ > 200 Ед/л и спленомегалией $> 40 \text{ см}^2$ по данным УЗИ.

3. Достижение большого молекулярного ответа у больных хроническим миелолейкозом, получающих терапию ингибиторами тирозинкиназ, более вероятно при концентрации IL-1 β менее 2,5 пг/мл (чувствительность и специфичность метода – 86 % и 80,6 % соответственно) и IL-17 менее 2,6 пг/мл (чувствительность – 94,1 %, специфичность – 76,7 %).

4. Для больных в хронической фазе, не достигших большого молекулярного ответа, характерны достоверно более низкий уровень экспрессии белка апоптоза p53, онкопротеина c-Мус в костном мозге, а также более высокий уровень эффекторной каспазы 3 и p-гликопротеина по сравнению с больными с большим молекулярным ответом.

5. Низкий уровень экспрессии белков, регулирующих клеточный цикл (p53 и c-Мус), а также гиперэкспрессия белка множественной лекарственной устойчивости p-гликопротеина в костном мозге ассоциированы с повышением концентрации провоспалительных цитокинов в сыворотке крови и снижают эффективность терапии больных хроническим миелолейкозом.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Исследование концентрации цитокинов в сыворотке крови больных хроническим миелолейкозом следует рассматривать в качестве доступного и легко воспроизводимого в рутинной клинической практике инструмента, позволяющего выявить лиц с высоким риском неблагоприятного течения заболевания и неудачи терапии ингибиторами тирозинкиназ.

2. Для раннего выявления лиц с риском неэффективности таргетной терапии, наряду с уровнем экспрессии *BCR::ABL1*, целесообразно определение концентраций IL-1 β и IL-17, обладающих высокой диагностической ценностью в прогнозировании вероятности достижения большого молекулярного ответа.

3. Определение сывороточной концентрации IL-1 β , IL-17 и VEGF-A у больных хроническим миелолейкозом рекомендуется использовать для выявления лиц с более высокой вероятностью сохранения большого молекулярного ответа при отмене терапии ингибиторами тирозинкиназ.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

Алло-ТГСК – аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспаратаминотрансфераза

БК – бластный криз

БМО – большой молекулярный ответ

БСВ – бессобытийная выживаемость

ГСК – гемопоэтические стволовые клетки

ДИ – доверительный интервал

ДНК – дезоксирибонуклеаза

ДХА – дополнительные хромосомные аномалии

ИМ – иматиниба мезилат

ИТК – ингибиторы тирозинкиназ

ИТК1 – ингибиторы тирозинкиназ первого поколения

ИТК2 – ингибиторы тирозинкиназ второго поколения

ИТК3 – ингибиторы тирозинкиназ третьего поколения

ИФА – иммуноферментный анализ

КММ – костномозговое микроокружение

ЛДГ – лактатдегидрогеназа

ЛСК – лейкемические стволовые клетки

МДС – миелодиспластический синдром

МО – молекулярный ответ

МО⁴ – молекулярный ответ со снижением BCR::ABL1 на 4 логарифма

МО^{4.5} – молекулярный ответ со снижением BCR::ABL1 на 4,5 логарифма

МО^{5.0} – молекулярный ответ со снижением BCR::ABL1 на 5 логарифмов

МПН – миелопролиферативные неоплазии

ОВ – общая выживаемость

ОЛЛ – острый лимфобластный лейкоз

ОМЛ – острый миелоидный лейкоз

ОШ – отношение шансов

ПЦО – полный цитогенетический ответ

ПЦР-РВ – полимеразная цепная реакция в реальном времени

РНК – рибонуклеаза

УЗИ – ультразвуковое исследование

ФА – фаза акселерации

ХМЛ – хронический миелолейкоз

ХФ – хроническая фаза

ABC – АТФ-связывающие белки семейства ABC

AIF – фактор, индуцирующий апоптоз

AUC – площадь под кривой

BCL – белок В-клеточной лимфомы

BCR – В-клеточный рецептор

BRAF – серин-треонин-киназа

CCL – хемокиновый (CC-мотива) лиганд

CDK – Cyclin-зависимые киназы

CTCAE – общие терминологические критерии нежелательных явлений

CXCL – хемокиновый (CXC-мотива) лиганд

DISC – сигнальный комплекс клеточной гибели

EGFR – рецептор эпидермального фактора роста

ELN – Европейская организация по изучению лейкозов

ELTS – прогностическая шкала долговременной выживаемости EUTOS

EUTOS – исследования по терапии и исходам у больных ХМЛ

FGF – фактор роста фибробластов

G1 – пресинтетическая фаза митоза

G2 – постсинтетическая фаза митоза

G-CSF – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор

HGF – фактор роста гепатоцитов

IAP – белки ингибиторы апоптоза

ICAM – молекула межклеточной адгезии-1

IFN- α – интерферон-альфа
IL-10 – интерлейкин-6
IL-17 – интерлейкин-17
IL-18 – интерлейкин-18
IL-1R1 – рецептор первого типа интерлейкина-1
IL-1RA – антагонист рецептора интерлейкина-1
IL-1RAP – белок, ассоциированный с рецептором интерлейкина-1
IL-1 α – интерлейкин-1-альфа
IL-1 β – интерлейкин-1-бета
IL-2 – интерлейкин-2
IL-3 – интерлейкин-3
IL-33 – интерлейкин-33
IL-36 α – интерлейкин-36- α
IL-36 β – интерлейкин-36- β
IL-36 γ – интерлейкин-36- γ
IL-37 – интерлейкин-37
IL-4 – интерлейкин-4
IL-6 – интерлейкин-6
IL-7 – интерлейкин-7
IS – международная шкала
JAK – янус-киназа
LIF – фактор ингибирования лейкозных клеток
M – митоз
MAPK – митоген-активированная протеинкиназа
Me – медиана
MHC – главный комплекс гистосовместимости
NF- κ B – ядерный фактор κ B
NK-клетки – натуральные киллеры
ПЦР-РВ – полимеразная цепная реакция в реальном времени
PDGFR – рецептор тромбоцитарных факторов роста

PI3K – фосфатидилинозитол 3-киназа

PKB – протеинкиназа B

S – синтетическая фаза митоза

Smac – второй митохондриальный активатор каспаз

STAT – преобразователь сигнала и активатор транскрипции

TGF- β – трансформирующий фактор роста- β

TNFR1 – рецептор 1 фактора некроза опухоли

TNF- α – фактор некроза опухоли- α

VEGF-A – фактор роста эндотелия сосудов-A

VEGFR – рецептор фактора роста эндотелия сосудов

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Возможность наблюдения в ремиссии без лечения больных хроническим миелолейкозом со стабильным глубоким молекулярным ответом по данным Российской части международного многоцентрового исследования EUTOS PBS / Е. Ю. Чельшева, О. В. Лазарева, А. Г. Туркина [и др.] / Гематология и трансфузиология. – 2022. – Т. 67, № 3. – С. 351–366. DOI: 10.35754/0234-5730-2022-67-3-351-366.
2. Деев, Р. В. Современные представления о клеточной гибели / Р. В. Деев, А. И. Билялов, Т. М. Жампеисов // Гены & клетки. – 2018. – Т. 13, № 1. – С. 6–19. DOI: 10.23868/201805001.
3. Заболеваемость хроническим миелолейкозом в 6 регионах России по данным популяционного исследования 2009–2012 гг. / С. М. Куликов, О. Ю. Виноградова, Е. Ю. Чельшева [и др.] // Терапевтический архив. – 2014. – Т. 86, № 7. – С. 24–30.
4. Интерлейкин-17: функциональные и структурные особенности; использование в качестве терапевтической мишени / О. С. Костарева, А. Г. Габдулхаков. И. А. Коляденко [и др.] // Успехи биологической химии. – 2019. – Т. 59. – С. 393–418.
5. Клинические рекомендации. Хронический миелолейкоз / Национальное гематологическое общество [М.], 2020. URL: <https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/142> (дата обращения: 07.02.2022). – Текст : электронный.
6. Оценка эффективности лечения хронического миелолейкоза ингибиторами тирозинкиназ / В. Н. Ядрихинская, И. И. Мулина, А. Н. Санникова [и др.] // Якутский медицинский журнал. – 2016. – Т. 56, № 4. – С. 28–31.
7. Результаты проспективного исследования по наблюдению больных хроническим миелолейкозом после прекращения терапии ингибиторами тирозинкиназ / А. Г. Туркина, А. Н. Петрова, Е. Ю. Чельшева [и др.] //

Гематология и трансфузиология. – 2020. – Т. 65, №4. – С. 370–385. DOI: 10.35754/0234-5730-2020-65-4-370-385.

8. Роль селективности ингибиторов тирозинкиназ в развитии побочных эффектов при терапии хронического миелолейкоза / А. А. Зейфман, Е. Ю. Чельшева, А. Г. Туркина [и др.] // Онкогематология. – 2014. – Т. 7, № 1. – С. 16–27.

9. Роль цитокинов в патогенезе злокачественных новообразований / А. В. Соснина, Н. В. Великая, Н. А. Вараксин [и др.] // Новосибирск: ЗАО ИПП «Офсет». – 2014. – 128 с.

10. Сравнение заболеваемости и результатов лечения хронического миелолейкоза в Новосибирске и Новосибирской области / А. С. Лямкина, И. Н. Нечунаева, Е. В. Воронцова [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 2023. – Т. 68, № 1. – С. 35–49. DOI: 10.35754/0234-5730-2023-68-1-35-49.

11. Туркина, А. Г. Результаты применения асциминиба, первого аллостерического ингибитора BCR::ABL-тирозинкиназы, у больных хроническим миелолейкозом со множественной резистентностью к проводимой терапии / А. Г. Туркина, Е. А. Кузьмина // Онкогематология. – 2023. – Т. 16, № 3. – С. 311–320.

12. Фармакоэкономический анализ ремиссии хронического миелолейкоза без лечения / В. А. Шуваев, К. М. Абдулкадыров, А. Г. Туркина [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 2015. – Т. 60, № 4. – С. 14–20.

13. Якушенко, Е. В. Интерлейкин-18 и его роль в иммунном ответе / Е. В. Якушенко, Ю. А. Лопаткина, С. В. Сенников // Медицинская иммунология. – 2018. – Т. 7, № 4. – С. 355–364.

14. A crucial role for interleukin (IL)-1 in the induction of IL-17-producing T cells that mediate autoimmune encephalomyelitis / C. Sutton, C. Brereton, B. Keogh [et al.] // J Exp Med. – 2006. – Vol. 203, № 7. – P. 1685–1691. DOI: 10.1084/jem.20060285.

15. A phase 3, open-label, randomized study of asciminib, a STAMP inhibitor, vs bosutinib in CML after 2 or more prior TKIs / D. Rea, M. J. Mauri, C. Boquimpani

[et al.] // *Blood*. – 2021. – Vol. 138, № 21. – P. 2031–2041. DOI: 10.1182/blood.2020009984.

16. A study of bone marrow angiogenesis and its correlation with serum vascular endothelial growth factor levels in acute leukaemia / N. Yadav, S. P. Kataria, S. Kumar [et al.] // *International Journal of Research in Medical Sciences*. – 2022. – Vol. 10, № 12. – P. 2842–2849. DOI: 10.18203/2320-6012.ijrms20223086.

17. Acquired loss of p53 induces blastic transformation in p210(bcr/abl)-expressing hematopoietic cells: a transgenic study for blast crisis of human CML / H. Honda, T. Ushijima, K. Wakazono [et al.] // *Blood*. – 2000. – Vol. 95, № 4. – P. 1144–1450.

18. Active transport of imatinib into and out of cells: implications for drug resistance / J. Thomas, L. Wang, R. E. Clark [et al.] // *Blood*. – 2004. – Vol. 104, № 12. – P. 3739–3745. DOI: 10.1182/blood-2003-12-4276.

19. Al-Kuraishy, H. M. p53 gene (NY-CO-13) levels in patients with chronic myeloid leukemia: the role of imatinib and nilotinib / H. M. Al-Kuraishy, A. I. Al-Gareeb, A. K. Al-Buhadilly // *Diseases*. – 2018. – Vol. 6, № 1. – P. 13. DOI: 10.3390/diseases6010013.

20. Altered microenvironmental regulation of leukemic and normal stem cells in chronic myelogenous leukemia / B. Zhang, Y. W. Ho, Q. Huang [et al.] // *Cancer Cell*. – 2012. – Vol. 21, № 4. – P. 577–592. DOI: 10.1016/j.ccr.2012.02.018.

21. Angiogenic activity in chronic myeloid leukemia / M. S. Almenshawy, I. A. Ibrahim, N. A. Khalifa [et al.] // *J Leuk*. – 2018. – Vol. 6. – P. 245.

22. Angiogenic signaling pathways and anti-angiogenic therapy for cancer / Z. L. Liu, H. H. Chen, L. L. Zheng [et al.] // *Sig Transduct Target Ther*. – 2023. – Vol. 8 (1). – P. 198. DOI: 10.1038/s41392-023-01460-1.

23. Angiogenesis in acute and chronic leukemias and myelodysplastic syndromes / A. Aguayo, H. Kantarjian, T. Manshouri [et al.] // *Blood*. – 2000. – Vol. 96, № 6. – P. 2240–2245.

24. Apoptosis and pharmacological therapies for targeting thereof for cancer therapeutics / V. Singh, A. Khurana, U. Navik [et al.] // *Sci*. – 2022. – Vol. 4, № 2. –

P. 15. DOI: 10.3390/sci4020015.

25. Arranz, L. Interleukin-1 β as emerging therapeutic target in hematological malignancies and potentially in their complications / L. Arranz, M. D. M. Arriero, A. Villatoro. – Blood. – 2017. – Vol. 31, № 5. – P. 306–317. DOI: 10.1016/j.blre.2017.05.001.

26. Assessment of imatinib as first-line treatment of chronic myeloid leukemia: 10-year survival results of the randomized CML study IV and impact of non-CML determinants / R. Hehlmann, M. Lauseker, S. Saußebe [et al.] // Leukemia. – 2017 – Vol. 31, № 11. – P. 2398–2406. DOI: 10.1038/leu.2017.253.

27. Autocrine TNF- α production supports CML stem and progenitor cell survival and enhances their proliferation / P. Gallipoli, F. Pellicano, H. Morrison [et al.] // Blood. – 2013. – Vol. 122, № 19. – P. 3335–3339. DOI: 10.1182/blood-2013-02-485607.

28. Baykal-Kose, S. Altered apoptotic protein expressions characterize the survival of BCR-ABL-independent drug-resistant chronic myeloid leukemia cell line / S. Baykal-Kose, P. Yalcin // J Basic Clin Health Sci. – 2021. – № 1. – P. 1–5. DOI: 10.30621/jbachs.848797.

29. BCR-ABL independent mechanisms of resistance in chronic myeloid leukemia / F. Loscocco, G. Visani, S. Galimberti [et al.] // Front. Oncol. – 2019. – Vol. 9. – P. 939. DOI: 10.3389/fonc.2019.00939.

30. BCR/ABL induces expression of vascular endothelial growth factor and its transcriptional activator, hypoxia inducible factor-1 α , through a pathway involving phosphoinositide 3-kinase and the mammalian target of rapamycin / M. Mayerhofer, P. Valent, W. R. Sperr [et al.] // Blood. – 2002. – Vol. 100, № 10. – P. 3767–3775. DOI: 10.1182/blood-2002-01-0109.

31. BCR/ABL recruits p53 tumor suppressor protein to induce drug resistance / T. Stoklosa, A. Slupianek, M. Datta [et al.] // Cell Cycle. – 2004. – Vol. 11, № 3. – P. 1463–1472. DOI: 10.4161/cc.3.11.1229.

32. BCR/ABL1 and BCR are under the transcriptional control of the MYC oncogene / N. Sharma, V. Magistroni, R. Piazza [et al.] // Mol Cancer. – 2015. –

Vol. 14. – P. 132. DOI: 10.1186%2Fs12943-015-0407-0.

33. BCR-ABL1 tyrosine kinase complex signaling transduction: challenges to overcome resistance in chronic myeloid leukemia / G. P. Amarante-Mendes, A. Rana, T. S. Datoguia [et al.] // *Pharmaceutics*. – 2022. – Vol. 14, № 1. – P. 215. DOI: 10.3390/pharmaceutics14010215.

34. Bcr-Abl-mediated protection from apoptosis downstream of mitochondrial cytochrome c release / P. B. Deming, Z. T. Schafer, J. S. Tashker [et al.] // *Mol Cell Biol*. – 2004. – Vol. 24, № 23. – P. 10289–10299. DOI: 10.1128/mcb.24.23.10289-10299.2004.

35. Bcr-abl-positive cells secrete angiogenic factors including matrix metalloproteinases and stimulate angiogenesis in vivo in Matrigel implants / A. Janowska-Wieczorek, M. Majka, L. Marquez-Curtis [et al.] // *Leukemia*. – 2002. – Vol. 16, № 6. – P. 1160–1166. DOI: 10.1038/sj.leu.2402486.

36. BCR-ABL tyrosine kinase inhibitors: which mechanism(s) may explain the risk of thrombosis? / H. Haguet, J. Douxflis, C. Chatelain [et al.] // *TH Open*. – 2018. – Vol. 2, № 1. – P. 68–88. DOI: 10.1055/s-0038-1624566.

37. Bhatia, R. Targeting leukemia stem cell resistance in chronic myelogenous leukemia / R. Bhatia // *Trans Am Clin Climatol Assoc*. – 2019. – Vol. 130. – P. 246–254.

38. Binder, S. The cytokine network in acute myeloid leukemia (AML): A focus on pro- and anti-inflammatory mediators / S. Binder, M. Luciano, J. Horejs-Hoeck // *Cytokine Growth Factor Rev*. – 2018. – Vol. 43. – P. 8–15. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2018.08.004.

39. Bioinformatics analysis and identification of hub genes and immune-related molecular mechanisms in chronic myeloid leukemia / F. Yao, C. Zhao, F. Ahong [et al.] // *PeerJ*. – 2022. – Vol. 10. – P. e12616. DOI: 10.7717/peerj.12616.

40. Blockade of interleukin 10 potentiates antitumour immune function in human colorectal cancer liver metastases / K. M. Sullivan, X. Jiang, P. Guha [et al.] // *Gut*. – 2023. – Vol. 72, № 2. – P. 325–337. DOI: 10.1136/gutjnl-2021-325808.

41. Bone marrow microenvironment: The guardian of leukemia stem cells /

M. Houshmand, T. M. Blanco, P. Circosta [et al.] // World J Stem Cells. – 2019. – Vol. 11, № 8. – P. 476–490. DOI: 10.4252/wjsc.v11.i8.476.

42. Bone marrow soluble mediator signatures of patients with philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasms / J. G. Cominal, M. D. C. Cacemiro, M. G. Berzoti-Coelho // Front Oncol. – 2021. – Vol. 11. – P. 665037. DOI: 10.3389/fonc.2021.665037.

43. Bone marrow-derived mesenchymal stromal cells promote resistance to tyrosine kinase inhibitors in chronic myeloid leukemia via the IL-7/JAK1/STAT5 pathway / X. Zhang, H. Tu, Y. Yang [et al.] // Biol Chem. – 2019. – Vol. 294, № 32. – P. 12167–12179. DOI: 10.1074/jbc.ra119.008037.

44. Boni, C. Current views on the interplay between tyrosine kinases and phosphatases in chronic myeloid leukemia / C. Boni, C. Sorio // Cancers (Basel). – 2021. – Vol. 13, № 10 – P. 2311. DOI: 10.3390/cancers13102311.

45. Braun, T. P. Response and resistance to BCR-ABL1-targeted therapies / T. P. Braun, C. A. Eide, B. J. Druker // Cancer Cell. – 2020. – Vol. 37, № 4. – P. 530–542. DOI: 10.1016/j.ccell.2020.03.006.

46. Camacho, V. Inflammatory cytokines shape an altered immune response during myeloid malignancies // V. Camacho, V. Kuznetsova, R. S. Welner. – 2021. – Vol. 12. – P. 772408. DOI: 10.3389/fimmu.2021.772408.

47. Caspase-3/NLRP3 signaling in the mesenchymal stromal niche regulates myeloid-biased hematopoiesis / J. Zhang, Y. Chen, D. Yin D [et al.] // Stem Cell Res Ther. – 2021. – Vol. 12, № 1. – P. 579. DOI: 10.1186/s13287-021-02640-y.

48. Caspase-3, a key apoptotic protein, as a prognostic marker in gastric cancer patients after curative surgery / K-H. Huang, W-L. Fang, A. F-Y. Li [et al.] // International Journal of Surgery. – 2018. – Vol. 52. – P. 258–263. DOI: 10.1016/j.ijso.2018.02.055.

49. Chanvorachote, P. C-myc contributes to malignancy of lung cancer: a potential anticancer drug target / P. Chanvorachote, N. Sriratanasak, A. Nonpanya // Anticancer Research. – 2020. – Vol. 40, № 2. – P. 609–618. DOI: 10.21873/anticancer.13990.

50. Characterization of imatinib-resistant K562 cell line displaying resistance mechanisms / Y. Hekmatshoar, T. Ozkan, G. Altinok [et al.] // *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. – 2018. – Vol. 64, № 6. – P. 23–30.
51. Chen H. Targeting oncogenic Myc as a strategy for cancer treatment / H. Chen, H. Liu, G. Qing // *Signal Transduction and Targeted therapy*. – 2018. – Vol. 3. – P. 5. DOI: 10.1038/s41392-018-0008-7.
52. Chopade P. Improving outcomes in chronic myeloid leukemia over time in the era of tyrosine kinase inhibitors / P. Chopade, L. P. Akard // *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. – 2018. – Vol. 18, № 11. – P. 710–723. DOI: 10.1016/j.clml.2018.06.029.
53. Chronic myeloid leukemia stem cells / M. Houshmand, G. Simonetti, P. Circosta [et al.] // *Leukemia*. – 2019. – Vol. 33, № 7. – P. 1543–1556. DOI: 10.18632/oncotarget.333.
54. Chronic myeloid leukemia: the paradigm of targeting oncogenic tyrosine kinase signaling and counteracting resistance for successful cancer therapy / S. Soverini, M. Mancini, L. Bavaro [et al.] // *Mol Cancer*. – 2018. – Vol. 17, № 1. – P. 49. DOI: 10.1186/s12943-018-0780-6.
55. Circulating cytokines associated with clinical response to systemic therapy in metastatic renal cell carcinoma / A. Chehrazhi-Raffle, L. Meza, M. Alcantara [et al.] // *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*. – 2021. – Vol. 9. – P. 002009. DOI: 10.1136/jitc-2020-002009.
56. Circulating inflammatory cytokines and risk of five cancer: a Mendelian randomization analysis / E. Bouras, V. Karhinen, D. Gill [et al.] // *BMC Med*. – 2022. – Vol. 20, № 3. DOI: 10.1186/s12916-021-02193-0.
57. Circulating Ki-67 protein in plasma as a biomarker and prognostic indicator of acute lymphoblastic leukemia / J. M. Bruey, H. Kantarjian, Z. Estrov [et al.] // *Leuk Res*. – 2010. – Vol. 34, № 2. – P. 173–176. DOI: 10.1016/j.leukres.2009.07.030.
58. Cleaved caspase-3 transcriptionally regulates angiogenesis-promoting chemotherapy resistance / A. Bernard, S. Chevrier, F. Beltjens [et al.] // *Cancer Res*. –

2019. – Vol. 79, № 23. – P. 5958–5970. DOI: 10.1158/0008-5472.

59. Clinicopathologic correlations of bone marrow angiogenesis in chronic myeloid leukemia: a morphometric study / P. Korkolopoulou, N. Viniou, N. Kavantzias [et al.] // *Leukemia*. – 2003. – Vol. 17, № 1. – P. 89–97. DOI: 10.1038/sj.leu.2402769.

60. CML cells actively evade host immune surveillance through cytokine-mediated downregulation of MHC-II expression / A. Tarafdar, L. E. Hopcroft, P. Gallipoli // *Blood*. – 2017. – Vol. 129, № 2. – P. 199–208. DOI: 10.1182/blood-2016-09-742049.

61. C-myc expression is a possible keystone in the colorectal cancer resistance to EGFR inhibitors / A. Strippoli, A. Cocomazzi, M. Basso [et al.] // *Cancers*. – 2020. – Vol. 12, № 3. – P. 638. DOI: 10.3390/cancers12030638.

62. Cortes, J. Third-line therapy for chronic myeloid leukemia: current status and future directions / J. Cortes, F. Lang // *J Hematol Oncol*. – 2021. – Vol. 14. – P. 44 DOI: 10.1186/s13045-021-01055-9.

63. Cytokine concentration in peripheral blood of patients with colorectal cancer / W. Li, F. Chen, H. Gao [et al.] // *Front Immunol*. – 2023. – Vol. 14. – P. 1175513. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1175513.

64. Cytokine profiles in acute myeloid leukemia patients at diagnosis: survival is inversely correlated with IL-6 and directly correlated with IL-10 levels / B. Sanchez-Correa, J. M. Bergua, C. Campos [et al.] // *Cytokine*. – 2013. – Vol. 61, № 3. – P. 885–891. DOI: 10.1016/j.cyto.2012.12.023.

65. Cytokine Profiling in Myeloproliferative Neoplasms: Overview on Phenotype Correlation, Outcome Prediction, and Role of Genetic Variants / E. Masselli, G. Pozzi, G. Gobbi [et al.] // *Cells*. – 2020. – Vol. 9, № 9. – P. 2136. DOI: 10.3390/cells9092136.

66. Cytokine regulation of metastasis and tumorigenicity / M. Yao, G. Brummer, D. Acevedo [et al.] // *Adv Cancer Res*. – 2016. – Vol. 132. – P. 265–367. DOI: 10.1016/bs.acr.2016.05.005.

67. Cytokines: from clinical significance to quantification / C. Liu, D. Chu, K. Kalantar-Zadeh [et al.] // *Adv. Sci*. – 2021. – Vol. 8, № 15. – P. 2004433.

DOI: 10.1002/advs.202004433.

68. Danisz, K. Role of anti-apoptotic pathways activated by BCR/ABL in the resistance of chronic myeloid leukemia cells to tyrosine kinase inhibitors / K. Danisz, J. Blasiak // *Acta Biochimica Polonica*. – 2013. – Vol. 60, № 4. – P. 503–514.

69. Dasatinib plus Peg-Interferon alpha 2b combination in newly diagnosed chronic phase chronic myeloid leukaemia: Results of a multicenter phase 2 study (DASA-PegIFN study) / L. Roy, J. C. Chomel, J. Guilhot [et al.] // *Br J Haematol*. – 2023. – Vol. 200, № 2. – P. 175–186. DOI: 10.1111/bjh.18486.

70. Dasatinib regulates LPS-induced microglial and astrocytic neuroinflammatory responses by inhibiting AKT/STAT3 signaling / K. Y. Ryu, H. J. Lee, H. J. Woo // *Neuroinflammation*. – 2019. – Vol. 16, № 1. – P. 190. DOI: 10.1186/s12974-019-1561-x.

71. Determination of the proliferative fractions in differentiating hematopoietic cell lineages of normal bone marrow / K. P. H. Nies, R. Kraaijvanger, K. H. K. Lindelauf, R. J. M. R. Drent [et al.] // *Cytometry A*. – 2018. – Vol. 93, № 11. – P. 1097–1105. DOI: 10.1002/cyto.a.23564.

72. Differential inhibition of T-cell receptor and STAT5 signaling pathway determines the immunomodulatory effects of dasatinib in chronic myeloid leukemia / P. Harrington, R. Dillon, D. Radia // *Haematologica*. – 2023. – Vol. 108, № 6. – P. 1555–1566. DOI: 10.3324/haematol.2022.282005.

73. Differentiation and regulation of T_H cells: a balancing act for cancer immunotherapy / A. Basu, G. Ramamoorthi, G. Albert [et al.] // *Front. Immunol*. – 2021. – Vol. 12. – P. 669474. DOI: 10.3389/fimmu.2021.669474.

74. Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: the prospective, multicentre Stop Imatinib (STIM) trial / F. X. Mahon, D. Réa, J. Guilhot // *Lancet Oncol*. – 2010. – Vol. 11, № 11. – P. 1029–1035. DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70233-3.

75. Discontinuation of tyrosine kinase inhibitor therapy in chronic myeloid leukaemia (EURO-SKI): a prespecified interim analysis of a prospective, multicentre, non-randomised, trial / S. Saussele, J. Richter, J. Guilhot [et al.] *EURO-SKI*

investigators // *Lancet Oncol.* 2018. – Vol. 19, № 6. – P. 747–757. DOI: 10.1016/S1470-2045(18)30192-X.

76. Dual targeting of p53 and c-MYC selectively eliminates leukaemic stem cells / S. A. Abraham, L. E. Hopcroft, E. Carrick [et al.] // *Nature.* – 2016. – Vol. 7607, № 534. – P. 341–346. DOI: 10.1038/nature18288.

77. Dynamics of proinflammatory cytokine levels and their role in the development of local and systemic effects during progressing cervical cancer / T. P. Gening, I. I. Antoneeva, T. V. Abakumova [et al.] // *Bull Exp Biol Med.* – 2014. – Vol. 157, № 6. – P. 776–780. DOI: 10.1007/s10517-014-2665-z.

78. Elevated plasma levels of vascular endothelial growth factor is associated with marked splenomegaly in chronic myeloid leukemia / P. Liu, J. Li, Z. C. Han [et al.] // *Leuk Lymphoma.* – 2005. – Vol. 46, № 12. – P. 1761–1764. DOI: 10.1080/10428190500262318.

79. Engineering a BCR-ABL-activated caspase for the selective elimination of leukemic cells / M. Kurokawa, T. Ito, C. S. Yang [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2013. – Vol. 110, № 6. – P. 2300–2305. DOI: 10.1073/pnas.1206551110.

80. Epidemiology of the classical myeloproliferative neoplasms: The four corners of an expansive and complex map / R. M. Shallis, R. Wang, A. Davidoff [et al.] // *Blood Rev.* – 2020. – Vol. 42, – P. 100706. DOI: 10.1016/j.blre.2020.100706.

81. Eskandari, E. Paradoxical roles of caspase-3 in regulating cell survival, proliferation, and tumorigenesis / E. Eskandari, C. J. Eaves // *J Cell Biol.* – 2022. – Vol. 221, № 6. – P. 202201159. DOI: 10.1083/jcb.202201159.

82. European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia / A. Hochhaus, M. Baccarani, R. T. Silver [et al.] // *Leukemia.* – 2020. – Vol. 34, № 4. – P. 966–984. DOI: 10.1038/s41375-020-0776-2.

83. Evaluation of apoptosis imaging biomarkers in a genetic model of cell death / V. Vassileva, S. M. Stribbling, C. Barnes [et al.] // *EJNMMI Res.* – 2019. – Vol. 18, № 9. DOI: 10.1186/s13550-019-0487-8.

84. Expansion of senescent megakaryocyte-lineage cells maintains CML cell leukemogenesis / Y. Tanabe, S. Kawamoto, T. Takaku [et al.] // *Blood Adv.* – 2020. –

Vol. 24, № 4. – P. 6175–6188. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020003117.

85. Expert opinion-management of chronic myeloid leukemia after resistance to second-generation tyrosine kinase inhibitors / A. Hochhaus, M. Breccia, G. Saglio [et al.] // *Leukemia*. – 2020. – Vol. 34. – P. 1495–1502. DOI: 10.1038/s41375-020-0842-9.

86. Expression of Ki-67 and CD34 on blood and bone marrow cells of CML patients with different response to imatinib and nilotinib therapy / T. Perekhrestenko, U. Melnyk, N. Goryainova [et al.] // *Exp Oncol*. – 2020. – Vol. 42, № 2. – P. 144–147. DOI: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-42-no-2.14497.

87. Expression of VEGF and its effect on cell proliferation in patients with chronic myeloid leukemia / H. Chen, Y. F. Shen, F. Gong [et al.] // *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. – 2015 – Vol. 19, № 19. – P. 3569–3573.

88. First-line imatinib vs second- and third-generation TKIs for chronic-phase CML: a systematic review and meta-analysis / C. Vener, R. Banzi, F. Ambrogi [et al.] // *Blood Adv*. – 2020. – Vol. 12, № 4. – P. 2723–2735. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019001329.

89. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia / B. J. Druker, F. Guilhot, S. G. O'Brien [et al.] // *NELM*. – 2006. – Vol. 355. – P. 2408–2417. DOI: 10.1056/NEJMoa062867.

90. Global, regional, and national burden of chronic myeloid leukemia, 1990–2017: a systematic analysis for the global burden of disease study 2017 / Q. Lin, L. Mao, L. Shao // *Front Oncol*. – 2020. – Vol. 10. – P. 580759. DOI: 10.3389/fonc.2020.580759.

91. González-Flores, D. TNF- α -induced apoptosis in human myeloid cell lines HL-60 and K562 is dependent of intracellular ROS generation / D. González-Flores, A. B. Rodríguez, J. A. Pariente // *Mol Cell Biochem*. – 2014. – Vol. 390, №. 1-2. – P. 281–287. DOI: 10.1007/s11010-014-1979-5.

92. Greten, F. R. Inflammation and Cancer: Triggers, Mechanisms, and Consequences / F. R. Greten, S. I. Grivennikov // *Immunity*. – 2019. – Vol. 51, № 1. – P. 27–41. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.06.025.

93. Hassan, I. B. Cytokine syntheses by T-cell subsets from chronic myeloid

leukemia patients: relationship between pre-treatment levels and response to imatinib therapy / I. B. Hassan, S. Benedict, J. Kristensen // *J Hematol.* – 2018. – Vol. 7, № 3. – P. 96–106. DOI: 10.14740/jh410w.

94. Hasselbalch, H. C. Perspectives on interferon-alpha in the treatment of polycythemia vera and related myeloproliferative neoplasms: minimal residual disease and cure? / H. C. Hasselbalch, M. O. Holmström // *Semin Immunopathol.* – 2019. – Vol. 41, № 1. – P. 5–19. DOI: 10.1007/s00281-018-0700-2.

95. Hassin, O. Drugging p53 in cancer: one protein, many targets / O. Hassin, M. Oren // *Nat Rev Drug Discov.* – 2023. – Vol. 22, № 2. – P. 127–144. DOI: 10.1038/s41573-022-00571-8.

96. Hehlmann, R. Chronic myeloid leukemia in 2020 / R. Hehlmann // *Hemasphere.* – 2020. – Vol. 5, № 4. – P. 468. DOI: 10.1097/HS9.0000000000000468.

97. Hsieh, Y. C. Improving outcomes in chronic myeloid leukemia through harnessing the immunological landscape / Y. C. Hsieh, K. Kirschner, M. Copland // *Leukemia.* – 2021. – Vol. 35, № 5. – P. 1229–1242. DOI: 10.1038/s41375-021-01238-w.

98. Identification of Interleukin-1 by Functional Screening as a Key Mediator of Cellular Expansion and Disease Progression in Acute Myeloid Leukemia / A. Carey, D. K. Edwards 5th, C. A. Eide [et al.] // *Cell Rep.* – 2017. – Vol. 18, № 13. – P. 3204–3218. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.03.018.

99. IL-17 affects the progression, metastasis and recurrence of laryngeal cancer via the inhibition of apoptosis through activation of the PI3K/AKT/FAS/FASL pathways / Y. Song, M. Yang, H. Zhang [et al.] // *J Immunol Res.* – 2020. – Vol. 2020. – P. 2953191. DOI: 10.1155/2020/2953191.

100. IL-17 A and IL-17 F single nucleotide polymorphisms and acute myeloid leukemia susceptibility and response to induction therapy in Egypt / R. A. Zayed, Z. El-Saadany, H. N. Raslan [et al.] // *Meta Gene.* – 2020. – Vol. 26. – P. 100773. DOI: 10.1016/j.mgene.2020.100773.

101. IL-17 induces radiation resistance of B lymphoma cells by suppressing p53 expression and thereby inhibiting irradiation-triggered apoptosis / Q. Li, X. Xu, W. Zhong [et al.] // *Cell Mol Immunol.* – 2015. – Vol. 12, №3. – P. 366–372.

DOI: 10.1038/cmi.2014.122.

102. IL-17B: A new area of study in the IL-17 family / Q. Bie, C. Jin, B. Zhang [et al.] // Mol Immunol. – 2017. – Vol. 90. – P. 50–56. DOI: 10.1016/j.molimm.2017.07.004.

103. IL1RAP antibodies block IL-1-induced expansion of candidate CML stem cells and mediate cell killing in xenograft models / H. Ågerstam, N. Hansen, S. von Palffy [et al.] // Blood. – 2016. – Vol. 128, № 23. – P. 2683–2693. DOI: 10.1182/blood-2015-11-679985.

104. IL1RAP as a surface marker for leukemia stem cells is related to clinical phase of chronic myeloid leukemia patients / K. Zhao, L. L. Yin, D. M. Zhao [et al.] // Int J Clin Exp Med. – 2014. – Vol. 12, № 7. – P. 4787–4798.

105. IL-4 enhances IL-10 production in Th1 cells: implications for Th1 and Th2 regulation / Sci Rep. – 2017. – Vol. 7. – P. 11315. DOI: 10.1038/s41598-017-11803-y.

106. IL-6 controls leukemic multipotent progenitor cell fate and contributes to chronic myelogenous leukemia development / D. Reynaud, E. Pietras, K. Barry-Holson [et al.] // Cancer Cell. – 2011. – Vol. 20, № 5. – P. 661–673. DOI: 10.1016/j.ccr.2011.10.012.

107. IL10-modified Human Mesenchymal Stem Cells inhibit Pancreatic Cancer growth through Angiogenesis Inhibition / C. Zhao, Y. Pu, H. Zhang [et al.] // J Cancer. – 2020. – Vol. 18, № 11. – P. 5345–5352. DOI: 10.7150/jca.38062.

108. Imatinib mesylate (STI571) decreases the vascular endothelial growth factor plasma concentration in patients with chronic myeloid leukemia / L. Legros, C. Bourcier, A. Jacquiel [et al.] // Blood. – 2004. – Vol. 104, № 2. – P. 495–501. DOI: 10.1182/blood-2003-08-2695.

109. Impact of imatinib treatment on renal function in chronic myeloid leukaemia patients / A. K. Singh, S. Hussain, R. Ahmed [et al.] // Nephrology. – 2021. – Vol. 27, № 4. – P. 318–326. DOI: 10.1111/nep.14014.

110. Impact of inflammation on myeloproliferative neoplasm symptom development / H. L. Geyer, A. C. Dueck, R. M. Scherber R [et al.] // Mediators Inflamm. – 2015. – Vol. 2015. – P. 284706. DOI: 10.1155/2015/284706.

111. Increased IFN-gamma synthesis by T cells from patients on imatinib therapy for chronic myeloid leukemia / J. M. Aswald, J. H. Lipton, S. Aswald [et al.] // *Cytokines Cell Mol Ther.* – 2002. – Vol. 7, № 4. – P. 143–149. DOI: 10.1080/13684730210002319.
112. Inflammatory Pathophysiology as a Contributor to Myeloproliferative Neoplasms / D. A. C. Fisher, J. S. Fowles, A. Zhou [et al.] // *Front Immunol.* – 2021. – Vol. 12. – P. 683401. DOI: 10.3389/fimmu.2021.683401.
113. Infliximab therapy together with tyrosine kinase inhibition targets leukemic stem cells in chronic myeloid leukemia / O. Herrmann, M. K. Kuepper, M. Bütow [et al.] // *BMC Cancer.* – 2019. – Vol. 19, № 1. – P. 658. DOI: 10.1186/s12885-019-5871-2.
114. Inhibition of interleukin-1 receptor-associated kinase-1 is a therapeutic strategy for acute myeloid leukemia subtypes / M. M. Hosseini, S. E. Kurtz, S. Abdelhamed [et al.] // *Leukemia.* – 2018. – Vol. 32. – P. 2374–2387 DOI: 10.1038/s41375-018-0112-2.
115. Inhibition of interleukin-1 signaling enhances elimination of tyrosine kinase inhibitor-treated CML stem cells / B. Zhang, S. Chu, P. Agarwal [et al.] // *Blood.* – 2016. – Vol. 128, № 23. – P. 2671–2682. DOI: 10.1182/blood-2015-11-679928.
116. Interaction of nilotinib, dasatinib and bosutinib with ABCB1 and ABCG2: implications for altered anti-cancer effects and pharmacological properties / C. Hegedus, C. Ozvegy-Laczka, A. Apáti [et al.] // *Br J Pharmacol.* – 2009. – Vol. 158, № 4. – P. 1153–64. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2009.00383.x.
117. Interferons: role in cancer therapy / M. H. Abdolvahab, B. Darvishi, M. Zarei [et al.] // *Immunotherapy.* 2020. – Vol. 12, № 11. – P. 833–855. DOI: 10.2217/imt-2019-0217.
118. Interleukin 4 induces apoptosis of acute myeloid leukemia cells in a Stat6-dependent manner / P. Peña-Martínez, M. Eriksson, R. Ramakrishnan [et al.] // *Leukemia.* – 2018. – Vol. 32, № 3. – P. 588–596. DOI: 10.1038/leu.2017.261.
119. Interleukin-1 β inhibits normal hematopoietic expansion and promotes acute myeloid leukemia progression via the bone marrow niche / Y. Wang, X. Sun, S. Yuan [et al.] // *Cytotherapy.* – 2020. – Vol. 22 (3). – P. 127–134.

DOI: 10.1016/j.jcyt.2020.01.001.

120. Interleukin-1 β promotes ovarian tumorigenesis through a p53/NF- κ B-mediated inflammatory response in stromal fibroblasts / I. G. Schauer, J. Zhang, Z. Xing [et al.] // *Neoplasia*. – 2013. – Vol. 15, № 4. – P. 409–420. DOI: 10.1593/neo.121228.

121. Interleukin-10: A double-edged sword in breast cancer / C. M. Chang, H. Y. P. Lam, H. J. Hsu [et al.] // *Tzu Chi Med J*. – 2021. – Vol. 33, № 3. – P. 203–211. DOI: 10.4103/tcmj.tcmj_162_20.

122. Interleukin-17 promotes migration and invasion of human cancer cells through upregulation of MTA1 expression / N. Guo, G. Shen, Y. Zhang [et al.] // *Front Oncol*. – 2019. – Vol. 9. – P. 546. DOI: 10.3389/fonc.2019.00546.

123. Interleukins in cancer: from biology to therapy / D. Briukhovetska, J. Dörr, S. Endres [et al.] // *Nat Rev Cancer*. – 2021. – Vol. 21, № 8. – P. 481–499. DOI: 10.1038/s41568-021-00363-z.

124. Jabbour, E. Chronic myeloid leukemia: 2022 update on diagnosis, therapy and monitoring / E. Jabbour, H. Kantarjian // *Am J Hematol*. – 2022. – Vol. 97, № 9. – P. 1236–1256. DOI: 10.1002/ajh.26642.

125. JAK and STAT gene mutations and JAK-STAT pathway activation in lympho- and myeloproliferative neoplasms / M. Łączak, M. Kuczyńska, J. Grygier [et al.] // *Hematology in Clinical Practice*. – 2021. – Vol. 12. – P. 3–4. DOI: 10.5603/HCP.a2021.0013.

126. JKST6, a novel multikinase modulator of the BCR-ABL1/STAT5 signaling pathway that potentiates direct BCR-ABL1 inhibition and overcomes imatinib resistance in chronic myelogenous leukemia / H. Aranda-Tavío, C. Recio, P. Martín-Acosta [et al.] // *Biomed Pharmacother*. – 2021. – Vol. 144. – P. 112330. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.112330.

127. Jothilingam, P. Angiogenesis and proliferation index in patients with acute leukemia: a prospective study / P. Jothilingam, D. Basu, T. K. Dutta // *Bone Marrow Res*. – 2014. – Vol. 2014. – P. 634874. DOI: 10.1155/2014/634874.

128. Kalvakolanu, D. V. Cytokine signaling in cancer: Novel players and

pathways / D. V. Kalvakolanu // Cytokine. – 2017. – Vol. 89. – P. 1–3. DOI: 10.1016/j.cyto.2016.11.012.

129. Kapor, S. Mechanisms of Hydroxyurea-Induced Cellular Senescence: An Oxidative Stress Connection? / S. Kapor, V. Čokić, J. F. Santibanez // Oxid Med Cell Longev. – 2021. – Vol. 2021. – P. 7753857. DOI:10.1155/2021/7753857.

130. Ki-67 regulates global gene expression and promotes sequential stages of carcinogenesis / K. Mrouj, N. Andrés-Sánchez, G. Dubra [et al.] // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2021. – Vol. 118, № 10. – P. 2026507118. DOI: 10.1073/pnas.2026507118.

131. Levels of p53 protein increase with maturation in human hematopoietic cells / M. B. Kastan, A. I. Radin, S. J. Kuerbitz [et al.]. – 1991. – Vol. 51, № 16. – P. 4279–4286.

132. Leukemia Stem Cells in Chronic Myeloid Leukemia / Y. Shan, N. DeSouza, Q. Qiu [et al.] // Adv Exp Med Biol. – 2019. – Vol. 1143. – P. 191–215. DOI: 10.1007/978-981-13-7342-8_9.

133. Li, Z. Paradoxical roles of IL-4 in tumor immunity / Z. Li, L. Chen, Z. Qin // Cell Mol Immunol. – 2009. – Vol. 6, № 6. – P. 415–422. DOI: 10.1038/cmi.2009.53.

134. Long-term outcomes of frontline imatinib therapy for chronic myeloid leukemia in China / F. Cheng, G. Yuan, Q. Li [et al.] // Front. Oncol. – 2023. – Vol. 13. – P. 1172910. DOI: 10.3389/fonc.2023.1172910.

135. Long-term outcomes of imatinib treatment for chronic myeloid leukemia / A. Hochhaus, R. A. Larson, F. Guilhot [et al.] // N Engl J Med. – 2017. – Vol. 376, № 10. – P. 917–927. DOI: 10.1056%2FNEJMoa1609324.

136. Ma, T. Interleukin-18 and -10 may be associated with lymph node metastasis in breast cancer / T. Ma, M. Kong // Oncol Lett. – 2021. – Vol. 21, № 4. – P. 253. DOI: 10.3892/ol.2021.12515.

137. Making treatment-free remission (TFR) easier in chronic myeloid leukemia: fact-checking and practical management tools / F. Castagnetti, G. Binotto, I. Capodanno [et al.] // Target Oncol. – 2021. – Vol. 16, № 6. – P. 823–838. DOI: 10.1007/s11523-021-00831-4.

138. Management of chronic myeloid leukemia in 2023 – common ground and

common sense / J. Senapati, K. Sasaki, G. C. Issa [et al.] // *Blood Cancer Journal*. – 2023. – Vol. 13. – P. 58. DOI: 10.1038/s41408-023-00823-9.

139. Martin, P. Macrophage regulation of angiogenesis in health and disease // P. Martin, D. B. Gurevich // *Semin Cell Dev Biol*. – 2021. – Vol. 119. – P. 101–110. DOI: 10.1016/j.semcdb.2021.06.010.

140. Minciacchi, V. R. Chronic myeloid leukemia: a model disease of the past, present and future / V. R. Minciacchi, R. Kumar, D. S. Krause // *Cells*. – 2021. – Vol. 10, № 1. – P. 117. DOI: 10.3390/cells10010117.

141. Mirlekar, B. Tumor promoting roles of IL-10, TGF- β , IL-4, and IL-35: Its implications in cancer immunotherapy / B. Mirlekar // *SAGE Open Medicine*. – 2022. – Vol. 10. DOI: 10.1177/20503121211069012.

142. Miyazono, K. Tumour promoting functions of TGF- β in CML-initiating cells / K. Miyazono // *J Biochem*. – 2012. – Vol. 152, № 5. – P. 383–385. DOI: 10.1093/jb/mvs106.

143. Mojtahedi, H. Chronic myeloid leukemia stem cells: targeting therapeutic implications / H. Mojtahedi, N. Yazdanpanah, N. Rezaei // *Stem Cell Res Ther*. – 2021. – Vol. 12. – P. 603 DOI: 10.1186/s13287-021-02659-1.

144. Modeling blast crisis using mutagenized chronic myeloid leukemia-derived induced pluripotent stem cells (iPSCs) / J. Imeri, C. Desterke, P. Marcoux [et al.] // *Cells*. – 2023. – Vol. 12, P. 598. DOI: 10.3390/cells12040598.

145. MYC antagonizes the differentiation induced by imatinib in chronic myeloid leukemia cells through downregulation of p27(KIP1.) / M. T. Gómez-Casares, E. García-Alegria, C. E. López-Jorge [et al.] // *Oncogene*. – 2013. – Vol. 32, № 17. – P. 2239–2246. DOI: 10.1038/onc.2012.246.

146. MYC drives aggressive prostate cancer by disrupting transcriptional pause release at androgen receptor targets / X. Qiu, N. Boufaied, T. Hallal [et al.] // *Nat Commun*. – 2022. – Vol. 13, № 1. – P. 2559. DOI: 10.1038/s41467-022-30257-z.

147. MYC in chronic myeloid leukemia: induction of aberrant DNA synthesis and association with poor response to imatinib / M. Albajar, M. T. Gómez-Casares, J. Llorca [et al.] // *Mol Cancer Res*. – 2011. – Vol. 9, № 5. – P. 564–576.

DOI: 10.1158/1541-7786.mcr-10-0356.

148. MYC protein expression scoring and its impact on the prognosis of aggressive B-cell lymphoma patients / M. R. Ambrosio, S. Lazzi, G. L. Bello [et al.] // *Haematologica*. – 2019. – Vol. 104, № 1. – P. 25–28. DOI: 10.3324/haematol.2018.195958.

149. National cancer institute. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) version 5. – URL: https://ctep.cancer.gov/protocoldevelopment/electronic_applications/docs/ctcae_v5_quick_reference_5x7.pdf (дата обращения: 18.04.2023). – Текст : электронный.

150. New strategies for targeting kinase networks in cancer / A. E. Yesilkanal, G. L. Johnson, A. F. Ramos [et al.] // *J Biol Chem*. – 2021. – Vol. 297, № 4. – P. 101128. DOI: 10.1016/j.jbc.2021.101128.

151. Overexpression of P-glycoprotein and resistance to Imatinib in chronic myeloid leukemia patients / M. Ammar, N. Louati, I. Frikha [et al.] // *J Clin Lab Anal*. – 2020. – Vol. 34, № 9. – P. 23374. DOI: 10.1002/jcla.23374.

152. P53 flow cytometry evaluation in leukemias: correlation to factors affecting clinical outcome / G. B. Cavalcanti Jr, M. A. Scheiner, M. E. P. Simões [et al.] // *Cytometry B Clin Cytom*. – 2010. – Vol. 78. – № 4. – P. 253–259. DOI: 10.1002/cyto.b.20514.

153. P53 protein overexpression in de novo acute myeloid leukemia patients with normal diploid karyotype correlates with FLT3 internal tandem duplication and worse relapse-free survival / R. Assi, H. D. Gur, S. Loghavi [et al.] // *Am J Hematol*. – 2018. – Vol. 93, № 11. – P. 1376–1383. DOI: 10.1002/ajh.25255.

154. P53 signaling in cancer progression and therapy / H. E. Marei, A. Althani, N. Afifi [et al.] // *Cancer Cell Int*. – 2021. – Vol. 21. – P. 703 DOI: 10.1186/s12935-021-02396-8.

155. P53 stabilization induces apoptosis in chronic myeloid leukemia blast crisis cells / L. F. Peterson, E. Mitrikeska, D. Giannola [et al.] // *Leukemia*. – 2011. – Vol. 25, № 5. – P. 761–769. DOI: 10.1038/leu.2011.7.

156. P53: A Guardian of Immunity Becomes Its Saboteur through Mutation /

A. D. Agupitan, P. Neeson, S. Williams [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2020. – Vol. 21, № 10. – P. 3452. DOI: 10.3390/ijms21103452.

157. Persistent STAT5-mediated ROS production and involvement of aberrant p53 apoptotic signaling in the resistance of chronic myeloid leukemia to imatinib / Y. Cheng, Y. Hao, A. Zhang [et al.] // *Int J Mol Med.* – 2018. – Vol. 41, № 1. – P. 455–463. DOI: 10.3892/ijmm.2017.3205.

158. Pippa, R. The Role of MYC and PP2A in the initiation and progression of myeloid leukemias / R. Pippa, M. D. Otero // *Cells.* – 2020. – Vol. 9, № 3. – P. 544. DOI: 10.3390/cells90305.

159. Predictive value of IL-18 and IL-10 in the prognosis of patients with colorectal cancer / B. Li, F. Wang, C. Ma [et al.] // *Oncol Lett.* – 2019. – Vol. 18, № 1. – P. 713–719. DOI: 10.3892/ol.2019.10338.

160. Prognosis of long-term survival considering disease-specific death in patients with chronic myeloid leukemia / M. Pfirrmann, M. Baccarani, S. Saussele [et al.] // 2016. – Vol. 30, № 1. – P. 48–56. DOI: 10.1038/leu.2015.261.

161. Prognostic discrimination in "good-risk" chronic granulocytic leukemia / J. E. Sokal, E. B. Cox, M. Baccarani [et al.] // *Blood.* – 1984. – Vol. 63, № 4. – P. 789–799.

162. Proliferative activity is disturbed in myeloproliferative neoplasms (MPN), myelodysplastic syndrome (MDS), and MDS/MPN diseases. Differences between MDS and MDS/MPN / S. G. C. Mestrum, N. C. J. de Wit, R. J. M. Drent [et al.] // *Cytometry B Clin Cytom.* – 2021. – Vol. 100, № 3. – P. 322–330. DOI: 10.1002/cyto.b.21946.

163. Ponatinib efficacy and safety in Philadelphia chromosome–positive leukemia: final 5-year results of the phase 2 PACE trial / J. E. Cortes, D-W. Kim, J. Pinilla-Ibarz [et al.] // *Blood.* – 2018. – Vol. 132, № 4. – P. 393–404. DOI: 10.1182/blood-2016-09-739086.

164. Raaijmakers, M. H. ATP-binding-cassette transporters in hematopoietic stem cells and their utility as therapeutical targets in acute and chronic myeloid leukemia / M. H. Raaijmakers // *Leukemia.* – 2007. – P. 21, № 10. – P. 2094–2102. DOI: 10.1038/sj.leu.2404859.

165. Rein, L. A. M. A Phase I trial of incorporating natural killer (K-NK) cells for patients with chronic myeloid leukemia (CML) and molecular residual disease after tyrosine kinase inhibitor (TKI) therapy / L. A. M. Rein, D. A. Rizzieri // *Blood*. – 2020. – Vol. 136 (1). – P. 5.
166. Requirement for Mdm2 in the survival effects of Bcr-Abl and interleukin 3 in hematopoietic cells / A. W. Goetz, H. van der Kuip, R. Maya [et al.] // *Cancer Res*. – 2001. – Vol. 61, № 20. – P. 7635–7641.
167. Resistance to tyrosine kinase inhibitors in chronic myeloid leukemia – from molecular mechanisms and clinical relevance / R. Alves, A. C. Gonçalves, S. Rutella [et al.] // *Cancers*. – 2021. – Vol. 13. – P. 4820. DOI: 10.3390/cancers13194820.
168. Reversal of bone marrow genesis in chronic myeloid leukemia following imatinib mesylate (STI571) therapy / H. M. Kvasnicka, J. Thiele, P. Staib [et al.] // *Blood*. – 2004 – Vol. 103, № 9. – P. 3549–3551. DOI: 10.1182/blood-2003-08-2734.
169. Riether, C. Regulation of hematopoietic and leukemia stem cells by regulatory T cells / C. Riether // *Front Immunol*. – 2022. – Vol. 13. – P. 1049301. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1049301.
170. Ribatti, D. Interleukins as modulators of angiogenesis and anti-angiogenesis in tumors / D. Ribatti // *Cytokine*. – 2019. – Vol. 118. – P. 3–7. DOI: 10.1016/j.cyto.2018.10.022.
171. Salazar-Terreros, M. J. In vitro and in vivo modeling of normal and leukemic bone marrow niches: cellular senescence contribution to leukemia induction and progression / M. J. Salazar-Terreros, J. P. Vernot // *Int J Mol Sci*. – 2022. – Vol. 23, № 13. – P. 7350. DOI: 10.3390/ijms23137350.
172. Scientific reports concerning the impact of interleukin 4, interleukin 10 and transforming growth factor β on cancer cells / K. Kwaśniak, J. Czarnik-Kwaśniak, A. Maziarz [et al.] // *Cent Eur J Immunol*. – 2019. – Vol. 44, № 2. – P. 190–200. DOI: 10.5114/ceji.2018.76273.
173. Secretion of IL-1 β from imatinib-resistant chronic myeloid leukemia cells contributes to BCR-ABL mutation-independent imatinib resistance / C. R. Lee, J. A. Kang, H. E. Kim [et al.] // *FEBS Lett*. – 2016. – Vol. 590, № 3. – P. 358–368.

DOI: 10.1002/1873-3468.12057.

174. Selective elimination of CML stem/progenitor cells by picropodophyllin in vitro and in vivo is associated with p53 activation / F. Liao, Y. Chen, Q. Wu [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2021. – Vol. 579. – P. 1–7. DOI: 10.1016/j.bbrc.2021.09.029.

175. Serum IL-10 Predicts Worse Outcome in Cancer Patients: A Meta-Analysis / S. Zhao, D. Wu, P. Wu [et al.] // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10, № 10. – P. 0139598. DOI: 10.1371/journal.pone.0139598.

176. Serum vascular endothelial growth factor correlates with Hasford score in chronic myeloid leukemia / M. Kotru, P. Mathur, N. Garg [et al.] // *Indian J Hematol Blood Transfus.* – 2022. – Vol. 38, № 1. – P. 61–67. DOI: 10.1007/s12288-021-01437-6.

177. Shah, M. Preservation of quiescent chronic myelogenous leukemia stem cells by the bone marrow microenvironment / M. Shah, R. Bhatia // *Adv Exp Med Biol.* – 2018. – Vol. 1100. – P. 97–110. DOI: 10.1007/978-3-319-97746-1_6.

178. Shanmuganathan, N. Molecular monitoring in CML: how deep? How often? How should it influence therapy? / N. Shanmuganathan, T. P. Hughes // *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* – 2018. – Vol. 2018, № 1. – P. 168–176. DOI: 10.1182/asheducation-2018.1.168.

179. Shoukier, M. Review of new-generation tyrosine kinase inhibitors for chronic myeloid leukemia / M. Shoukier, M. Kubiak, J. Cortes // *Curr. Oncol. Rep.* – 2021. – Vol. 23. – P. 91. DOI: 10.1007/s11912-021-01087-x.

180. Signal-transducing adapter protein-1 is required for maintenance of leukemic stem cells in CML / J. Toda, M. Ichii, K. Oritani [et al.] // *Oncogene.* – 2020. – Vol. 39, № 34. – P. 5601–5615. DOI: 10.1038/s41388-020-01387-9.

181. Sinclair, A. Targeting survival pathways in chronic myeloid leukaemia stem cells / A. Sinclair, A. L. Latif, T. L. Holyoake // *Br J Pharmacol.* – 2013. – Vol. 169, № 8. – P. 1693–707. DOI: 10.1111/bfph.12183.

182. Single nucleotide polymorphisms in apoptosis pathway are associated with response to imatinib therapy in chronic myeloid leukemia / Q. Zheng, J. Cao, N. Hamad [et al.] // *J Transl Med.* – 2016. – Vol. 14. – P. 82. DOI: 10.1186/s12967-016-0837-5.

183. Single-cell transcriptomics uncovers distinct molecular signatures of stem cells in chronic myeloid leukemia / A. Giustacchini, S. Thongjuea, N. Barkas // *Nat Med.* – 2017. – Vol. 23, № 6. – P. 692–702. DOI: 10.1038/nm.4336.
184. Slow-cycling (dormant) cancer cells in therapy resistance, cancer relapse and metastasis / S. Basu, Y. Dong, R. Kumar [et al.] // *Semin Cancer Biol.* – 2022. – Vol. 78. – P. 90–103. DOI: 10.1016/j.semcancer.2021.04.021.
185. Stem cell plasticity and dormancy in the development of cancer therapy resistance / M. L. De Angelis, F. Francescangeli, F. La Torre [et al.] // *Front Oncol.* – 2019. – Vol. 9. – P. 626. DOI: 10.3389/fonc.2019.00626.
186. Sun, X. Ki-67: more than a proliferation marker / X. Sun, P. D. Kaufman // *Chromosoma.* – 2018. – Vol. 127, № 2. – P. 175–186. DOI: 10.1007/s00412-018-0659-8.
187. Synergistic effects of p53 activation via MDM2 inhibition in combination with inhibition of Bcl-2 or Bcr-Abl in CD34+ proliferating and quiescent chronic myeloid leukemia blast crisis cells / B. Z. Carter, P. Y. Mak, D. H. Mak [et al.] // *Oncotarget.* – 2015. – Vol. 31, № 6 – P. 30487–30499. DOI: 10.18632/oncotarget.5890.
188. Taking the Myc out of cancer: toward therapeutic strategies to directly inhibit c-Myc / S. K. Madden, A. D. de Araujo, D. P. Fairlie [et al.] // *Molecular Cancer.* – 2021. – Vol. 20 (1). – P. 3. DOI: 10.1186/s12943-020-01291-6.
189. Targeting Abnormal Hematopoietic Stem Cells in Chronic Myeloid Leukemia and Philadelphia Chromosome-Negative Classical Myeloproliferative Neoplasms / Y. Yung, E. Lee, H. T. Chu // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol. 22, № 2. – P. 659. DOI: 10.3390/ijms22020659.
190. TGF- α and IL-6 plasma levels selectively identify CML patients who fail to achieve an early molecular response or progress in the first year of therapy / E. Nievergall, J. Reynolds, C. H. Kok [et al.] // *Leukemia.* – 2016. – Vol. 30, № 6. – P. 1263–1272. DOI: 10.1038/leu.2016.34.
191. The BCR/ABL tyrosine kinase inhibitor, nilotinib, stimulates expression of IL-1 β in vascular endothelium in association with downregulation of miR-3p / M. Sukegawa, X. Wang, C. Nishioka [et al.] // *Leuk Res.* – 2017. – Vol. 58. – P. 83–90. DOI: 10.1016/j.leukres.2017.05.005.

192. The BCR/ABL-inhibitors imatinib, nilotinib and dasatinib differentially affect NK cell reactivity / J. Salih, J. Hilpert, T. Placke [et al.] // *Int J Cancer*. – 2010. – Vol. 127, № 9. – P. 2119–2128. DOI: 10.1002/ijc.25233.
193. The complexity of the tumor microenvironment and its role in acute lymphoblastic leukemia: implications for therapies / C. Simioni, I. Conti, G. Varano [et al.] // *Front Oncol*. – 2021. – Vol. 11. – P. 673506. DOI: 10.3389/fonc.2021.673506.
194. The diverse roles of the TNF axis in cancer progression and metastasis / B. Ham, M. C. Fernandez, Z. D'Costa [et al.] // *Trends Cancer Res*. – 2016. – Vol. 11, № 1. – P. 1–27.
195. The emerging role of the il-17b/il-17rb pathway in cancer / J. Bastid, C. Dejoux, A. Docquier [et al.] // *Front Immunol*. – 2020. – Vol. 11. – P. 718. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00718.
196. The kinase inhibitor imatinib mesylate inhibits TNF- α production in vitro and prevents TNF-dependent acute hepatic inflammation / A. M. Wolf, D. Wolf, H. Rumpold [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 2005. – Vol. 102, № 38. – P. 13622–13627. DOI: 10.1073/pnas.0501758102.
197. The link between interleukin-1 β and acute myocardial infarction in chronic myeloid leukemia patients treated with nilotinib: cross-sectional study / H. Mori, M. Sukegawa [et al.] // *Ann Hematol*. – 2020. – Vol. 99, № 2. – P. 359–361. DOI: 10.1007/s00277-019-03896-4.
198. The MYC oncogene - the grand orchestrator of cancer growth and immune evasion / R. Dhanasekaran, A. Deutzmann, W. D. Mahauad-Fernandez [et al.] // *Nat Rev Clin Oncol*. – 2022. – Vol. 19, № 1. – P. 23–36. DOI: 10.1038/s41571-021-00549-2.
199. The potential of proliferative and apoptotic parameters in clinical flow cytometry of myeloid malignancies / S. G. C. Mestrum, A. H. N. Hopman, F. C. S. Ramaekers [et al.] // *Blood Adv*. – 2021. – Vol. 7, № 5. – P. 2040–2052. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020004094.
200. The proportion of different BCR-ABL1 transcript types in chronic myeloid leukemia. An international overview / M. Baccarani, F. Castagnetti, G. Gugliotta [et al.] // *Leukemia*. – 2019. – Vol. 33. – P. 1173–1183. DOI: 10.1038/s41375-018-0341-4.

201. The rising prevalence of chronic myeloid leukemia in France / M. Delord, S. Foulon, J-M. Cayuela [et al.] // *Leuk Res.* – 2018. – Vol. 69. – P. 94–99. DOI: 10.1016/j.leukres.2018.04.008.
202. The role of interleukin-17 in tumor development and progression / J. Zhao, X. Chen, T. Herjan [et al.] // *J Exp Med.* – 2020. – Vol. 217, № 1. – P. 20190297. DOI: 10.1084%2Fjem.20060285.
203. The role of TP53 in acute myeloid leukemia: Challenges and opportunities / K. Barbosa, S. Li, P. D. Adams [et al.] // *Genes Chromosomes Cancer.* – 2019. – Vol. 58, 12. – P. 875–888. DOI: 10.1002/gcc.22796.
204. The-137G/C polymorphism in interleukin-18 gene promoter contributes to chronic lymphocytic and chronic myelogenous leukemia risk in turkish patients / S. Yalçın, P. Mutlu, T. Çetin [et al.] // *Turk J Haematol.* – 2015. – Vol. 32, № 4. – P. 311–316. DOI: 10.4274/tjh.2014.0126.
205. Thromboinflammation in myeloproliferative neoplasms (mpn)-a puzzle still to be solved / V. Bhuria, C. K. Baldauf, B. Schraven [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2022. – Vol. 23, № 6. – P. 3206. DOI: 10.3390/ijms23063206.
206. TNF- α -induced alterations in stromal progenitors enhance leukemic stem cell growth via CXCR2 signaling / P. Agarwal, H. Li, K. Choi [et al.] // *Cell Rep.* – 2021. – Vol. 36, № 2. – P. 109386. DOI: 10.1016/j.celrep.2021.109386.
207. Tumor necrosis factor α knockout impaired tumorigenesis in chronic myeloid leukemia cells partly by metabolism modification and miRNA regulation / N. Shen, S. Liu, J. Cui [et al.] // *Onco Targets Ther.* – 2019. – Vol. 12. – P. 2355–2364. DOI: 10.2147%2FOTT.S197535.
208. Type I IFN and TNF α cross-regulation in immune-mediated inflammatory disease: basic concepts and clinical relevance / T. Cantaert, D. Baeten, P. P. Tak [et al.] // *Arthritis Res Ther.* – 2010. – Vol. 12, № 5. – P. 219. DOI: 10.1186/ar3150.
209. Tyrosine kinase inhibitors in leukemia and cardiovascular events: from mechanism to patient care / A. Manouchehri, E. Kanu, M. J. Mauro [et al.] // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2020. – Vol. 40, № 2. – P. 301–308. DOI: 10.1161/ATVBAHA.119.313353.

210. Variation of MDR proteins expression and activity levels according to clinical status and evolution of CML patients / F. C. Vasconcelos, K. L. Silva, P. S. Souza [et al.] // *Cytometry B Clin Cytom.* – 2011. – Vol. 80, № 3. – P. 158–166. DOI: 10.1002/cyto.b.20580.

211. VEGF regulation of angiogenic factors via inflammatory signaling in myeloproliferative neoplasms / T. Subotički, A. O. Mitrović, E. Živković [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol. 22, № 13. – P. 6671. DOI: 10.3390/ijms22136671.

212. Viksne, R. J. Characterization of cytokines and proliferation marker ki-67 in chronic rhinosinusitis with recurring nasal polyps / R. J. Viksne, G. Sumeraga, M. Pilmane // *Adv Respir Med.* – 2022. – Vol. 90, № 5. – P. 451–466. DOI: 10.3390/arm90050053.

213. Zhou, T. Chronic myeloid leukemia: beyond BCR-ABL1 / T. Zhou, L. J. Medeiros, S. Hu // *Curr Hematol Malig Rep.* – 2018. – Vol. 13, № 6. – P. 435–445. DOI: 10.1007/s11899-018-0474-6.

214. Zhou, X. Tumor necrosis factor α in the onset and progression of leukemia / X. Zhou, Z. Li, J. Zhou // *Exp Hematol.* – 2017. – Vol. 45. – P. 17–26. DOI: 10.1016/j.exphem.2016.10.005.

215. Zhou, H. Leukemia stem cells: the root of chronic myeloid leukemia / H. Zhou, R. Xu // *Protein Cell.* – 2015. – Vol. 6, № 6. – P. 403–412. DOI: 10.1007%2Fs13238-015-0143-7.

216. Zhou, Y. Current status and future perspectives of lactate dehydrogenase detection and medical implications: A review / Y. Zhou, M. Qi, M. Yang // *Biosensors.* – 2022. – Vol. 12, № 12. – P. 1145. DOI: 10.3390/bios12121145.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

1.	Рисунок 2.1 – Дизайн исследования.	С. 44
2.	Рисунок 2.2 – Характеристика проводимой терапии больных ХМЛ.	С. 51
3.	Рисунок 3.1. – Корреляционные взаимосвязи цитокинов между собой среди больных ХМЛ в дебюте заболевания.	С. 61
4.	Рисунок 3.2. – Корреляционные взаимосвязи цитокинов между собой среди больных в ХФ, получающих терапию более 12 месяцев.	С. 62
5.	Рисунок 3.3. – Корреляционные связи между концентрацией отдельных цитокинов и лабораторными показателями больных ХМЛ.	С. 68
6.	Рисунок 3.4. – Результаты ROC-анализа по оценке диагностической значимости концентрации цитокинов в прогнозировании эффективности терапии больных ХМЛ.	С. 77
7.	Рисунок 3.5. Результаты ROC-анализа по оценке диагностической значимости уровня экспрессии регуляторных белков в прогнозировании эффективности терапии больных ХМЛ.	С. 83
8.	Таблица 2.1 – Клинико-демографическая характеристика больных ХМЛ.	С. 45
9.	Таблица 2.2 – Распределение больных по группам риска в дебюте заболевания.	С. 46
10.	Таблица 2.3 – Клинико-лабораторная характеристика больных ХМЛ в зависимости от фазы заболевания.	С. 47
11.	Таблица 2.4 – Структура сопутствующей патологии больных ХМЛ.	С. 50
12.	Таблица 2.5 – Характеристика молекулярного ответа больных на ИТК.	С. 51
13.	Таблица 3.1 – Концентрация цитокинов у больных ХМЛ и здоровых лиц (пг/мл) Таблица 3.2 – Концентрация цитокинов в зависимости от фазы заболевания и длительности наблюдения	

	(пг/мл)	С. 55
14.	Таблица 3.2 – Концентрация цитокинов в зависимости от фазы заболевания и длительности терапии (пг/мл).	С. 56
15.	Таблица 3.3. – Концентрация цитокинов у больных ХМЛ в зависимости от сопутствующей патологии и лиц контрольной группы (пг/мл)	С. 64
16.	Таблица 3.4 – Концентрация цитокинов в зависимости от уровня лейкоцитов (пг/мл)	С. 70
17.	Таблица 3.5 – Концентрация цитокинов среди больных ХМЛ в зависимости от проводимой терапии (пг/мл)	С. 73
18.	Таблица 3.6. Концентрация цитокинов у больных в зависимости от достигнутого молекулярного ответа (пг/мл)	С. 74
19.	Таблица 3.7 – Пороговые значения концентрации цитокинов IL-17, IL-1 β и IL-6 и их диагностическая ценность. Результаты ROC-анализа.	С. 75
20.	Таблица 3.8. Концентрация цитокинов у больных ХМЛ с глубоким молекулярным ответом и контрольной группы, пг/мл.	С. 78
21.	Таблица 3.9. Концентрация цитокинов у больных ХМЛ с МО ^{5.0} и контрольной группы, пг/мл.	С. 79
22.	Таблица 3.10 – Экспрессия регуляторных молекул в костном мозге больных ХМЛ.	С. 80
23.	Таблица 3.11. Прогностическое значение регуляторных молекул и их диагностическая ценность. Результаты ROC-анализа.	С. 84
24.	Таблица 3.12 – Корреляционные взаимосвязи между уровнем экспрессии регуляторных молекул и концентрацией цитокинов в сыворотке крови впервые выявленных больных ХМЛ.	С. 86
25.	Таблица 3.13 – Корреляционные взаимосвязи между уровнем экспрессии регуляторных молекул и концентрацией цитокинов в сыворотке крови больных без БМО.	С. 87
26.	Таблица 3.14 – Корреляционные взаимосвязи между уровнем	

экспрессии регуляторных молекул и концентрацией цитокинов в сыворотке крови больных с БМО.	С. 89
--	-------