

На правах рукописи

Александрова Туйара Никоновна

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

3.1.28. Гематология и переливание крови

Автореферат диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Поспелова Татьяна Ивановна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук

Челышева Екатерина Юрьевна

(Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации», клинико-диагностическое отделение гематологии миелопролиферативных заболеваний, ведущий научный сотрудник, г. Москва)

доктор медицинских наук

Шуваев Василий Анатольевич

(Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», клинико-диагностическое отделение гематологии и химиотерапии с дневным стационаром, заведующий, г. Санкт-Петербург)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится « _____ » _____ 2023 года в « _____ » часов на заседании диссертационного совета 21.2.046.07, созданного на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52; тел.: (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, ул. Залесского, д. 4; тел. 8 (383) 229-10-83); <https://new.ngmu.ru/dissers/dissertation/354>)

Автореферат разослан « _____ » _____ 2023 года

Ученый секретарь

диссертационного совета

Т. А. Агеева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Хронический миелолейкоз (ХМЛ) относится к редким заболеваниям с показателем первичной заболеваемости от 0,7 до 1,75 на 100 тыс. населения (Lin Q. et al., 2020). В последние годы в связи с улучшением выживаемости пациентов и увеличением средней продолжительности жизни населения во многих развитых странах наблюдается тенденция к росту числа больных ХМЛ (Delord M. et al., 2018).

Внедрение в клиническую практику ингибиторов тирозинкиназ (ИТК) кардинально изменило прогноз заболевания, сопоставив продолжительность жизни пациентов в хронической фазе (ХФ) ХМЛ с оптимальным противоопухолевым ответом с общепопуляционным показателем (Nehlmann R., 2020). Тем не менее, у 20–30 % пациентов развивается резистентность к ИТК, а у 40–60 % пациентов – рецидив заболевания при попытке отмены терапии (Туркина А. Г. с соавт., 2020; Alves R. et al., 2021).

В последние годы активно проводятся исследования по изучению механизмов, регулирующих глубину эрадикации опухолевого клона. Согласно результатам международного многоцентрового исследования EUTOS PBS, в российской когорте больных вероятность достижения глубокого молекулярного ответа (МО) у пациентов с ХФ ХМЛ через 3 года терапии составляет 38 %, а через 5 лет – 48 % (Челышева Е. Ю. с соавт., 2022). Исходя из этого, в настоящее время перспектива наблюдения без терапии доступна не для всех больных ХМЛ, хотя данная стратегия способна улучшить качество жизни и сократить финансовые затраты системы здравоохранения (Шуваев В. А. с соавт., 2015).

Данные крупных фундаментальных исследований показали, что дисбаланс в системе цитокинов может вносить вклад в развитие резистентности к ИТК (Samacho V. et al., 2021; Tarafdar A. et al., 2017). Являясь медиаторами межклеточного взаимодействия, цитокины регулируют пролиферативную активность опухолевых клеток, чувствительность к проапоптотическим сигналам и лекарственному воздействию, что отражается на клинических особенностях течения заболевания и эффективности терапии (Zhang B. et al., 2012).

Учитывая вышеизложенное, изучение особенностей цитокинового статуса больных ХМЛ и их взаимосвязи с белками-регуляторами пролиферации, апоптоза и лекарственной устойчивости, а также определение их прогностической значимости является актуальной задачей современной гематологии.

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 Ph-негативных миелопролиферативных неоплазиях (МПН) доказана связь между гиперсекрецией провоспалительных цитокинов и выраженностью конституциональных симптомов, а также риском развития тромботических осложнений (Bhuria V. et al., 2022; Geyer H. L. et al., 2015).

Вместе с тем, не до конца ясны точные механизмы реализации про- и антионкогенных эффектов цитокинов. Исследования последних лет показали, что ключевым событием в прогрессировании злокачественных новообразований является нарушение баланса между пролиферативной активностью и программируемой клеточной гибелью – апоптозом (Basu S. et al., 2022). Оценка пролиферативной активности и прогнозирование неблагоприятного течения злокачественных новообразований иммуногистохимическими методами с использованием маркеров Ki-67, с-Мус, p53 широко применяется при солидных опухолях и лимфопролиферативных заболеваниях (Chanvorachote P. et al., 2021; Awasthi S. et al., 2023; Chen X. et al., 2022; Hoeller S. et al., 2015). 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 (Abraham S. A. et al., 2016). 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 (Thomas J. et al., 2004). 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 (Raaijmakers M. H., 2007). 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 (ХФ, фаза акселерации (ФА) и бластного криза (БК) 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 (ЛДГ) 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, 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 большого молекулярного ответа (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 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 (c-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 результатов. Результаты диссертационной работы были

представлены на 3-м конгрессе гематологов России (Москва, 2016), на 4-м конгрессе гематологов и 3-м конгрессе трансфузиологов России (Москва, 2022), на 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» и ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница» (г. Новосибирск).

Публикации. По теме диссертации опубликованы 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, WoS.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 145 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав,

заклучения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и списка иллюстративного 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.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

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

В исследование включено 87 больных с диагнозом ХМЛ в различные фазы заболевания (55 женщин и 32 мужчины), наблюдающихся в клинико-консультативном отделе Клинико-диагностического центра ГАУ РС (Я) «Республиканская больница № 1 – Национальный центр медицины» (г. Якутск) и ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 2» (г. Новосибирск). Средний возраст исследуемых – $(53,7 \pm 13,9)$ года (95 % ДИ 50,7–56,7 %). Контрольную группу составили условно здоровые лица без хронических заболеваний в стадии обострения ($n = 50$: 30 женщин и 20 мужчин, средний возраст – $(51,2 \pm 6,8)$ года, 95 % ДИ 48,2–54,2 %).

Критериями включения в исследования являлись диагноз ХМЛ, подтвержденный наличием транслокации $t(9; 22)(q34; q11)$ и/или химерного гена *BCR::ABL1*, и возраст старше 18 лет. Критериями исключения являлись наличие острого воспалительного процесса и обострение или декомпенсация хронических заболеваний. На момент инициации исследования 84 пациента, согласно критериям European Leukemia Net, 2020 (Hochhaus A. et al., 2020), отнесены к ХФ ХМЛ, 1 пациент к ФА, 2 пациента к фазе БК. В настоящее время в связи со значимыми успехами в терапии ХМЛ и доступностью препаратов ИТК по федеральной программе 14 высокочатратных нозологий (ВЗН) количество пациентов с продвинутыми стадиями заболевания значительно меньше, что объясняет малый объем выборки пациентов с

продвинутыми стадиями заболевания (ФА и БК).

Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

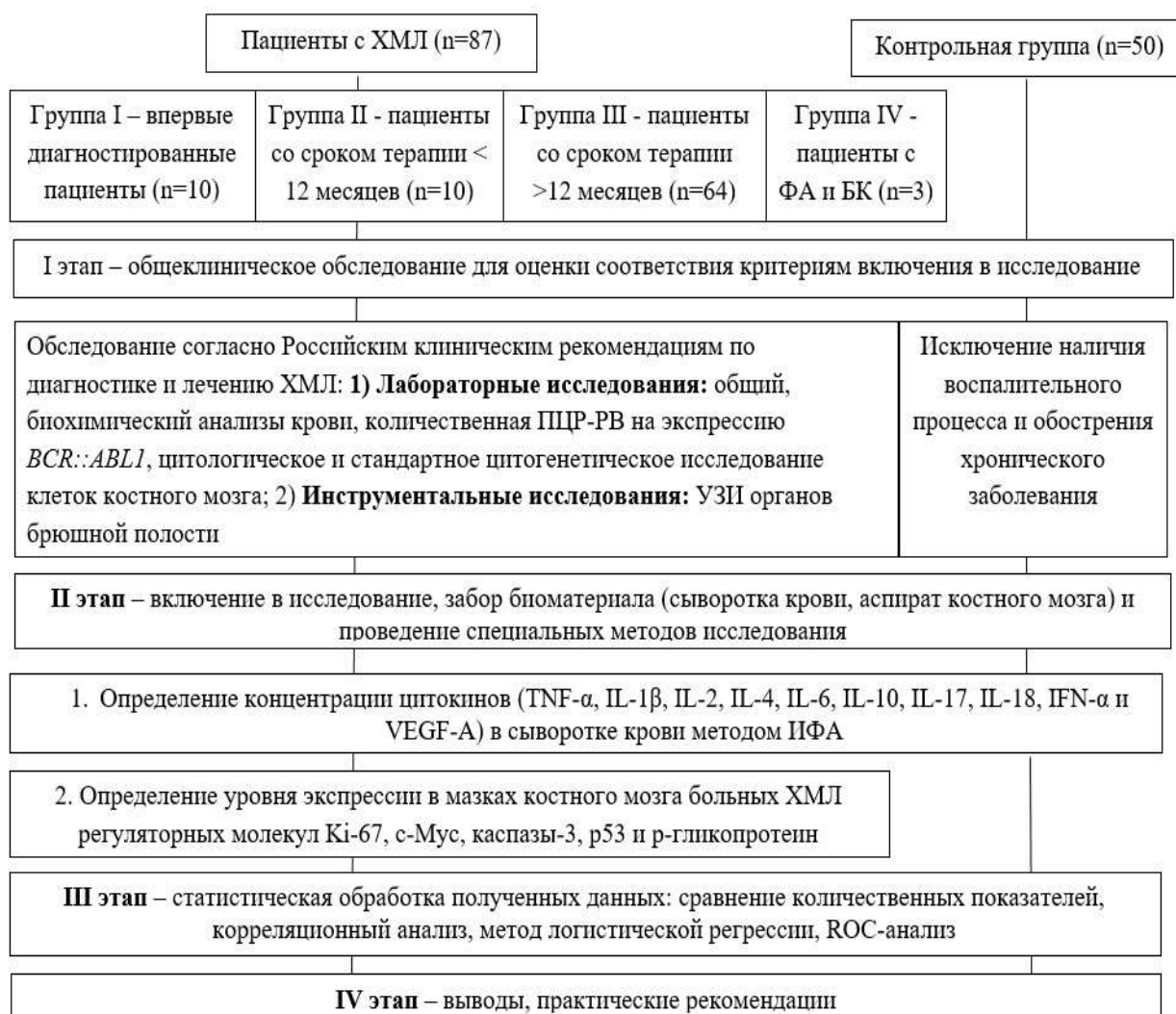


Рисунок 1 – Дизайн исследования

В анализируемой группе терапия гидроксикарбамидом проводилась 10 (11,5 %) впервые диагностированным больным, иматинибом – 49 (56,3 %), ИТК2 – 26 (29,9 %) и цитостатическая терапия 2 (2,3 %) больным с БК. Во вторую и последующие линии в 12 (13,8 %) случаях назначены нилотиниб, в 10 (11,5%) – дазатиниб и в 4 (4,6 %) случаях – бозутиниб. На фоне проводимой терапии 50 больных (57,5 %) достигли БМО, при котором уровень экспрессии химерного гена *BCR::ABL1* $\leq 0,1$ %. Достижение глубокого МО констатировано у 44 (50,6 %) больных, из них МО^{4.0} (*BCR::ABL1* $\leq 0,01$ %) у 8 (9,2 %),

МО^{4.5} ($BCR::ABL1 \leq 0,032 \%$) – у 15 (17,2 %) и МО^{5.0} ($BCR::ABL1 \leq 0,001 \%$) у 21 (24,1 %) больного.

С целью изучения особенностей цитокинового профиля пациентов в различные фазы заболевания и с различной длительностью терапии исследуемые были разделены на 4 группы: группа I – впервые диагностированные больные в ХФ, группа II – больные ХФ со сроком терапии ИТК менее 12 месяцев, группа III – больные ХФ со сроком терапии ИТК более 12 месяцев, группа IV – больные в ФА и БК.

Общеклинические методы исследования. Общеклиническое обследование больных проведено в соответствии с Российскими клиническими рекомендациями по диагностике и лечению больных ХМЛ (Ассоциация онкологов России, Национальное гематологическое общество, 2020 г.).

Специальные методы исследования. Пациентам и лицам контрольной группы проведено определение концентрации цитокинов (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-18, TNF- α , IFN- α , VEGF-A) в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью набора реагентов ИФА-БЕСТ (АО «Вектор-Бест, Новосибирск, Россия). Исследование выполнено на базе Центральной научной исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (зав. лабораторией д-р биол. наук, проф. А. И. Аутеншлюс).

Оценка уровня экспрессии маркера пролиферации Ki-67, онкопротеина с-Мус, онкосупрессорного белка p53, эффекторной каспазы 3 и белка множественной лекарственной устойчивости р-гликопротеина проведена иммуноцитохимическим методом на базе Регионального центра высоких медицинских технологий (совместно с д-ром мед. наук, проф. Т. А. Агеевой). В каждом поле подсчитывалось не менее 100 клеток. Число позитивных клеток определялось по общепринятым критериям: 0 позитивных клеток – отсутствие экспрессии, менее 25 % позитивных клеток – низкая экспрессия, 25–50 % – средняя, более 50 % – высокая.

Статистический анализ проводился с использованием программы StatTech v. 2.8.4 (разработчик – ООО "Статтех", Россия). Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывались с помощью средних арифметических величин (М) 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). Сравнение двух групп по количественному показателю выполнялось с помощью U-критерия Манна – Уитни (распределение показателей отличается от нормального). Сравнение трех и более групп выполнялось с помощью критерия Краскела – Уоллиса, апостериорные сравнения – с помощью критерия Данна с поправкой Холма. Различия показателей считали достоверными при $p < 0,05$. Корреляционный анализ проводился с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Для оценки диагностической значимости изучаемых маркеров в прогнозировании эффективности терапии применялись методы логистической регрессии и ROC-анализ.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

По результатам проведенного исследования установлено, что в дебюте ХМЛ наблюдается многократное усиление продукции провоспалительных цитокинов, которые способствуют активации пролиферативного потенциала злокачественного клона и прогрессированию опухолевого процесса (Таблица 1).

Так, в сыворотке крови впервые диагностированных больных (группа I) концентрация IL-17 была в 76 раз, IL-6 в 12,93 раза, IL-1 β в 7,84 раза, IL-18 в 3,5 раза, IL-2 в 2,56 раза выше по сравнению с контрольной группой. В анализируемой группе провоспалительные цитокины продемонстрировали наличие сильных прямых корреляционных взаимосвязей между собой (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 прогрессии ХМЛ.

Цитокиновый дисбаланс сохранялся и на фоне непрерывной терапии ИТК, о чем свидетельствуют достоверно более высокие концентрации TNF- α , IL-6, IL-18, IL-10 и IFN- α в группе II (больные, получающие терапию < 12 месяцев) и TNF- α , IL-2, IL-1 β , IL-6, IL-18, IL-4, IL-10, IL-17, IFN- α в группе III (больные, получающие терапию > 12 месяцев) по сравнению с контрольной группой. Отличительной чертой больных группы IV (в фазе БК и ФА) являлась статистически значимо более высокая концентрация IL-6.

Таблица 1 – Концентрация цитокинов в зависимости от фазы заболевания и длительности терапии (пг/мл)

Цитокин	Группа I	Группа II	Группа III	Группа IV	Контроль
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)
	p < 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)
	p < 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)
	p < 0,001* p _{III-I} = 0,002** p _{контроль-I} < 0,001** p _{контроль-III} = 0,016**				
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)
	p < 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)
	p < 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)
	p < 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)
	p < 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; 5,60)
	p < 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)
	p < 0,001* p _{контроль-I} < 0,001** p _{контроль-III} < 0,001**				
Примечания: * – критерий Краскела – Уоллиса; ** – попарные сравнения (критерий Данна с поправкой Холма).					

Концентрации цитокинов у больных ХМЛ в зависимости от клинико-лабораторных показателей. Сывороточная концентрация цитокинов в анализируемой группе в наибольшей степени зависела от объема опухолевой массы. Так, больные с лейкоцитозом $> 10 \times 10^9/\text{л}$ по сравнению с лицами с нормальным уровнем лейкоцитов продемонстрировали статистически значимо более высокие концентрации IL-1 β (6,70 (3,30; 8,10) пг/мл и 0,92 (0,88; 3,00) пг/мл, $p = 0,002$), IL-6 (7,90 (4,80; 17,30) пг/мл и 3,00 (1,98; 5,10) пг/мл, $p = 0,009$), IL-18 (517 (409,10; 612,30) пг/мл и 235,10 (167,65; 347,78) пг/мл, $p = 0,005$), IL-17 (8,00 (6,53; 10,28) пг/мл и 1,50 (0,50; 1,75) пг/мл, $p < 0,001$). Кроме того, концентрация цитокинов IL-17 и IL-1 β имела прямые корреляционные связи с уровнем экспрессии химерного гена *BCR::ABL1* ($r = 0,748$, $p < 0,001$, $r = 0,559$, $p < 0,001$).

Пациенты с уровнем ЛДГ > 200 Ед/л, внутриклеточного фермента, являющегося косвенным показателем агрессивности течения заболевания, продемонстрировали статистически значимо более высокие концентрации IL-1 β , IL-6 и VEGF-A, что свидетельствует об их неблагоприятной прогностической роли: 3,27 (0,96; 6,70) пг/мл по сравнению с 1,50 (0,88; 3,00) пг/мл, $p = 0,011$ у обследуемых с уровнем ЛДГ < 200 Ед/л, 5,10 (3,20; 13,30) пг/мл по сравнению с 2,90 (1,90; 5,10) пг/мл, $p = 0,001$, 266,45 (105,28; 135,40) пг/мл по сравнению с 135,40 (47,00; 284,10) пг/мл, $p = 0,047$, соответственно. Концентрация IFN- α , в свою очередь, была достоверно ниже у больных с высоким уровнем ЛДГ по сравнению с больными, у которых активность фермента не превышала референтных значений, что косвенно подтверждает антипролиферативные свойства цитокина (5,00 (4,00; 7,10) пг/мл и 5,60 (5,00; 9,80) пг/мл, $p = 0,026$).

Наличие спленомегалии (площадь селезенки > 40 см² по данным ультразвукового исследования (УЗИ)) у исследуемых пациентов было сопряжено с достоверным повышением концентрации IL-6 (5,10 (4,20; 17,30) пг/мл по сравнению с 3,20 (2,00; 5,20) пг/мл, $p = 0,015$), IL-1 β (3,30 (0,96; 7,10) пг/мл по сравнению с 1,62 (0,88; 3,27) пг/мл, $p = 0,037$), IL-17 (6,30 (3,88; 8,47) пг/мл по сравнению с 2,30 (0,50; 5,20) пг/мл, $p = 0,005$) и VEGF-A (267,50 (207,50; 452,90) пг/мл по сравнению с 135,55 (47,45; 299,93) пг/мл, $p = 0,029$).

Роль цитокинов в оценке эффективности терапии больных ХМЛ. Поиск предикторов эффективности лечения ХМЛ показал разнонаправленный эффект цитокинов провоспалительного и противовоспалительного спектра в процессе элиминации опухолевых клеток при терапии ИТК (Таблица 2).

Таблица 2 – Концентрация цитокинов у больных в зависимости от молекулярного ответа (пг/мл).

Цитокин	Больные без БМО	Больные с БМО	p
	Me (Q ₁ ; Q ₃)		
IL-1β	5,45 (2,75; 7,80)	0,88 (0,88; 2,10)	< 0,001
IL-2	2,00 (0,78; 2,00)	0,78 (0,78; 0,78)	< 0,001
IL-6	5,30 (4,05; 17,68)	2,80 (1,75; 4,28)	< 0,001
IL-10	2,65 (1,82; 4,75)	4,85 (2,28; 6,40)	0,039
IL-17	5,70 (3,48; 7,50)	0,70 (0,30; 2,00)	< 0,001
VEGF-A	295,25 (201,35; 449,57)	81,80 (45,20; 265,40)	0,002

Так, у пациентов, не достигших БМО, концентрация провоспалительных цитокинов IL-17, IL-1 β , IL-2, IL-6, а также VEGF-A была статистически значимо выше, а концентрация противовоспалительного цитокина IL-10, напротив, статистически значимо ниже по сравнению с обследуемыми с БМО. С учетом имеющихся в современной литературе данных можно предположить, что гиперсекреция провоспалительных цитокинов способствует повреждению ДНК, накоплению мутаций и развитию резистентности к лекарственной терапии, а противовоспалительный цитокин IL-10 проявляет антионкогенные свойства (Zhao S. et al., 2015). Высокая степень васкуляризации опухоли, обусловленная избыточной продукцией VEGF-A, приводит к диссеминации злокачественных клеток и развитию миелоидной метаплазии органов (Liu P. et al., 2005; Chen H. et al., 2015).

При ранжировании факторов риска недостижения БМО наиболее значимыми предикторами являлись высокая концентрация IL-17 (ОШ = 0,412; 95 % ДИ 0,245–0,692) и IL-1 β (ОШ = 0,518; 95 % ДИ 0,369–0,727). По результатам ROC-анализа подтверждено, что достижение БМО у больных ХМЛ более вероятно при низких концентрациях в сыворотке крови провоспалительных цитокинов и VEGF-A, а также высокой концентрации противовоспалительного цитокина IL-10. При этом, наибольшей диагностической значимостью обладают методы определения концентраций IL-1 β и IL-17, для которых чувствительность и специфичность составили 86,0 % и 80,6 %, 94,1 % и 76,7 % соответственно (Таблица 3).

Таблица 3 – Факторы риска недостижения БМО при ХМЛ. Результаты ROC-анализа

Цитокин	Площадь под ROC-кривой (95 % ДИ)	P	Точка «cut-off», пг/мл	Se, %	Sp, %
IL-1 β	0,870 $\pm$ 0,042 (0,788–0,952)	< 0,001	2,5	86,0	80,6
IL-17	0,916 $\pm$ 0,041 (0,836–0,995)	< 0,001	2,6	94,1	76,7
IL-2	0,803 $\pm$ 0,059 (0,687–0,919)	< 0,001	2,0	98,0	62,5
IL-6	0,757 $\pm$ 0,054 (0,651–0,864)	0,006	4,2	72,0	75
VEGF-A	0,747 $\pm$ 0,067 (0,615–0,879)	0,004	140,0	62,2	88,9
IL-10	0,641 $\pm$ 0,065 (0,514–0,768)	0,039	3,5	66,0	66,7
Примечания: Se – чувствительность, Sp – специфичность.					

Цитокиновый дисбаланс у больных ХМЛ сохранялся даже при достижении глубокого МО, о чем свидетельствуют статистически значимо более высокие концентрации следующих цитокинов по сравнению с контрольной группой: TNF- α (2,60 (2,00; 6,00) пг/мл и 1,00 (0,43; 1,35) пг/мл, $p < 0,001$), IL-6 (3,20 (2,60; 7,90) пг/мл и 0,75 (0,60; 1,00) пг/мл, $p < 0,001$) IL-18 (362,71 $\pm$ 179,05 (297,03; 409,49) пг/мл и 153,09 $\pm$ 60,18 (130,62; 175,57) пг/мл, $p < 0,001$), IL-10 (5,00 (3,20–7,60) пг/мл и 0,95 (0,95–1,58) пг/мл, $p < 0,001$), IFN- α (5,60 (4,00; 9,20) пг/мл и 5,00 (4,00; 9,20) пг/мл, $p = 0,037$), IL-17 (0,60 (0,45; 1,62) пг/мл и 0,10 (0,10; 0,78) пг/мл, $p = 0,003$).

Вместе с тем, следует отметить, что у пациентов с глубоким МО (МО^{4.0}, МО^{4.5}, МО^{5.0}) происходит снижение концентрации IL-1 β до значения, сопоставимого с контрольной группой (0,88 (0,88; 2,21) пг/мл и 0,88 (0,88; 2,19) пг/мл, $p = 0,883$) и определяется статистически значимо более низкая концентрация VEGF-A по сравнению с контролем (135,55 (54,17; 279,95) пг/мл и 276,90 (107,45; 412,95) пг/мл), когда как концентрация провоспалительного цитокина IL-17, также являющегося фактором неблагоприятного прогноза в достижении БМО, достоверно снижается при достижении МО^{5.0} ($BCR::ABL1 \leq 0,001$ %), достигая значений, сопоставимых с условно здоровыми лицами (1,23 $\pm$ 1,23 (-0,73; 3,18) и 0,10 $\pm$ 0,00 (0,10; 0,10), $p = 0,165$). Полученные результаты позволяют рассматривать метод определения концентраций IL-1 β , IL-17 и VEGF-A в сыворотке крови для мониторинга безопасности отмены терапии ИТК.

Уровень экспрессии регуляторных молекул в костном мозге

пациентов с ХМЛ. По результатам сравнительного анализа установлено, что впервые диагностированные больные, в отличие от больных, получающих терапию ИТК, характеризуются статистически значимо более высоким уровнем экспрессии на клетках костного мозга онкосупрессорного белка p53 и онкопротеина с-Мус (Таблица 4).

Таблица 4 – Экспрессия регуляторных молекул на клетках костного мозга больных ХМЛ, %

Уровень экспрессии белка, %	Дебют ХМЛ (1)	ХФ с БМО (2)	ХФ без БМО (3)	ФА и БК (4)
Каспаза 3	23 (15; 30)	18 (15; 24)	28 (20; 46)	66 (57; 77)
	p < 0,001* p ₁₋₄ < 0,001** p ₂₋₄ < 0,001** p ₃₋₄ < 0,001** p ₂₋₃ < 0,001**			
Ki-67	15 (10; 21)	58 (33; 63)	50 (42; 56)	70 (65; 73)
	p < 0,001* p ₁₋₂ < 0,001** p ₁₋₃ < 0,001** p ₁₋₄ < 0,001** p ₂₋₄ = 0,001** p ₃₋₄ = 0,001**			
p53	25 (20; 32)	7 (5; 8)	2 (2; 3)	18 (14; 21)
	p < 0,001* p ₁₋₂ < 0,001** p ₁₋₃ < 0,001** p ₂₋₃ = 0,011** p ₂₋₄ < 0,001** p ₃₋₄ < 0,001**			
с-Мус	17 (10; 23)	9 (6; 11)	2 (1; 5)	48 (43; 52)
	p < 0,001* p ₁₋₂ < 0,001** p ₃₋₁ < 0,001** p ₁₋₄ < 0,001** p ₂₋₃ < 0,001** p ₂₋₄ < 0,001** p ₃₋₄ < 0,001**			
Примечания: * – критерий Краскела – Уоллиса; ** – попарные сравнения (критерий Данна с поправкой Холма).				

Однако обращает на себя внимание низкий уровень пролиферативной активности, выражаемый маркером Ki-67, по сравнению с больными в ХФ с более длительным периодом наблюдения, что, вероятно, обусловлено терапевтическим воздействием гидроксикарбамида (Karor S. et al., 2021).

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, что, вероятно, приводит к потере чувствительности к проапоптотическим сигналам, приводящим к лизису опухолевых клеток при лекарственном воздействии. Больные в ФА и БК ХМЛ продемонстрировали статистически значимо более высокий уровень экспрессии маркеров пролиферативной активности Ki-67, с-Мус, а также эффекторной каспазы-3 по сравнению с другими анализируемыми группами и статистически значимо более высокий уровень экспрессии p53 по сравнению с больными в ХФ без БМО и с БМО.

Эффективность терапии ИТК в исследуемой когорте также зависела от экспрессии в костном мозге белка множественной лекарственной устойчивости р-гликопротеина. Так, у больных с неудачей терапии уровень экспрессии р-гликопротеина превышал таковую у больных с БМО в 2 раза: 21 % (14; 31) по сравнению с 12 % (7; 18), $p < 0,001$.

Среди цитохимических маркеров наиболее значимым предиктором неэффективности терапии являлся уровень экспрессии белка р53 (ОШ = 4,883; 95 % ДИ 1,960–12,170). По результатам ROC-анализа выявлены пороговые значения уровня экспрессии изучаемых маркеров, согласно которым достижение БМО можно прогнозировать при уровне экспрессии на клетках костного белка р53 более 4 % (чувствительность 90,0 % и специфичность 95,0 %) и с-Мус более 6 % (чувствительность 84,0 % и специфичность 85,0 %) (Таблица 5).

Таблица 5 – Диагностическая ценность экспрессии регуляторных молекул в мазках костного мозга

Маркер	Площадь под ROC-кривой (95 % ДИ)	p	Точка «cut-off», %	Se, %	Sp, %
р53	0,947 ± 0,035 (0,898–0,997)	< 0,001	4	90,0	95,0
с-Мус	0,920 ± 0,041 (0,858–0,983)	< 0,001	6	84,0	85,0
каспаза-3	0,802 ± 0,039 (0,667–0,928)	< 0,001	22	68,0	70,0
р-гр	0,726 ± 0,028 (0,670–0,781)	< 0,001	20	84,3	54,9
Примечания: Se – чувствительность, Sp – специфичность.					

Обращает на себя внимание наличие корреляционных связей между концентрацией цитокинов в сыворотке крови и уровнем экспрессии в костном мозге белков-регуляторов клеточного цикла. Среди больных, не достигших БМО, наиболее значимыми являлись обратная корреляционная взаимосвязь между провоспалительным цитокином IL-1 β и белками-регуляторами клеточного цикла с-Мус ($r = -0,933$; $p < 0,001$) и р53 ($r = -0,652$; $p < 0,001$), а также прямая связь между уровнем р-гликопротеина и IL-1 β ($r = 0,425$; $p = 0,019$), IL-17 ($r = 0,425$; $p = 0,019$), что указывает на синергизм изучаемых биомаркеров в патогенезе ХМЛ и его опухолевой прогрессии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение взаимосвязи между цитокиновым статусом и уровнем экспрессии регуляторных белков, комплексный анализ их влияния на

клиническое течение ХМЛ и эффективность терапии ИТК позволяет расширить наши представления о природе опухолевой прогрессии при ХМЛ. Гиперпродукция различных цитокинов в дебюте ХМЛ способствует прогрессированию заболевания путем ремоделирования костномозгового микроокружения и усиления пролиферативного потенциала *BCR::ABL1*-положительных клеток-предшественников, что приводит к манифестации характерной клинической картины с гиперплазией гранулоцитарного ростка и миелоидной метаплазией органов, при этом цитокиновый дисбаланс сохраняется даже при многолетнем непрерывном приеме ИТК и достижении глубокого МО.

Определение концентрации отдельных цитокинов, коррелирующих с уровнем экспрессии в костном мозге белков-регуляторов клеточного цикла опухолевых клеток (p53 и c-Мус), а также белка множественной лекарственной устойчивости р-гликопротеина, способствует расширению представлений о механизмах развития резистентности к терапии ИТК. Так, одним из факторов, ассоциированных с недостижением БМО у больных ХМЛ, может являться гиперпродукция провоспалительных цитокинов IL-1 β и IL-17, которые, с одной стороны, подавляют экспрессию в костном мозге белков p53, c-Мус и, таким образом, уменьшают чувствительность опухолевых клеток к лекарственному воздействию вследствие блокады апоптоза и клеточного цикла, а с другой повышают экспрессию белка множественной лекарственной устойчивости р-гликопротеина, что нарушает внутриклеточный транспорт ИТК.

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 ХМЛ, 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 $> 10 \times 10^9/\text{л}$, лактатдегидрогеназы > 200 Ед/л и спленомегалией $> 40 \text{ см}^2$ по данным ультразвукового исследования.

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 легковоспроизводимого 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Оценка эффективности лечения хронического миелолейкоза ингибиторами тирозинкиназ / В. Н. Ядрихинская, И. И. Мулина, А. Н. Санникова [и др., в том числе **Т. Н. Александрова**] // **Якутский медицинский журнал.** – 2016. – Т. 56, № 4. – С. 28–31.

2. Многолетняя терапия хронического миелолейкоза ингибиторами тирозинкиназ: оценка токсичности препаратов и резистентность к первой линии терапии / В. Н. Ядрихинская, И. И. Мулина, **Т. Н. Александрова** [и др.] //

Якутский медицинский журнал. – 2017. – Т. 58, № 2. – С. 62–64.

3. Цитокиновый статус больных хроническим миелолейкозом / **Т. Н. Александрова**, А. С. Лямкина, Е. С. Михайлова [и др.] // **Journal of Siberian Medical Sciences.** – 2023. – Т. 7, № 1. – С. 77–88.

4. Сравнение заболеваемости и результатов лечения хронического миелолейкоза в Новосибирске и Новосибирской области / А. С. Лямкина, И. Н. Нечунаева, Е. В. Воронцова [и др., в том числе **Т. Н. Александрова**] // **Гематология и трансфузиология.** – 2023. – Т. 68, № 1. – С.35–49.

5. Роль цитокинов и регуляторных молекул клеточного цикла в прогнозировании достижения ответа на терапию у больных хроническим миелолейкозом / **Т. Н. Александрова**, И. И. Мулина, А. С. Лямкина [и др.] // **Journal of Siberian Medical Sciences.** – 2023. – Т. 7, № 2. – С. 77–89.

6. Результаты лечения больных хроническим миелолейкозом в Республике Саха (Якутия) / В. Н. Ядрихинская, И. И. Мулина, А. Н. Санникова, [и др., в том числе **Т. Н. Александрова**] // 3-й конгресс гематологов России : тезисы // **Гематология и трансфузиология.** – 2016. – Т. 61, № 1, приложение 1.– С. 200.

7. Многолетний опыт терапии хронического миелолейкоза в Республике Саха (Якутия) / **Т. Н. Александрова**, Л. Д. Терехова, И. Е. Соловьева [и др.] // 4-й конгресс гематологов и 3-й конгресс трансфузиологов России : тезисы // **Гематология и трансфузиология.** – 2022. – Т. 67, № 2. – С. 152.

8. **Александрова, Т. Н.** Цитокиновый статус больных хроническим миелолейкозом в различные фазы заболевания / **Т. Н. Александрова** // **Фундаментальные и прикладные исследования: актуальные вопросы современной науки, достижения и инновации : сборник материалов 12-й Международной научно-практической конференции.** – Уфа, 2023. – С. 298–305.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БК	– бластный криз
БМО	– большой молекулярный ответ
ДИ	– доверительный интервал
ИТК	– ингибиторы тирозинкиназ
ИТК2	– ингибиторы тирозинкиназ второго поколения
ИФА	– иммуноферментный анализ
ЛДГ	– лактатдегидрогеназа

ОШ	– отношение шансов
ПЦР-РВ	– полимеразная цепная реакция в реальном времени
УЗИ	– ультразвуковое исследование
ФА	– фаза акселерации
ХМЛ	– хронический миелолейкоз
ХФ	– хроническая фаза
AUC	– площадь под кривой
FISH	– флуоресцентная гибридизация in situ
IFN- α	– интерферон –альфа
IL-10	– интерлейкин-6
IL-17	– интерлейкин-17
IL-18	– интерлейкин-18
IL-1 β	– интерлейкин-1-бета
IL-2	– интерлейкин-2
IL-4	– интерлейкин-4
IL-6	– интерлейкин-6
TNF- α	– фактор некроза опухоли- α
VEGF-A	– фактор роста эндотелия сосудов-A