

КОМИТЕТ ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ МИНГОРИСПОЛКОМА
ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«МИНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ХИРУРГИИ,
ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ГЕМАТОЛОГИИ

УДК 616.419-097:575.21]-053.8

СМОЛЬНИКОВА
Виктория Владимировна

**ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТОК
КОСТНОГО МОЗГА ВЗРОСЛЫХ С МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИМИ
СИНДРОМАМИ: ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ И ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ
ЗНАЧИМОСТЬ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови

Минск 2021

Научная работа выполнена в Государственном учреждении «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии»

Научный руководитель: **Миланович Наталья Феодосьевна**
кандидат медицинских наук, заведующий отделением трансплантации костного мозга Государственного учреждения «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии»

Официальные оппоненты: **Слобожанина Екатерина Ивановна**
доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент Национальной академии наук Беларуси, главный научный сотрудник Государственного научного учреждения «Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси»

Саливончик Андрей Павлович
кандидат биологических наук, заведующий отделением иммунопатологии и аллергологии Государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека»

Оппонирующая организация: Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии»

Защита состоится « 16 » февраля 2022 года в 14.00 на заседании совета по защите диссертаций Д 03.03.01 при Государственном учреждении «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии» по адресу: 220045, г. Минск, ул. Семашко, 8; телефон (017) 277-20-18, e-mail: mnpc.htg@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Государственного учреждения «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии».

Автореферат разослан «__» _____ 2022 г.

Ученый секретарь Совета
по защите диссертаций Д 03.03.01
кандидат медицинских наук

И.А.Искров

ВВЕДЕНИЕ

Миелодиспластические синдромы (МДС) – гетерогенная группа клональных заболеваний опухолевой природы, в основе развития которых лежит поражение гемопоэтической стволовой клетки, сопровождающееся неэффективным гемопоэзом, диспластическими изменениями, затрагивающими клетки одной или нескольких линий миелопоэза, и повышенным риском развития острых миелоидных лейкозов [Sperling A.S., Gibson C.J., 2017].

Частота встречаемости МДС составляет 4 случая на 100 000 населения в год. Заболеваемость МДС резко возрастает с возрастом, достигая более 50 случаев на 100 000 населения в год в возрастной группе старше 80 лет. Медиана возраста при первичной диагностике составляет 70 лет и диагностируется только у 10% пациентов моложе 50 лет. У четверти пациентов МДС трансформируются в острые миелоидные лейкозы (ОМЛ). Медиана выживаемости с момента постановки диагноза составляет 30 месяцев [U. Germing, 2013].

МДС являются сложной проблемой гематологии, как в диагностике, так и в терапии. В настоящее время цитоморфологические и цитогенетические исследования являются основными методами при диагностике МДС, однако их результаты могут быть неоднозначными. Морфологическая диагностика может быть затруднена вследствие того, что аномалии клеток костного мозга не являются специфическими для МДС и могут встречаться при других патологических состояниях. Хромосомные аномалии выявляются у половины пациентов. [Mufti G.J., Bennett J.M., 2008]. Гетерогенность МДС проявляется не только в разнообразии клинических проявлений, но и в выживаемости и времени трансформации в ОМЛ [L. Malcovati, U. Germing, 2007].

Таким образом, у пациентов с цитопенией и нормальной или неоднозначной морфологией и нормальной цитогенетикой, необходимо исследовать дополнительные диагностические и прогностические показатели. Ключевую роль в этом случае может сыграть проточная цитометрия.

Иммунофенотипирование онкогематологических заболеваний представляет собой одно из наиболее востребованных клинических приложений проточной цитометрии. Многоцветная проточная цитофлуориметрия позволяет оценить различные типы клеток с высокой чувствительностью и достоверностью [Bain, V.J., 2019]. Аберрантная экспрессия иммунофенотипических маркеров может указывать на наличие определенных цитогенетических аномалий клеток и прогнозировать особенности течения заболевания, что предусматривает применение различных химиотерапевтических подходов [A.F.O. Costa, 2017, J.J.M. van Dongen, A. Orfao, 2012]. Высокая чувствительность и объективность метода проточной цитофлуориметрии позволит облегчить дифференциальную диагностику МДС и выявить факторы риска при подборе и проведении терапии.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами и темами: диссертационное исследование выполнялась в рамках задания ГНТП «Новые технологии диагностики и лечения» «Разработать и внедрить способ повышения эффективности химиотерапии острого миелобластного лейкоза взрослых путем применения дифференцированного терапевтического подхода на основе оценки прогноза, ответа на химиотерапию по динамике апоптоза лейкозных клеток и маркеров минимальной остаточной болезни, эскалации доз антрациклинов в индукции и интенсивной консолидации ремиссии» (номер государственной регистрации: 20122421 от 24.07.2012 г., срок выполнения 01.04.2011 г. - 31.12.2013 г.), в рамках задания БРФФИ: «Изучить интенсивность экспрессии про- и анти-апоптотических антигенов на клетках костного мозга и дать оценку эффективности терапии при хронических миелопролиферативных заболеваниях и первичных миелодиспластических синдромах» (номер государственной регистрации: 20120420 от 07.02.2012 г., срок выполнения 01.07.2011 г. - 31.03.2013 г.).

Цель исследования – повысить эффективность диагностики МДС у взрослых пациентов путем выявления иммунофенотипических особенностей клеток костного мозга и определения на их основе новых критериев диагностики и прогноза заболевания.

Задачи исследования:

1. Изучить иммунофенотипические особенности клеток-предшественников, полученных из костного мозга пациентов с ОМЛ, МДС и здоровых доноров КМ, провести их сравнительную оценку и выявить значимые иммунофенотипические aberrации, ассоциированные с МДС, (МДС-ассоциированный фенотип).

2. Выявить иммунофенотипические aberrации, ассоциированные с цитогенетическими аномалиями, имеющими прогностическое значение при МДС.

3. Выявить иммунофенотипические маркеры, определяющие риски трансформации МДС в ОМЛ.

4. Изучить особенности клеток различных линий кроветворения при МДС, выявить иммунофенотипические признаки дисплазии миелоидного и эритроидного ростков, разработать панель моноклональных антител, позволяющую выявлять МДС-ассоциированный фенотип, в том числе при низком содержании (менее 1%) бластных клеток в аспирате костного мозга и охарактеризовать диспластические изменения ростков кроветворения.

Объект исследования – клетки костного мозга взрослых пациентов с первичными миелодиспластическими синдромами.

Предмет исследования – иммунофенотип бластных клеток, иммунофенотипические предикторы прогноза трансформации в острых лейкозах.

Научная новизна:

1. Впервые выявлен фенотип, характерный для бластных клеток при первичных МДС (МДС-ассоциированный фенотип), что позволяет сократить время и улучшить качество диагностики МДС.

2. Впервые предложен диагностический подход, позволяющий провести дифференциальную диагностику между вариантом МДС с избытком бластов и острым лейкозом, а также выявить ОМЛ с изменениями, связанными с миелодисплазией, что является необходимым для определения стратегии лечения пациентов.

3. Впервые выявлены иммунофенотипические предикторы прогноза первичных МДС, связанные с цитогенетическими абберациями.

4. Впервые выявлены независимые иммунофенотипические предикторы прогноза первичных МДС.

5. Впервые разработана восьмицветная панель моноклональных антител, позволяющая определить МДС-ассоциированный фенотип и выявить клональные клетки с чувствительностью 10^{-4} , количественно оценить соотношение лимфоидных и миелоидных предшественников в аспирате костного мозга и степень дисплазии миелоидного и эритроидного ряда, а также определить прогностические факторы течения заболевания.

Положения диссертации, выносимые на защиту

1. Диагностически значимыми иммунофенотипическими абберациями, определяемыми на бластных клетках при МДС являются: экспрессия антигена ранней дифференцировки CD34, полное отсутствие или низкий уровень экспрессии антигена CD33, CD38, избыточная экспрессия антигена CD13, экспрессия маркеров другой линейной принадлежности CD5, CD22, CD56, экспрессия маркера асинхронного фенотипа CD10, экспрессия маркеров, практически не встречающихся в норме CD109, CD54.

2. Наличие экспрессии антигена CD56, снижение экспрессии антигена CD38, абберантная экспрессия CD25, CD5, CD19, отсутствие экспрессии CD34 взаимосвязаны с цитогенетическими абберациями и имеют прогностическое значение течения МДС. Маркеры CD10, CD15, CD11b не зависят от варианта МДС и цитогенетических аббераций, что позволяет рассматривать их как независимые прогностические маркеры высокого риска быстрой трансформации в ОМЛ у взрослых пациентов с МДС.

3. Разработанная по результатам исследования уникальная восьмицветная панель моноклональных антител позволяет выявить клональные клетки с чувствительностью 10^{-4} , количественно оценить соотношение лимфоидных и миелоидных предшественников, выраженность дисплазии миелоидного и эритроидного ряда в аспирате костного мозга, а также определить прогностические факторы течения заболевания.

Личный вклад соискателя. Совместно с научным руководителем обсуждены клинические данные пациентов с МДС и проведена стратификация по группам риска, сформулированы положения, выносимые на защиту.

Формулировка целей и задач исследования, формирование групп пациентов, разработка панели моноклональных антител для выявления иммунофенотипических aberrаций, определяющих диагностические и прогностические маркеры при МДС выполнены автором самостоятельно.

Автором лично разработан дизайн исследования, проведен сбор первичных материалов, сформированы базы данных, выполнена статистическая обработка и анализ результатов исследования, сформулированы выводы.

Автором самостоятельно проведено иммунофенотипическое исследование образцов костного мозга пациентов с МДС, ОМЛ, доноров костного мозга.

Общеклиническое обследование пациентов осуществлено в клинко-диагностической лаборатории службы трансплантации костного мозга ГУ «Минский НПЦ хирургии, трансплантологии и гематологии».

Личный вклад соискателя в подготовку докладов составляет 100%, публикаций в соавторстве (статей и тезисов) – до 80%, методических рекомендаций – до 70%.

Апробация результатов диссертации. Результаты исследований, включенные в диссертацию, докладывались на: «VIII Съезде гематологов и трансфузиологов Республики Беларусь» (г. Минск, Беларусь, 26-27 октября 2017 г.); V Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы первичных иммунодефицитов» (г. Минск, Беларусь, 19-20 апреля 2018 г.); школе-семинаре «Диагностика иммунопатологических состояний» (г. Минск, Беларусь, 18-19 апреля 2019 г.); The 24th European Hematology Association Congress, (Amsterdam, The Netherlands, June 13-16, 2019); The 15th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes (Copenhagen, Denmark, The may 8-11, 2019); «VII Белорусской школе-семинаре «Проточная цитометрия в современной практике. Диагностика онкогематологических, иммунологических патологий и другие научно-практические приложения», (г. Минск, Беларусь, 21-22 октября 2019 г.).

Опубликованность результатов. По теме диссертации опубликовано единолично и в соавторстве 10 научных работ: 6 статей в научных рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК для публикации результатов диссертационных исследований; 4 тезиса в материалах международных конференций и тезисах докладов общим объемом 3,2 авторских листа, 1 инструкция по применению.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 114 страницах машинописного текста, содержит 48 иллюстраций и 17 таблиц. Список использованных литературных источников включает 113 ссылок (в том числе 3 – на русском и 110 – на английском языках).

Диссертация включает введение, общую характеристику работы, обзор литературы, описание материалов и методов, три главы собственных данных, заключение (основные научные результаты и рекомендации по практическому использованию результатов), список использованных источников, список публикаций по теме диссертационной работы и приложение.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ

Материалы и методы исследования

Работа выполнена в открытом проспективном исследовании результатов клинико-лабораторных данных взрослых пациентов с первичными МДС, отобранных методом сплошной выборки после установления диагноза.

Пациенты и группы контроля, включенные в исследование. В исследование включены 116 взрослых пациентов, поступивших на обследование и лечение в гематологические отделения ГУ «Минский НПЦ хирургии, трансплантологии и гематологии» с февраля 2012 г. по декабрь 2017 г. с диагнозом первичный МДС до начала специфической терапии. Средний возраст пациентов составил 58,9 лет, медиана возраста 59,1 (29;79), среди них 62 – мужчины (53%) (медиана возраста 58,7 (29,2;78,4)) и 54 – женщины (47%) (медиана возраста 59,1 (38;79)). В группу включены пациенты с характерными для МДС цитогенетическими абберациями или пациенты с вариантами МДС-ИБ-1 и МДС-ИБ-2, без цитогенетических аномалий, характерных для ОМЛ.

В качестве контроля были сформированы две группы:

1-я группа – пациенты с ОМЛ M0-M2 (по FAB классификации) без цитогенетических аномалий, характерных для МДС (n=82). Средний возраст пациентов составил 52,3 года, медиана возраста 55,0 (21,8;85,2), среди них 34 – мужчины (42%) (медиана возраста 53,1 (21,9;82,7)) и 48 – женщины (58%) (медиана возраста 55,7 (21,8;85,2)).

2-я группа (здоровые) – доноры костного мозга для проведения аллогенной трансплантации (n=29) Средний возраст пациентов составил 34,6 лет, медиана возраста 32,3 (17;59,5), среди них 16 – мужчины (55%) (медиана возраста 30,7 (17;59,5)) и 13 – женщины (45%) (медиана возраста 38,1 (21,8;58,7)).

Вариант заболевания установлен в соответствии с критериями ВОЗ классификации миелоидных неоплазий 2016 г.

Иммунофенотипическое исследование проводили методом восьмицветной проточной цитофлуориметрии на аппарате FACS Canto II («Becton Dickinson», США), оснащенного тремя лазерами 488 нм, 633 нм и 405 нм. Сбор и анализ данных проводили в рабочей программе FACS Diva (v.6.1.3) и Kaluza (v 1.3).

Для определения иммунофенотипа использовали моноклональные антитела: CD45 (Per CP, Ex Bio), CD34 (APC, Beckman Coulter), CD117 (Pacific Blue, Ex Bio), CD14 (Krome Orange, Beckman Coulter), CD13 (PE, Beckman Coulter), CD33 (PE, Beckman Coulter), CD15 (FITC, Beckman Coulter), CD11b (APC Alexa Fluor-750, Beckman Coulter), CD64 (APC Alexa Fluor-750, Beckman Coulter), CD3 APC Alexa Fluor-750, Beckman Coulter), CD5 (PC7, Beckman Coulter), CD7 (FITC, Beckman Coulter), CD2 (APC Cy-7, Ex Bio), CD19 (FITC, Beckman Coulter), CD22 (PC7, Beckman Coulter), CD10 (APC Cy-7, Ex Bio), HLA-DR (PC7, Beckman Coulter), CD56 PE Cy-7, Ex Bio), CD71 (FITC, Beckman Coulter), CD38 (APC Alexa Fluor-750, Beckman Coulter), CD109 (PE, Beckman Coulter), CD25 (PC7, Beckman Coulter), CD54 (PE, Beckman Coulter), CD105 (PE, Beckman Coulter), CD235a (APC Cy-7, Ex Bio).

Экспрессию иммунофенотипических маркеров расценивали как положительную при уровне $\geq 20\%$ для антигенов миелоидного ряда, и $\geq 10\%$ для маркеров не миелоидной линии.

Исследование кариотипа проводили с применением стандартного GTG-метода. В случае отсутствия клеток, находящихся в стадии клеточного цикла, пригодной для цитогенетического анализа, использовали метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH).

Морфологическое исследование проводили в соответствии с текущими рекомендациями ВОЗ (2016).

Статистическая обработка данных исследования выполнена с помощью пакета прикладных программ для медико-биологических исследований STATISTICA (Version 7.0, StatSoft Inc.) и Microsoft Office: mac2011.

Статистические параметры нормально распределенных переменных описаны средним значением (M) и стандартным отклонением (SD) или стандартной ошибкой (SE). Параметры распределения количественных переменных, которое было отличным от нормального, представлены средним значением с 95% доверительным интервалом (ДИ).

Для выделения схожих групп по экспрессии иммунофенотипических маркеров в выборке данных применялся кластерный анализ. Для исследования использовался метод К-средних.

Для анализа сравнения использовали непараметрические методы: для сравнения двух независимых групп по одной количественной переменной использовали U-тест Mann – Whitney, при сравнении 3 и более переменных – тест Kruskal – Wallis (непараметрический ANOVA).

Для оценки влияния экспрессии иммунофенотипических маркеров и цитогенетических aberrаций на время до трансформации в острый лейкоз использовали кривые, построенные с помощью метода Каплана-Мейера. Значимость различий между кривыми оценивали критерием Кокса-Мантеля.

Корреляционные зависимости оценивали по тесту Спирмана с оценкой коэффициента ранговой корреляции (R).

Для расчета мощности выборки для каждой из групп использовали однофакторный дисперсионный анализ для определения случайных эффектов.

Результаты считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования установлено, что бластные клетки костного мозга у пациентов с МДС имеют иммунофенотипический профиль aberrаций, отличающийся от бластных клеток при ОМЛ и от бластных клеток в здоровом костном мозге.

На бластных клетках при МДС наблюдалось статистически значимое ($p=0,0000001$) повышение уровня экспрессии CD34 по сравнению с ОМЛ. Уровень экспрессии CD117 на бластных клетках статистически значимо ниже в донорской группе ($p=0,0009$, $p=0,0018$) по сравнению с группами МДС и ОМЛ, но при этом данная молекула экспрессируется на уровне выше 80% (таблица 1).

Таблица 1. - Экспрессия CD34 и CD117 на бластных клетках костного мозга в донорской группе, при первичных МДС и ОМЛ

Маркеры	Экспрессия маркеров клеток-предшественников на бластных клетках (%) $M \pm SD$		
	Донорская группа n=29	МДС n=116	ОМЛ (M ₀ -M ₂) n=82
CD34	100	99,3±12,94	57,57±41,40*
CD117	83,9±3,56*	88,12±16,71	86,34±15,61

* - статистически значимые различия между группами ($p < 0,05$)

Характерными aberrациями экспрессии миелоидных маркеров на бластных клетках при МДС являются высокая экспрессия CD13 и снижение или полная потеря антигена CD33.

Уровень экспрессии CD13 на бластных клетках при МДС статистически значимо выше чем в донорской контрольной группе ($p=0,0015$).

Экспрессия CD33 миелоидными предшественниками в донорской группе представлена гистограммой нормального распределения (рисунок 1А). При ОМЛ на бластных клетках наблюдалась высокая экспрессия CD33 (рисунок 1В). При первичных МДС встречались два варианта aberrаций: высокая экспрессия CD33, что совпадает с бластными клетками при ОМЛ, но отличает их от донорской группы, и снижение или полная потеря антигена CD33 которая характерна для бластных клеток при МДС ($p=0,0056$) и отличает их от донорской группы и группы ОМЛ (рисунок 1С).

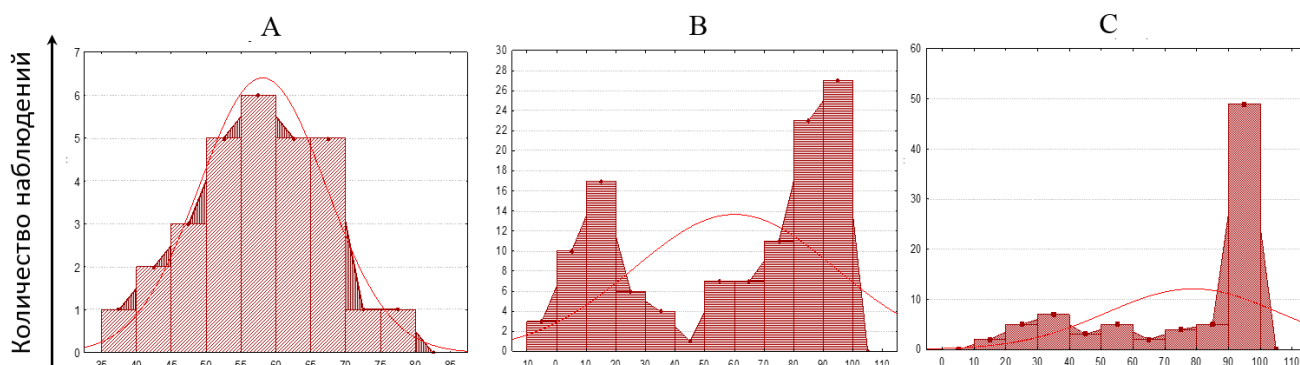


Рисунок 1. – Экспрессия CD33 бластными клетками костного мозга в донорской группе (А) при первичных МДС (В) и при ОМЛ (С)

Иммунофенотипические aberrации, связанные с нарушением экспрессии миелоидных маркеров выявлены в нашем исследовании у 92 (79%) пациентов с МДС.

При наличии патологического клона при ОМЛ и МДС на CD34⁺ клетках может присутствовать экспрессия маркеров созревания.

При анализе экспрессии CD10 на бластных клетках костного мозга в исследуемых группах мы выявили, что данная aberrация с высокой достоверностью ($p=0,0001$) встречается только на ранних миелоидных предшественниках костного мозга пациентов с МДС и не встречается в норме и при ОМЛ.

Экспрессия CD10 ранними миелоидными предшественниками является характерной особенностью бластных клеток пациентов с МДС и встречается в 19% случаев.

Для выявления особенностей aberrантного фенотипа, связанного с полным отсутствием или низким уровнем экспрессии антигенов, характерных для данной стадии дифференцировки (CD38, HLA-DR), мы провели сравнительный анализ уровня их экспрессии в каждой из исследуемых групп (рисунок 2).

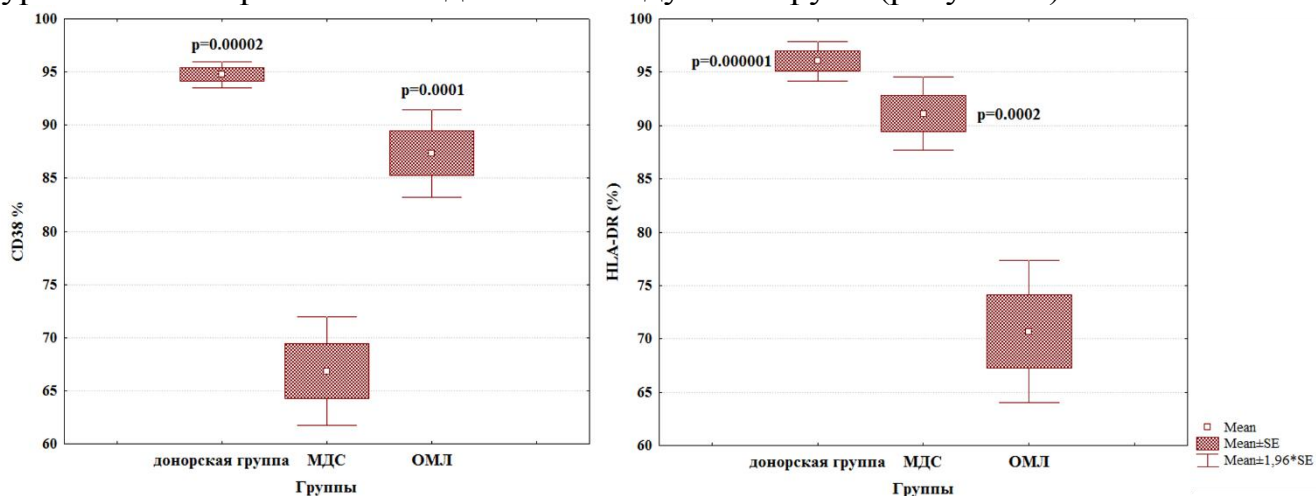


Рисунок 2. – Экспрессия CD38 (А) и HLA-DR (В) бластными клетками при первичных МДС, ОМЛ и в донорской группе

На рисунке 2 А показано, что при МДС наблюдается статистически значимое ($p=0,00001$) снижение экспрессии молекулы CD38.

Потеря экспрессии бластными клетками антигена HLA-DR является характерной aberrацией фенотипа при ОМЛ (рисунок 2 В), и при МДС выявлен нами в 5% случаев.

Аберрантный фенотип, связанный с полным отсутствием или низким уровнем экспрессии нелинейных антигенов, характерных для данной стадии дифференцировки встречается у 45 (39%) пациентов с МДС.

На бластных клетках костного мозга пациентов с МДС и ОМЛ присутствуют фенотипические aberrации, связанные с выявлением маркеров другой линейной принадлежности (таблица 2).

Таблица 2. – Частота встречаемости лимфоидных маркеров на ранних миелоидных предшественниках костного мозга при первичных МДС и ОМЛ

Маркеры	количество случаев aberrантной экспрессии лимфоидных маркеров на ранних миелоидных предшественниках костного мозга		
	МДС (n=116)	ОМЛ (M ₀ -M ₂) (n=82)	p=
CD19	2 (2%)	12*(15%)	
CD22	14*(12%)	2 (3%)	
CD5	28*(24%)	0	
CD7	40 (34%)	24 (29%)	
CD2	8 (7%)	2 (3%)	
CD56	24*(21%)	9 (11%)	

* - статистически значимые различия между группами ($p < 0.05$)

Аберрантная экспрессия В-клеточного маркера CD22 встречается в 12% случаев МДС, что статистически значимо чаще ($p=0,029$) чем при ОМЛ и ассоциирована с диагнозом МДС.

Иммунофенотипическая aberrация, связанная с экспрессией CD5 ранними миелоидными предшественниками, не определялась при ОМЛ, но в 28% случаев бластные клетки при МДС экспрессировали данный антиген ($p=0,0000001$).

Экспрессия бластными клетками маркера естественных киллеров CD56 определялась значимо чаще ($p=0,05$) при МДС.

Аберрантный фенотип, связанный с выявлением на ранних миелоидных предшественниках маркеров другой линейной принадлежности определялся в 86% случаев первичных МДС.

При сравнительном анализе aberrантной экспрессии рецепторов CD109 и CD54, практически не встречающихся в норме, на бластных клетках, частота встречаемости статистически значимо выше ($p=0,00001$) при МДС (таблица 3).

Таблица 3. – Частота встречаемости aberrации ранних миелоидных предшественников, практически не встречающийся в норме при первичных МДС и ОМЛ

Маркеры	количество случаев aberrантной экспрессии на ранних миелоидных предшественников маркеров, практически не встречающийся в норме				
	N	МДС	N	ОМЛ (M ₀ -M ₂)	p=
CD109	116	62*(53%)	82	18 (22%)	0,00001
CD54	84	67*(58%)	32	8 (10%)	0,00001
CD25	116	23 (20%)	82	9 (11%)	0,09

* - статистически значимые различия между группами ($p < 0.05$)

Aberrации иммунофенотипа, связанные с экспрессией молекул CD54 и CD109 встречались при МДС с частотой 53% и 58% соответственно.

Также нами определены иммунофенотипические aberrации бластных клеток, связанные с дисплазией эритроидного и мегакариоцитарного ростков кроветворения.

Анализ экспрессии маркеров выявил значимое снижение маркеров CD71 ($p=0,019$) и CD105 ($p=0,00005$) на бластных клетках костного мозга при наличии дисплазии в эритроидном ростке кроветворения.

При наличии дисплазии в мегакариоцитарном ростке кроветворения на бластных клетках отмечалось значимое увеличение уровня экспрессии антигена CD9 ($p=0,023$) на фоне снижения экспрессии CD117 ($p=0,029$).

Общий aberrантный фенотип, характерный для бластных клеток при первичных МДС (МДС-ассоциированный фенотип) можно представить, как: CD34⁺ CD117⁺ CD33⁻ CD13⁺ CD10⁺ HLA-DR⁺ CD38⁻ CD22⁺ CD5⁺ CD56⁺ CD109⁺ CD54⁺.

Aberrантный иммунофенотип на бластных клетках определялся в 100% случаев при диагностике первичных МДС и был представлен комбинацией всех или нескольких выявленных аномалий.

С целью выявления прогностически значимых иммунофенотипических маркеров мы исследовали взаимосвязь иммунофенотипических aberrаций с цитогенетическими аномалиями и со временем трансформации МДС в ОМЛ.

В ходе исследования был проведен сравнительный анализ влияния наличия цитогенетических нарушений на появление aberrантной экспрессии иммунофенотипических маркеров на бластных клетках костного мозга.

Полученные данные продемонстрировали, что $-7/\text{del}(7q-)$ ассоциировано ($p=0,044$) с наличием aberrантной экспрессии NK-клеточного антигена CD56. Также, экспрессия CD56 на ранних миелоидных клетках-предшественниках коррелирует ($p=0,005$) с наличием бластных клеток в периферической крови, что позволяет отнести экспрессию данного маркера к неблагоприятному прогностическому фактору (рисунок 3).

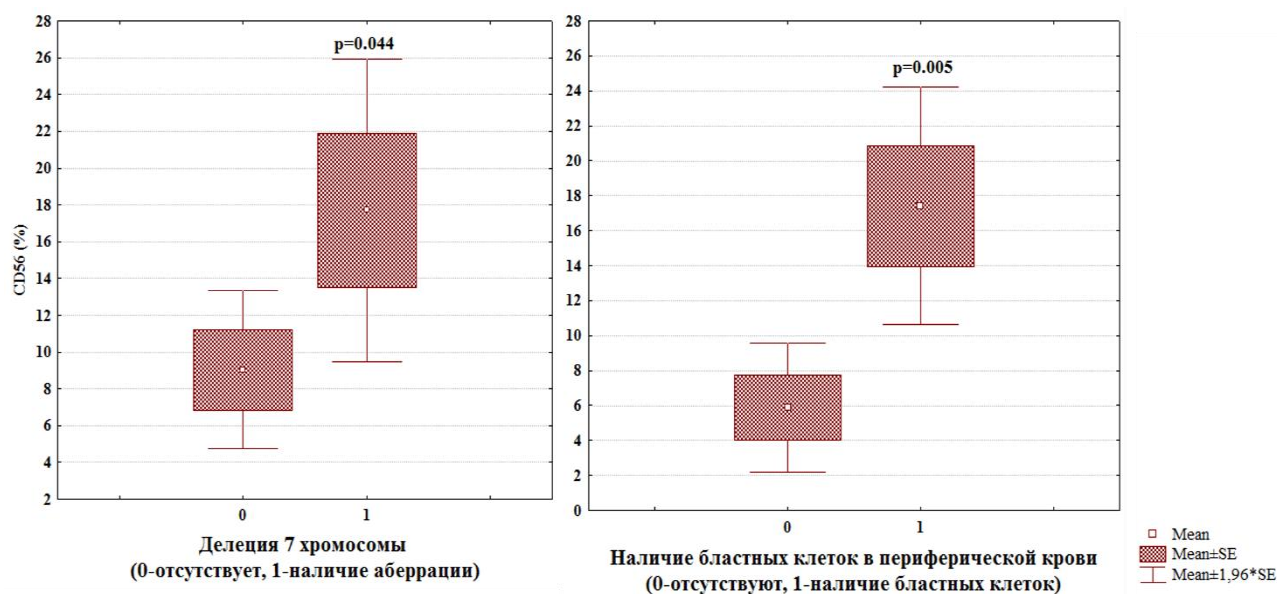


Рисунок 3. – Экспрессия антигена CD56 в зависимости от наличия $-7/\text{del}(7q-)$ и наличия бластных клеток в периферической крови у пациентов с МДС

В ходе исследования нами выявлено, что наличие $-5/\text{del}(5q-)$ обуславливает снижение экспрессии антигена CD38 на бластных клетках ($p=0,000015$). Экспрессия CD38 также снижена при наличии сбалансированных транслокаций с вовлечением 5 хромосомы, что определяет данную aberrацию как благоприятную.

Нами был проведен сравнительный анализ моносомного кариотипа с наличием иммунофенотипических aberrаций и временем трансформации в ОМЛ.

Анализ полученных данных показал, что уровень экспрессии поверхностных антигенов на ранних миелоидных клетках-предшественниках костного мозга коррелирует с моносомией аутосом.

Так, моносомия 8 хромосомы взаимосвязана с aberrантной экспрессией рецептора IL-2 CD25 ($R = 0,24$, $p=0,009$), при моносомии 9 хромосомы определяется aberrантная экспрессия T-клеточного маркера CD5 ($R = 0,26$, $p=0,004$). Моносомия 20 хромосомы обуславливает aberrантную экспрессию В-лимфоидного маркера CD19 ($R = 0,31$, $p=0,0006$) и снижение или отсутствие экспрессии CD34 ($R = -0,27$, $p=0,003$).

В нашем исследовании показано, что у пациентов с моносомным кариотипом (n=75) медиана времени до трансформации в ОМЛ составила 16 месяцев, что значительно ниже ($p=0,03$) чем в группе пациентов, кариотип которых не попадал под определение «моносомный», где медиана времени до трансформации была 48 месяцев (рисунок 4).

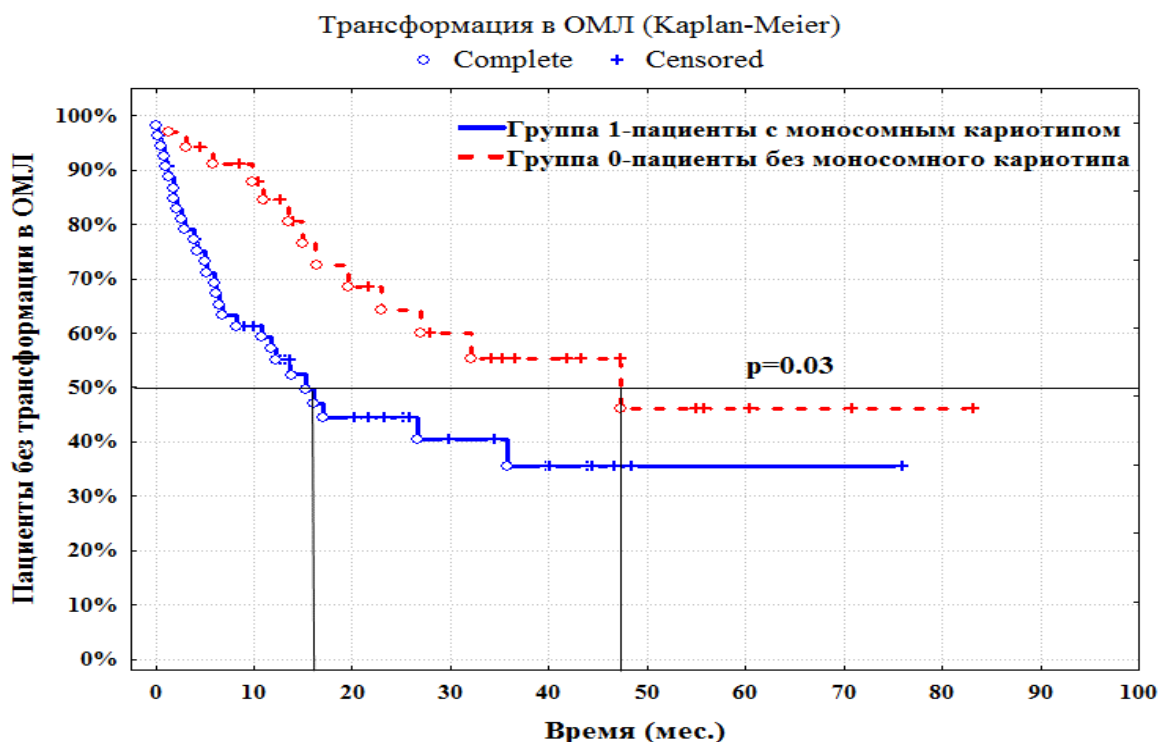


Рисунок 4. – Время до трансформации в ОМЛ у взрослых пациентов с МДС в зависимости от наличия моносомного кариотипа

Анализ полученных данных показал, что уровень экспрессии поверхностных антигенов на ранних миелоидных клетках-предшественниках костного мозга коррелирует с моносомией аутосом.

Так, моносомия 8 хромосомы взаимосвязана с aberrантной экспрессией рецептора IL-2 CD25 ($R = 0,24$, $p=0,009$), при моносомии 9 хромосомы определяется aberrантная экспрессия Т-клеточного маркера CD5 ($R = 0,26$, $p=0,004$). Моносомия 20 хромосомы обуславливает aberrантную экспрессию В-лимфоидного маркера CD19 ($R = 0,31$, $p=0,0006$) и снижение или отсутствие экспрессии CD34 ($R = -0,27$, $p=0,003$).

Также в нашем исследовании были выявлены независимые иммунофенотипические факторы прогноза бластной трансформации при МДС.

Нами было установлено, что наличие aberrантной экспрессии CD10 на ранних миелоидных клетках-предшественниках при МДС значительно ($p=0,0023$) повышает риск трансформации в ОМЛ и сокращение время трансформации в ОМЛ (рисунок 5).

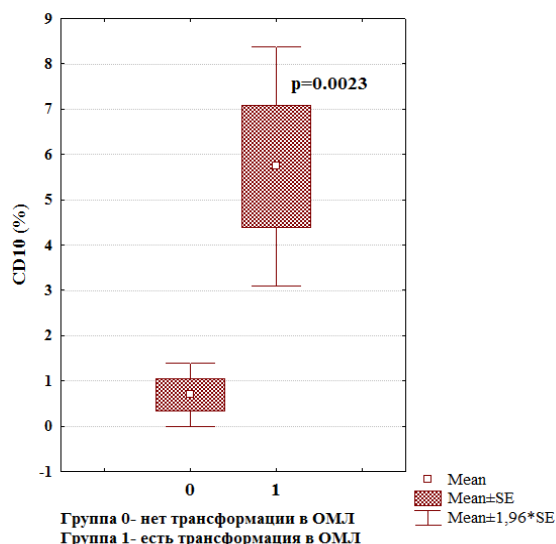
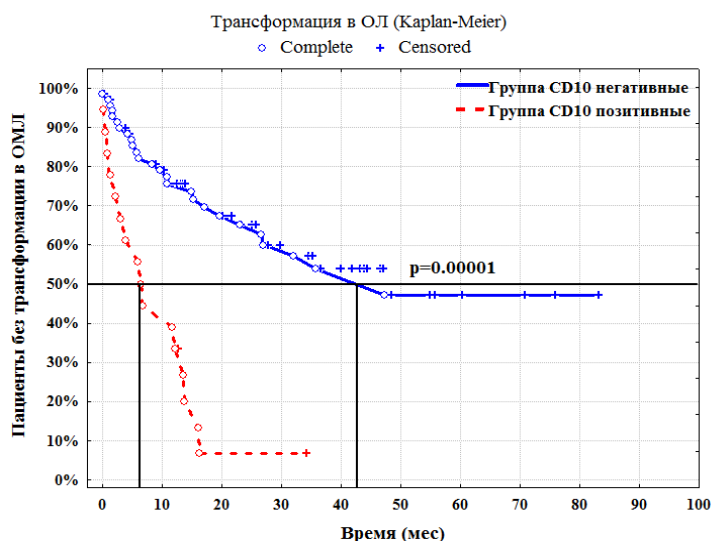


Рисунок 5. – Время до трансформации и риск трансформации в ОМЛ у взрослых пациентов с МДС в зависимости от наличия экспрессии CD 10 на миелоидных бластных клетках

В группе пациентов, у которых выявлено наличие экспрессии CD10 медиана времени до трансформации в ОМЛ составляет 6 месяцев, что значимо ($p=0,00001$) ниже, чем в группе пациентов, у которых данная aberrация отсутствовала, где значение медианы времени до трансформации в ОМЛ составило 48 месяцев.

Таким образом, наличие aberrантной экспрессии CD10 на ранних миелоидных клетках-предшественниках является независимым прогностическим маркером высокого риска быстрой трансформации в ОМЛ у взрослых пациентов с МДС.

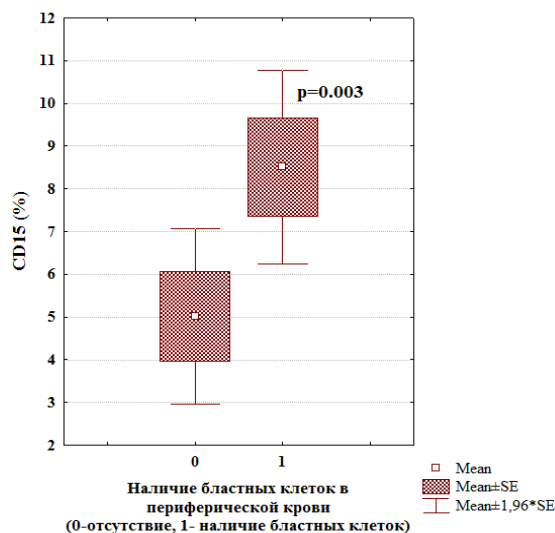
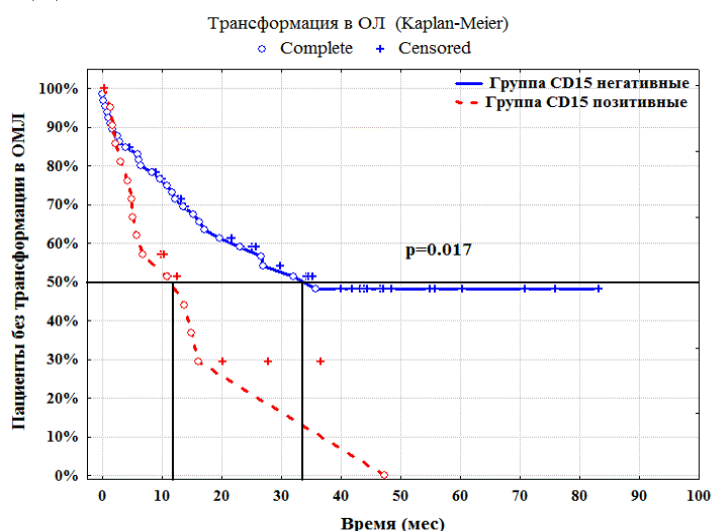


Рисунок 6. – Время до трансформации в ОМЛ и наличие бластных клеток в периферической крови у взрослых пациентов с МДС в зависимости от экспрессии CD15 на миелоидных бластных клетках

При сравнительном анализе экспрессии CD15 на ранних миелоидных клетках-предшественниках с цитоморфологическими показателями периферической крови было выявлено, что наличие бластных клеток в периферической крови ассоциировано со значимым повышением ($p=0,003$) экспрессии CD15, а также влияет на быструю прогрессию заболевания и сокращение срока трансформации в ОМЛ (рисунок 6).

В группе пациентов с МДС, характеризующейся экспрессией CD15 на бластных клетках медиана времени до трансформации в ОМЛ значимо ниже ($p=0,017$) и составляет 13 месяцев в сравнении с группой, где экспрессия CD15 на бластных клетках не определялась, и значение медианы времени до трансформации в ОМЛ составляет 36 месяцев.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что наличие aberrантной экспрессии CD11b на субпопуляции миелоидных клеток-предшественников обуславливает быструю прогрессию МДС и сокращает сроки трансформации в ОМЛ (рисунок 7).

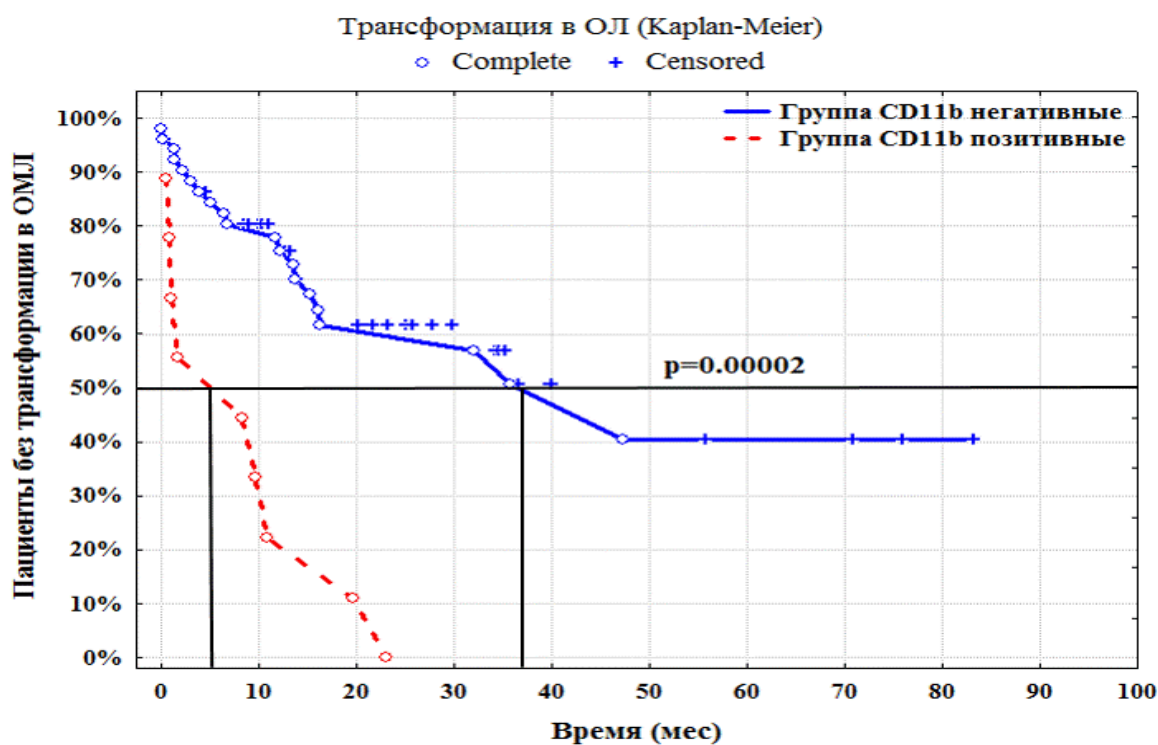


Рисунок 7. – Время до трансформации в ОМЛ у взрослых пациентов с МДС в зависимости от экспрессии CD11b на миелоидных бластных клетках

Медиана времени до трансформации в ОМЛ у пациентов с наличием экспрессии CD11b на бластных клетках составляет 9 месяцев по сравнению с 36 месяцами в группе с отсутствием экспрессии CD11b ($p=0,00008$)

Маркеры CD10, CD15, CD11b не зависят от варианта МДС и цитогенетических aberrаций, что позволяет рассматривать их как независимые

прогностические маркеры высокого риска бластной трансформации в ОМЛ у взрослых пациентов с МДС.

На основании особенностей иммунофенотипического профиля бластных клеток при МДС, наличии прогностических иммунофенотипических aberrаций и нарушений, связанных с дифференцировкой клеток костного мозга была разработана панель моноклональных антител (таблица 4).

Таблица 4. – Панель моноклональных антител для диагностики первичных МДС

Метки / Пробы	FITC	PE	PerCP	PE Cy-7	APC	APC Cy-7	Pacific Blue	Krome Orange
1	CD19	CD33	CD45	HLA-DR	CD34	CD10	CD117	CD14
2	CD7	CD54	CD45	CD56	CD34	CD38	CD117	CD14
3	CD3	CD5	CD45	CD22	CD34	CD2	CD117	CD14
4	CD9	CD109	CD45	CD25	CD34	CD64	CD117	CD14
5	CD15	CD13	CD45	CD16	CD34	CD11b	CD117	CD14
6	CD71	CD105	CD45	CD235a	CD34	CD36	CD117	CD14

В исследуемой группе пациентов с МДС по сравнению с контрольной (донорской) группой пул CD34⁺ клеток имеет статистически значимый (p=0,0001) более низкий процент В-клеток-предшественников или их полное отсутствие (таблица 5).

Таблица 5. – Относительное содержание В-лимфоидных и миелоидных клеток предшественников в пуле CD34⁺ клеток в костном мозге доноров и пациентов с МДС (M ± SD_M)

Клетки-предшественники			
Миелоидные (%)		В-лимфоидные (%)	
МДС (n=116)	Доноры (n=29)	МДС (n=116)	Доноры (n=29)
98,81*±1,21	78,62±5,47	1,19*±1,00	21,38±4,48

* - статистически значимые различия между группами (p<0.05)

Разработанная комбинация МКА позволяет выявить дисплазию миелоидного и эритроидного ряда. В исследуемой группе пациентов с МДС одной из наиболее часто регистрируемых проточной цитометрией aberrаций среди созревающих нейтрофилов явилось аномальное снижение бокового светорассеяния (SSC), отражающее гранулярность клеток.

По соотношению SSC нейтрофилов с SSC лимфоцитов определяли индекс гранулярности нейтрофилов (ИГН) (рисунок 8).

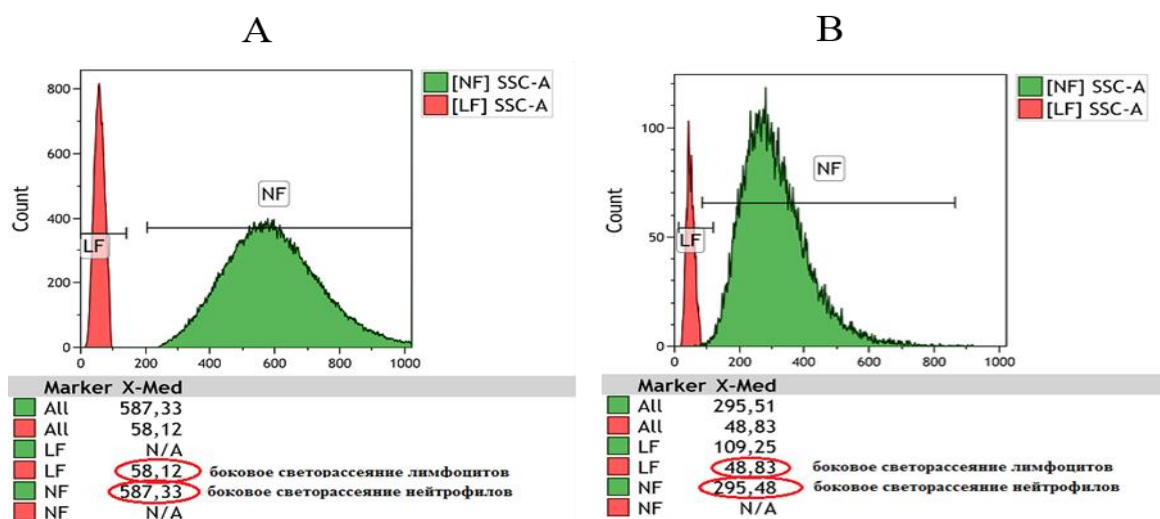


Рисунок 8. – Определение соотношения SSC нейтрофилов по сравнению с SSC лимфоцитов: (А) донорский костный мозг, (В) костный мозг пациента с МДС

У пациентов с МДС ИГН статистически значимо ($p=0,002$) ниже, чем в донорской группе (таблица 6).

Таблица 6. – Средний индекс гранулярности нейтрофилов у пациентов с МДС по сравнению с донорской группой

	МДС (n=116)	Доноры (n=29)
SSC нф /SSCлф	6,75*±1,27	10,65±0,49

* - статистически значимые различия между группами ($p<0.05$)

Значение ИГН ≤ 9 относится к аномалии нейтрофилов.

При сравнительном анализе эритроидных предшественников в костном мозге пациентов с МДС и донорским костным мозгом наиболее часто встречаемые аномалии наблюдались в экспрессии CD71 и CD36. Гетерогенность распределения клеток по экспрессии данных маркеров оценивали качественно и количественно при помощи коэффициента вариации (CV). В эритроидной популяции клеток CV CD36 и CD71 статистически значимо выше ($p=0,04$) в группе пациентов с МДС, чем в донорской группе (таблица 7).

Таблица 7. – Экспрессия рецептора трансферрина (CD71) и тромбоспондина (CD36) в эритроидной популяции костного мозга доноров и пациентов с МДС

	МДС (n=106)		Доноры (n=29)	
	M±SD	95% ДИ	M±SD	95% ДИ
CD36 (CV)	73,91*±21,42	61,62-86,29	44,6±5,11	41,23-47,91
CD71 (CV)	60,15*±19,86	48,71-71,64	39,29±5,17	32,32-46,81

* - статистически значимые различия между группами ($p<0.05$)

При оценке нарушения дифференцировки клеток эритроидного ряда мы оценили процент незрелых эритроидных предшественников в эритроидной популяции (таблица 8).

Таблица 8. – Относительное содержание маркеров эритроидных клеток-предшественников CD117 и CD105 в эритроидной популяции костного мозга доноров и пациентов с МДС

	МДС (n=86)		Доноры (n=29)	
	M±SD	95% ДИ	M±SD	95% ДИ
CD105 (%)	38,72*±11,71	31,92-45,53	23,11±5,11	14,41-31,79
CD117 (%)	23,52*±9,81	18,94-29,24	6,65±4,77	3,42-9,79

* - статистически значимые различия между группами (p<0.05)

Разработанная нами панель моноклональных антител, позволяет выявить и достоверно проанализировать иммунофенотип бластных клеток при их низком (<1%) содержании в исследуемом образце. Подобранные МКА позволяют с высокой чувствительностью (10^{-4}) выявить процент бластных клеток, а также доказать их клональную природу (рисунок 9).

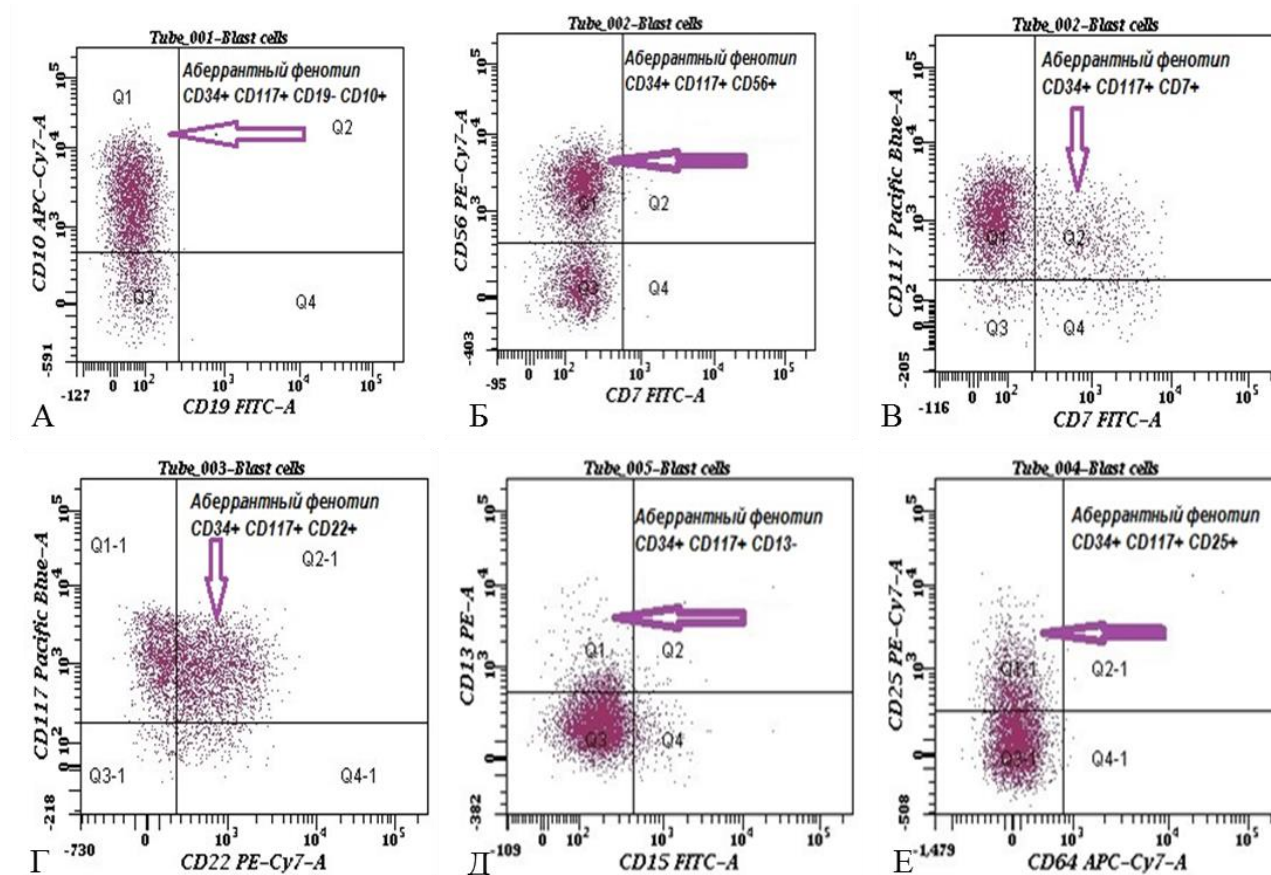


Рисунок 9. – Примеры выявления МДС-ассоциированного фенотипа на бластных клетках

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Установлено, что диагностически значимыми иммунофенотипическими аберрациями, определяемыми на бластных клетках при МДС являются: экспрессия антигена ранней дифференцировки CD34 ($p=0,0000001$), отсутствие или низкий уровень экспрессии антигенов CD33 ($p=0,0056$) и CD38 ($p=0,00001$), высокая экспрессия антигенов CD13 ($p=0,0015$) и CD117 ($p=0,0009$), экспрессия маркеров другой линейной принадлежности CD5 ($p=0,0000$), CD22 ($p=0,029$), CD56 ($p=0,048$), экспрессия маркера асинхронного фенотипа CD10 ($p=0,0001$), экспрессия маркеров, практически не встречающихся в норме CD109 ($p=0,00001$), CD54 ($p=0,00001$) [1, 3, 7, 10].

Анализ экспрессии иммунофенотипических маркеров при МДС выявил значимое снижение антигенов CD71 ($p=0,019$) и CD105 ($p=0,00005$) на бластных клетках костного мозга при наличии дисплазии в эритроидном ростке кроветворения. При наличии дисплазии в мегакариоцитарном ростке кроветворения на бластных клетках отмечалось значимое увеличение уровня экспрессии антигена CD9 ($p=0,023$) на фоне снижения экспрессии CD117 ($p=0,029$) [4].

2. Экспрессия CD56 на ранних миелоидных клетках-предшественниках при МДС коррелирует ($p=0,005$) с наличием бластных клеток в периферической крови и аномалиями 7 хромосомы ($-7/\text{del}(7q-)$) ($p=0,005$). Снижение экспрессии антигена CD38 на бластных клетках ассоциировано с аномалиями 5 хромосомы ($-5/\text{del}(5q-)$) и наличием сбалансированных транслокаций с вовлечением 5 хромосомы ($p=0,000015$). У пациентов с моносомным кариотипом медиана времени до трансформации в ОМЛ значимо ниже ($p=0,03$). Уровень экспрессии поверхностных антигенов на бластных клетках костного мозга коррелирует с моносомией аутосом. Моносомия 8 хромосомы связана с aberrантной экспрессией рецептора IL-2 CD25 ($R = 0,24$, $p=0,009$), моносомия 9 хромосомы – с aberrантной экспрессией CD5 ($R = 0,26$, $p=0,004$). Моносомия 20 хромосомы – с aberrантной экспрессией CD19 ($R = 0,31$, $p=0,0006$) и снижением или отсутствием экспрессии CD34 ($R = -0,27$, $p=0,003$) [2, 5, 8, 9].

3. Независимыми прогностическими маркерами высокого риска трансформации в ОМЛ у взрослых пациентов с МДС являются наличие aberrантных маркеров асинхронной экспрессии CD10, CD15, CD11b на миелоидных клетках-предшественниках, что влияет на скорость прогрессии МДС и значимо ($p=0,00001$, $p=0,017$, $p=0,00008$) сокращает сроки до трансформации в ОМЛ [2, 6, 8, 10].

4. У пациентов с МДС по сравнению с контрольной (донорской) группой пул CD34⁺ клеток имеет статистически значимый ($p=0,0001$) более низкий процент В-клеток-предшественников или их полное отсутствие. У пациентов с МДС индекс

гранулярности нейтрофилов статистически значимо ($p=0,002$) ниже, чем в донорской группе. Коэффициент вариации CD36 и CD71 в эритроидной популяции клеток статистически значимо выше ($p=0,04$) в группе пациентов с МДС, чем в донорской группе. Относительное содержание маркеров эритроидных клеток-предшественников CD117 и CD105 в эритроидной популяции костного мозга статистически значимо ($p=0,04$) выше в исследуемой группе пациентов с МДС по сравнению с контрольной донорской группой [4].

5. Разработана панель МКА, использование которой с высокой чувствительностью (10^{-4}) позволяет выявлять клональные бластные клетки. Включенные в панель МКА позволяют выполнять количественную оценку соотношения лимфоидных и миелоидных предшественников в аспирате костного мозга, выявить дисплазию миелоидного и эритроидного ряда. Комплексный подход иммунофенотипической оценки клеток костного мозга позволил улучшить диагностику и сократить сроки верификации диагноза МДС [4, 7].

Рекомендации по практическому использованию результатов

Практические рекомендации диссертационной работы и сформулированные выводы могут быть использованы врачами клинической лабораторной диагностики и гематологами в специализированных центрах и отделениях по оказанию квалифицированной лечебной помощи пациентам с МДС для диагностики и при планировании индивидуальной программы лечения пациентов.

Полученные результаты легли в основу инструкции по применению «Метод иммунофенотипического выявления опухолевых клеток при первичных миелодиспластических синдромах» инструкция по применению №075 – 0714: утв. МЗ РБ 17.10.2014г. / сост. В. В. Смольникова, Н. Н. Климович, Н. Ф. Миланович, А. Л. Усс. – Минск, 2014. - 8 с., и могут быть рекомендованы для включения в республиканские стандарты диагностики МДС у взрослых.

Результаты исследования могут быть применены в образовательном процессе медицинских вузов и последипломной подготовке в области здравоохранения.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ

Статьи в научных журналах

1. Аберрантность иммунофенотипа клеток костного мозга при первичных миелодиспластических синдромах / Н. Н. Климович, Т. И. Козарезова, В. В. Смольникова, Л. В. Колбаско, Д. И. Суворов, И. А. Искров // Проблемы здоровья и экологии. – 2011. – № 2, прил. № 2: Актуальные вопросы гематологии: материалы науч.-практ. конф. с междунар. участием, Гомель, 15–16 сент. 2011 г. – С. 37–40.
2. Миелодиспластический синдром: классификация, прогноз, лечение / А. Л. Усс, И. А. Искров, В. В. Смольникова, М. И. Могилевцев // Проблемы здоровья и экологии. – 2013. – № 3. – С. 57–62.
3. Иммунофенотипическая дифференцировка клеток костного мозга в диагностике первичных миелодиспластических синдромов / В. В. Смольникова, Н. Н. Климович, Т. В. Лебедева, В. Ю. Гриневич, А. В. Бакун // Проблемы здоровья и экологии. – 2014. – № 1. – С. 51–56.
4. Смольникова, В. В. Иммунофенотипическая диагностика первичных миелодиспластических синдромов у взрослых / В. В. Смольникова // Лаб. диагностика. Вост. Европа. – 2018. – Т. 7, № 4. – С. 477–487.
5. Смольникова, В. В. Взаимосвязь цитогенетических аберраций и экспрессии иммунофенотипических маркеров на бластных клетках костного мозга при первичных миелодиспластических синдромах у взрослых / В. В. Смольникова, Т. В. Лебедева, А. В. Бакун // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2019. – Т. 17, № 2. – С. 206–211.
6. Смольникова, В. В. Экспрессия CD10, CD15, CD11b на миелоидных клетках-предшественниках (CD34+ CD117+) у пациентов с первичными миелодиспластическими синдромами как независимые факторы прогноза бластной трансформации / В. В. Смольникова, Т. В. Лебедева, Н. Ф. Миланович // Мед. журн. – 2019. – № 2. – С. 114–119.

Тезисы в материалах съездов и конференций

7. Многоцветная проточная цитометрия в диагностике первичных миелодиспластических синдромов / В. В. Смольникова, Н. Ф. Миланович, В. Ю. Гриневич, Т. В. Лебедева, А. М. Мукадесова // Лаб. диагностика. Вост. Европа. – 2016. – Приложение: Материалы VIII Съезда врачей клинико-лабораторной службы Министерства здравоохранения Республики Беларусь, Минск, 10–11 ноября 2016 г. – С. 152–153.

8. Потенциальные иммунофенотипические предикторы прогноза первичных миелодиспластических синдромов / В. В. Смольникова, Н. Ф. Миланович, Т. В. Лебедева, В. Ю. Гриневич, Т. Н. Губанова, А. В. Бакун, А. М. Мукадесова // Гематология. Трансфузиология. Вост. Европа. – 2017. – Т 3, № 4. – С. 908–910.
9. Smolnikova, V. CD10 expression on myeloid precursor cells (CD34 + CD117 +) as a predictive factor for progression of primary myelodysplastic syndromes: pf551 / V. Smolnikova, T. Lebedeva, N. Milanovich // HemaSphere. – 2019. – Vol. 3. – P. 227.
10. High expression of CD109 antigen as an independent predictor of outcome in intermediate- or high-risk patients with Myelodysplastic Syndrome (MDS) treated with decitabine / I. Iskrov, V. Smolnikova, A. Uss, O. Krasko, E. Kalinichenko, I. Ponteleeva // The 15th International symposium on myelodysplastic syndromes, Copenhagen, 8–11 May 2019.

Рэзюмэ

Смольнікава Вікторыя Уладзіміраўна

Імунафенатыпічная характарыстыка клетак касцянога мозгу дарослых з міеладыспластычнымі сіндромамі: дыягнастычная і прагнастычная значнасць

Ключавыя словы: дарослыя пацыенты, міелодыспластычныя сіндромы (МДС), МДС-асацыіраваны фенатып, праточная цытафлуарыметрыя (ПЦФ).

Мэта працы: павысіць эфектыўнасць дыягностыкі МДС у дарослых пацыентаў на аснове вызначэння імунафенатыпічных асаблівасцяў клетак касцявога мозгу і вылучэнні новых крытэраў дыягностыкі і прагнозу МДС.

Метады даследавання: клінічныя, лабараторныя, статыстычныя.

Атрыманыя вынікі: дыягнастычна значнымі імунафенатыпічнымі аберацыямі, якія вызначаюцца на бласных клетках пры МДС з'яўляюцца: экспрэсія антыгена CD34, адсутнасць або нізкі ўзровень CD33 і CD38, высокая экспрэсія антыгена CD13, экспрэсія CD5, CD22, CD56, CD10, CD109, CD54. Экспрэсія CD56 на ранніх міелоідных клетках-папярэдніках асацыяваная з анамаліямі 7 храмасомы. Зніжэнне экспрэсіі антыгена CD38 на бласных клетках асацыяваны з анамаліямі 5 храмасомы. Экспрэсія CD10, CD15, CD11b з'яўляюцца незалежнымі прагнастычнымі маркерамі высокай рызыкі трансфармацыі ў ОМЛ у дарослых пацыентаў з МДС. Распрацаваная панэль МКА, дазваляе выяўляць кланальныя бласныя клеткі з адчувальнасцю 10^{-4} . Уключаныя ў панэль МКА дазваляюць выконваць колькасную адзанаку суадносін лімфоідных і міелоідных папярэднікаў у аспірате касцявога мозгу, ацаніць дысплазію міелоіднага і эрытроіднага шэрагу.

Навуковая навізна: выяўлены МДС-асацыіраваны фенатып бласных клетак паляпшае дыягнастычны падыход, які дазваляе правесці дыферэнцыяльную дыягностыку паміж варыянтам МДС з лішкам бластов і вострым лейкозам, а таксама выявіць МДС-асацыіраваны востры лейкоз, выяўлены незалежныя імунафенатыпічныя прэдыктары прагнозу першасных МДС і звязаныя з цытагенетычнымі аберацыямі, распрацавана васьмікаляровая панэль монокланальных антыцелаў, якая дазваляе выявіць кланальныя клеткі з адчувальнасцю 10^{-4} , колькасна ацаніць суадносіны лімфоідных і міелоідных папярэднікаў у аспірате касцявога мозгу і ступень дысплазіі міелоіднага і эрытроіднага шэрагу, а таксама вызначыць прагнастычныя фактары плыні захворвання.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: атрыманыя вынікі ляглі ў аснову інструкцыі па ўжыванні.

Вобласць ужывання: гематалогія, анкалогія, клінічная лабараторная дыягностыка.

Резюме

Смольниковая Виктория Владимировна

Имунофенотипическая характеристика клеток костного мозга взрослых с миелодиспластическими синдромами: диагностическая и прогностическая значимость

Ключевые слова: взрослые пациенты, миелодиспластические синдромы (МДС), МДС-ассоциированный фенотип, проточная цитофлуориметрия (ПЦФ).

Цель работы: повысить эффективность диагностики МДС у взрослых пациентов на основе определения иммунофенотипических особенностей клеток костного мозга и выделения новых критериев диагностики и прогноза МДС.

Методы исследования: клинические, лабораторные, статистические.

Полученные результаты: диагностически значимыми иммунофенотипическими аберрациями, определяемыми на бластных клетках при МДС являются: экспрессия антигена CD34, отсутствие или низкий уровень CD33 и CD38, высокая экспрессия антигена CD13, экспрессия CD5, CD22, CD56, CD10, CD109, CD54. Экспрессия CD56 на ранних миелоидных клетках-предшественниках ассоциирована с аномалиями 7 хромосомы. Снижение экспрессии антигена CD38 на бластных клетках ассоциировано с аномалиями 5 хромосомы. Экспрессия CD10, CD15, CD11b являются независимыми прогностическими маркерами высокого риска трансформации в ОМЛ у взрослых пациентов с МДС. Разработанная панель МКА, позволяет выявлять клональные бластные клетки с чувствительностью 10^{-4} . Включенные в панель МКА позволяют выполнять количественную оценку соотношения лимфоидных и миелоидных предшественников в аспирате костного мозга, оценить дисплазию миелоидного и эритроидного ряда.

Научная новизна: выявленный МДС-ассоциированный фенотип бластных клеток улучшает диагностический подход, позволяющий провести дифференциальную диагностику между вариантом МДС с избытком бластов и острым лейкозом, а также выявить МДС-ассоциированный острый лейкоз, выявлены независимые иммунофенотипические предикторы прогноза первичных МДС и связанные с цитогенетическими аберрациями, разработана восьмицветная панель моноклональных антител, позволяющая выявить клональные клетки с чувствительностью 10^{-4} , количественно оценить соотношение лимфоидных и миелоидных предшественников в аспирате костного мозга и степень дисплазии миелоидного и эритроидного ряда, а также определить прогностические факторы течения заболевания.

Рекомендации по использованию: полученные результаты легли в основу инструкции по применению.

Область применения: гематология, онкология, клиническая лабораторная диагностика.

Summary

Smolnikova Victoria

Immunophenotypic characteristics of bone marrow cells in adults with myelodysplastic syndromes: diagnostic and prognostic significance

Key words: adult patients, myelodysplastic syndromes (MDS), MDS-associated phenotype, flow cytometry (FC).

Purpose of the study: to increase the efficiency of diagnostics of MDS in adult patients based on the determination of the immunophenotypic characteristics of bone marrow cells and the allocation of new criteria for the diagnosis and prognosis of MDS.

Methods: clinical, laboratory, statistical.

Obtained results: diagnostically significant immunophenotypic aberrations detected on blast cells in MDS are: expression of CD34 antigen, absence or low level of CD33 and CD38, high expression of CD13 antigen, expression of CD5, CD22, CD56, CD10, CD109, CD54. Expression of CD56 on early myeloid progenitor cells is associated with chromosome 7 abnormalities. Decreased expression of the CD38 antigen on blast cells is associated with chromosome 5 abnormalities. Expression of CD10, CD15, CD11b are independent prognostic markers of a high risk of transformation into AML in adult patients with MDS. The developed MAb panel allows detecting clonal blast cells with a sensitivity of 10^{-4} . The MAb are included in the panel make it possible to quantify the ratio of lymphoid and myeloid precursors in bone marrow aspirate, to assess myeloid and erythroid dysplasia.

Scientific novelty: the revealed MDS-associated phenotype of blast cells improves the diagnostic approach, allowing for differential diagnosis between MDS with an excess of blasts and acute leukemia, as well as MDS-associated acute leukemia, independent immunophenotypic predictors of the prognosis of primary MDS and associated with cytogenetic aberrations have been developed. an eight-color panel of monoclonal antibodies, which makes it possible to identify clonal cells with a sensitivity of 10^{-4} , to quantify the ratio of lymphoid and myeloid precursors in bone marrow aspirate and the degree of myeloid and erythroid dysplasia, as well as to determine the prognostic factors of the course of the disease.

Recommendations for use: the results obtained formed the basis of the instructions for use.

Applications: hematology, oncology, clinical laboratory diagnostics.