

## ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013  
УДК 616.419-007.17-008.6:575:576.3

### ХРОМОСОМНЫЕ АНОМАЛИИ В КРОВЕТВОРНЫХ И СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ-ПРЕДШЕСТВЕННИКАХ ПРИ МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ

Е.Н. Паровичникова, М.А. Пименова, А.В. Кохно, В.Г. Савченко

ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России

**Резюме.** Освещено прогностическое значение наиболее значимых цитогенетических аномалий при миелодиспластическом синдроме. Проанализированы современные представления об особенностях патогенеза заболевания, характеристиках стволовых кроветворных клеток и их взаимодействии с клетками стромального микроокружения костно-мозговых ниш. Представлен анализ исследований цитогенетических аномалий в кроветворных и стромальных клетках-предшественниках.

**Ключевые слова:** миелодиспластический синдром; цитогенетика; патогенез; кроветворные клетки-предшественники; мезенхимальные стромальные клетки.

### CHROMOSOMAL ABNORMALITIES IN HEMOPOIETIC STROMAL PRECURSOR CELLS IN MYELODYSPLASTIC SYNDROME

E.N.Parovichnikova, M.A.Pimenova, A.V.Kokhno, V.G.Savchenko

Hematological Center, Moscow, Russia

**Summary.** The prognostic value of the most significant cytogenetic abnormalities in the myelodysplastic syndrome is discussed. Modern concepts of the disease pathogenesis, characteristics of stem hemopoietic cells and their interactions with the bone marrow niche stromal microenvironment cells are analyzed. Recent data on the cytogenetic abnormalities in hemopoietic and stromal precursor cells are presented.

**Key words:** myelodysplastic syndrome, cytogenetics, pathogenesis, hemopoietic precursor cells, mesenchymal stromal cells

Группа клональных заболеваний кроветворной ткани, объединенных общим названием «миелодиспластические синдромы» (МДС), характеризуется картиной диспластических изменений в миелокариоцитах и неэффективным кроветворением, которое проявляется нарушением процессов образования, дифференцировки и запрограммированной гибели клеточных элементов костного мозга (КМ), цитопеническим синдромом в периферической крови (ПК) и повышенным риском трансформации в острый миелоидный лейкоз (ОМЛ). Как показано на рисунке, начальным звеном патогенеза заболевания является мутация в стволовой кроветворной клетке (СКК), которая запускает механизм клонального кроветворения и повышает степень запрограммированной клеточной гибели (апоптоза), приводящих к неэффективному кроветворению в КМ. Вместе с этим происходят нарушение функции стромального микроокружения, а также процессы гиперметилирования генов. В результате, накопление продуктов клонального кроветворения приводит к эволюции опухолевого клона и трансформации заболевания в острый лейкоз (см. рисунок).

Несмотря на попытки детального изучения патогенетических особенностей заболевания и поиски новых подходов к терапии, результаты лечения больных МДС и продолжительность их жизни остаются неутешительными [1—3]. Это диктует необходимость дальнейших исследований, которые смогут внести вклад в понимание биологии заболевания и способствовать улучшению прогноза у больных МДС.

#### Для корреспонденции:

Пименова Мария Анатольевна, аспирант научного отдела высокодозной химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России.  
Адрес: Москва, 125167, Новый Зыковский проезд, д. 4а.  
Телефон: +7 (495) 612-45-92.  
E-mail: maria\_pimenova@mail.ru

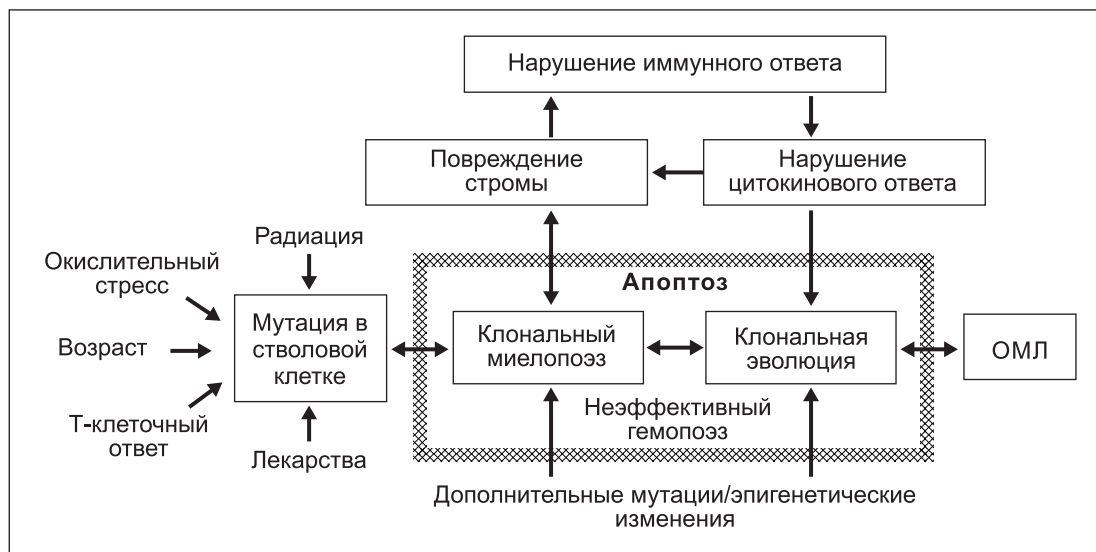
#### Цитогенетические исследования при МДС

В 1956 г. двумя группами исследователей независимо друг от друга было установлено, что нормальный кариотип человека состоит из 23 пар хромосом: 22 пар аутосом и 1 пары половых хромосом [4, 5]. Началась эра клинической цитогенетики. Благодаря разработке метода дифференциального окрашивания хромосом стало возможным выделять и исследовать каждую хромосому в отдельности [6]. В дальнейшем появление новых методик, в частности *in situ* гибридизации, позволило проводить хромосомный анализ в интерфазных (не делящихся) ядрах. Впервые методика описана в начале 1980-х годов [7].

Предположения о преимущественно клональной природе МДС возникли уже в 1960-е годы. J. Grouchy и соавт. [8] описали аномалии хромосом G-группы (19—20-й пары) у 5 из 6 больных сидеробластной анемией (частичные делеции и перичентрические инверсии). Авторы предположили, что гены, отвечающие за гемопоэз, расположены в хромосомах указанной группы. В середине 1970-х годов были описаны [9] клональные изменения в КМ у больных «предлейкозом» — трисомия 8, -7/del(7q), -5/del(5q). Стало очевидно, что наличие аномалий кариотипа отрицательно влияет на продолжительность жизни больных и ассоциировано с более частой трансформацией в острый лейкоз. Однако еще предстояло охарактеризовать цитогенетические нарушения в отдельности и оценить их прогностическую значимость.

#### Клиническое значение хромосомных аномалий при МДС

Клональные аномалии кариотипа при цитогенетическом исследовании клеток КМ во время диагностики МДС определяют у 40—70% больных в зависимости от варианта заболевания, при прогрессии или развитии вторичной миелодисплазии они встречаются чаще — у 70—90% больных [10—12].



Патогенез развития миелодиспластического синдрома.

Сбалансированные хромосомные аномалии встречаются при МДС крайне редко; наиболее характерными являются aberrации с потерей (делеции, моносомии) или добавлением (трисомии, изохромосомы, инсерции) генетического материала. При МДС не встречаются характерные хромосомные аномалии, соответствующие специфическому варианту ОМЛ, —  $t(15;17)$ ,  $inv(16)$ ,  $t(8;21)$ ,  $t(9;11)$ . Аномалии кариотипа чаще определяют у больных МДС категории высокого риска (рефрактерные анемии с избытком бластов — РАИБ) в сравнении с категорией низкого риска (рефрактерные цитопении с уни- и мультилинейной дисплазией — РЦУД и РЦМД, рефрактерные анемии с кольцевыми сидеробластами — РАКС). Однако, за исключением  $del(5q)$ , не выявлено связи конкретной хромосомной аномалии с вариантом МДС [13]. Результаты цитогенетического исследования клеток КМ независимо от других факторов определяют прогноз для больных МДС. Согласно прогностической шкале IPSS, кариотип клеток КМ распределен на 3 категории — благоприятный [нормальный кариотип, изолированные  $del(5q)$ ,  $del(20q)$ ,  $-Y$ ], неблагоприятный [ $-7/del(7q)$ , комплексный кариотип] и промежуточный ( $+8$  и другие аномалии) [11]. Наиболее распространенными аномалиями кариотипа являются аномалии с вовлечением хромосом 5, 7 и 8, каждая из которых изолированно или в составе множественных нарушений кариотипа встречается примерно у 10% пациентов.

**Аномалии хромосомы 5.** Делеция длинного плеча хромосомы 5 — самая частая aberrация, ее наличие определяют у 10—15% больных МДС. Описан только интерстициальный тип делеции, без транслокации генетического материала. Выделяют 3 типа делеции: 1-й тип — с вовлечением сегмента  $q13-q31$  или  $q13-q33$ ; 2-й тип —  $q12-q31$  или  $q14-q31$ ; 3-й тип — делеция минимального сегмента  $q23-q32$ . Какой бы ни был размер делеции, общим участком является регион  $5q31$ , который в свою очередь неоднороден. Делеция может вовлекать центромерную часть региона, что связано с плохим прогнозом, или теломерную часть (расположенную ближе к региону  $5q32$ ), что обычно наблюдается при  $5q$ -синдроме. На длинном плече хромосомы 5 расположены гены *EGR-1* и  *$\alpha$ -катенина*; изучают мутации в этих генах, так как предположено их патогенетическое влияние на развитие заболевания. Классический  $5q$ -синдром — МДС с изолированной  $del(5q)$  — вариант рефрактерной макроцитарной анемии с нормальным или увеличенным числом тромбоцитов, морфологическими признаками дизэритропоэза и увеличенным количеством голаядерных микроформ мегакариоцитов. Морфологические изменения в КМ имеют сходство с таковыми

при хронических миелопролиферативных заболеваниях. У части больных может быть выявлена мутация гена *JAK2* в регионе  $V617F$  [10]. Заболевание чаще встречается у женщин преимущественно пожилого возраста — всего около 15% больных моложе 50 лет. Классический  $5q$ -синдром характеризуется хроническим стабильным течением, отсутствием признаков прогрессирования и трансформации в ОМЛ длительное время [13].  $Del(5q)$  может встречаться при МДС не только изолированно, но и в составе множественных аномалий кариотипа. Определение дополнительно к  $del(5q)$  второй хромосомной аномалии может не привести к существенному ухудшению прогноза в сравнении с прогнозом при классическом  $5q$ -синдроме. В то же время сочетание  $del(5q)$  и аномалий хромосомы 7 ( $-7/del(7q)$ ), а также аномалии хромосомы 5 в комплексном кариотипе определяют крайне плохой прогноз. Терапией выбора для больных с  $del(5q)$  с благоприятным прогнозом в настоящее время является иммуномодулирующая терапия леналидомидом, эффективность которой составляет 80% [14].

**Аномалии хромосомы 7.** Вторая по частоте аномалия у больных МДС — полная утрата хромосомы 7 (моносомия) или интерстициальная/терминальная делеция участка длинного плеча  $del(7q)$  — определяется у 8—11% больных. При  $del(7q)$  принципиальна потеря регионов  $7q22$ ,  $7q31-32$  и  $7q36$ ; в этих регионах расположены гены *EZH2* и *MLL5*, которые отвечают за эпигенетическую регуляцию процессов клеточной дифференцировки [15, 16]. Опубликованы данные о мутации генов семейства *RAS*, гена *AML1*, гиперметилировании *p15INK4B* и о вовлечении ряда других генов у больных этой цитогенетической категории [17, 18]. Вариант МДС с аномалией хромосомы 7 клинически характеризуется короткой средней продолжительностью жизни больных, выраженным цитопеническим синдромом, тяжелыми инфекционными осложнениями и высокой частотой развития ОМЛ [19]. Не выявлено значимых различий в клиническом течении заболевания при разных локализациях делецированного участка длинного плеча хромосомы 7, однако, согласно последним данным, продолжительность жизни короче и риск трансформации в ОМЛ у больных с моносомией 7 выше, чем у больных с  $del(7q)$  [20]. В настоящее время терапией выбора у больных МДС группы высокого риска является применение гипометилирующих препаратов (децитабин, азацитидин) с последующей трансплантацией аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), а также проведение трансплантации в качестве первой линии терапии, так как химиотерапевтическое воздействие в большинстве случаев

оказывается неэффективным, а продолжительность полученных ремиссий короткой.

**Аномалии хромосомы 8.** Увеличение количества (амплификация) генетического материала также характерно для МДС. Самой частой амплификацией является трисомия 8, ее встречаемость — 7—9% больных. Следует отметить, что эта аномалия, среди характерных для МДС, наиболее часто встречается у больных ОМЛ *de novo*. Больного с изолированной трисомией 8 относят к группе промежуточного прогноза с общей продолжительностью жизни 26 мес [20]. Ключевым генетическим маркером при данном варианте МДС принято считать ген *c-MYC*, расположенный в регионе 8q24 и кодирующий фактор транскрипции. Его экспрессия повышена в клетках, содержащих трисомию [21]. У больных с трисомией 8 может быть эффективным применение иммуносупрессивных препаратов (циклоsporин А, антитимоцитарный глобулин) [22].

#### Комплексный кариотип и клональная эволюция

Выявление множественных хромосомных аномалий у больных МДС ассоциировано с плохим ответом на терапию и короткой продолжительностью жизни. Комплексным кариотипом считают наличие трех и более хромосомных аномалий одновременно. Комплексные нарушения кариотипа, возможно, образуются последовательно в результате многоэтапного процесса клональной эволюции. Характерны несбалансированные структурные поломки с вовлечением 5q, 7q, 3p, 3q, 12p, 16q, 17p, 18q и 20q и появление дополнительных хромосом и их участков 8/8q, 11q, 17q, 21q [23]. Комплексные аномалии кариотипа чаще ассоциированы с вторичными МДС и ОМЛ при наличии предшествующей цитостатической терапии алкилирующими агентами и ингибиторами топоизомеразы II, воздействия радиации и токсинов. Количество хромосомных перестроек, определяемых в клетках КМ, существенно влияет на прогноз. Так, показано, что у больных с комплексным кариотипом он значимо хуже, чем у больных с изолированными аномалиями или нормальным кариотипом клеток КМ. В то время как количество клеток, содержащих хромосомные перестройки (величина клона), существенно не влияет на продолжительность жизни больных [9]. Агрессивные методы терапевтического воздействия, алло-ТГСК, показанные этой категории больных, не всегда бывают оправданы в силу тяжелого соматического состояния или возраста, что делает необходимым поиск новых подходов к их лечению.

Клональная эволюция МДС — это процесс, лежащий в основе прогрессии заболевания. Последовательные цитогенетические исследования клеток КМ в динамике позволяют определить появление хромосомных аномалий при ранее нормальном кариотипе или появление новых аномалий дополнительно к уже выявленным [24]. Другой причиной прогрессии заболевания может быть экспансия существующего патологического клона. Так называемую генетическую нестабильность выявляют приблизительно у 30% больных [9]. Эволюция патологического клона, как и увеличение процента бластных клеток в КМ, может увеличивать риск трансформации заболевания.

#### МДС — клональное заболевание стволовой кроветворной клетки

В 1960-е годы опубликованы данные [25] о том, что у женщин, гетерозиготных по гену, кодирующему синтез фермента глюкозо-6-дегидрогеназы (Г-6-ДГ), клетки опухоли (лейомиомы) экспрессируют только один изотип фермента вместо двух, как происходит в здоровых клетках. Вслед за этим было высказано предположение, что все опухоли имеют клональное происхождение. Среди онкогематологических заболеваний это утверждение было впервые проверено у больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ) [26]. Сходные результаты получены у больных МДС. W. Raskind

и соавт. [27] на примере обследования больной миелодисплазией и с хромосомными аномалиями в клетках КМ — трисомией 8 и del(11q) — показали, что, несмотря на отсутствие этих аномалий в фибробластах кожи и В-лимфоцитах крови, среди последних определяется гомозиготность по Г-6-ДГ, и сделали предположение о клональном повреждении клетки-предшественника миело- и лимфопоэза как механизме развития МДС. Отсутствие хромосомных нарушений в других, кроме миелоидной, клеточных линиях авторы объясняли многоступенчатостью патогенеза заболевания, появлением нескольких независимых событий в процессе развития болезни. В пользу теории о вовлечении мультипотентной кроветворной клетки-предшественника, а возможно, и СКК в патогенез заболевания может свидетельствовать возможность лимфоидной трансформации МДС, хотя ее частота не столь велика, как при ХМЛ [28], а также выявление одновременно с МДС В- или Т-клеточных лимфопрлиферативных заболеваний [29].

Определение полиморфизма X-сцепленных генов, мутаций в различных генах и определение хромосомных aberrаций представляют несомненное доказательство клональной природы МДС. Разнообразие клинических форм заболевания позволяет предположить, что патогенез его многоступенчатый, начальное событие которого произошло в отделе полипотентных СКК, а дальнейшие события, приведшие к возникновению хромосомных аномалий, случаются в клетках-предшественниках миелоидной линии гематопоэза. Необходимо отметить, что упомянутые выше исследования не касались непосредственно исследования самих стволовых клеток.

На поверхности СКК определяют ряд специфических маркеров, в дальнейшем на этапах дифференцировки их иммунофенотип меняется. Общим маркером ранних кроветворных клеток-предшественников является антиген CD34. Кластер дифференцировки CD34 — это высокогликозилированный трансмембранный протеин с муциноподобной структурой и молекулярной массой 115 кД. Белок CD34 кодируется геном, который находится в локусе 1q32. Структура молекулы стала известна в 1986 г., а годом позже в экспериментах на летально облученных обезьянах было показано, что антиген экспрессируют мультипотентные СКК, способные дифференцироваться во все клеточные линии, и коммитированные линейные клетки-предшественники [30]. На поверхности СКК также экспрессирован антиген CD90 (Thy-1) и отсутствует экспрессия CD38, CD45RA и Lin. Появление CD38, CD45RA и линейных маркеров происходит в процессе дифференцировки до общих миелоидных, гранулоцитарно-макрофагальных и мегакариоцитарно-эритроидных клеток-предшественников. Исследование соотношения коммитированных предшественников продемонстрировало увеличение общих миелоидных клеток-предшественников, т.е. клеток с фенотипом Lin<sup>-</sup>/CD34<sup>+</sup>/CD38<sup>+</sup>/CD123<sup>+</sup>/CD45RA<sup>-</sup>, при МДС по сравнению с их количеством в нормальном КМ [31]. В то же время у больных МДС наблюдается значительное уменьшение гранулоцитарно-макрофагальных клеток-предшественников с фенотипом Lin<sup>-</sup>/CD34<sup>+</sup>/CD38<sup>+</sup>/CD123<sup>+</sup>/CD45RA<sup>+</sup>, а количество мегакариоцитарно-эритроидных предшественников Lin<sup>-</sup>/CD34<sup>+</sup>/CD38<sup>+</sup>/CD123<sup>-</sup>/CD45RA<sup>-</sup> существенно не отличается от нормы [32]. Таким образом, при МДС нарушен нормальный путь дифференцировки СКК. Антиген CD34 является общим маркером незрелых кроветворных клеток и важным фактором регулирования процесса адгезии СКК к клеткам микроокружения в костно-мозговых нишах [33].

Количество CD34<sup>+</sup> кроветворных клеток-предшественников у больных МДС увеличено по сравнению с их количеством у здоровых лиц как в КМ, так и в ПК [34, 35]. В КМ больных МДС, как правило, количество CD34<sup>+</sup>-клеток, учитывая увеличение клеточности и позитивность по антигену CD34<sup>+</sup> бластных клеток, больше, чем в нормальном

КМ; исключением могут являться варианты МДС, протекающие с гипоплазией и фиброзом. Процент CD34<sup>+</sup>-клеток КМ, определенный с помощью проточной цитометрии, по данным исследования D. de Smet и соавт. [36], зависит от варианта заболевания: у больных группы низкого риска (РЦУД, РЦМД) в среднем определено 1,7% CD34<sup>+</sup>-клеток, у больных с РАИБ — 10,5%, тогда как у здоровых доноров КМ в среднем содержится 1,5% CD34<sup>+</sup>-клеток. Количество циркулирующих CD34<sup>+</sup>-клеток у здоровых лиц составляет, по разным данным, от 0,015 до 0,5% от всех ядродержащих клеток [37, 38]. Абсолютное число циркулирующих гемопоэтических клеток-предшественников у больных МДС низкого риска вследствие глубокой цитопении обычно меньше или соответствует их числу в крови здоровых лиц, тогда как у больных группы высокого риска значительно превышает его. Наблюдаются корреляции между количеством CD34<sup>+</sup>-клеток в КМ и их количеством в ПК [39]. Количество незрелых предшественников коррелирует с количеством бластных клеток и может иметь неблагоприятное прогностическое значение, так как предполагают, что увеличение количества незрелых предшественников в КМ и ПК в динамике наблюдается при прогрессии заболевания [37, 38]. Механизм «выхода» незрелых клеток-предшественников в ПК может быть связан с нарушением их адгезии в КМ [40].

Кроветворные клетки-предшественники, полученные из КМ больных МДС, имеют функциональные отличия от их нормальных аналогов. Эффективность колониеобразования и время репопулирования длительной клеточной культуры у них значительно ниже. В исследовании N. López-Holgado и соавт. [31] показано, что функциональные нарушения незрелых клеток-предшественников более выражены у больных с аномалиями кариотипа в клетках КМ. В работе B. Will и соавт. [41] продемонстрировано, что СКК, полученные от больных с хромосомными аномалиями, дифференцируются *in vitro* в миелоидные предшественники с морфологическими признаками дисмиелопоэза (билобулярность ядра, псевдопельгеризм). В КМ больных МДС нарушено функционирование различных путей передачи сигналов взаимодействия незрелых кроветворных клеток, в частности, интерферонового сигнального пути, путей фактора некроза опухоли  $\alpha$  и фактора роста опухоли  $\beta$ . В результате происходит интенсивный апоптоз, подавление пролиферативного потенциала и процессов самообновления пула клеток-предшественников гемопоэза [42]. Несмотря на то, особенности функционального поведения кроветворных клеток-предшественников при разных вариантах заболевания отличны, принципы их полноценности одинаковы.

#### Цитогенетические исследования кроветворных клеток-предшественников

Изучение цитогенетических, генетических и эпигенетических изменений в СКК и коммитированных клетках-предшественниках важно для определения уровня возникновения генетических мутаций при МДС, первоначально вовлеченного в процесс развития заболевания. По данным D. Naase и соавт. [43], и в CD34<sup>+</sup>/CD38<sup>-</sup>, и в CD34<sup>+</sup>/CD38<sup>+</sup> клетках-предшественниках имеются те же цитогенетические аномалии, что и в общей костно-мозговой популяции. Исследование группы больных с del(5q), получивших терапию леналидом, показало, что клональные нарушения сохраняются в стволовых клетках-предшественниках на стадии клинико-гематологической и цитогенетической ремиссии заболевания, и, следовательно, последние демонстрируют чрезвычайную устойчивость к терапевтическому воздействию [44]. Данные, полученные I. Muira и соавт. [45], свидетельствуют о наличии клональных изменений (моносомии 7) на уровне лимфомиелоидных клеток-предшественников. Некоторое время назад считалось, что у больных с трисомией 8 мультипотентные СКК свободны от клональных нарушений и патологический клон при этой аномалии определяется только на

стадии миелоидных клеток-предшественников [43]. Этот постулат опровергнут последующими исследованиями, однако следует отметить, что размер патологического клона с трисомией 8, определяемого в незрелых клетках-предшественниках, может быть меньше, чем при других цитогенетических аномалиях. В упомянутом выше исследовании B. Will и соавт. [41] цитогенетические маркеры были обнаружены как во фракции СКК, так и во фракции миелоидных предшественников, а также продемонстрирована устойчивость СКК к терапии гипометилирующими агентами.

Цитогенетические исследования лимфоидной клеточной линии при МДС показали, что аномалии кариотипа в этих клетках не определяются. Это можно было бы объяснить большим периодом жизни лимфоцитов и, таким образом, их способностью маскировать имеющиеся клональные изменения в части вновь образованных клеток. Однако характерные генетические нарушения не выявлены и при применении высокочувствительной методики полимеразной цепной реакции (ПЦР). С другой стороны, возможно, что мультипотентные СКК под воздействием генетических и эпигенетических нарушений теряют способность к лимфоидной дифференцировке. И, следовательно, гипотеза о происхождении МДС из мультипотентных СКК не может быть отвергнута [46].

Не так давно стало известно [47], что циркулирующие CD34<sup>+</sup>-клетки у больных МДС содержат цитогенетические аномалии, которые определяются у тех же больных в КМ. Следовательно, гемопоэтические клетки-предшественники КМ и ПК при МДС проявляют сходные свойства, в том числе и хромосомные нарушения.

#### Роль стромального микроокружения

Наряду со свидетельствами функционального нарушения СКК и кроветворных клеток-предшественников исследования демонстрируют нарушение микроокружения в КМ у больных МДС. Возможно, повреждение стромального микроокружения происходит вторично в ответ на дефект взаимодействия клонально измененных СКК с клетками костно-мозговых ниш. Существует и обратная точка зрения о возникновении клональных нарушений в СКК при патологии стромы. Еще в конце XIX века S. Paget [48] в своей теории «почвы и зерна» предположил, что в основе сложного многоэтапного процесса канцерогенеза лежит нарушение специфического взаимодействия опухолевых клеток и окружающей ткани. Клетки опухоли «строят» свое микроокружение путем высвобождения в межклеточный матрикс различных факторов, действие которых приводит к нарушению нормального гомеостаза стромы и поддержанию опухолевого роста, формируя порочный круг обратной связи. Подобные механизмы реализованы при опухолях различного происхождения и локализации и могут лежать в основе как возникновения опухоли *in situ*, так и развития метастазов [49].

Микроокружение в КМ представлено несколькими видами клеток: фибробластами, ретикулярными клетками, хондроцитами, остеобластами, эндотелиоцитами, гладкомышечными клетками, адипоцитами и макрофагами. Микроокружение формирует ниши для кроветворных клеток. Показано, что СКК располагаются в эндостальных нишах — в близости к выстилающим трабекулярную кость остеобластам и мезенхимальным стромальным клеткам, а также в периваскулярных нишах — вокруг эндотелиоцитов синусоидных капилляров. Клетки удерживаются в нишах с помощью межклеточных контактов; процессы их деления и дифференцировки регулируются посредством секреции в межклеточное пространство различных паракринных факторов [50].

Мезенхимальные стромальные клетки (МСК) — важный клеточный компонент стромы. Это фракция прилипающих к пластику мультипотентных клеток-предшественников, способных к образованию колоний *in vitro* с сохранением диф-

## Результаты цитогенетических исследований МСК

Источник литературы	Число больных	Диагноз	Аномалии кариотипа (КМ)	Характеристика аномалий кариотипа МСК	
				число больных, вид аномалии	вовлеченные хромосомы
E. Flores-Figueroa, 2005 [66]	11	МДС	71(63%)	5(56%) из 9, клональные и неклональные потери хромосом, гипоплоидия, у 2 больных не изучали кариотип МСК (получили только у 9 из 11)	Моносомия 1, 2, 3, 5, 8, 11, 10, 12, 13, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22, X
O. Blau, 2007 [68]	31	МДС (n = 18)  ОМЛ (n = 13)	8(44%) из 18  8(61%) из 13	13(48%) из 27, структурные клональные — 4(30%) из 13, неклональные — 8(62%) из 13	der(7)t(1;7), t(1;10), del(17)p, t(7;9), t(4;7), der(6;16), t(7;19), t(15;17), t(1;3), del(2q), del(3p), del(11q), t(2;13), del(8q)
				численные неклональные 1 (8%) из 13	-12, +13
O. Blau, 2011 [69]	94	МДС (n = 43)  ОМЛ (n = 51)	16 (37%) из 43  25(49%) из 51	15(16%) из 94, структурные клональные  численные клональные	t(1;2), t(1;6), del(7q), t(3;20), inv(X), del(11q), del(13q), del(15q) +5, -4, -X, -Y
Lu-Xi Song, 2012 [70]	22	МДС	13(59%) из 22	14(64%) из 22, клональные неструктурные, потеря хромосомного материала (гипоплоидия) 13 (92%) из 14	-6,-7,-11,-12,-20,-21,-22
				структурные 2(4%) из 14	t(2;11), dup(1)

ференцировочного потенциала. Под воздействием индуцирующих факторов они способны к дифференцировке в остеобласты, хондробласты и адипоциты. На поверхности МСК экспрессированы маркеры CD73, CD105, CD90, Stro-1 и отсутствуют маркеры гемопоэтических клеток CD34, CD45, CD14, HLA-DR [51]. МСК наряду с другими компонентами стромы ответственны за поддержание и регуляцию кроветворения в КМ. Они секретируют ростовые факторы, благодаря которым происходит дифференцировка кроветворных предшественниц. МСК также секретируют хемокины и экспрессируют рецепторы клеточной адгезии, обеспечивающие миграцию и поддержание пула СКК в КМ.

Согласно данным многочисленных исследований [52—57], функциональное влияние микроокружения КМ на поддержание экспансии злокачественного клона установлено при различных заболеваниях системы крови. Описано [52] образование межклеточных связей и взаимодействие посредством цитокинов между плазматическими клетками опухоли и клетками стромального микроокружения при множественной миеломе, приводящие к активному ангиогенезу и деструкции кости. У больных ХМЛ показано, что клональное кроветворение обусловлено специфическим взаимодействием кроветворных клеток-предшественников и макрофагов стромы. Макрофаги — компонент стромы гемопоэтического происхождения — являются частью патологического клона при ХМЛ и способствуют поддержанию клонального кроветворения за счет подавления роста нормальных кроветворных предшественников [53]. Формирование обширных зон фиброза обусловлено избыточной продукцией макрофагами и мегакариоцитами цитокинов, таких как полученный из тромбоцитов фактор роста (platelet derived growth factor — PDGF), фактор роста фибробластов (fibroblast growth factor — FGF), трансформирующий фактор роста  $\alpha$  (transforming growth factor alpha — TGF- $\alpha$ ), что наблюдают при хронических миело-пролиферативных заболеваниях и первичном миелофиброзе [54]. Изучение трансплантации гемопоэтических стволовых клеток позволило установить, что компоненты стромы реци-

пиента КМ имеют хозяйское происхождение. И тот факт, что в этих условиях донорское кроветворение способно развиваться, говорит о функциональности и обратимости нарушений стромы при опухолевых заболеваниях системы крови [55]. С другой стороны, существуют примеры отторжения пересаженного КМ [56], а также развития лейкоза из клеток трансплантата [57], причину возникновения которых некоторые ученые видят в иницирующем дефекте стромы реципиента. В пользу этой теории свидетельствуют данные экспериментальных работ на мышах, опубликованные австралийскими учеными, о возникновении миелопролиферативного синдрома при инaktivировании рецептора ретиноевой кислоты (RAR $\gamma$ ) [58], а также данные американских исследователей о развитии вторичной миелодисплазии в КМ, сформировавшейся в результате делеции ответственного за процессинг РНК гена *Dicer1* [59].

Изучение функциональных особенностей стромы при МДС также необходимо для понимания биологии этого заболевания. В последнее время опубликованы работы о нарушении взаимодействия рецептор-лиганд между СКК и клетками стромы при МДС, в частности значительно увеличена продукция МСК хемокина CXCL12 [60]. Фактор CXCL12 (SDF-1) ответственен за сохранение СКК в состоянии покоя в костно-мозговой нише; он, связываясь с рецептором CXCR4, регулирует миграцию СКК в КМ и соответственно поддержание пула СКК и кроветворных клеток-предшественников. На поверхности МСК КМ у больных МДС изменена экспрессия молекул адгезии [61]. При МДС нарушена регуляция Notch сигнального пути, важного механизма процесса клеточной дифференцировки, пластичность МСК из КМ больных МДС снижена [62]. В длительной культуре КМ соответствующие нарушения проявляются сниженной способностью МСК к поддержанию кроветворения *in vitro* и приводят к появлению блока дифференцировки кроветворных клеток-предшественников, что и наблюдают при МДС. Ограниченная способность стромального микроокружения к поддержанию нормального кроветворения и более эффективное его взаи-

модействие с кроветворными клетками-предшественниками, выделенными из КМ больных МДС, также демонстрируют функциональную неполноценность стромы КМ при этом заболевании [63].

#### Цитогенетические исследования мезенхимальных стромальных клеток КМ

Несмотря на общее мезенхимальное (мезодермальное) происхождение кроветворных компонентов КМ и клеток стромального микроокружения, попытки определения общей клетки-предшественника, способной к дифференцировке сразу в две клеточные линии, не увенчались успехом. В КМ взрослого организма отдельно существуют кроветворная и мезенхимальная стволовые клетки [64]. Тем не менее представляет интерес ответ на вопрос: имеются ли клональные нарушения в строме больных МДС. МСК из КМ здоровых лиц способны формировать клеточные колонии в течение по крайней мере 10 пассажей, сохраняя при этом стабильный кариотип и не накапливая хромосомные мутации [65]. Однако МСК от больных МДС обладают ограниченной пролиферативной активностью, а сведения о наличии хромосомных aberrаций в стромальных клетках на примере МСК противоречивы и не позволяют сделать окончательные выводы. Описанные аномалии кариотипа МСК разнообразны и не отображают характерные для МДС изменения в гемопоэтических клетках. В таблице представлены результаты наблюдений нескольких исследовательских групп за последние годы.

Е. Flores-Figueroa и соавт. [66, 67], наблюдавшие небольшую группу больных, продемонстрировали, что у большинства пациентов имелись аномалии кариотипа МСК, которые представляли собой потери генетического материала, как клональные, так и неклональные. В исследовании O. Blau и соавт. [68], в которое был включен 31 больной ОМЛ и МДС, примерно у половины больных выявлены хромосомные нарушения МСК. Авторы отметили, что чаще встречаются аномалии хромосом 1, 7, 10 и 17. В последующее исследование O. Blau и соавт. [69] включили около 100 пациентов, из них у 16% были обнаружены клональные хромосомные нарушения в МСК: они представлены как структурными (транслокации и делеции), так и численными (моносомии и трисомии) аномалиями. Эти аномалии были не связаны с возрастом больных, но ассоциированы с неблагоприятным кариотипом в общей популяции клеток КМ и, следовательно, с худшей выживаемостью больных. По данным китайских исследователей [70], почти у 70% больных выявлены хромосомные aberrации в МСК, включая комплексный кариотип с потерей генетического материала от нескольких хромосом.

В то же время в ряде публикаций продемонстрировано отсутствие в МСК от больных МДС цитогенетических изменений [71—74]. Наряду с этим M. Klaus и соавт. [71] подчеркивают, что МСК больных МДС обладают соответствующим дифференцировочным потенциалом (пластичностью) в сравнении с МСК здоровых доноров, но отличаются от них по пролиферативной активности МСК — время удвоения количества клеток в культуре МСК больных значительно превышало таковое в контрольной группе. В исследовании S. Alvi и соавт. [72] указано, что функциональные характеристики МСК в длительной культуре не различаются у больных и здоровых лиц; а V. Soenem-Cornu и соавт. [73] и A. Ramakrishnan и соавт. [74] продемонстрировали также и одинаковую способность МСК больных МДС поддерживать длительную культуру кроветворных предшественников как содержащих, так и не содержащих хромосомные aberrации.

Противоречивость характеристик МСК, отраженных в упомянутых выше исследованиях, можно объяснить гетерогенностью включенных больных с учетом клинических вариантов и групп риска; разным сроком длительности состояния «хронического воспаления» в строме КМ, обусловленного

заболеванием; различиями в методах исследования и соответственно в интерпретации полученных результатов.

Таким образом, механизмы развития неэффективного кроветворения при МДС до сих пор до конца не ясны. Однако более детальное их изучение может внести существенный вклад в формирование знаний о биологии болезни и послужить основой для разработки новых подходов к терапии. Анализ хромосомных aberrаций как кроветворных, так и стромальных клеточных компонентов КМ больных МДС представлен противоречиво. В то же время требуется характеристика цитогенетических изменений в данных популяциях клеток, так как вероятно их непосредственная роль в патогенезе развития МДС, что диктует необходимость дальнейших исследований.

#### REFERENCES [ЛИТЕРАТУРА]

1. Savchenko V.G., Parovichnikova E.N., Mikhailova E.A., Olshanskaya Yu.V., Ustinova E.N., Gribanova E.O. et al. Myelodysplastic syndrome: some aspects of pathogenesis and treatment. *Therapeutic Archives (Mielodysplasticheskiy sindrom: nekotorye voprosy patogeneza i lechenija. Terapevticheskij Arhiv)*. 1996; 7: 31—37. (in Russian)  
[Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н., Михайлова Е.А., Ольшанская Ю.В., Устинова Е.Н., Грибанова Е.О. и др. Миелодиспластический синдром: некоторые вопросы патогенеза и лечения. *Терапевтический архив*] 1996; 7: 31—7.
2. Warlick E.D., Smith B.D. Myelodysplastic syndromes: review of pathophysiology and current novel treatment approaches. *Curr. Cancer Drug Targets*. 2007; 7(6): 541—58.
3. Steensma D.P. Historical perspectives on myelodysplastic syndromes. *Leuk. Res*. 2012; 36(12): 1441—52.
4. Tjio J.H., Levan A. The chromosome number of man. *Hereditas*. 1956; 42(1—2): 1—6.
5. Ford C.E., Hamerton J.L. The chromosomes of man. *Nature*. 1956; 178(4541): 1020—3.
6. Seabright M. Rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet*. 1971; 298(7731): 971—2.
7. Langer-Safer P.R., Levine M., Ward D.C. Immunological method for mapping genes on Drosophila polytene chromosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1982; 79(14): 4381—5.
8. De Grouchy J., de Nava C., Zittoun B., Bousser J. Analyses chromosomiques dans l'anemie sideroblastique idiopathique acquise. Une étude de six cas. *Nouv. Rev. Fr. Hematol.* 1966; 6(3): 367—89.
9. Second International Workshop on chromosomes in leukemia: chromosomes in preleukemia. *Cancer Res*. 1980; 40(12): 4826—7.
10. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., Pileri S.A., Stein H. et al. WHO Classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. *Myelodysplastic syndromes/neoplasms*. 4th ed. Lyon: IARC Press; 2008: 88—107.
11. Greenberg P., Cox C., Le Beau M.M., Fenaux P., Morel P., Sanz M. et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 1997; 89(6): 2079—88.
12. Michels S.D., McKenna R.W., Arthur D.C., Brunning R.D. Therapy-related acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome: A clinical and morphologic study of 65 cases. *Blood*. 1985; 65(6): 1364—72.
13. Van den Berghe H., Vermaelen K., Mecucci C., Barbieri D., Tricot G. The 5q-anomaly. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1985; 17(3): 189—255.
14. List A., Dewald G., Bennett J., Giagounidis A., Raza A., Feldman E. et al. Lenalidomide in the myelodysplastic syndrome with chromosome 5q deletion. *N. Engl. J. Med.* 2006; 355(14): 1456—65.
15. Ernst T., Chase A.J., Score J., Hidalgo-Curtis C.E., Bryant C., Jones A.V. et al. Inactivating mutations of the histone methyltransferase gene EZH2 in myeloid disorders. *Nat. Genet.* 2010; 42(8): 722—6.
16. Heuser M., Yap D.B., Leung M., de Algora T.R., Tafesh A., McKinney S. et al. Loss of MLL5 results in pleiotropic

- hematopoietic defects, reduced neutrophil immune function and extreme sensitivity to DNA demethylation. *Blood*. 2009; 113(7): 1432—43.
17. Christiansen D.H., Andersen M.K., Pedersen-Bjergaard J. Methylation of p15INK4B is common, is associated with deletion of genes on chromosome arm 7q and predicts a poor prognosis in therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2003; 17(9): 1813—9.
  18. Christiansen D.H., Andersen M.K., Pedersen-Bjergaard J. Mutations of AML1 are common in therapy-related myelodysplasia following therapy with alkylating agents and are significantly associated with deletion or loss of chromosome arm 7q and with subsequent leukemic transformation. *Blood*. 2004; 104(5): 1474—81.
  19. Pasquali F., Bernasconi P., Casalone R., Faccaro M., Bernadconi C., Lazzarino M. et al. Pathogenetic significance of “pure” monosomy 7 in myeloproliferative disorders. Analysis of 14 cases. *Hum. Genet.* 1982; 62(1): 40—51.
  20. Schanz J., Tuchler H., Sol e F., Luño E., Cervera J., Granada I. et al. New comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes (MDS) and oligoblastic acute myeloid leukemia after MDS derived from an international database merge. *J. Clin. Oncol.* 2012; 30(8): 820—9.
  21. Sloand E.M., Pfanos L., Chen G., Shah S., Solomou E.E., Barrett J. et al. CD34 cells from patients with trisomy 8 myelodysplastic syndrome (MDS) express early apoptotic markers but avoid programmed cell death by up-regulation of antiapoptotic proteins. *Blood*. 2007; 109(6): 2399—405.
  22. Sloand E.M., Mainwaring L., Fuhrer M., Ramkissoon S., Risitano A.M., Keyvanfar K. et al. Preferential suppression of trisomy 8 compared with normal hematopoietic cell growth by autologous lymphocytes in patients with trisomy 8 myelodysplastic syndrome. *Blood*. 2005; 106(3): 841—51.
  23. Trost D., Hildebrandt B., Beier M., Müller N., Germing U., Royer-Pokora B. Molecular cytogenetic profiling of complex karyotypes in primary myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.* 2006; 165(1): 51—63.
  24. Tomonaga M., Tomonaga Y., Kusano M., Ichimaru M. Sequential karyotypic evolutions and bone marrow aplasia preceding acute myelomonocytic transformation from myelodysplastic syndrome. *Br. J. Haematol.* 1984; 58(1): 53—60.
  25. Linder D., Gartler S.M. Glucose-6-phosphate dehydrogenase mosaicism: utilization as a cell marker in the study of leiomyomas. *Science*. 1965; 150(3692): 67—9.
  26. Fialkow P.J., Jacobson R.J., Papayannopoulou T. Chronic myelocytic leukemia: clonal origin in a stem cell common to the granulocyte, erythrocyte, platelet and monocyte/macrophage. *Am. J. Med.* 1977; 63(1): 125—30.
  27. Raskind W.H., Tirumali N., Jacobson R. Evidence for a multistep pathogenesis of a myelodysplastic syndrome. *Blood*. 1984; 63(6): 1318—23.
  28. Berneman Z.N., Van Bockstaele D., De Meyer P., Van der Planken M., Vertessen F., De Bock R., Peetermans M.E. A myelodysplastic syndrome preceding acute lymphoblastic leukaemia. *Br. J. Haematol.* 1985; 60(2): 353—4.
  29. Baumann M.A., Libnoch J.A., Hansen R.M., Heckman M.G., Hanson G.A. Concurrent myelodysplasia and lymphoproliferation: a disorder of the true pluripotential stem cell? *Q. J. Med.* 1985; 55(218): 199—211.
  30. Berenson R.J., Andrews R.G., Bensinger W.I., Kalamazs D., Knitter G., Buckner C.D., Bernstein I.D. Antigen CD34+ marrow cells engraft lethally irradiated baboons. *J. Clin. Invest.* 1988; 81(3): 951—5.
  31. López-Holgado N., Arroyo J.L., Pata C., Villarón E., Sánchez Guijo F., Martín A. et al. Analysis of hematopoietic progenitor cells in patients with myelodysplastic syndromes according to their cytogenetic abnormalities. *Leuk. Res.* 2004; 28(11): 1181—7.
  32. Pang W.W., Pluvinage J.V., Price E.A., Sridhar K., Arber D.A., Greenberg P.L. Hematopoietic stem cell and progenitor cell mechanisms in myelodysplastic syndromes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2013; 110(8): 3011—6.
  33. Gangenahalli G.U., Singh V.K., Verma Y.K., Gupta P., Sharma R.K., Chandra R., Luthra P.M. Hematopoietic stem cell antigen CD34: role in adhesion or homing. *Stem. Cells Dev.* 2006; 15(3): 305—13.
  34. Monreal M.B., Pardo M.L., Pavlovsky M.A., Fernandez I., Corrado C.S., Giere I. et al. Increased immature hematopoietic progenitor cells CD34<sup>+</sup>/CD38<sup>dim</sup> in myelodysplasia. *Cytometry B Clin. Cytom.* 2006; 70(2): 63—70.
  35. Sullivan S.A., Marsden K.A., Lowenthal R.M., Jupe D.M., Jones M.E. Circulating CD34<sup>+</sup> cells: an adverse prognostic factor in the myelodysplastic syndromes. *Am. J. Hematol.* 1992; 39(2): 96—101.
  36. De Smet D., Trullemans F., Jochmans K., Renmans W., Smet L., Heylen O. Diagnostic potential of CD34<sup>+</sup> cell antigen expression in myelodysplastic syndromes. *Am. J. Clin. Pathol.* 2012; 138(5): 732—43.
  37. Van Epps D.E., Bender J., Lee W., Schilling M., Smith A., Smith S. et al. Harvesting, characterization, and culture of CD34<sup>+</sup> cells from human bone marrow, peripheral blood, and cord blood. *Blood Cells*. 1994; 20(2—3): 411—23.
  38. Fuchigami K., Mori H., Matsuo T., Iwanaga M., Nagai K., Kuriyama K., Tomonaga M. Absolute number of circulating CD34<sup>+</sup> cells is abnormally low in refractory anemias and extremely high in RAEB and RAEB-t; novel pathologic features of myelodysplastic syndromes identified by highly sensitive flow cytometry. *Leuk. Res.* 1999; 24(2): 163—74.
  39. Marisavljevic D., Kraguljac-Kurtovic N. Biological implications of circulating CD34<sup>+</sup> cells in myelodysplastic syndromes. *J. BUON*. 2010; 15(4): 753—7.
  40. Vehmeyer K., Haase D., Alves F. Increased peripheral stem cell pool in MDS: an indication of disease progression? *Leuk. Res.* 2001; 25(11): 955—9.
  41. Will B., Zhou L., Vogler T.O., Ben-Neriah S., Schinke C., Tamari R. et al. Stem and progenitor cells in myelodysplastic syndromes show aberrant stage-specific expansion and harbor genetic and epigenetic alterations. *Blood*. 2012; 120(10): 2076—86. doi: 10.1182/blood-2011-12-399683.
  42. Kokhno A.V., Savchenko V.G., Parovichnikova E.N., Kharazishvili D.I., Sokolovskaya A.A., Lukashina M.I., Baryshnikov A.Yu. Apoptosis and proliferative activity of bone marrow cells in patients with aplastic syndromes as evidenced by trepanobiopsy. *Therapeutic Archives (Apoptoz i proliferativnaya aktivnost' kletok kostnogo mozga u bol'nyh s aplasticheskimi sindromami po dannym trepanobiopsi. Terapevticheskij Arhiv)* 2001; 7: 51—6. (in Russian)
  - [Kохно А.В., Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н., Харазиишвили Д.И., Соколовская А.А., Лукашина М.И., Барышников А.Ю. Апоптоз и пролиферативная активность клеток костного мозга у больных апластическими синдромами по данным трепанобиопсии. *Терапевтический архив*. 2001; 7: 51—6].
  43. Haase D., Feuring-Bruske M., Konemann S., Fonatsch C., Troff C., Verbeek W. Evidence for malignant transformation in acute myeloid leukemia at the level of early hematopoietic stem cells by cytogenetic analysis of CD34<sup>+</sup> subpopulations. *Blood*. 1995; 86(8): 2906—12.
  44. Tehranchi R., Woll P.S., Andreson K., Buza-Vidas N., Mizukami T., Mead A.J. Persistent malignant stem cells in del(5q) myelodysplasia in remission. *N. Engl. J. Med.* 2010; 363(11): 1025—37.
  45. Miura I., Kobayashi Y., Takahashi N., Saitoh K., Miura A.B. Involvement of natural killer cells in patients with myelodysplastic syndrome carrying monosomy 7 revealed by the application of fluorescence in situ hybridization to cells collected by means of fluorescence-activated cell sorting. *Br. J. Haematol.* 2000; 110(4): 876—7.
  46. Nimer S.D. MDS: A stem cell disorder — but what exactly is wrong with the primitive hematopoietic cells in this disease? *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program*. 2008: 43—51. doi: 10.1182/asheducation-2008.1.43.

47. *Braulke F., Schanz J., Jung K., Shirneshan K., Schulte K., Schuetze C.* FISH analysis of circulating CD34<sup>+</sup> cells as a new tool for genetic monitoring in MDS: verification of the method and application to 27 MDS patients. *Leuk. Res.* 2010; 34(10): 1296—301.
48. *Paget S.* The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *Cancer Metastas. Rev.* 1989; 8(2): 98—101.
49. *Mueller M.M., Fusenig N.E.* Friends and foes — bipolar effects of the tumor stroma in cancer. *Nat. Rev. Cancer.* 2004; 4(11): 834—49.
50. *Chertkov I.L., Gurevich O.A.* A stem cell and microenvironment. Moscow: Meditsina (Stvolovaja krovotvornaja kletka i ee mikrookruzhenie. Moskva: Medicina); 1984. (in Russian) [*Чертков И.Л., Гуревич О.А.* Стволовая клетка и ее микроокружение. М.: Медицина; 1984].
51. *Svinareva D.A., Shipunova I.N., Olshanskaya Yu.V., Momotyuk K.S., Drize N.I., Savchenko V.G.* The main properties of bone marrow mesenchymal stromal cells from donors: surface markers. *Therapeutic Archives (Osnovnye svoystva mezenhimnyh stromal'nyh kletok iz kostnogo mozga donorov: poverhnostnye markery. Terapevticheskij Arhiv)* 2010; 7: 52—6. (in Russian) [*Свинарева Д.А., Шипунова И.Н., Ольшанская Ю.В., Момотюк К.С., Дризе Н.И., Савченко В.Г.* Основные свойства мезенхимных стромальных клеток из костного мозга доноров: поверхностные маркеры. *Терапевтический архив.* 2010; 7: 52—6].
52. *Mitsiades C.S., Mitsiades N.S., Munshi N.C., Richardson P.G., Anderson K.C.* The role of the bone microenvironment in the pathophysiology and therapeutic management of multiple myeloma: interplay of growth factors, their receptors and stromal interactions. *Eur. J. Cancer.* 2006; 42(11): 1564—73.
53. *Bhatia R., McGlave P.B., Dewald G.W., Blazar B.R., Verfaillie C.M.* Abnormal function of the bone marrow microenvironment in chronic myelogenous leukemia: role of malignant stromal macrophages. *Blood.* 1995; 85(12): 3636—45.
54. *Chagraoui H., Wendling F., Vainchenker W.* Pathogenesis of myelofibrosis with myeloid metaplasia: insight from mouse models. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 2006; 19(3): 399—412.
55. *Ramakrishnan A., Deeg H.J.* A novel role for the marrow microenvironment in initiating and sustaining hematopoietic disease. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2009; 9(1): 21—8.
56. *Marsh J.C., Harhalakis N., Dowding C., Laffan M., Gordon-Smith E.C., Hows J.M.* Recurrent graft failure following syngeneic bone marrow transplantation for aplastic anaemia. *Bone Marrow Transplant.* 1989; 4(5): 581—5.
57. *Shchegolevataya O.O., Parovichnikova E.N., Demidova I.A., Isaev V.G., Sokolov A.N., Zhelnova E.I. et al.* Development of acute myeloid leukemia from donor cells after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation in a female patient with acute monoblastic leukemia. *Therapeutic Archives (Razvitie ostrogo mieloidnogo lejkoza iz donorskih kletok posle allogennoj transplantacii perifericheskikh stvolovyh krovotvornyh kletok u bol'noj ostrym monoblastnym lejkozom. Terapevticheskij Arhiv)* 2008; 3: 57—62. (in Russian) [*Щеголева О.О., Паровичникова Е.Н., Демидова И.А., Исаев В.Г., Соколов А.Н., Желнова Е.И. и др.* Развитие острого миелоидного лейкоза из донорских клеток после аллогенной трансплантации периферических стволовых клеточных клеток у больной острого монобластным лейкозом. *Терапевтический архив.* 2011; 3: 57—62].
58. *Walkley C.R., Olsen G.H., Dworkin S., Fabb S.A., Swann J., McArthur G.A. et al.* A microenvironment-induced myeloproliferative syndrome caused by retinoic acid receptor gamma deficiency. *Cell.* 2007; 129(6): 1097—110.
59. *Raaijmakers M., Mukherjee S., Guo S., Zhang S., Kobayashi T., Schoonmaker J.A. et al.* Bone progenitor dysfunction induces myelodysplasia and secondary leukemia. *Nature.* 2010; 464(7290): 852—7.
60. *Flores-Figueroa E., Varma S., Montgomery K., Greenberg P.L., Grattinger D.* Distinctive contact between CD34<sup>+</sup> hematopoietic progenitors and CXCL12<sup>+</sup> CD271<sup>+</sup> mesenchymal stromal cells in benign and myelodysplastic bone marrow. *Lab. Invest.* 2012; 92(9): 1330—41. doi: 10.1038/labinvest.2012.93.
61. *Manakova T.E., Tsvetaeva N.V., Belkin V.M., Momotyuk K.S., Khoroshko N.D.* Defect of homing and adhesion in bone marrow hematopoietic progenitors from patients with myelodysplasia to normal bone marrow stromal cells. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine. (Defekt adgezii i hominga krovotvornyh predshestvennikov iz kostnogo mozga bol'nyh mielodisplazijami k stromal'nyh kletkam iz kul'tur normal'nogo kostnogo mozga. Bjulleten Jekspierimentalnoj Biologii i Mediciny)* 2005; 1: 11—4. (in Russian) [*Манакова Т.Е., Цветаева Н.В., Белкин В.М., Момотюк К.С., Хоросшко Н.Д.* Дефект адгезии и хоминга кроветворных предшественников из костного мозга больных миелодисплазиями к стромальным клеткам из культур нормального костного мозга. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2005; 139(1): 11—4].
62. *Varga G., Kiss J., Varkonyi J., Vas V., Farkas P., Pálóczi K., Uher F.* Inappropriate Notch activity and limited mesenchymal stem cell plasticity in the bone marrow of patients with myelodysplastic syndromes. *Pathol. Oncol. Res.* 2007; 13(4): 311—9.
63. *Geyh S., Cadeddu P.R., Fröbel J., Bruns I., Zohren F., Hünerliitürkoglu A.-N.* Analysis of mesenchymal stromal cells and their interactions with CD34 stem and progenitor cells in patients with myelodysplastic syndromes. *Blood: ASH Annual Meeting.* San Diego CA, December 10—13, 2011; 118: abstr. 2393.
64. *Waller E.K., Olweus J., Lund-Johansen F.* The 'common stem cell' hypothesis reevaluated: human fetal bone marrow contains separate populations of hematopoietic and stromal progenitors. *Blood.* 1995; 85(9): 2422—35.
65. *Bernardo M.E., Zaffaroni N., Novara F., Cometa A.M., Avanzini M.A., Moretta A. et al.* Human bone marrow derived mesenchymal stem cells do not undergo transformation after long-term in vitro culture and do not exhibit telomere maintenance mechanisms. *Cancer Res.* 2007; 67(19): 9142—9.
66. *Flores-Figueroa E., Arana-Trejo R.M., Gutierrez-Espindola G., Pérez-Cabrera A., Mayani H.* Mesenchymal stem cells in myelodysplastic syndromes: phenotypic and cytogenetic characterization. *Leuk. Res.* 2005; 29(2): 215—24.
67. *Flores-Figueroa E., Montesinos J.J., Flores-Guzman P., Gutierrez-Espindola G., Arana-Trejo R.M., Castillo-Medina S. et al.* Functional analysis of myelodysplastic syndromes-derived mesenchymal stem cells. *Leuk. Res.* 2008; 32(9): 1407—16.
68. *Blau O., Hofman W., Baldus C.D., Thiel G., Serbent V., Schümann E. et al.* Chromosomal aberrations in bone marrow mesenchymal stroma cells from patients with myelodysplastic syndrome and acute myeloblastic leukemia. *Exp. Hemat.* 2007; 35(2): 221—9.
69. *Blau O., Baldus C.D., Hofman W., Thiel G., Nolte F., Burmeister T. et al.* Mesenchymal stromal cells of myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia patients have distinct genetic abnormalities compared with leukemic blasts. *Blood.* 2011; 118(20): 5583—92.
70. *Zhang Z., Guan L., Zhang K., Wang S., Cao P.C., Wang Y.H. et al.* Cytogenetic analysis of human bone marrow derived mesenchymal stem cells passaged in vitro. *Cell Biol. Int.* 2007; 31(6): 645—8.
71. *Klaus M., Stavroulaki E., Kastrinaki M.-C., Fragioudaki P., Giannikou K., Psyllaki M. et al.* Reserves, functional, immunoregulatory, and cytogenetic properties of bone marrow mesenchymal stem cells in patients with myelodysplastic syndromes. *Stem Cells Dev.* 2010; 19(7): 1043—54.
72. *Alvi S., Shafer A., Shetty V., Henderson B., Dangerfield B., Zorat F. et al.* Successful establishment of long-term bone marrow cultures in 103 patients with myelodysplastic syndromes. *Leuk. Res.* 2001; 25(11): 941—54.
73. *Soenen-Cornu V., Tourino C., Bonnet M.L., Guillier M., Flamant S., Kotb R. et al.* Mesenchymal cells generated from patients with myelodysplastic syndromes are devoid of chromosomal clonal markers and support short- and long-term hematopoiesis in vitro. *Oncogene.* 2005; 24(15): 2441—8.
74. *Ramakrishnan A., Awaya N., Bryant E., Torok-Storb B.* The stromal component of the marrow microenvironment is not derived from the malignant clone in MDS. *Blood.* 2006; 108(2): 772—3.