https://doi.org/10.17116/terarkh201789739-44

© Коллектив авторов, 2017

Анализ экспрессии генов *VEGF-A/VEGFR1/VEGFR2* у пациентов с миелодиспластическим синдромом

Н.Н. КАЛИТИН[1], Г.А. ДУДИНА[2], С.В. СЕМОЧКИН[3], А.Ф. КАРАМЫШЕВА[1]

[1]ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия; [2]ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова ДЗ города Москвы», Москва, Россия; [3]ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия

Резюме

Цель исследования. Оценить значение экспрессии генов фактора роста *VEGF-A* и взаимодействующих с ним рецепторов *VEGFR1* и *VEGFR2* в качестве возможных диагностических и прогностических молекулярных маркеров у пациентов с миелодиспластическим синдромом (МДС).

Материалы и методы. Методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) исследована экспрессия генов *VEGF-A*, *VEGFR1* и *VEGFR2* в мононуклеарных клеточных фракциях, полученных от 24 пациентов с МДС.

Результаты. Экспрессия 3 генов выявлена у всех обследованных больных. Наиболее высокий уровень экспрессии отмечен для гена *VEGF-A* (p<0,0001), тогда как экспрессия гена *VEGFR1* превалировала над экспрессией гена *VEGFR2* (p<0,001). Уровни экспрессии гена *VEGF-A* оказались выше у пациентов с более высоким риском развития острого лейкоза и позитивно коррелировали с уровнями экспрессии гена *VEGFR1* (p<0,05), но не *VEGFR2*. При этом пациенты с более высокой экспрессией гена *VEGFR1* имели достоверно более низкую общую выживаемость (r=–0,5; p<0,05). У пациентов с промежуточным-2 и высоким риском развития острого лейкоза наблюдалась тенденция к увеличению средних уровней экспрессии *VEGF-A* и *VEGFR1* и снижению экспрессии гена *VEGFR2*.

Заключение. Проведенное исследование выявило корреляции между количеством бластных клеток у пациентов с МДС и уровнем экспрессии гена *VEGF-A*, а также между общей выживаемостью пациентов с МДС и уровнями экспрессии гена *VEGFR1*, но не генов *VEGF-A* и *VEGFR2*.

Ключевые слова: миелодиспластические синдромы, экспрессия генов VEGF-A, VEGFR1, VEGFR2.

Analysis of *VEGF-A/VEGFR1/VEGFR2* gene expression in patients with myelodysplastic syndrome

N.N. KALITIN[1], G.A. DUDINA[2], S.V. SEMOCHKIN[3], A.F. KARAMYSHEVA[1]

[1]N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia; [2]A.S. Loginov Moscow Clinical Research and Practical Center, Moscow Healthcare Department, Moscow, Russia; [3]N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

Aim. To assess the significance of gene expression of the vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) and its interacting receptors *VEGFR1* and *VEGFR2* as potential diagnostic and prognostic molecular markers in patients with myelodysplastic syndrome (MDS).

Materials and methods. A real time polymerase chain reaction (RT-PCR) assay was used to investigate the gene expression of *VEGF-A*, *VEGFR1*, and *VEGFR2* in the mononuclear cell fractions obtained from 24 patients with MDS.

Results. The expression of the 3 genes was identified in all the patients examined. There was the highest expression level of the *VEGF-A* gene (p<0.0001), whereas the expression of the *VEGFR1* gene was higher than that of the *VEGFR2* gene (p<0.001). The expression of the *VEGF-A* gene proved to be higher in patients at a higher risk of acute leukemia and positively correlated with the expression levels of the *VEGFR1* gene (p<0.05) rather than that of the *VEGFR2* gene. At the same time, patients with higher *VEGFR1* gene expression had significantly lower overall survival rates (r=–0.5; p<0.05). Patients with intermediate-2 or high-risk acute leukemia showed an increase in the average expression levels of *VEGF-A* and *VEGFR1* and a reduction in *VEGFR2* expression.

Conclusion. This investigation revealed correlations between the number of blast cells in patients with MDS and the expression levels of the *VEGF-A* gene and between the overall survival of patients with MDS and the expression levels of the *VEGFR1* gene rather than those of the *VEGF-A* and *VEGFR2* genes.

Keywords: myelodysplastic syndromes, VEGF-A, VEGFR1, and VEGFR2 gene expression.

КМ — костный мозг
МДС — миелодиспластический синдром
ММ — множественная миелома
ОВ — общая выживаемость
ОЛ — острый лейкоз
ПЦР-РВ — полимеразная цепная реакция в реальном времени
РА — рефрактерная анемия
РАИБ — рефрактерная анемия с избытком бластов

Миелодиспластические синдромы (МДС) представляют собой гетерогенную группу клональных заболеваний системы крови, характеризующихся цитопенией, признаками дисмиелопоэза и высоким риском трансформации в острые миелоидные лейкозы [1].

Начальным звеном в патогенезе МДС являются генетические изменения (точечные мутации, хромосомные аберрации), накапливающиеся в плюрипотентных клетках и приводящие к их повреждению и трансформации [2, 3]. При этом нарушаются процессы созревания в одном,

двух или трех ростках гемопоэза, выражающиеся в изменении морфологических свойств и функциональной активности кроветворных клеток этих ростков [4]. В результате у пациентов с МДС наблюдается одно-, двух- или трехростковая цитопения в периферической крови на фоне гиперклеточного (реже нормо- или гипоклеточного) костного мозга (КМ) [5]. Кроме того, характерной особенностью МДС при различных вариантах его течения является неуклонное прогрессирование мультилинейной дисплазии неэффективного гемопоэза с дальнейшим увеличением бластных клеток в КМ и трансформацией в острый лейкоз (ОЛ) [6].

У больных с МДС отмечаются также повышение пролиферативной активности клеток КМ, изменение микроокружения, усиление ангиогенеза и активация Т-лимфоцитов $CD8^+$ [7]. Размножение бластных клеток при МДС находится под контролем разнообразных ауто- и паракринных сигнальных каскадов, способных в значительной степени модулировать их злокачественный фенотип и приводить к прогрессированию заболевания [8]. Одни из этих сигналов могут быть связаны с увеличенной экспрессией генов фактора роста эндотелия сосудов *VEGF-A* и двух его рецепторов — *VEGFR1* и *VEGFR2*. Показано, что фактор роста VEGF-A и рецепторы VEGFR1 и VEGFR2 принимают участие не только в регуляции ангиогенеза и неоангиогенеза в нормальных условиях и при злокачественной трансформации, но и способствуют пролиферации клеток при многих солидных и несолидных опухолях [9, 10]. В частности, патогенетическое значение этой рецепторной системы установлено для множественной миеломы (ММ) и лимфом [11, 12]. В то же время значение экспрессии фактора роста VEGF-A, а также рецепторов VEGFR1 и VEGFR2 в качестве возможных молекулярных звеньев в патогенезе МДС и их роль как потенциальных диагностических и прогностических факторов при МДС мало исследована. Так, A. Aguayo и соавт. [13] не обнаружили прогностического значения уровня VEGF-A в сыворотке крови у пациентов с МДС, но выявили, что аналогичный показатель играет роль прогностического фактора у больных острым миелоидным лейкозом. В то же время S. Verstovsek и соавт. [14] показали, что высокие уровни экспрессии VEGF-A обратно коррелировали с общей выживаемостью (ОВ) у пациентов и с МДС, и с острым миелоидным лейкозом, тогда как уровни экспрессии рецепторов VEGFR1 и VEGFR2 не имели прогностической значимости в исследованных группах больных.

Цель исследования — изучить особенности экспрессии генов *VEGF-A*, *VEGFR1* и *VEGFR2* и оценить их возможное клинико-патогенетическое значение у пациентов с МДС.

Материалы и методы

Обследовали группу из 24 пациентов (15 женщин и 9 мужчин) с подтвержденным диагнозом МДС. Больных включали в исследование только при появлении клинического значения клеточной дисфункции КМ, потребовавшей проведения гемотрансфузионной и/или патогенетической терапии перед началом лечения. У всех пациентов получено информированное согласие на проведение клинического исследования. Возраст пациентов находился в диапазоне от 51 года до 85 лет (медиана 71,5 года). Диагноз МДС основывался на результатах цитологического исследования клеток периферической крови: наличии анемического синдрома, часто в сочетании с лейкопенией, реже с тромбоцитопенией и увеличением бластных клеток. Среди эритроцитов определялись как микро-, так и макроциты, пойкилоцитоз. Нейтрофилы характеризовались изменением сегментированности ядер, наличием пельгероидных форм. Дисплазия тромбоцитов заключалась в появлении аномальных форм со сниженной способностью к агрегации. При анализе миелограммы отмечалась редукция (до 5—10%) либо расширение эритроидного ростка с характерными мегалобластоидными чертами кроветворения. В гранулоцитарном ростке выявлялись те же изменения клеток, что и в нейтрофилах периферической крови. Признаки дисплазии мегакариоцитов заключались в появлении как гигантских, так и мелких одно—двуядерных форм. Количество бластных клеток в КМ варьировало от 1,2 до 18,8% (медиана 8,4%). Пациентов с гипопластическим вариантом МДС в исследование не включали. Вариант МДС уточняли по классификации МДС ВОЗ [15]. Он базировался на следующих показателях: увеличение количества бластных клеток в КМ, одно-, двух- или трехростковый цитопенический синдром, изменения кариотипа. Риск развития ОЛ рассчитывали по шкале IPSS. Среди пациентов, включенных в это исследование, у 3 диагностирована рефрактерная анемия (РА), у 5 — МДС, ассоциированный с изолированной делецией del(5q), у 1 — РА с кольцевыми сидеробластами, у 4 — рефрактерная цитопения с мультилинейной дисплазией, у 4 — РА с избытком бластов (РАИБ) 1-го типа и у 7 — РАИБ 2-го типа. Цитогенетический анализ аспиратов КМ показал следующие результаты: отсутствие изменений кариотипа выявлено у 10 пациентов. У 14 установлены следующие хромосомные аномалии: у 2 — del (20q), у 5 — del(5q), у 2 — del(7q), у 5 —множественные клональные перестройки кариотипа.

Используя Международную систему числовой оценки прогноза IPSS (International Prognostic Scoring System) МДС [16], больных распределили следующим образом: группа низкого риска — 7, промежуточного-1 риска — 7, промежуточного-2 риска — 3 и высокого риска — 7. Для упрощения дальнейшей статистической обработки полученных результатов всех пациентов распределили на 2 группы: 1-я — больные с низким и промежуточным-1 риском прогрессирования в ОЛ, 2-я — с промежуточным-2 и высоким риском прогрессирования.

Материалами исследования в данной работе являлись аспираты КМ. Полученный биологический материал разделяли в градиенте плотности фиколла («ПанЭко», Россия) с целью получения мононуклеарной фракции клеток, из которой выделяли тотальную РНК с помощью Trizol-reagent («MRC», США). Все процедуры подробно описаны ранее [17].

Для синтеза кДНК в ходе обратной транскрипции использовали 1 мкг тотальной РНК, 1 мкл «random 6» вырожденных гексапраймеров («Синтол», Россия), 2,5 мМ смесь dNTP («MBI Fermentas», Литва), 0,4 ед. ингибитора РНКаз («MBI Fermentas», Литва), 2 ед. обратной транскриптазы M-MuLVplus («Синтол», Россия). Объем смеси составлял 25 мкл. Синтез проводили на амплификаторе Терцик («ДНК-технология», Россия) при температуре 42 °С, 50 мин с предварительной преинкубацией в течение 10 мин при температуре 25 °С. Реакцию останавливали при помощи нагревания до 70 °С в течение 10 мин.

Полимеразную цепную реакцию в реальном времени (ПЦР-РВ) проводили на амплификаторе Bio-Rad CFX («Bio-Rad», США) с использованием интеркалирующего красителя EvaGreen

Сведения об авторах:

Дудина Галина Анатольевна — к.м.н., с.н.с. отд-ния онкогематологии

Семочкин Сергей Вячеславович — д.м.н., проф. каф. онкологии, гематологии и лучевой терапии педиатрического факультета

Карамышева Аида Фуадовна — д.б.н., зав. лаб. генетики опухолевых клеток НИИ канцерогенеза

Контактная информация:

Калитин Николай Николаевич — к.б.н., н.с. лаб. генетики опухолевых клеток НИИ канцерогенеза; 115478 Москва, Каширское шоссе, 24; тел.: +7(499)324-1769; e-mail: f.oskolov@mail.ru

Нуклеотидные последовательности праймеров, использованных в ПЦР-РВ

Ген	Последовательность
VEGF-A	5'- AGGGCAGAATCATCACGAAGT- 3' (for) 5'- AGGGCTTCGATTGGATGGCA-3' (rev)
VEGFR1	5' TTTGCCTGAAATGGTGAGTAAGG-3' (for) 5'-TGGTTTGCTTGAGCTGTGTTC-3' (rev)
VEGFR2	5'-GGCCCAATAATCAGAGTGGCA-3' (for) 5'-CCAGTGTCATTTCCGATCACTTT-3' (rev)
RPL27	5'-ACCGCTACCCCCGCAAAGTG-3'(for) 5'-CCCGTCGGGCCTTGCGTTTA-3'(rev)

Примечание. for — последовательность прямого праймера; rev — последовательность обратного праймера.

(«Biotium», США) по следующей схеме: 95 °C в течение 5 мин — 1 цикл и затем 39 циклов: денатурация — 95 °C, 20 с; отжиг праймеров — 59 °C, 25 с; синтез — 72 °C, 20 с. Каждый образец исследован троекратно. Нуклеотидные последовательности праймеров приведены в **таблице**.

Для нормирования данных использовали экспрессию гена 60S субъединицы рибосомы *RPL27*. Относительный уровень экспрессии каждого гена определяли по формуле $2^{\Delta Ct}$: [$\Delta C_t = C_t(RPL27) - C_t$ (исследуемого гена), где C_t — минимальный пороговый цикл гена в экспоненциальной фазе амплификационной кривой].

Статистическую обработку данных проводили, используя программное обеспечение GraphPad Prism 5.02. Результаты представлены, как $M \pm EM$ или m (где M — среднее арифметическое выборки, EM — стандартная ошибка средней, m — медиана). Статистическую значимость определяли с помощью критерия t Стьюдента при значении $p<0,05$. Корреляционные зависимости определяли с помощью критериев Пирсона (r) или Спирмена (R). Расчет кривых ОВ проводили с помощью метода Каплана—Майера, а статистически значимые различия по выживаемости определяли с помощью теста Мантела—Кокса.

Результаты

Мы определили уровни экспрессии гена *VEGF-A*, а также генов рецепторов *VEGFR1* и *VEGFR2* в мононуклеарных фракциях клеток, полученных от 24 пациентов с МДС. Наши данные показали, что уровни экспрессии генов *VEGF-A*, *VEGFR1* и *VEGFR2* в группе больных с МДС значительно различались. Экспрессия гена фактора роста *VEGF-A* оказалась выше уровней экспрессии генов *VEGFR1* и *VEGFR2* у 22 (91,6%) из 24 пациентов. Наиболее низкими были индивидуальные значения экспрессии гена рецептора *VEGFR2* (0,00003—0,016±0,00066). При этом уровень экспрессии гена *VEGFR1* был в 2,36 раза выше ($p<0,01$) аналогичного показателя для гена *VEGFR2* **(рис. 1)**.

Поскольку риск трансформации МДС в ОЛ является одним из ключевых моментов при данном заболевании, мы разделили пациентов на 2 группы, в зависимости от степени риска прогрессирования заболевания. Эти группы достоверно различались по медиане ОВ. У пациентов 1-й группы медиана ОВ более чем в 3 раза выше ($p<0,01$), чем у пациентов 2-й группы **(рис. 2)**.

Далее мы проанализировали, существуют ли различия в уровнях экспрессии генов *VEGF-A*, *VEGFR1* и *VEGFR2* у пациентов 1-й и 2-й групп. Мы не обнаружили статистически значимой разницы в экспрессии исследованных генов в этих группах **(рис. 3)**. Тем не менее во 2-й группе уровни экспрессии генов *VEGF-A* и *VEGFR1* оказались выше на 21 и 19,6% соответственно, чем в 1-й. При этом экспрессия гена рецептора *VEGFR2* у пациентов с промежуточным-2 и высоким риском прогрессирования (2-я группа), напротив, оказалась ниже на 67%, чем у пациентов с промежуточным-1 и низким риском (1-я группа). Однако описанные различия по уровням экспрессии генов *VEGF-A*, *VEGFR1* и *VEGFR2* между двумя группами не достигали статистической значимости.

Вместе с тем мы обнаружили положительную корреляцию между уровнем экспрессии гена *VEGF-A* и количеством бластных клеток у больных ($p<0,05$; $r=0,49$), тогда как для генов *VEGFR1* и *VEGFR2* такой корреляции не обнаружено. В дополнение к этому мы выявили, что экспрессия гена фактора роста *VEGF-A* в двух группах статистически значимо коррелировала с экспрессией гена рецептора *VEGFR1* ($p<0,05$; $r=0,46$) в отличие от гена рецептора *VEGFR2,* для которого такой корреляции с экспрессией *VEGF-A* не обнаружено ($p=0,08$; $r=0,36$).

Корреляционный анализ связей между показателями ОВ 24 пациентов, включенных в это исследование, и уровнями экспрессии генов *VEGF-A*, *VEGFR1* и *VEGFR2* показал, что экспрессия всех 3 генов обратно коррелировала с ОВ больных, но статистически значимый характер ($r=-0,5$; $p<0,05$) имела лишь для гена *VEGFR1*. Действительно, приняв в качестве дифференцирующего критерия

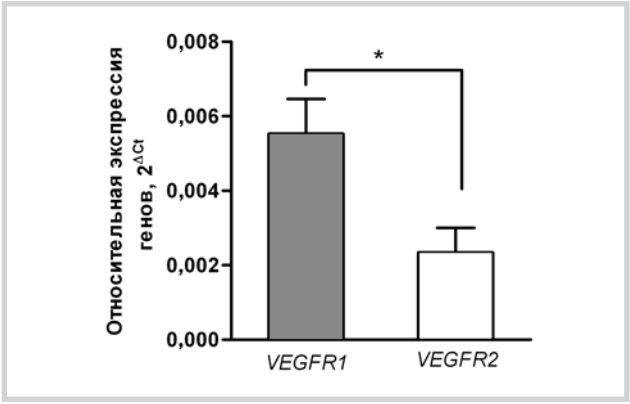


Рис. 1. **Уровни экспрессии генов *VEGFR1* и *VEGFR2* у обследованных больных.**

* — $p<0,01$.

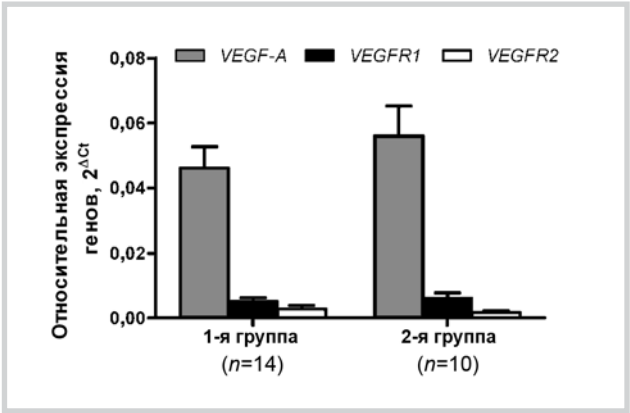


Рис. 2. **Изменения экспрессии генов *VEGF-A/VEGFR1/VEGFR2* в зависимости от степени риска трансформации в ОЛ.**

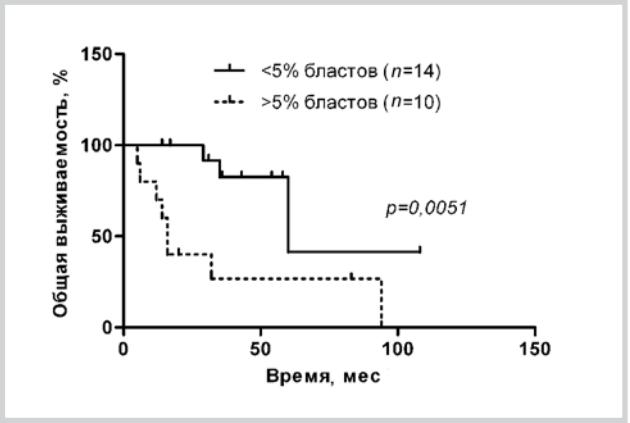


Рис. 3. **ОВ больных с МДС в зависимости от степени риска трансформации в ОЛ.**

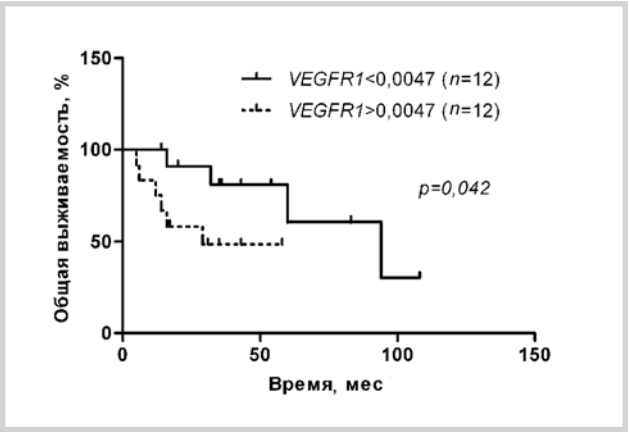


Рис. 4. **ОВ больных, различающихся по уровню экспрессии гена *VEGFR1*.**

только индивидуальные значения экспрессии гена *VEGFR1* у каждого пациента, отклоняющиеся от медианного значения (m=0,0047), и подразделив, таким образом, общую группу больных на подгруппу $VEGFR1_{low}$ (уровень экспрессии *VEGFR1* <m) и подгруппу $VEGFR1_{high}$ (уровень экспрессии *VEGFR1* >m), мы обнаружили статистически значимые различия между кривыми ОВ этих двух подгрупп (p<0,05). Так, медиана общей продолжительности жизни для подгруппы $VEGFR1_{low}$ составила 94 мес, а для подгруппы $VEGFR1_{high}$ — 29 мес **(рис. 4)**.

Обсуждение

Разработке новых подходов и алгоритмов в диагностике различных злокачественных новообразований посвящено значительное число работ, выполненных в последние десятилетия в области экспериментальной онкологии. Исследуемые в них изменения тех или иных молекулярных маркеров позволяют выявлять характерные различия между пулами неопластических и нормальных клеток, что важно для диагностики. В то же время изменения, специфичные лишь для опухолевых клеток, из которых сформирована определенная злокачественная опухоль, могут быть соотнесены с клинически важными для нее показателями и, таким образом, эти изменения могут быть прогностически значимыми.

В этой работе мы исследовали количественное значение экспрессии гена фактора роста эндотелия сосудов *VEGF-A* и генов его рецепторов — *VEGFR1* и *VEGFR2* в качестве возможных диагностических и прогностических факторов для пациентов с различными вариантами МДС.

Известно, что новообразование кровеносных сосудов при участии VEGF-A и его рецепторов VEGFR1 и VEGFR2 является ключевым в стимуляции опухолевого роста и метастазирования [18]. Однако активация сигнальных каскадов, запускаемых лигандом VEGF-A и рецепторами VEGFR1 и VEGFR2, не ограничивается только процессом неоваскуляризации, но также может индуцировать различные митогенные и антиапоптотические клеточные программы [19]. В связи с этим мы предположили, что связанная с функционированием сигнальных систем VEGF-A—VEGFR1 и/или VEGF-A—VEGFR2 гиперэкспрессия генов *VEGF-A/VEGFR1/VEGFR2* может играть определенную роль при МДС. Сравнение уровней экспрессии генов *VEGFR1* и *VEGFR2* показало, что уровень экспрессии гена *VEGFR1* статистически значимо превалировал над экспрессией гена *VEGFR2* в общей группе больных. Вероятно, это указывает на то, что система VEGF-A—VEGFR1, но не VEGF-A—VEGFR2 является доминирующей у обследованных нами пациентов и именно она может отвечать за трансляцию и ангиогенных, и пропролиферативных сигналов, способных индуцировать прогрессирование заболевания. Наши данные частично согласуются с рядом работ, в которых определено негативное прогностическое значение увеличенной экспрессии фактора роста VEGF-A при МДС [14, 20].

Мы не выявили статистически значимых различий по уровням экспрессии генов *VEGF-A* и *VEGFR1* между 1-й и 2-й группами, различающимися по степени риска прогрессирования заболевания. Изменения экспрессии гена *VEGFR2* между этими группами были более выраженными. Однако уровень экспрессии этого гена у больных крайне низкий. При этом мы отметили более низкую экспрессию гена *VEGFR2* во 2-й группе по сравнению с 1-й, которая наблюдалась на фоне более высокой экспрессии генов *VEGF-A* и *VEGFR1* в этой же группе. Мы также обнаружили статистически значимые прямые корреляции между экспрессией *VEGF-A* и количеством бластных клеток у обследованных пациентов, а также уровнями экспрессии генов *VEGF-A* и *VEGFR1*, но не между *VEGF-A* и *VEGFR2*.

Выявленные корреляции в изменении экспрессии генов *VEGF-A/VEGFR1/VEGFR2*, вероятно, указывают на то, что зависимая от VEGF-A сигнальная система может играть важную роль в злокачественной эволюции МДС и реализация сигнала фактора роста VEGF-A при МДС происходит главным образом через рецептор VEGFR1, но не VEGFR2. F. Wimazal и соавт. [21] также обнаружили прямую корреляцию между экспрессией гена *VEGF-A* и количеством незрелых миелоидных клеток (бластов и моноцитарных предшественников, т.е. с более высоким риском трансформации). Так, более высокие уровни белка VEGF-A выявлены у больных с РАИБ, РАИБ с трансформацией в ОЛ и больных хроническим миеломоноцитарным лейкозом по сравнению с контрольной группой.

В нашей работе только уровень экспрессии гена *VEGFR1* статистически значимо обратно связан с ОВ

всех 24 пациентов, включенных в это исследование, но не экспрессия *VEGF-A* и *VEGFR2*. Ранее у 19 первичных больных ММ мы также выявили, что увеличенная коэкспрессия генов *VEGF-A* и *VEGFR1* отмечалась у больных с достоверно более высоким уровнем инфильтрации КМ плазматическими клетками, большей концентрацией опухолевого парапротеина в сыворотке крови и меньшей медианой ОВ [22].

Заключение

Проведен анализ экспрессии генов *VEGF-A*, *VEGFR1* и *VEGFR2* в мононуклеарной фракции клеток больных с МДС. Крайне низкий уровень экспрессии гена, кодирующего рецептор VEGFR2, по-видимому, указывает на то, что зависимый от VEGF-A сигнальный путь может реализовываться в этих клетках через взаимодействие с рецептором *VEGFR1*. Не выявлено статистически значимых различий по экспрессии генов между группами больных с различной степенью риска прогрессирования заболевания. Вместе с тем обнаружена статистически значимая зависимость между ОВ больных и уровнем экспрессии гена *VEGFR1*.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н., Кохно А.В., Семочкин С.В., Афанасьев Б.В., Морозова Е.В., Грицаев С.В., Дудина Г.А., Ширин А.Д., Константинова Т.С., Самойлова О.С., Шатохин Ю.В., Троицкая В.В., Кузьмина Л.А., Обухова Т.Н., Двирнык В.Н., Ковригина А.М., Байков В.В. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению миелодиспластических синдромов взрослых (2015г.). *Гематология и трансфузиология*. 2016;61(4S):1-32. https://doi.org/10.18821/0234-5730-2016-61-1
2. Bejar R, Stevenson K, Abdel-Wahab O, Galili N, Nilsson B, Garcia-Manero G, Kantarjian H, Raza A, Levine R, Neuberg D, Ebert B. Clinical Effect of Point Mutations in Myelodysplastic Syndromes. *New England Journal of Medicine*. 2011;364(26):2496-2506. https://doi.org/10.1056/nejmoa1013343
3. Papaemmanuil E, Gerstung M, Malcovati L, Tauro S, Gundem G, Van Loo P, Yoon C, Ellis P, Wedge D, Pellagatti A, Shlien A, Groves M, Forbes S, Raine K, Hinton J, Mudie L, McLaren S, Hardy C, Latimer C, Della Porta M, O'Meara S, Ambaglio I, Galli A, Butler A, Walldin G, Teague J, Quek L, Sternberg A, Gambacorti-Passerini C, Cross N, Green A, Boultwood J, Vyas P, Hellstrom-Lindberg E, Bowen D, Cazzola M, Stratton M, Campbell P. Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2013;122(22):3616-3627. https://doi.org/10.1182/blood-2013-08-518886
4. Odenike O, Anastasi J, Le Beau M. Myelodysplastic Syndromes. *Clinics in Laboratory Medicine*. 2011;31(4):763-784. https://doi.org/10.1016/j.cll.2011.08.005
5. Garcia-Manero G. Myelodysplastic syndromes: 2014 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *American Journal of Hematology*. 2014;89(1):97-108. https://doi.org/10.1002/ajh.23642
6. Foucar K. Myelodysplastic/Myeloproliferative Neoplasms. *American Journal of Clinical Pathology*. 2009;132(2):281-289. https://doi.org/10.1309/ajcpj71ptvikgevt
7. *Программное лечение заболеваний системы крови*. Под ред. Савченко В.Г. М.: Издательство Практика; 2012:87-113.
8. Lindsley RC, Ebert BL. Molecular Pathophysiology of Myelodysplastic Syndromes. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. 2013;8(1):21-47. https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-011811-132436
9. Adams RH, Alitalo K. Molecular regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2007;8(6):464-478. https://doi.org/10.1038/nrm2183
10. Lee T, Seng S, Sekine M, Hinton C, Fu Y, Avraham HK, Avraham S. Vascular Endothelial Growth Factor Mediates Intracrine Survival in Human Breast Carcinoma Cells through Internally Expressed VEGFR1/FLT1. *PLoS Medicine*. 2007;4(6):e186. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0040186
11. Vincent L, Jin DK, Karajannis MA, Shido K, Hooper AT, Rashbaum WK, Pytowski B, Wu Y, Hicklin DJ, Zhu Z, Bohlen P, Niesvizky R, Rafii S. Fetal stromaldependent paracrine and intracrine vascular endothelial growth factor-a/vascular endothelial growth factor receptor-1 signaling promotes proliferation and motility of human primary myeloma cells. *Cancer Research*. 2005; 65:3185-3192.
12. Wang ES, Teruya-Feldstein J, Wu Y, Zhu Z, Hicklin DJ, Moore MA. Targeting autocrine and paracrine VEGF receptor pathways inhibits human lymphoma xenografts *in vivo*. *Blood*. 2004; 104(9):2893-2902. https://doi.org/10.1182/blood-2004-01-0226
13. Aguayo A, Kantarjian H, Estey E, Giles F, Verstovsek S, Manshouri T, Gidel C, O'Brien S, Keating M, Albitar M. Plasma vascular endothelial growth factor levels have prognostic significance in patients with acute myeloid leukemia but not in patients with myelodysplastic syndromes. *Cancer*. 2002;95(9):1923-1930. https://doi.org/10.1002/cncr.10900
14. Verstovsek S, Estey E, Manshouri T, Giles F, Cortes J, Beran M, Rogers A, Keating M, Kantarjian H, Albitar M. Clinical relevance of vascular endothelial growth factor receptors 1 and 2 in acute myeloid leukaemia and myelodysplastic syndrome. *British Journal of Haematology*. 2002;118(1):151-156. https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.2002.03551.x
15. Brunning RD, Orazi A, Germing U. Myelodysplastic syndromes. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, eds. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon, France: IARC Press; 2008:87-104.
16. Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, Fenaux P, Morel P, Sanz G, Sanz M, Vallespi T, Hamblin T, Oscier D, Ohyashiki K, Toyama K, Aul C, Mufti G, Bennett J. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 1997; 89(6):2079-2088.
17. Калитин Н.Н., Буравцова И.В. Корреляция экспрессии транскрипционного фактора RARα и генов VEGFR3-зависимой сигнальной системы при множественной миеломе. *Клиническая онкогематология*. 2015;8(1):31-36.

18. Podar K, Anderson KC. The pathophysiologic role of VEGF in hematologic malignancies: therapeutic implications. *Blood*. 2005;105(4):1383-1395. https://doi.org/10.1182/blood-2004-07-2909

19. Schuch G, Machluf M, Bartsch G Jr, Nomi M, Richard H, Atala A, Soker S. In vivo administration of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its antagonist, soluble neuropilin-1, predicts a role of VEGF in the progression of acute myeloid leukemia in vivo. *Blood*. 2002;100(13):4622-4628. https://doi.org/10.1182/blood.v100.13.4622

20. Aguayo A, Kantarjian H, Manshouri T, Gidel C, Estey E, Thomas D, Koller C, Estrov Z, O'Brien S, Keating M, Freireich E, Albitar M. Angiogenesis in acute and chronic leukemias and myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2000;96(6):2240-2245.

21. Wimazal F, Krauth M, Vales A, Böhm A, Agis H, Sonneck K, Aichberger K, Mayerhofer M, Simonitsch-Klupp I, Müllauer L, Sperr W, Valent P. Immunohistochemical detection of vascular endothelial growth factor (VEGF) in the bone marrow in patients with myelodysplastic syndromes: correlation between VEGF expression and the FAB category. *Leukemia & Lymphoma*. 2006; 47(3):451-460. https://doi.org/10.1080/10428190500353083

22. Калитин Н.Н., Буравцова И.В. Дифференциальная экспрессия изоформ β_2 и β_4 гена рецептора ретиноевой кислоты *RARβ* в качестве возможного прогностического фактора при множественной миеломе. *Вопросы онкологии*. 2015;61(6):945-948.

Поступила 16.02.17