

DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2024-19-2-34-45>

Концентрация растворимых молекул VEGFA, VEGFR1, VEGFR2 в сыворотке крови и спинномозговой жидкости у пациентов с острыми лейкозами

Е.И. Захарько, В.Н. Двирнык, Ю.А. Чабаева, Д.Г. Дрокова, Е.Б. Рыбкина, К.А. Лавришинец, А.В. Булгаков, М.Н. Панасенко, З.Т. Фидарова, И.А. Лукьянова, О.А. Алёшина, С.М. Куликов, Т.В. Гапонова, В.В. Троицкая, Е.Н. Паровичникова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России; Россия, 125167 Москва, Новый Зыковский пр-д, 4

Контакты: Екатерина Игоревна Захарько ekaterinasz@list.ru

Введение. Вазкулярный эндотелиальный фактор роста А (vascular endothelial growth factor A, VEGFA) – одна из важнейших молекул, регулирующих дифференцировку стволовых гемопоэтических клеток, участвующих в процессах лейкогенеза и поражения центральной нервной системы при острых лейкозах. Отмечается увеличение продукции фактора бластными клетками, но показатели сывороточной концентрации и связь с нейрорлейкемией противоречивы.

Цель исследования – оценить концентрацию VEGFA и его растворимых рецепторов (VEGFR1, VEGFR2) в сыворотке крови и спинномозговой жидкости пациентов с разными вариантами острых лейкозов в дебюте заболевания и на этапах терапии.

Материалы и методы. Концентрация VEGFA в сыворотке крови и спинномозговой жидкости исследована у 74 первичных больных острым лейкозом. Группу сравнения составили 67 здоровых доноров. Концентрация VEGFR1, VEGFR2 исследована в сыворотке крови и спинномозговой жидкости у 34 пациентов в дебюте заболевания. Группу сравнения составили 10 здоровых доноров. Для анализа использовали иммуноферментный метод на полуавтоматическом анализаторе Personal Lab (Adaltis) и реагенты Affymetrix eBioscience Human VEGF-A Platinum ELISA.

Результаты. Медиана концентрации VEGFA в сыворотке крови оказалась статистически значимо ниже у пациентов с острым лейкозом по сравнению с таковой у доноров – 149,78 и 432,19 пг/мл соответственно ($p < 0,0001$). Дефицит фактора был статистически значимо более выражен при наличии бластемии ($p < 0,015$). На фоне противоопухолевой терапии отмечена тенденция к увеличению количества VEGFA в сыворотке крови. Выявлено снижение концентрации VEGFR2 у пациентов по сравнению с донорами (6949,9 и 8795,9 пг/мл соответственно; $p = 0,0026$), для VEGFR1 такой тенденции не обнаружено. Концентрация VEGFR1 и VEGFR2 в сыворотке крови была выше, чем в спинномозговой жидкости ($p < 0,0001$), при этом для VEGFR1 выявлялась положительная корреляция концентраций в сыворотке крови и спинномозговой жидкости. Концентрация VEGFR1 в спинномозговой жидкости была статистически значимо ниже у пациентов с В-лимфобластным лейкозом/лимфомой по сравнению с другими вариантами лейкемии.

Заключение. Концентрация VEGFA в сыворотке крови у пациентов с бластемией снижается. Это может свидетельствовать об отсутствии секреции и избыточном потреблении фактора бластными клетками на фоне снижения доли лейкоцитов, в норме секретирующих фактор. В спинномозговой жидкости концентрация молекул VEGFR1 и VEGFR2 ниже, чем в сыворотке крови, при этом наиболее низкие значения выявлены у пациентов с В-лимфобластным лейкозом/лимфомой, но связи с нейрорлейкемией не обнаружено.

Ключевые слова: острый лейкоз, нейрорлейкемия, VEGFA, VEGFR1, VEGFR2

Для цитирования: Захарько Е.И., Двирнык В.Н., Чабаева Ю.А. и др. Концентрация растворимых молекул VEGFA, VEGFR1, VEGFR2 в сыворотке крови и спинномозговой жидкости у пациентов с острыми лейкозами. Онкогематология 2024;19(2):34–45. DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2024-19-2-34-45>

VEGFA, VEGFR1, VEGFR2 serum and cerebrospinal fluid concentration in patients with acute leukemia

E.I. Zakharko, V.N. Dvirnyk, Yu.A. Chabaeva, D.G. Drokova, E.B. Rybkina, K.A. Lavrishinets, A.V. Bulgakov, M.N. Panasenko, Z.T. Fidarova, I.A. Lukianova, O.A. Aleshina, S.M. Kulikov, T.V. Gaponova, V.V. Troitskaya, E.N. Parovichnikova

National Medical Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia; 4 Novyy Zykovskiy Proezd, Moscow 125167, Russia

Contacts: Ekaterina Igorevna Zakharko ekaterinasz@list.ru

Background. Vascular endothelial growth factor A (VEGFA) is one of the most important factors for regulation of hematopoietic stem cells differentiation. It is involved in leukemogenesis and central nervous system (CNS) damage in acute leukemia. According to the literature, the VEGFA production by blast cells is increased, but the values of serum concentration and the associations with CNS involvement are contradictory.

Aim. Evaluate the VEGFA, VEGFR1, VEGFR2 concentration in serum and cerebrospinal fluid of patient with different types of acute leukemia in disease onset and during treatment.

Materials and methods. The concentration of VEGFA in serum and cerebrospinal fluid was studied in 74 primary patients with acute leukemia. The comparison group consisted of 67 healthy donors. VEGFR1, VEGFR2 were studied in serum and cerebrospinal fluid in 34 patients at the onset of the disease. The comparison group consisted of 10 healthy donors. For the analysis, an enzyme immunoassay was used on a semi-automatic Personal Lab analyzer (Adaltis) and Affymetrix eBioscience Human VEGF-A Platinum ELISA reagents.

Results. Serum VEGFA concentration was statistically significantly lower in acute leukemia patients than that of donors (median 149.78 and 432.19 pg/mL respectively; $p < 0.0001$). Factor deficiency was significantly more pronounced in patients with blastemia ($p < 0.015$). During antitumor therapy, there was a tendency to increase the amount of the factor in the blood serum. Serum concentration of soluble VEGFR2 was also lower in patients than that of donors (6949.9 and 8795.9 pg/mL respectively; $p = 0.0026$). For concentration of VEGFR1 such deviations were not found. The concentrations of VEGFR1 and VEGFR2 in serum were higher than in cerebrospinal fluid ($p < 0.0001$), while VEGFR1 showed a positive correlation between serum and cerebrospinal fluid concentrations. The concentration of VEGFR1 in the cerebrospinal fluid was significantly lower in patients with B-lymphoblastic leukemia/lymphoma compared to other types of leukemia.

Conclusion. The concentration of VEGFA in serum decreases in patients with blastemia, this may indicate a lack of secretion and excessive consumption of the factor by blast cells with a decrease in the proportion of leukocytes that normally secrete the factor. In the cerebrospinal fluid, the concentrations of VEGFR1 and VEGFR2 are lower than in serum, with the lowest values being found in patients with B-lymphoblastic leukemia/lymphoma, but no relationship with the development of CNS involvement was found

Keywords: acute leukemia, neuroleukemia, VEGFA, VEGFR1, VEGFR2

For citation: Zakharko E.I., Dvirnyk V.N., Chabaeva Yu.A. et al. VEGFA, VEGFR1, VEGFR2 serum and cerebrospinal fluid concentration in patients with acute leukemia. *Onkologematologiya = Oncohematology* 2024;19(2):34–45. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2024-19-2-34-45>

Введение

Васкулярный эндотелиальный фактор роста A (vascular endothelial growth factor A, VEGFA) – наиболее известный цитокин семейства факторов роста, к которым также относятся VEGFB, VEGFC и VEGFD и плацентарный фактор роста (placental growth factor, PGF) [1, 2].

Ген *VEGFA* располагается на хромосоме бр21.3 и состоит из 8 экзонов и 7 интронов. В результате альтернативного сплайсинга формируется 6 вариантов изоформ белка: VEGF121, VEGF145, VEGF165, VEGF183, VEGF189, VEGF206 (цифра обозначает число аминокислот). VEGF165 – наиболее распространенная в организме человека изоформа фактора. По мере увеличения молекулярной массы усиливается способность белка связываться с мембраной клетки через гепаринсвязывающий домен. Так, VEGF121 практически всегда присутствует в секретируемой форме во внеклеточном пространстве, VEGF165 имеет одинаковую способность и к диффузии, и к связыванию с мембраной, а VEGF206 присутствует преимущественно на клеточной мембране [1, 2].

VEGFA обладает широким разнонаправленным набором функций: стимулирует митотическую активность и выживание эндотелиальных клеток, тем самым усиливает процесс ангиогенеза, вазодилатацию и про-

ницаемость кровеносных сосудов; стимулирует выброс провоспалительных цитокинов, ионов кальция, оксида азота; вносит значимый вклад в процессы гемопоэза начиная с эмбрионального периода [1–3].

Фактор секретируется клетками тканей различных органов (гепатоцитами, мезангиальными клетками почек, астроцитами, мегакариоцитами, моноцитами, макрофагами, тромбоцитами, гранулоцитами) в ответ на гипоксию, травму и другие повреждающие стимулы. Далее VEGFA осуществляет свои биологические эффекты за счет взаимодействия с рецепторами (VEGFR1 и VEGFR2) на клетках-мишенях (эндотелиоцитах, моноцитах, стволовых гемопоэтических клетках-предшественниках). Оба рецептора гомологичны на 43 %, они состоят из 7 IgG-подобных внеклеточных доменов, а также из трансмембранного и цитоплазматического домена. Цитоплазматический домен содержит тирозинкиназу, тип которой является главной отличительной чертой каждого рецептора. VEGFR1 называют *c-fms-like* тирозинкиназой (Flt-1), а VEGFR2 – рецептор, содержащий киназный домен KDR (kinase insert domain-containing receptor). Считается, что VEGFR1 преимущественно участвует в регуляции гемопоэза, а VEGFR2 – ангиогенеза, однако это разделение нельзя считать однозначным. В растворимой форме рецепторы могут оказывать ингибирующий эффект, связывая

свободный VEGFA и препятствуя его взаимодействию с клетками-мишенями. VEGFR1 и VEGFR2 экспрессируются на мембране эндотелиальных клеток, а также макрофагов, мегакариоцитов и стволовых гемопоэтических клеток-предшественниц [4–6].

Известно, что через VEGFA реализуются патофизиологические процессы, способствующие развитию солидных опухолей [7–9]. Опухоль размером >2 мм в наибольшем измерении не может существовать без дополнительного кровоснабжения. Для дальнейшего роста ей необходимо все большее поступление кислорода и питательных веществ. В условиях гипоксии в опухолевых клетках активируется индуцированный гипоксией фактор 1 (hypoxia-inducible factor-1, HIF-1), который, в свою очередь, запускает экспрессию гена *VEGF*. VEGFA стимулирует эндотелиальные клетки к пролиферации и формированию новой сосудистой сети, способствуя дальнейшему опухолевому росту. Такой механизм характерен, например, для рака шейки матки, молочной железы, яичника. Однако активация HIF-1 может происходить и независимо от гипоксии путем при наличии мутаций в генах белков p53, c-Myc, PTEN, что наблюдается, например, при раке почки [1, 2, 10, 11].

Для онкогематологических заболеваний ангиогенез также является важным фактором опухолевого роста. Было показано, что прогрессия острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), хронического миелолейкоза, миелодиспластических синдромов, множественной миеломы коррелирует с васкуляризацией костного мозга. По данным некоторых исследований, высокая плотность микрососудов служит независимым прогностическим параметром, оказывающим влияние на снижение показателей общей выживаемости при ОМЛ [11–15].

Однако расширение сосудистой сети может иметь несколько иное значение для онкогематологических новообразований. Процессы кроветворения происходят в костномозговой нише, которая подразделяется на «остеогенную» (вблизи костной ткани) и «васкулярную» (вблизи капиллярного русла). Остеобласты и клетки эндотелия оказывают непосредственное влияние на пролиферацию и выживание гемопоэтических стволовых клеток и более зрелых гемопоэтических клеток-предшественниц, а также обладают специфическими молекулами адгезии, обеспечивающими миграцию созревающих клеток в процессе дифференцировки и выход их в кровеносное русло на конечных стадиях развития. Таким образом, увеличение массы эндотелия осуществляет не трофическое, а паракринное стимулирующее действие на гемопоэтические опухолевые клетки. Кроме этого, эндотелий сосудов может замещаться стромальными клетками, макрофагами, тучными клетками (это явление получило название «васкулогенная мимикрия»), при этом кардинально искажаются сигналы от микроокружения, что также может способствовать опухолевой пролиферации [11, 16].

При множественной миеломе микроокружение является ключевым фактором патогенеза. Было доказано, что миеломные клетки секретируют VEGFA, который, в свою очередь, стимулирует выделение интерлейкинов (ИЛ) 6, 1β, фактора некроза опухоли α (ФНО-α) клетками микроокружения. ИЛ-6 способствует росту и выживанию плазматических клеток, а ИЛ-1β и ФНО-α активируют остеокласты, способствуя остеорезорбции.

При РОEMS-синдроме эффект VEGFA – основной триггерный фактор, стимулирующий выброс патогенетически значимых провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-1β, ФНО-α), поэтому увеличение концентрации VEGFA является одним из главных критериев диагностики заболевания [11, 16, 17].

Помимо ангиогенного воздействия и паракринной стимуляции клеток микроокружения, VEGFA является непосредственным медиатором гемопоэза, что подтверждается в экспериментах на животных, а также *in vitro*. Эмбрионы мышей с инактивированным геном *VEGFA* погибали на 10-й день гестационного периода, при этом в гистологических образцах выявлялись нарушения формирования сосудов и гемопоэтических островков в желточном мешке. Избыточное количество фактора у взрослых животных вызывало ингибирование пролиферации дендритных клеток, атрофические изменения в тимусе с подавлением развития Т-лимфоцитов [5]. Добавление VEGFA в колонию гемопоэтических стволовых клеток приводило к увеличению экспрессии антиапоптотических генов (например, *bcl-2*) *in vitro* [2, 18]. Фактор в повышенной концентрации может оказывать стимулирующее и антиапоптотическое действие, способствуя процессам лейкогенеза.

На сегодняшний день в клинической практике рутинным методом является определение сывороточной концентрации VEGFA. Показатель применяется в офтальмологии, неврологии, общей онкологии и онкогематологии – для диагностики РОEMS-синдрома, как было отмечено ранее [17, 19, 20].

Выявлено увеличение концентрации фактора при агрессивных лимфомах (лимфоме Беркитта), миело-пролиферативных заболеваниях (первичном миелофиброзе) [16, 21–24]. Однако по анализу концентрации VEGFA в сыворотке пациентов с острыми лейкозами данные достаточно противоречивы. В некоторых публикациях отмечается увеличение концентрации VEGFA в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой [25], в других – снижение в дебюте заболевания с последующим увеличением в ремиссии [24].

По результатам большого количества научных исследований отмечается увеличение экспрессии гена *VEGF* в бластных клетках пациентов с острым лимфобластным лейкозом и ОМЛ [4, 18, 25–28]. Выявлено увеличение концентрации белка VEGFA в лизатах бластных клеток крови и костного мозга пациентов с ОМЛ [29]. Полученные данные свидетельствуют

о том, что у пациентов с острыми лейкозами образуется больше белка VEGFA, чем у здоровых индивидов, за счет избыточной продукции фактора бластными клетками.

Также было обнаружено, что помимо синтеза самого фактора бластные клетки при ОМЛ экспрессируют рецепторы VEGFR1 и VEGFR2. Избыточный синтез этих белков был подтвержден различными методами исследования (вестерн-блоттинг, иммуноцитохимия) [4–6, 29–33].

Существуют различные типы воздействия гормонов и факторов роста на клетки-мишени в зависимости от того, где располагается рецептор для этого фактора. Паракринный эффект осуществляется, если белок (гормон, фактор роста, цитокин) продуцируется одной клеткой, а рецептор располагается на другой. Аутокринный эффект осуществляется в том случае, когда рецептор располагается на самой клетке-продуценте фактора. Таким образом, клетка синтезирует белок и сама же реагирует на взаимодействие с ним. Кроме этого, различают внешний и внутренний аутокринные пути воздействия. В первом варианте рецептор располагается на поверхности клетки-продуцента. Во втором – внутри клетки, при этом фактор активно синтезируется, но не секретируется наружу. VEGFA относится к тем белкам, которые могут воздействовать через паракринный путь, как, например, при РОEMS-синдроме, и через аутокринный путь, включая внутреннюю аутокринную стимуляцию. Некоторые авторы отмечают, что при остром лейкозе как раз происходит этот вариант стимуляции [2, 29, 30].

Не вызывает сомнения факт, что VEGFA играет определенную роль в лейкомогенезе при остром лейкозе. Однако остается неясным, как изменяются сывороточные значения фактора и оказывают ли эти изменения на клиническое течение и прогноз заболевания.

Кроме этого, в экспериментальных моделях на животных изучали влияние фактора на развитие нейролейкемии при остром лимфобластном лейкозе. Кроме того, были выделены и исследованы бластные клетки, изолированные из костного мозга и оболочек головного мозга. При этом в бластных клетках центральной нервной системы отмечалось увеличение экспрессии гена *VEGF* по сравнению с бластными клетками костного мозга [34]. Предполагается, что VEGFA способствует миграции, выживанию, росту, пролиферации бластных клеток, а также влияет на повышение проницаемости сосудов головного мозга и проникновение опухолевых клеток через гематоэнцефалический барьер [35, 36].

Более 20 лет разрабатываются антиангиогенные подходы к терапии онкогематологических заболеваний. К препаратам этой группы относятся талидомид и леналидомид, которые снижают уровень VEGFA в сыворотке крови; ингибиторы тирозинкиназ, блокирующие передачу сигнала при взаимодействии VEGFA и рецепторов; а также моноклональные анти-

тела к VEGFA (афлиберцепт, ранибизумаб и бевацизумаб), блокирующие сам фактор. Препараты последней группы применяются в настоящее время в терапии рака различных типов и показали противоопухолевый эффект также при остром лейкозе на животных моделях [11, 21, 35].

В связи с этим представляется актуальным исследование концентрации фактора и его рецепторов в сыворотке крови и ликворе пациентов с острым лейкозом для определения биологической роли VEGFA.

Цель исследования – оценить концентрацию VEGFA и его растворимых рецепторов VEGFR1, VEGFR2 в сыворотке крови и ликворе пациентов с острым лейкозом в зависимости от варианта лейкемии, клинико-лабораторных характеристик в дебюте заболевания и на разных этапах программной химиотерапии.

Материалы и методы

Исследование проводили с 2018 по 2022 г.

Первой задачей работы было определение концентрации VEGFA в сыворотке крови и спинномозговой жидкости (СМЖ). В анализ были включены 74 пациента (40 женщин и 34 мужчины) с острым лейкозом: 39 (53 %) – с ОМЛ, в том числе с миелоидной саркомой – 1; 22 (29,7 %) – с В-лимфобластным лейкозом/лимфомой (В-ОЛЛ), 12 (16 %) – с Т-лимфобластным лейкозом/лимфомой, 1 (1,3 %) – с острым лейкозом со смешанным фенотипом. Медиана возраста пациентов составила 35,5 года (табл. 1).

У 35 из этих пациентов (27 (77 %) – с острым лимфобластным лейкозом; 8 (23 %) – с ОМЛ) оценивали концентрацию фактора в сыворотке крови и СМЖ как в дебюте заболевания, так и на фоне терапии: у 25 пациентов – на 35-й день терапии, у 17 – на 70-й, у 15 – на 105-й, у 9 – на 135-й, у 8 – на 190-й.

В качестве сравнения проанализирована концентрация VEGFA в сыворотке крови 67 здоровых доноров (45 мужчин, 22 женщины; медиана возраста 35 лет).

Второй задачей исследования было определение концентрации растворимых рецепторов VEGFR1, VEGFR2 в сыворотке крови и СМЖ. В анализ были включены 34 (18 мужчин и 16 женщин) из 74 пациентов в дебюте заболевания: 15 (45 %) – с ОМЛ; 12 (36 %) – с В-ОЛЛ, 7 (19 %) – с Т-лимфобластным лейкозом/лимфомой. Медиана возраста пациентов составила 36 лет (см. табл. 1). Для этой задачи контрольную группу составили 10 здоровых доноров (6 мужчин, 4 женщины; медиана возраста 35 лет).

Для анализа был использован иммуноферментный метод на полуавтоматическом анализаторе Personal Lab (Adaltis) и реагенты Affymetrix eBioscience Human VEGF-A Platinum ELISA.

Образцы сыворотки крови и СМЖ были собраны в день выполнения 1-й диагностической люмбальной пункции после подписания информированного согласия пациента, далее центрифугировались и хранились при температуре -20°C до момента исследования.

Таблица 1. Клинико-лабораторная характеристика пациентов с острым лейкозом в дебюте заболевания

Table 1. Clinical and laboratory characteristics of patients with acute leukemia at the disease onset

Характеристика Characteristic	В-лимфобластный лейкоз/лимфома (n = 22) B-lymphoblastic leuke- mia/lymphoma (n = 22)	T-лимфобластный лейкоз/лимфома (n = 12) T-lymphoblastic leuke- mia/lymphoma (n = 12)	Острый миелоидный лейкоз (n = 39) Acute myeloid leukemia (n = 39)	p
Медиана возраста (диапазон), лет Median age (range), years	36,5 (18–68)	29,5 (19–48)	39 (18–76)	>0,05
Пол, n (%): Gender, n (%):				
мужской male	11 (50)	5 (42)	16 (41)	>0,05
женский female	11 (40)	7 (58)	23 (59)	>0,05
Медиана уровня гемоглобина (диапазон), г/л Median hemoglobin level (range), g/L	93 (48–125)	101,5 (60–153)	89 (50–143)	>0,05
Медиана уровня тромбоцитов (диапазон), × 10 ⁹ /л Median platelets (range), × 10 ⁹ /L	57 (1–284)	38 (9–374)	62 (14–827)	>0,05
Медиана уровня лейкоцитов (диапазон), × 10 ⁹ /л Median WBC (range), × 10 ⁹ /L	5,9 (1,18–31,96)	13,6 (0,33–117,79)	5,44 (1,03–144,21)	>0,05
Медиана количества бластных клеток костного мозга (диапазон), % Median blast cells, bone marrow (range), %	81,2 (2–94)	91 (8–96,8)	67,8 (0–98)	>0,05
Медиана количества бластных клеток периферической крови, % Median blast cells, peripheral blood, %	16 (0–96)	60 (36–88)	8,5 (0–93)	>0,05
Медиана активности лактатдегидрогеназы, ед/л Median lactate dehydrogenase level (range), U/L	1079 (163–7348,8)	2226 (354–5195)	843 (182–8566,8)	>0,05
Поражение центральной нервной системы, n (%) Central nervous system involvement, n (%)	6 (27)	5 (42)	11 (28)	>0,05
Мутация BCR-ABL, n (%) BCR-ABL mutation, n (%)	4 (18)	0	0	>0,05
Поражение лимфатических узлов, n (%) Lymph nodes involvement, n (%)	5 (23)	9 (75)	10 (26)	>0,05
Спленомегалия, n (%) Spleen enlarged, n (%)	15 (68)	7 (58)	13 (33)	>0,05
Гепатомегалия, n (%) Liver enlarged, n (%)	15 (68)	6 (50)	19 (49)	>0,05

Статистические методы. Для анализа результатов использовали классические методы описательной статистики, частотный и регрессионный анализ. Для определения статистической значимости при проверке гипотез о наличии различий в распределениях числовых показателей 2 независимых выборок использовали критерий Манна–Уитни. Динамику исследуемых лабораторных измерений изучали с помощью методов

анализа повторных наблюдений в общей линейной модели.

Результаты

Анализ концентрации VEGFA

Для оценки воспроизводимости метода были проведены серии повторных измерений из 1 образца у 7 доноров (рис. 1).

Для каждого донора была определена индивидуальная относительная ошибка измерения, равная отношению стандартного отклонения серии измерений для донора к среднему значению концентрации VEGFA донора. Оценки индивидуальной относительной ошибки в группе доноров составили: среднее значение 0,03, стандартное отклонение 0,01, медиана 0,04, что свидетельствует о хорошей воспроизводимости метода (относительная ошибка метода составила 3 (1–4) %). В связи с этим для дальнейшего анализа у доноров с наличием серийных измерений в качестве базового значения была взята медиана концентрации VEGFA.

Не обнаружено статистически значимых различий в концентрации VEGFA у доноров в зависимости от пола (медиана концентрации VEGFA у женщин – 444,52 пг/мл, у мужчин – 426,37 пг/мл; Манна–Уитни $p = 1$) или возраста (коэффициент корреляции Спирмана $r = -0,06129$; $p < 0,6195$), поэтому не было необходимости ввода половозрастной детализации границ нормы. В качестве границ нормы концентрации VEGFA для группы сравнения были выбраны 15 и 85 % квантили распределения концентрации VEGFA здоровых доноров. Диапазон нормальных значений концентрации для VEGFA в сыворотке крови составил 196–606 пг/мл, медиана концентрации VEGFA в группе сравнения – 432,19 пг/мл.

Группа пациентов с острым лейкозом. В сыворотке крови пациентов не обнаружено статистически значимых различий в концентрации VEGFA в зависимости от иммунологического варианта острого лейкоза (табл. 2), наличия нейролейкемии. В связи с этим дальнейший анализ был проведен в общей группе пациентов с острым лейкозом и группе сравнения (табл. 3).

В СМЖ значение концентрации VEGFA было ниже предела чувствительности используемого набора для исследования (15,6 пг/мл) вне зависимости от ци-

тоза и наличия нейролейкемии. Таким образом, используемый нами набор реактивов не является подходящим для исследования ликвора, хотя обладает минимальным порогом чувствительности из всех реагентов, доступных в России на момент проведения данной работы.

Концентрация VEGFA в сыворотке крови пациентов в дебюте заболевания оказалась существенно ниже, чем в сыворотке доноров (медиана 149,78 (5–6357) и 432,19 (196–606) пг/мл соответственно; $p < 0,0001$).

Дефицит фактора был статистически значимо более выражен у пациентов с бластемией ($n = 67$) – медиана 128,09 (4,76–2000) пг/мл, при этом медиана концентрации VEGFA у пациентов без бластных клеток в периферической крови ($n = 7$) – 470,79 (13,75–1298,01) пг/мл ($p < 0,015$) (рис. 2).

Далее концентрация фактора у пациентов была исследована на разных этапах лечения. Число пациентов без бластных клеток в периферической крови было невелико ($n = 7$), при этом данные повторных измерений уровня VEGFA имелись только для 1 пациента этой группы. Поэтому было принято решение изучить динамику концентрации VEGFA в сыворотке крови на фоне проведения терапии только у пациентов с бластемией. Для этого были проанализированы индивидуальные динамики и усредненная регрессионная зависимость с учетом повторных измерений концентрации VEGFA и нескольких параметров периферической крови (лейкоциты, моноциты, тромбоциты). Анализы крови подбирались в диапазоне от –2-го дня до даты забора сыворотки на исследование VEGFA. В случае наличия нескольких измерений в качестве базового значения принимали медиану соответствующего показателя.

На фоне программной химиотерапии инициальное значение концентрации VEGFA в сыворотке крови

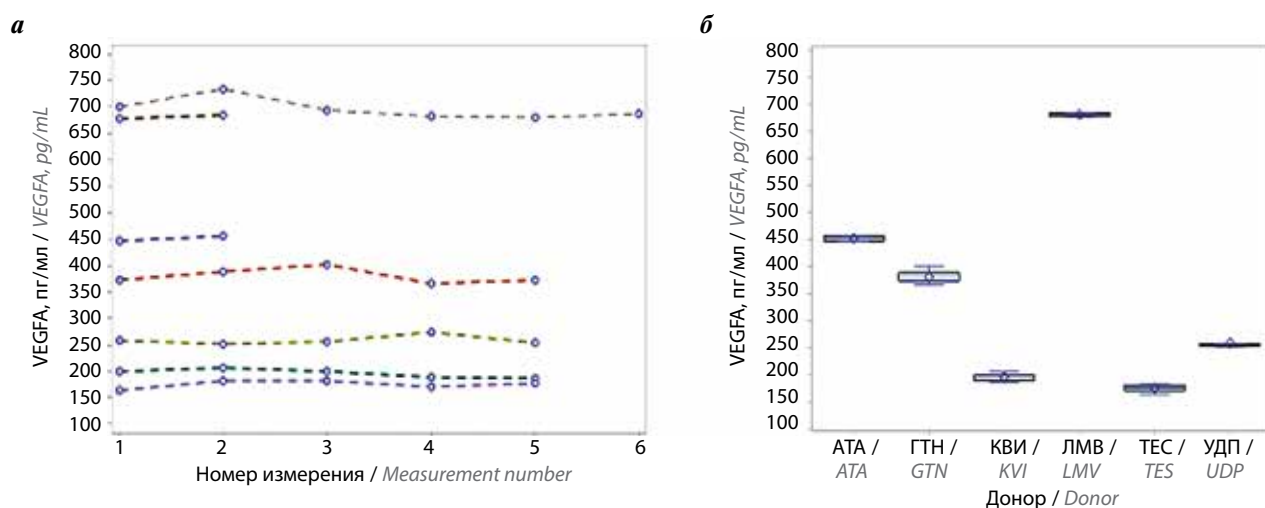


Рис. 1. Повторные измерения концентрации VEGFA в сыворотке крови доноров: а – индивидуальные изменения концентрации VEGFA при серийных измерениях для каждого донора; б – диаграммы размаха при серийных измерениях для каждого донора. Здесь и на рис. 2, 3: VEGFA – сосудистый эндотелиальный фактор роста А

Fig. 1. Repeated VEGFA measurements in donor serum: а – individual changes in VEGFA concentration during serial measurements for each donor; б – span diagrams during serial measurements for each donor. Here and in Fig. 2, 3: VEGFA – vascular endothelial growth factor A

Таблица 2. Концентрация VEGFA, VEGFR1, VEGFR2 в сыворотке крови и спинномозговой жидкости пациентов с различными иммунологическими вариантами острого лейкоза, медиана (диапазон), пг/мл

Table 2. VEGFA, VEGFR1, VEGFR2 concentration in serum and cerebrospinal fluid of patients with various immunological variants of acute leukemia, median (range), pg/mL

Показатель Parameter	В-лимфобластный лейкоз/лимфома VEGFA (n = 22); VEGFR1/R2 (n = 12) B-lymphoblastic leukemia/lymphoma VEGFA (n = 22); VEGFR1/R2 (n = 12)	Т-лимфобластный лейкоз/лимфома VEGFA (n = 12); VEGFR1/R2 (n = 7) T-lymphoblastic leukemia/lymphoma VEGFA (n = 12); VEGFR1/R2 (n = 7)	Острый миелоидный лейкоз VEGFA (n = 39); VEGFR1/R2 (n = 16) Acute myeloid leukemia VEGFA (n = 39); VEGFR1/R2 (n = 16)	Все пациенты VEGFA (n = 74); VEGFR1/R2 (n = 35) Total patients VEGFA (n = 74); VEGFR1/R2 (n = 35)	p
VEGFA, сыворотка крови VEGFA, serum	182,11 (16,33–1928,23)	78,07 (4,76–1531,66)	150,51 (8,06–1928,01)	149,78 (5–1928)	>0,05
VEGFR1, сыворотка крови VEGFR1, serum	445,48 (213,21–1517,8)	464,54 (253,87–22840,4)	352,55 (218,87–1832,58)	410,19 (213,21–22840,44)	>0,05
VEGFR1, спинномозговая жидкость VEGFR1, cerebrospinal fluid	120,12 (83,33–173,35)	206,4 (139,94–357,03)	176,78 (68,76–466,79)	149 (46,39–466,79)	0,003
VEGFR2, сыворотка крови VEGFR2, serum	6508,07 (4039,96–8968,88)	6816,79 (5372,87–9467,47)	7142,47 (3811,99–8764,7)	6949,41 (3811,99–9467,47)	>0,05
VEGFR2, спинномозговая жидкость VEGFR2, cerebrospinal fluid	529,27 (250,61–915,02)	417,67 (284,99–919,85)	388,84 (265,78–575,41)	417,67 (250,61–919,85)	>0,05

Примечание. VEGFA – сосудистый эндотелиальный фактор роста А; VEGFR1, VEGFR2 – рецепторы VEGFA.
Note. VEGFA – vascular endothelial growth factor A; VEGFR1, VEGFR2 – VEGFA receptors.

Таблица 3. Концентрация VEGFA, VEGFR1, VEGFR2 у больных острым лейкозом с бластемией и без нее в дебюте заболевания, медиана (диапазон), пг/мл

Table 3. VEGFA, VEGFR1, VEGFR2 concentration in acute leukemia patients with and without blastemia at the disease onset, median (range), pg/mL

Показатель Parameter	Все пациенты VEGFA (n = 74); VEGFR1/R2 (n = 35) Total patients VEGFA (n = 74); VEGFR1/R2 (n = 35)	Пациенты с бластемией (n = 67) Patients with blastemia (n = 67)	Пациенты без бластемии (n = 7) Patients without blastemia (n = 7)	Доноры Donors
VEGFA, сыворотка крови VEGFA, serum	149,78 (5–1928) ¹	128,09 (4,76–2000) ²	470,79 (13,75–1298,01)	432,19 (196–606)
VEGFR1, сыворотка крови VEGFR1, serum	410,19 (213,21–22840,44)	Н/д N/d	Н/д N/d	462,31 (325,69–612,45)
VEGFR1, спинномозговая жидкость VEGFR1, cerebrospinal fluid	149 (46,39–466,79) ³	Н/д N/d	Н/д N/d	Н/д N/d
VEGFR2, сыворотка крови VEGFR2, serum	6949,41 (3811,99–9467,47) ¹	Н/д N/d	Н/д N/d	8795,97 (6014,50–10416,03)
VEGFR2, спинномозговая жидкость VEGFR2, cerebrospinal fluid	417,67 (250,61–919,85) ⁴	Н/д N/d	Н/д N/d	Н/д N/d

¹Значимое различие при сравнении с группой доноров.

²Значимое различие при сравнении с группой пациентов без бластемии.

³Значимое различие при сравнении с концентрацией VEGFR1 в сыворотке крови.

⁴Значимое различие при сравнении с концентрацией VEGFR2 в сыворотке крови.

Примечание. VEGFA – сосудистый эндотелиальный фактор роста А; VEGFR1, VEGFR2 – рецепторы VEGFA; н/д – нет данных.

¹Significant difference when compared with the group of donors.

²Significant difference when compared with patients without blastemia.

³Significant difference when compared with the concentration of VEGFR1 in serum.

⁴Significant difference when compared with the concentration of VEGFR2 in serum.

Note. VEGFA – vascular endothelial growth factor A; VEGFR1, VEGFR2 – VEGFA receptors; n/d – no data.

пациентов с бластемией повысилось на 128 пг/мл по сравнению с последним повторным измерением ($p < 0,04$). При этом количество лейкоцитов у пациентов данной группы снизилось на $6 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,0003$) за счет уменьшения бластной популяции. Количество моноцитов повысилось на $2 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,0067$), а тромбоцитов – на $40 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,0001$) (рис. 3).

Не выявлено влияния концентрации VEGFA на показатели общей и безрецидивной выживаемости.

Анализ концентрации VEGFR1 и VEGFR2 в сыворотке крови и спинномозговой жидкости

В дебюте заболевания медиана концентрации VEGFR1 в сыворотке крови пациентов составила 410,19 (213,21–22840,44) пг/мл и была сопоставима с концентрацией VEGFR1 у доноров – 462,31 (325,69–612,45) пг/мл.

Медиана концентрации VEGFR2 в сыворотке крови пациентов составила 6949,41 (3811,99–9467,47) пг/мл, что было статистически значимо ниже по сравнению с медианой концентрации в сыворотке крови доноров – 8795,97 (6014,50–10416,03) пг/мл ($p = 0,0026$).

Оценить влияние наличия бластных клеток в периферической крови на сывороточную концентрацию VEGFR1 и VEGFR2 не представлялось возможным, так как только 2 пациента данной группы изначально были без бластемии.

Для 35 пациентов получены данные по измерению значений концентрации VEGFR1 и VEGFR2 в СМЖ: медиана концентрации VEGFR1 в СМЖ составила 149 (46,39–466,79) пг/мл, а VEGFR2 – 417,67 (250,61–919,85) пг/мл.

При сравнении концентраций VEGFR1 и VEGFR2 в сыворотке крови и СМЖ пациентов обнаружено, что концентрация этих рецепторов в сыворотке выше,

чем в СМЖ ($p < 0,0001$), а медиана относительной разницы концентрации рецептора (разница концентрации рецептора в сыворотке и СМЖ, поделенная на концентрацию рецептора в СМЖ) составляет 409,81 и 6949,369 пг/мл соответственно.

При этом для VEGFR1 выявлена положительная корреляция концентраций в сыворотке крови и СМЖ, а для VEGFR2 – нет.

Концентрация VEGFR1 в СМЖ была статистически значимо ниже у пациентов с В-ОЛЛ по сравнению с другими вариантами острого лейкоза. Но статистически значимых различий в концентрации рецепторов в сыворотке крови в зависимости от наличия нейрорлейкемии не обнаружено. Не выявлено влияния концентрации рецепторов на показатели общей и безрецидивной выживаемости.

Обсуждение

В источниках литературы описано увеличение экспрессии гена *VEGF* и синтеза фактора у пациентов с острым лейкозом, что предположительно должно приводить к росту секреции фактора во внеклеточное пространство. Опубликованные результаты исследований сывороточной концентрации VEGFA нередко противоположны друг другу. По данным Y.T. Tang и соавт., концентрация фактора у пациентов с острым лейкозом выше, чем у доноров [37]. При этом в исследовании H.U. Dincaslan и соавт. отмечается тенденция к снижению концентрации VEGFA в дебюте острого лейкоза с последующим ее повышением в ремиссии заболевания [24].

В нашем исследовании в дебюте заболевания определялись достоверно низкие значения сывороточной концентрации VEGFA и его главного рецептора VEGFR2 по сравнению с группой сравнения ($p < 0,0001$ и $p = 0,0026$ соответственно). При этом у пациентов

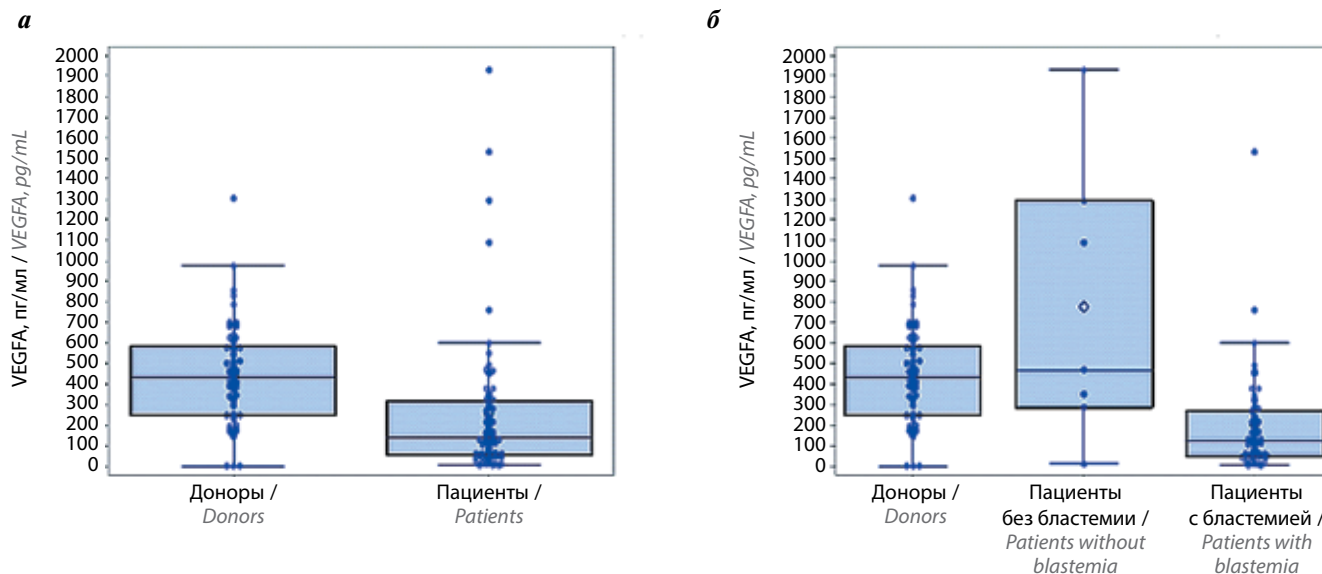


Рис. 2. Концентрация VEGFA сыворотки крови: а – доноров и общей группы пациентов; б – доноров и пациентов с бластемией и без нее в дебюте заболевания

Fig. 2. The VEGFA serum concentration: а – of donors and total patients; б – of donors and patients with and without blastemia in the disease onset

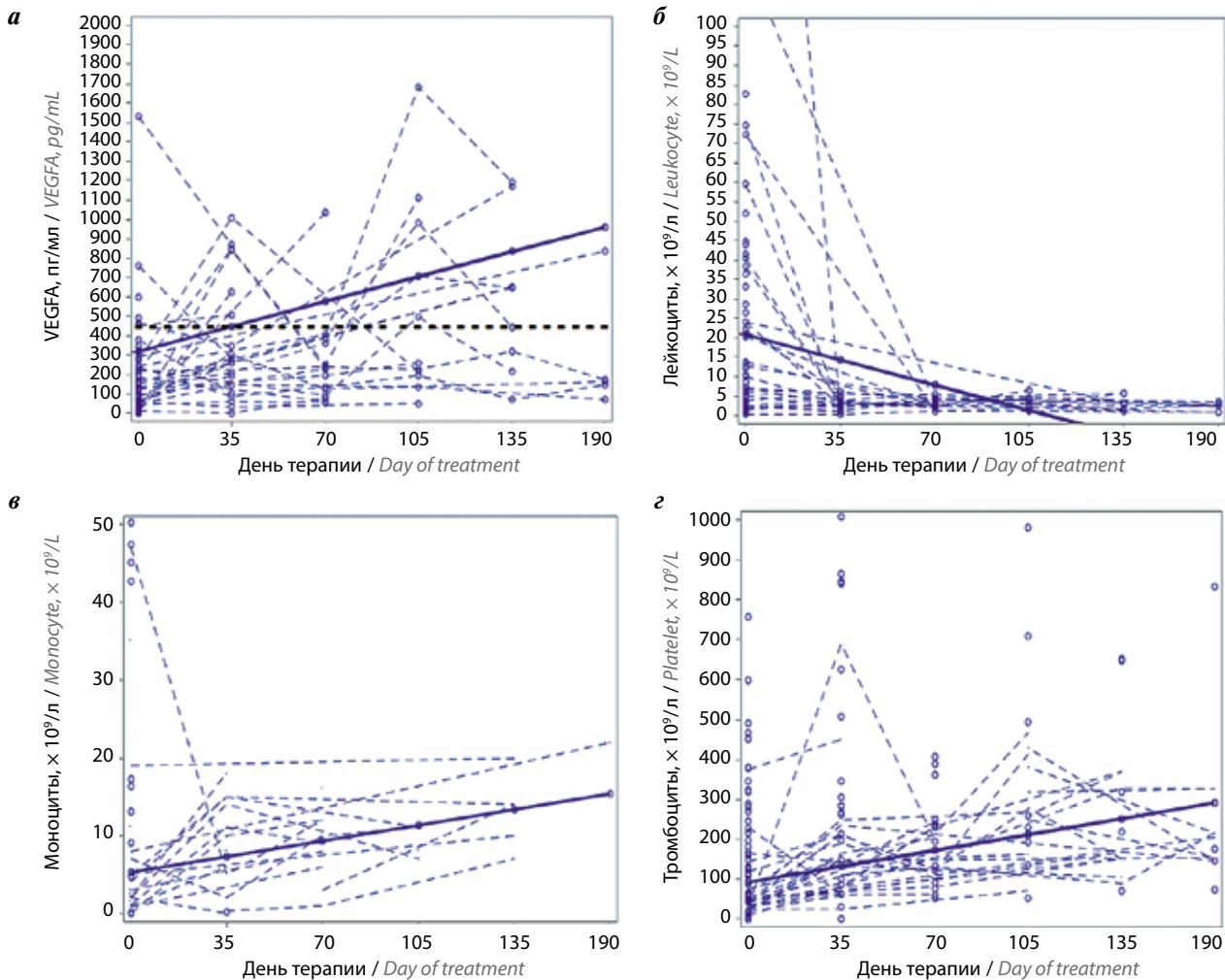


Рис. 3. Индивидуальные динамики (синяя пунктирная линия) и усредненные регрессионные зависимости (синяя сплошная линия) показателей крови больных острым лейкозом с бластемией на фоне программной химиотерапии: а – концентрация VEGFA в сыворотке (медиана концентрации VEGFA сыворотки доноров отмечена черной пунктирной линией); б – количество лейкоцитов; в – количество моноцитов; г – количество тромбоцитов

Fig. 3. Individual dynamics (blue dotted line) and averaged regression dependences (blue line) of blood parameters in acute leukemia patients with blastemia during program chemotherapy: а – VEGFA serum concentration (median of serum VEGFA concentration is marked as black dotted line); б – leukocyte count; в – monocyte count; г – platelet count

с бластемией данные показатели были значимо ниже по сравнению с таковыми у пациентов без бластных клеток в периферической крови в дебюте заболевания ($p < 0,015$). На фоне химиотерапевтического воздействия по мере уменьшения опухолевой популяции, восстановления количества нормальных клеточных элементов крови отмечалось увеличение концентрации VEGFA ($p < 0,04$).

VEGFA одновременно осуществляет регуляцию как ангиогенеза, так и гемопоэза. Стволовые кроветворные клетки-предшественницы и эндотелиальные клетки располагаются в непосредственной близости друг от друга в костном мозге, однако способ их регуляции отличается. На эндотелий сосудов оказывает воздействие VEGFA, который продуцируется клетками близлежащих тканей в случае гипоксии или повреждения, и такая регуляция называется паракриной. В процессе гемопоэза стволовые гемопоэтические

клетки получают сигналы выживания и дифференцировки преимущественно по типу аутокринного способа регуляции, когда синтез и взаимодействие VEGFA с рецепторами происходит внутри одной и той же клетки [1, 2, 4, 30]. Таким образом, стволовые кроветворные клетки-предшественницы, вероятно, не влияют на внеклеточную концентрацию VEGFA и его рецепторов, которая поддерживается в норме другими клетками: гранулоцитами, моноцитами, мегакариоцитами и тромбоцитами [3].

Известно, что опухолевые клетки при различных заболеваниях, в том числе при остром лейкозе, избыточно синтезируют VEGFA. Однако помимо самого фактора, бластные клетки также экспрессируют и рецепторы к нему [29]. Эти данные свидетельствуют о том, что VEGFA при остром лейкозе осуществляет регуляцию по аутокринному пути, как и в стволовых кроветворных клетках.

Значение циркуляции растворимых рецепторов в периферической крови до конца не определено. Предполагается, что они могут играть роль ингибиторов VEGFA, связывая его до взаимодействия с рецепторами на клеточной мембране. В нашем исследовании не выявлено увеличения значений растворимых рецепторов, что, вероятно, может исключить их вклад в снижение концентрации фактора.

Эффекты воздействия через VEGFR1 могут быть противоположны сигналам через VEGFR2. По данным американской группы исследователей, в условиях патологически избыточной концентрации VEGFA подавляется развитие лимфоидных клеток как в тимусе, так и в костном мозге. Эти эффекты реализуются за счет VEGFR2. Одновременно с этим VEGFA стимулирует дифференцировку более зрелых Т-и В-клеток, способствуя их миграции из центральных в периферические лимфоидные органы посредством VEGFR1 [5].

В нашем исследовании у пациентов с острым лейкозом одновременно с низкой концентрацией VEGFA значение VEGFR2 также оказалось статистически значимо ниже по сравнению с контрольной группой, но подобных изменений концентрации VEGFR1 не выявлено.

Концентрация VEGFR1 и VEGFR2 в ликворе оказалась значимо ниже, чем в сыворотке крови ($p < 0,0001$). При этом для VEGFR1 выявлена положительная корреляция между значением концентрации рецептора в сыворотке и СМЖ. Также обнаружено, что концен-

трация VEGFR1 в СМЖ была статистически значимо ниже у пациентов с В-ОЛЛ по сравнению с другими вариантами лейкемии ($p = 0,003$). При этом подобных закономерностей не выявлено для VEGFR2. Данные отличия могут свидетельствовать в пользу разнородности биологических эффектов VEGFR1 и VEGFR2.

Изменение показателей, которое мы обнаружили, может быть связано со снижением количества клеточных элементов крови, в норме продуцирующих фактор (тромбоциты, моноциты), что является одним из основных клинических проявлений при остром лейкозе. С другой стороны, нельзя также до конца исключить избыточное использование экзогенного фактора в метаболизме бластных клеток.

Заключение

В нашем исследовании выявлено снижение концентраций VEGFA и VEGFR2 в сыворотке у пациентов в дебюте острого лейкоза. Наибольший дефицит исследуемых параметров обнаружен у больных с бластемией. При этом отмечена тенденция к восстановлению уровня VEGFA на фоне терапевтического воздействия.

VEGFA относится к белкам, для которых характерны как паракринный, так и аутокринный пути передачи сигнала. По данным литературы, фактор в стволовых кроветворных клетках и бластных клетках при остром лейкозе реализует эффекты через внутреннюю аутокринную стимуляцию, что может объяснить отсутствие повышения концентрации VEGFA в сыворотке крови пациентов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Ferrara N., Gerber H.P., LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003;9(6):669–76. DOI: 10.1038/nm0603-669
- Gerber H.P., Ferrara N. The role of VEGF in normal and neoplastic hematopoiesis. *J Mol Med* 2003;81(1):20–31. DOI: 10.1007/s00109-002-0397-4
- Kusumanto Y.H., Dam W.A., Hospers G.A.P. et al. Platelets and granulocytes, in particular the neutrophils, form important compartments for circulating vascular endothelial growth factor. *Angiogenesis* 2003;6(4):283–7. DOI: 10.1023/B:AGEN.0000029415.62384.ba
- Dias S., Hattori K., Zhu Z. et al. Autocrine stimulation of VEGFR-2 activates human leukemic cell growth and migration. *J Clin Invest* 2000;106(4):511–21. DOI: 10.1172/JCI8978
- Huang Y., Edwards G., Tsai A. et al. Distinct roles of VEGFR-1 and VEGFR-2 in the aberrant hematopoiesis associated with elevated levels of VEGF. *Blood* 2007;110(2):624–31. DOI: 10.1182/blood-2007-01-065714
- Holmes K., Roberts O.L., Thomas A.M. et al. Vascular endothelial growth factor receptor-2: Structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition. *Cell Signal* 2007;19(10):2003–12. DOI: 10.1016/j.cellsig.2007.05.013
- Кузнецова О.М., Березов Т.Т., Чернов Н.Н. и др. Анализ содержания фактора роста эндотелия сосудов в сыворотке крови больных остеосаркомой. *Вестник РУДН, серия Медицина* 2005;№1(29).
Kuznetsova O.M., Berezov T.T., Chernov N.N. et al. Analysis of vascular endothelial growth factor concentration in serum of patients with osteosarcoma. *Vestnik RUDN, seria Meditsina = RUDN University Bulletin, Medicine series* 2005;№1(29). (In Russ.).
- Попков В.М., Понукалин А.Н., Захарова Н.Б. Фактор роста эндотелия сосудов в диагностике метастазов мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря. *Онкоурология* 2016;12(2):53–7. DOI: 10.17650/1726-9776-2016-12-2-53-57
Popkov V.M., Ponukalin A.N., Zakharova N.B. Vascular endothelial growth factor in diagnostics of metastases of a muscle-invasive bladder cancer. *Onkourologiya = Cancer Urology* 2016;12(2):53–7. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9776-2016-12-2-53-57
- Шевченко А.Н., Бреус А.А., Нескубина И.В. и др. Оценка прогностической значимости некоторых биологических факторов при локальном и генерализованном светлоклеточном раке почки. *Южно-Российский онкологический журнал* 2020;1(1):6–22. DOI: 10.37748/2687-0533-2020-1-1-1
Shevchenko A.N., Breus A.A., Neskubina I.V. et al. Evaluation of the prognostic significance of some biological factors in local and generalized clear cell renal cancer. *Yuzhno-Rossiyskiy onkologicheskij zhurnal = South Russian Journal of Cancer* 2020;1(1):6–22. (In Russ.). DOI: 10.37748/2687-0533-2020-1-1-1

10. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971;285(21):1182–6.
11. Вартанян А.А. Основные закономерности ангиогенеза при онкогематологических заболеваниях. *Клиническая онкогематология* 2013;6(4):343–53.
Vartanyan A.A. Basic mechanisms of angiogenesis in hematological malignancies. *Clinicheskaya oncogematologia = Clinical Oncohematology* 2013;6(4):343–53. (In Russ.).
12. Letilovic T, Vrhovac R., Verstovsek S. et al. Role of angiogenesis in chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 2006;107(5):925–34. DOI: 10.1002/cncr.22086
13. Богомолова И.А., Долгова Д.Р., Антонеева И.И. и др. Экспрессия васкулоэндотелиального и тромбоцитарного фактора роста в первичной опухоли колоректального рака как фактор прогноза раннего рецидива. *Ульяновский медико-биологический журнал* 2020(4):74–86.
DOI: 10.34014/2227-1848-2020-4-74-86
Bogomolova I.A., Dolgova D.R., Antoneeva I.I. et al. Expression of vasculoendothelial and plate growth factors in primary colorectal tumor as a predictor of early recurrence. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskij zhurnal = Ulyanovsk Medical and Biological Journal* 2020(4):74–86. (In Russ.).
DOI: 10.34014/2227-1848-2020-4-74-86
14. Rabitsch W., Sperr W.R., Lechner K. et al. Bone marrow microvessel density and its prognostic significance in AML. *Leuk Lymphoma* 2004;45(7):1369–73.
DOI: 10.1080/10428190410001663707
15. Pulè M.A., Gullmann C., Dennis D. et al. Increased angiogenesis in bone marrow of children with acute lymphoblastic leukaemia has no prognostic significance. *Br J Haematol* 2002;118(4):991–8. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2002.03761.x
16. Bellamy W.T. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in multiple myeloma and other hematopoietic malignancies. *Semin Oncol* 2001;28(6):551–9.
DOI: 10.1016/S0093-7754(01)90023-5
17. Клодзинский А.А., Рыжко В.В., Соркина О.М. и др. РОЕМС-синдром (описание наблюдения и обзор литературы). *Клиническая онкогематология* 2008;1(2):145–55.
Klodzinskiy A.A., Ryzhko V.V., Sorkina O.M. et al. POEMS syndrome (a case report and literature review). *Clinicheskaya oncogematologia = Clinical Oncohematology* 2008;1(2):145–55. (In Russ.).
18. Vaux D.L., Cory S., Adams J.M. *bcl-2* gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. *Nature* 1988;335(6189):440–2. DOI: 10.1038/335440a0
19. Larsson A., Sköldenberg E., Ericson H. Serum and plasma levels of FGF-2 and VEGF in healthy blood donors. *Angiogenesis* 2002;5(1–2):107–10. DOI: 10.1023/A:1021588227705
20. Zhou Z., Ju H., Sun M., Chen H. Serum vascular endothelial growth factor levels correlate with severity of retinopathy in diabetic patients: A systematic review and meta-analysis. *Dis Markers* 2019;2019:9401628. DOI: 10.1155/2019/9401628
21. Podar K., Anderson K.C. Emerging therapies targeting tumor vasculature in multiple myeloma and other hematologic and solid malignancies. *Curr Cancer Drug Targets* 2011;11(9):1005–24. DOI: 10.2174/156800911798073113
22. Rabitsch W., Sperr W., Lechner K. et al. Elevated vascular endothelial growth factor (VEGF) serum levels in idiopathic myelofibrosis. *Leukemia* 2001;15:976–80. DOI: 10.1038/sj.leu.2402124
23. Калитин Н.Н., Дудина Г.А., Семочкин С.В., Карамышева А.Ф. Анализ экспрессии генов *VEGF-A/VEGFR1/VEGFR2* у пациентов с миелодиспластическим синдромом. *Терапевтический архив* 2017;89(7):39–44. DOI: 10.17116/terarkh201789739-44
24. Kalitin N.N., Dudina G.A., Semochkin S.V., Karamysheva A.F. Analysis of *VEGF-A/VEGFR1/VEGFR2* gene expression in patients with myelodysplastic syndrome. *Терапевтический архив = Therapeutic Archive* 2017;89(7):39–44. (In Russ.). DOI: 10.17116/terarkh201789739-44
25. Dincaslan H.U., Yavuz G., Unal E. et al. Does serum soluble vascular endothelial growth factor levels have different importance in pediatric acute leukemia and malignant lymphoma patients? *Pediatr Hematol Oncol* 2010;27(7):503–16. DOI: 10.3109/08880018.2010.493574
26. Leblebisatan G., Antmen B.L., Sasmaz I. et al. Vascular endothelial growth factor levels in childhood acute lymphoblastic and myeloblastic leukemia. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2012;28(1):24–8. DOI: 10.1007/s12288-011-0102-2
27. Tang Y.T., Jiang F., Guo L. et al. The soluble VEGF receptor 1 and 2 expression in cerebral spinal fluid as an indicator for leukemia central nervous system metastasis. *J Neurooncol* 2013;112(3):329–38. DOI: 10.1007/s11060-013-1066-x
28. Hiramatsu A., Miwaa H., Shikamia M. et al. Disease-specific expression of VEGF and its receptors in AML cells: possible autocrine pathway of VEGF/type1 receptor of VEGF in t(15;17) AML and VEGF/type2 receptor of VEGF in t(8;21) AML. *Leuk Lymphoma* 2006;47(1):89–95. DOI: 10.1080/10428190500270386
29. Kim D.H., Lee N.Y., Lee M.H. et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) gene (VEGFA) polymorphism can predict the prognosis in acute myeloid leukaemia patients. *Br J Haematol* 2008;140(1):71–9. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2007.06887.x
30. Santos S.C.R., Dias S. Internal and external autocrine VEGF/KDR loops regulate survival of subsets of acute leukemia through distinct signaling pathways. *Blood* 2004;103(10):3883–9. DOI: 10.1182/blood-2003-05-1634
31. Gerber H.P., Malik A.K., Solar G.P. et al. VEGF regulates haematopoietic stem cell survival by an internal autocrine loop mechanism. *Nature* 2002;417(6892):954–8. DOI: 10.1038/nature00821
32. Padró T., Bieker R., Ruiz S. et al. Overexpression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its cellular receptor KDR (VEGFR-2) in the bone marrow of patients with acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2002;16(7):1302–10. DOI: 10.1038/sj.leu.2402534
33. Song M., Wang H., Ye Q. Increased circulating vascular endothelial growth factor in acute myeloid leukemia patients: a systematic review and meta-analysis. *Syst Rev* 2020;9(1):103. DOI: 10.1186/s13643-020-01368-9
34. Jeha S., Smith F.O., Estey E. et al. Comparison between pediatric acute myeloid leukemia (AML) and adult AML in VEGF and KDR (VEGF-R2) protein levels. *Leuk Res* 2002;26(4):399–402. DOI: 10.1016/s0145-2126(01)00149-7
35. Münch V., Trentin L., Herzig J. et al. Central nervous system involvement in acute lymphoblastic leukemia is mediated by vascular endothelial growth factor. *Blood* 2017;130(5):643–54. DOI: 10.1182/blood-2017-03-769315
36. Izraeli S., Eckert C. Targeted therapy of CNS leukemia? *Blood* 2017;130(5):562–3. DOI: 10.1182/blood-2017-06-788430
37. Kato I., Nishinaka Y., Nakamura M. et al. Hypoxic adaptation of leukemic cells infiltrating the CNS affords a therapeutic strategy targeting VEGFA. *Blood* 2017;129(23):3126–9. DOI: 10.1182/blood-2016-06-721712
38. Tang Y.T., Jiang F., Guo L. et al. Expression and significance of vascular endothelial growth factor A and C in leukemia central nervous system metastasis. *Leuk Res* 2013;37(4):359–66. DOI: 10.1016/j.leukres.2012.10.008

Вклад авторов

Е.И. Захарько: разработка дизайна исследования, анализ данных, написание текста статьи, получение данных для анализа;
В.Н. Двирнык, О.А. Алёшина, Е.Н. Паровичникова: разработка дизайна исследования, анализ данных, написание текста статьи;
Ю.А. Чабаяева, С.М. Куликов: статистическая обработка данных;
Д.Г. Дрокова, Е.Б. Рыбкина, К.А. Лавришинец, А.В. Булгаков, М.Н. Панасенко, З.Т. Фидарова, И.А. Лукьянова, Т.В. Гапонова, В.В. Троицкая: получение данных для анализа.

Authors' contributions

E.I. Zakharko: study design development, data analysis, article writing, obtaining data for analysis;
V.N. Dvirnyk, O.A. Aleshina, E.N. Parovichnikova: study design development, data analysis, article writing;
Yu.A. Chabaeva, S.M. Kulikov: statistical analysis;
D.G. Drokova, E.B. Rybkina, K.A. Lavrishinets, A.V. Bulgakov, M.N. Panasenko, Z.T. Fidarova, I.A. Lukianova, T.V. Gaponova, V.V. Troitskaya: obtaining data.

ORCID авторов / ORCID of authors

Е.И. Захарько / E.I. Zakharko: <https://orcid.org/0000-0002-1884-352X>
В.Н. Двирнык / V.N. Dvirnyk: <https://orcid.org/0000-0002-9877-0796>
Ю.А. Чабаяева / Yu.A. Chabaeva: <https://orcid.org/0000-0001-8044-598X>
Д.Г. Дрокова / D.G. Drokova: <https://orcid.org/0000-0002-8290-3611>
Е.Б. Рыбкина / E.B. Rybkina: <https://orcid.org/0000-0001-6601-4913>
К.А. Лавришинец / K.A. Lavrishinets: <https://orcid.org/0009-0001-5029-1964>
А.В. Булгаков / A.V. Bulgakov: <https://orcid.org/0000-0002-3676-9626>
М.Н. Панасенко / M.N. Panasenko: <https://orcid.org/0000-0002-2059-1827>
З.Т. Фидарова / Z.T. Fidarova: <https://orcid.org/0000-0003-0934-6094>
И.А. Лукьянова / I.A. Lukianova: <https://orcid.org/0000-0002-8337-2242>
О.А. Алёшина / O.A. Aleshina: <https://orcid.org/0000-0001-9924-0204>
С.М. Куликов / S.M. Kulikov: <https://orcid.org/0000-0002-6288-7570>
Т.В. Гапонова / T.V. Gaponova: <https://orcid.org/0000-0002-9684-5045>
В.В. Троицкая / V.V. Troitskaya: <https://orcid.org/0000-0002-4827-8947>
Е.Н. Паровичникова / E.N. Parovichnikova: <https://orcid.org/0000-0001-6177-3566>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено со спонсорским участием ассоциации «Национальное гематологическое общество».

Funding. The study was performed with funding of National Hematological Society.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Исследование одобрено этическим комитетом, носило проспективный характер и проводилось с 2018 по 2022 г. в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России.

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study was approved by the ethics committee, was prospective and was conducted from 2018 to 2022 at the National Medical Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia.

All patients gave written informed consent to participate in the study.