

ОГЛЯДОВІ СТАТТІ

УДК 616.419-002.17-006.327-092-037-085

<https://doi.org/10.26641/2307-0404.2018.1.124952>**А.С. Тимченко***,
В.Н. Залесский****ФИБРОЗ КОСТНОГО МОЗГА –
ОСНОВА МИЕЛОФИБРОЗА: ПАТОГЕНЕЗ,
ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ
И ОБОСНОВАНИЕ АНТИФИБРОГЕННЫХ
ЛЕЧЕБНЫХ СТРАТЕГИЙ**

ГУ «Институт гематологии и трансфузиологии НАМН Украины» *

ул. М. Берлинского, 12, Киев, 04060, Украина

ГУ «Институт кардиологии им. акад. Н. Д. Стражеско НАМН Украины» **

ул. Народного Ополчения, 5, Киев, 02000, Украина

SI «Institute of haematology and transfusiology NAMS Ukraine» *

M. Berlinskogo st., 12, Kyiv, 04060, Ukraine

e-mail: igt2@ukr.net

«M.D. Strazhesko institute of cardiology, MAS of Ukraine» **

Narodnogo Opolcheniya str., 5, Kyiv, 02000, Ukraine,

Ключевые слова: фиброз костного мозга, миелофиброз, патогенез, клеточная терапия, таргетные лечебные стратегии**Key words:** bone marrow fibrosis, myelofibrosis, pathogenesis, cell therapy, targeted strategies

Реферат. Фіброз кісткового мозку - основа мієлофіброзу: патогенез, прогностичне значення та обґрунтування антифіброгенних лікувальних стратегій. Тимченко А.С., Залеський В.М. Фіброз кісткового мозку, як патологічний процес, є основним критерієм діагностики мієлофіброзу. Хоча кістковомозковий фіброз проявляється у вигляді злоякісних і доброякісних патологічних станів на тлі відкладень колагену і ретикуліну в кістковому мозку, він опосередковується мієлофіброзом гемопоетичних стовбурових прогеніторних клітин, що сприяє змінам мікрооточення в напрямку злоякісного кровотворення. Особливостями патогенезу фіброзу кісткового мозку є підвищена експресія прозапальних цитокінів, трансформуючого фактора росту-β, порушення функціональної активності мегакаріоцитів і аберантна (JAK-STAT) сигналізація. Трансплантація гемопоетичних стовбурових клітин залишається єдиною терапевтичною стратегією, що сприяє досягненню задовільних результатів у вирішенні фіброзу кісткового мозку в пацієнтів з мієлофіброзом. У роботі представлені дані про патогенез, біологічні наслідки і прогностичні результати впливу фіброзу кісткового мозку. Розглянуто протифіброгенні лікувальні стратегії таргетування, що орієнтовані на використання аlogenної трансплантації кістковомозкових комітованих гемопоетичних стовбурових клітин та їх прогеніторів, особливості модуляції ними функціонування аберантної сигналізації, фіброгенних цитокінів та пухлинного мікрооточення.

Abstract. Bone marrow fibrosis – the basis of myelofibrosis: pathogenesis, prognostication and antifibrogenic targeted strategies. Timchenko A.S., Zalesky V.N. Bone marrow fibrosis is a key pathological feature and major diagnostic criterion of myelofibrosis. Although bone marrow fibrosis is manifested in a variety of malignant and non-malignant disease states, the deposition of reticulin and collagen fibrosis in the bone marrow of patients with myelofibrosis is believed to be mediated by the myelofibrosis of hematopoietic stem/progenitor cells, contributing to an impaired microenvironment toward malignant over normal hematopoiesis. The increased expression of pro-inflammatory cytokines, transforming growth factor-β, impaired megakaryocyte function and aberrant JAK-STAT signaling are the peculiarities of pathogenesis of bone marrow fibrosis. Hematopoietic stem cell transplantation remains the only therapeutic approach that reliably results in resolution of bone marrow fibrosis in patients with myelofibrosis. In the work we review the pathogenesis, biological consequences and prognostic results of impact of bone marrow fibrosis. We discuss the rationale of various anti-fibrogenic treatment strategies targeting at clonal hematopoietic stem/progenitor cells, aberrant signaling pathway, fibrogenic cytokines, and tumor microenvironment.

Фиброз костного мозга (ФКМ) характеризуется повышенным отложением волокон ретикулина или коллагеновых и ретикулиновых волокон одновременно на фоне различной

плотности и типа фиброза [1]. Известны многие гематологические и негематологические заболевания, связанные с активацией костномозгового фиброзообразования (табл. 1).

Патологические процессы, связанные с фиброзом костного мозга [22, 29]

Фиброз костного мозга (ретикулин)	Фиброз костного мозга (ретикулин+коллаген)
<ul style="list-style-type: none"> - Легочная артериальная гипертензия; - Лейшманиоз (висцеральный); - Лейкоз (hairy cell – «волосатоклеточный») - Вирусы иммунодефицита человека; - Состояния, связанные с терапией факторами роста гемопоэтических стволовых клеток. 	<ul style="list-style-type: none"> - Хронический миелоидный лейкоз; - Острый мегакариобластный лейкоз; - Острый миелоидный лейкоз; - Острый лимфоцитарный лейкоз; - Миелодиспластические синдромы; - Ходжкинская лимфома; - Неходжкинские лимфомы; - Множественная миелома; - Остеоартроз; - Остеомаляция; - Туберкулез; - Грануломатоз; - Системный волчаночный эритематоз; - Синдром Шегрена.

Миелофиброз может позиционироваться как первичный процесс или возникать как вторичный, на фоне развития истинной полицитемии и эссенциальной тромбоцитопении. Первичный миелофиброз (ПМФ) представляет собой хроническое миелопролиферативное новообразование (миелофиброз с миелоидной метаплазией), которое возникает благодаря клональной пролиферации гемопоэтических стволовых клеток (СК) и приводит к прогрессирующему фиброзу костного мозга [2].

Прогрессирующий миелофиброз выявлен при хроническом миелоидном лейкозе (ХМЛ) – миелопролиферативном новообразовании с характерной хромосомной транслокацией филадельфийской хромосомы. При этой транслокации участки 9-й и 22-й хромосом меняются местами, в результате чего фрагмент гена BCR из хромосомы 22 и фрагмент гена ABL из хромосомы 9 образуют единую рамку считывания. Продуктом этого аномального (слитного, химерного) гена-мутанта является тирозинкиназа, так как в норме белок ABL содержит тирозинкиназный домен. Активность белка BCR/ABL обуславливает взаимодействие с одной из субъединиц клеточного рецептора IL3 (интерлейкина-3) и является патофизиологической основой хронического миелолейкоза. Таргетная (целевая) терапия позволяет специфически ингибировать эту активность [22].

Миелофиброз характеризуется различной степенью цитопении на фоне развития экстрамедуллярного кроветворения и ухудшения качества жизни. Медиана выживаемости при миелофиброзе составляет приблизительно шесть лет [4, 41]. Причины ранней смерти включают прогрессирующую лейкозную трансформацию,

осложнения, связанные с тотальным поражением костного мозга, присоединение инфекции, тромбозов и кровотечений [50].

Патоморфологически при миелофиброзе выявляется утолщение и деформация костных трабекул, отложение ретикулиновых и коллагеновых волокон, гиперплазия клеток мегакариоцитарного ростка с явлениями атипии [53]. Патогенез миелофиброза до настоящего времени полностью не изучен. Однако подчёркивается необходимость изучения роли нарушений микроокружения костного мозга в разработке таргетных стратегий лечения миелофиброза и других гемобластозов.

В работе приводятся результаты исследований по проблеме фиброза костного мозга. Рассмотрены современные методы диагностики и важные подходы к прогнозированию развития костномозгового фиброзообразования. Приведены данные по молекулярному патогенезу фиброза костного мозга, показана роль профиброгенных цитокинов и патологического ремоделирования. Проанализированы современные стратегии профилактики и терапии фиброза костного мозга.

Современные методы диагностики и основные подходы к прогнозированию развития фиброза костного мозга.

Увеличение отложений ретикулина и коллагена в костном мозге является «визитной карточкой» фиброза костного мозга. Ретикулин и коллаген соединительной ткани обеспечивают структурную основу стромы костного мозга [52]. Согласно данным ВОЗ, градации фиброза костного мозга оцениваются на основе проводимых биопсий. При этом ретикулин обнаруживается

методом серебрения, а коллаген определяется согласно методике трехцветного окрашивания [22].

Системы классификации для количественной оценки ретикулина и отложений коллагена в костном мозге были разработаны Weiermeister в 1971 году и сравнительно недавно пересмотрены Европейской консенсусной группой экспертов. Сложившиеся системы классификации зависят от ручной сортировки ретикулина гистопатологами, являются полуколичественными и имеют серьезные ограничения, связанные с субъективностью. Данная проблема ещё более усложняется неоднородностью структуры фиброза в пределах одной выборки, а также другими особенностями оценки образцов.

Компьютерный анализ изображения в последние годы оптимизировал объективный подход для обеспечения количественной оценки фиброза и остеосклероза, а также для оценки степени прогрессирования заболевания и оценки влияния терапии на костный мозг. Компьютерный анализ изображения хорошо коррелирует с морфологией и является более чувствительным методом, чем гистопатологический контроль костномозгового фиброобразования у больных в процессе лечения [45, 46].

Сравнительно недавно был разработан стереологический метод исследования на основе автоматизированного анализа изображений с использованием равномерной случайной выборки и строчного считывания в целях оценки плотности ретикулиновой сети в образцах костного мозга. Компьютерная стереология оказалась более воспроизводимым методом по сравнению с ручным скринингом в прогнозировании терапевтических результатов.

Существенный потенциал в качестве приложения для количественной оценки фиброза костного мозга имеет оптическая методика двухфотонного возбуждения и генерации второй гармоники, при использовании которой могут быть устранены ограничения, связанные с неоднородностью образцов тканей фиброза костного мозга.

Известно, что в основе диагностики миелофиброза лежит стратификация риска его неблагоприятного исхода. Международная прогностическая балльная система (шкала DIPSS “Dynamic International Prognostic Scoring System”) является главной системой оценки прогнозирования (на основе клинических, биологических и молекулярных показателей), которая используется для принятия риск-адаптированной стратегии лечения у пациентов с миелофиброзом [50]. DIPSS-система шкал оценки категории

риска, совмещенная с соответствующей медианой выживаемости. Однако эта система оценки не всегда отражает генетическую гетерогенность миелофиброза. Поэтому определены мутационные профили, связанные с неудовлетворительным прогнозом миелофиброза [6]. Пациенты с мутациями в любом из следующих генов: ASXL1, EZH2, SRSF2, IDH1/IDH2 имеют меньшую выживаемость и высокий риск заболевания, трансформирующегося в острый миелоидный лейкоз, по сравнению с больными миелофиброзом, не имеющими мутаций в любом из этих генов.

Сегодня при прогнозировании миелофиброза данные профилирования генных мутаций включаются в схемы стратификацией риска неблагоприятного исхода миелофиброза или других гемобластозов. С помощью оценки динамики регрессии фиброза костного мозга можно предсказать выживаемость пациентов с миелофиброзом после трансплантации стволовых клеток [28]. Во многих исследованиях отмечено, что высокие градации костномозгового фиброза связаны с худшим исходом [18, 24].

Ретроспективный анализ фиброза костного мозга (класс >1) был ассоциирован с более коротким прогнозом общей выживаемости (медиана: 51 месяц), по сравнению с классом ≤ 1 (медиана: 147 месяцев). При этом класс фиброза костного мозга оказался не только независимым фактором риска общей выживаемости (шкала DIPSS) с конкурирующими сопутствующими заболеваниями, но и независимым предиктором низкой выживаемости [24].

Предтрансплантационный фиброз костного мозга (класс-3) был связан с неудовлетворительной общей выживаемостью (однофакторный анализ) пациентов, которым проводилась трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) со сниженной интенсивностью прекондиционирования [23]. При этом наблюдаемый регресс фиброза костного мозга был связан с более высокой общей выживаемостью.

Фиброз костного мозга сопровождается повышенным риском трансформации в миелофиброз или острый миелоидный лейкоз. Однако класс фиброза костного мозга не был связан с ухудшением общей выживаемости [45]. Наличие истинной полицитемии при костномозговом фиброзе ассоциировалось с повышенным риском трансформаций в миелофиброз, однако не было изучено влияние на общую выживаемость пациентов [9].

Молекулярный патогенез фиброза костного мозга/миелофиброза (роль активации

внутриклеточной сигнализации, соматических мутаций и профиброгенных цитокинов).

Основным биологическим признаком миелофиброза на фоне прогрессирующего фиброза костного мозга является существенное повышение в периферическом кровотоке провоспалительных цитокинов, связанных с дисрегуляцией ряда иммунных и воспалительных генов [25].

Индукцию фиброзообразования устойчиво контролирует плейотропный цитокин TGF- β (трансформирующий фактор роста бета), который активно стимулирует фибробласты для производства компонентов внеклеточного матрикса. Этот цитокин повышает экспрессию протеаз, которые подавляют активность ферментов, участвующих в деградации внеклеточного матрикса.

В эксперименте на животных показано решающее значение TGF- β гемопоэтических СК в патогенезе миелофиброза у мышей с гиперэкспрессией тромбопоэтина [14]. У нокаутных мышей по TGF- β 1 отмечен выраженный тромбоцитоз, лейкоцитоз и увеличение количества прогениторных клеток в периферической крови и селезенке. Однако фиброз костного мозга и осаждение ретикулина в селезенке отмечалось только у беспородных мышей.

У животных (мыши, линия *Gata1^{low}*) с миелофиброзом зарегистрированы нормальные или несколько повышенные уровни TGF- β 1. Повышение уровней TGF- β 1 выявлено у пациентов с миелоидной метаплазией и миелофиброзом. Умеренное повышение плазменной концентрации TGF- β 1 отмечено у мышей (линия *Gata1^{low}*). Десятикратное повышение содержания TGF- β 1 в мегакариocyтах отмечалось как у животных, так и у человека [13].

У мышей (линия *Gata1^{low}*) на фоне повышения содержания TGF- β 1 установлена активация Hedgehog и p53 сигнализации в селезенке и костном мозге. Авторы считают, что ингибирование TGF- β 1 сигнального пути у мышей (линия *Gata1^{low}*) способствует снижению выраженности фиброза костного мозга на фоне замедления кроветворения в селезенке [13].

In vitro отмечена стимуляция фибробластов трансформирующим фактором роста бета-1 к производству костного морфогенетического белка-6. Наряду с этим, экспрессия генов костных морфогенетических белков – 4, – 5 и – 6 повышалась у мышей (линия *Gata1^{low}*). Известно, что данные белки участвуют в синтезе компонентов внеклеточного матрикса. Точная роль костных морфогенетических белков в развитии миелофиброза окончательно не выяснена, однако

исследования подтверждают их важное значение в патогенезе фиброза костного мозга [12].

При фиброзе костного мозга утолщение костных трабекул сопровождается отсутствием или редким присутствием остеокластов. Отмечено, что этот патофизиологический феномен может быть связан с повышением экспрессии остеопротегерина – ингибитора образования остеокластов [12]. Авторы установили, что уровни экспрессии остеопротегерина эндотелиocyтами существенно повышены (до 72 раз) в пунктатах костного мозга пациентов с тяжелой формой хронического идеопатического миелофиброза.

Сравнительно недавно была выявлена роль в миелофиброзообразовании провоспалительного цитокина – липокалина-2 (LCN-2), генерируемого злокачественными мегакариocyтами и моноcyтами. Уровни LCN-2 оказались высокими в плазме крови у пациентов с миелопролиферативными новообразованиями (истинная полицитемия и эссенциальная тромбоцитопения). Оказалось, что LCN-2 способствовал увеличению активных форм кислорода (АФК), индукции разрывов двухцепочечной ДНК и апоптозу нормальных клеток микроокружения костного мозга, но не CD34⁺ клеток миелофиброза. Авторы считают, что дополнительная «атака» провоспалительных цитокинов может способствовать активному росту клонов клеток миелофиброза, а также создавать неблагоприятный фон для клеток микроокружения [54].

Известно, что миелопролиферативные новообразования возникают из клональной пролиферации гемопоэтических стволовых клеток, что приводит к прогрессирующему фиброзу костного мозга. Некоторые соматические мутации являются участницами фиброзообразования, в том числе JAK2, PMF, CALR и некоторые другие гены. Янус киназы 2 (JAK2) – это цитоплазматические тирозинкиназы, вовлеченные в многочисленные сигнальные пути с участием специфических рецепторов для эритропоэтина, тромбопоэтина, интерлейкина-3, гранулоцитарного колониестимулирующего фактора и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора.

Точечные соматические мутации JAK2V617F вызывают миелопролиферативные новообразования у человека и встречаются у 95% пациентов с истинной полицитемией, а также регистрируются ~ у 60% больных с эссенциальной тромбоцитопенией на фоне фиброза костного мозга. Соматические мутации JAK2V617F влияют на псевдокиназный регион JAK2 и усиливают его активность [11].

Для миелопролиферативных новообразований характерна ещё одна соматическая мутация CALR (“calreticulin”) гена, которая встречается у 25% пациентов с фиброзом костного мозга [26]. Механизмы, с помощью которых CALR мутанты вызывают миелопролиферативный опухолевый процесс, окончательно не установлены. Однако показано, что CALR мутанты направленно активируют рецепторы тромбопоэтина (ТроR/MPL), а также вызывают лиганд-независимую активацию JAK2/STAT/PI3-K/MAP киназную сигнализацию через эти рецепторы [13].

Пациенты, при наличии CALR мутантов, имеют более благоприятный прогноз, в то время как комбинации JAK2, CALR и PMF мутантов отличаются худшим прогнозом у больных фиброзом костного мозга (медиана выживаемости при CALR мутации составляет 15,9 года против 2,3 года при тройном мутации). Другие мутации (IDH1/2, SRSF2 и ASXL1) у пациентов с фиброзом костного мозга позиционируют повышенный риск лейкозной трансформации. Важно отметить, что появление ASXL1, EZH2 и IDH1/2 мутаций предполагает участие эпигенетической регуляции в прогрессировании костномозгового фиброза и лейкоза [59].

Костно-мозговые ниши гемопоэтических стволовых клеток и фиброз костного мозга: самоусиливающееся патологическое ремоделирование.

Костный мозг представляет собой губчатую ткань внутри центральной полости крупных костей скелета [16]. Пространство костного мозга равномерно занято синусоидами. На эндостальной поверхности кости находятся ниши стволовых клеток, в которых локализованы гемопоэтические СК для последующей их дифференцировки в разные клеточные линии. Костномозговые ниши стволовых клеток имеют два региона: остеобластический – рядом с эндоостом и сосудистый – возле синусоидов [48]. Эти разновидности ниш состоят из многих типов клеток, таких как остеобласты, адипоциты, гладкомышечные клетки, Шванновские клетки, ретикулярные и кроветворные клетки, а также клетки эндотелия. Однако чёткого разделения между нишами не выявлено. Возможно, гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) могут отличаться высокой подвижностью, а в пределах этих ниш получать входящие сигналы из двух регионов одновременно [20].

Помимо клеточных элементов, костномозговые ниши содержат компоненты внеклеточного матрикса (“extra cellular matrix” – ECM), которые поддерживают ГСК, обеспечивая взаимодей-

ствие с другими клетками путем активации рецепторов клеточной поверхности, щелевых контактов и молекул растворимых факторов. Молекулярные кооперативные взаимодействия между ГСК и клеточными компонентами ниш определяют баланс между самообновлением и дифференцировкой ГСК [50].

Остеобласты играют важную роль в «обслуживании» ГСК за счёт их высокой чувствительности к гранулоцитарному колониестимулирующему фактору (ГКСФ) остеобластов как *in vitro*, так и *in vivo*. Однако активация остеобластов индуцирует производство остеопонтина и ангиопоэтина-1, которые ограничивают функциональную активность ГСК и способствуют их состоянию покоя – дормантности. Экспрессия N-кадгерина способствует ГСК находиться в пределах ниши и быть в состоянии покоя [35, 48].

Остеокласты – активаторы кальций-зависимой костной резорбции приводят к гипоплазии костного мозга на фоне снижения ГСК в костной нише [41]. Мегакариоциты, экспрессирующие BMP2, 4 и 6 в эндоосте, стимулируют остеобластогенез [24]. Следовательно, ГСК и другие клеточные линии участвуют в формировании как костной ткани, так и клеточного потенциала ниш. Хемокины играют важную роль в поддержании покоящегося состояния гемопоэтических СК благодаря связыванию с их рецептором CXCR-4, как в пределах костной, так и в пределах сосудистых ниш.

Важно отметить роль симпатической нервной системы в модуляции ГСК в пределах ниш. Фотостимуляция симпатических нервных волокон способствовала выходу ГСК из ниш в течение 5 часов, поддерживая их миграцию в периферический кровоток, благодаря модуляции экспрессии CXCL-12 и высвобождения норадреналина в рамках циркадного паттерна [21]. Функционирование симпатических нервных волокон имеет существенное значение для регенерации костного мозга, что подтверждается данными о восстановлении альтернативно изменённого состава ГСК после воздействия цисплатиной у экспериментальных животных.

Сосудистые ниши находятся в васкулярном пространстве (вокруг малых синусоидальных сосудов, связанных со стромальными элементами) и вместе с фибронектином, коллагеном IV типа, а также ламинином внеклеточного матрикса регулируют дифференцировку ГСК с последующей мобилизацией дифференцированных клеток в периферический кровоток [6, 35]. Эндотелиальные клетки в сосудистой нише секретируют E селектин и содействуют

распространению ГСК за пределы костного мозга. Появлению в периферическом кровотоке зрелых клеток крови и, в частности, тромбоцитов из костного мозга способствуют также эндотелиоциты стенок венозных синусоидов. Известно, что кроме специфических цитокинов и хемокинов, гипоксия способствует поддержанию ГСК в дормантном состоянии в костном пространстве ниши [17, 39].

Аномальные взаимоотношения между ГСК и их микроокружением могут повлиять на развитие прогрессирующего фиброза костного мозга. Соматические мутации генов ГСК, таких как JAK2V617F, могут изменить нишу в пользу клональной экспансии ГСК за счет коротко репопулирующих ГСК и их коммитированных прогениторов. Одним из примеров этого является то, что JAK2V617F-мутантные ГСК секретируют провоспалительный интерлейкин (IL-1 β), который инициирует путь апоптоза в мезенхимальных СК и Шванновских клетках. Это, в свою очередь, влияет на выживаемость репопулирующих ГСК, нарушает их взаимодействие с мезенхимальными СК и приводит к альтернативным изменениям симпатических нервных клеток, иннервирующих костный мозг [42]. Известно, что мутанты мезенхимальных СК продуцируют избыточное количество фиброзных белковых факторов, которые активируют пролиферацию клеток мегакариоцитарной линии, что приводит к миелофиброзу. Абберантная экспрессия таких генов, как GIF1A, CXCR4 и PAX, индуцирует негативную регуляцию мононуклеарных клеток в костном мозге у пациентов с прогрессирующим костномозговым фиброзом на фоне активации циклооксигеназ (COX-2, ЦОГ-2) [42].

Злокачественные стволовые клетки на мышечной модели прогрессирующего фиброза костного мозга модифицируют эндостальную нишу в интересах собственного выживания за счет ограничения выживания незлокачественных ГСК и производства костномозговой линии мезенхимальных стволовых клеток, способствующих воспалительному ответу, фиброобразованию и клеточному ремоделированию.

Кроме того, опухолевые миелоидные клетки с профиброзным фенотипом способны производить существенные количества молекул липокалина 2, которые продвигают ГСК-зависимый костномозговой фиброз на фоне одновременного уменьшения количества нормальных ГСК [36].

Клетки стромы костного мозга претерпевают изменения, связанные с миелолиферацией, которые включают избыточные отложения внеклеточного матрикса, ведущие к неоангиогенезу,

фиброзу и остеосклерозу. Оказалось, что JAK2V617F мутация обнаруживается не только в ГСК и клетках миелоидного ряда, но и в эндотелиоцитах у пациентов с лимфолиферативными заболеваниями и фиброзом костного мозга. Сравнительно недавно выявлено, что JAK2V617F мутанты эндотелиальных клеток способствовали их злокачественному перерождению и в конечном счёте такой мутагенез приводил к нарушению нормальной структуры ГСК ниш, а также развитию экстрамедуллярного гемопоэза [42].

Особую роль в прогрессии фиброза костного мозга играют компоненты внеклеточного матрикса – экстрацеллюлярный матрикс (ЕСМ), являющийся трехмерной структурой, обеспечивает физическую поддержку целостности тканей, их эластичность, а также состоит из белков матрицы (коллагена, ламинина, фибронектина, витронектина и фибриногена) и растворимых белков, включая цитокины и хемокины [25]. Эти компоненты определяют биохимические и биомеханические свойства ЕСМ и способны влиять на адгезивные реакции клеток к ЕСМ, а также опосредовать их биологическую активность (деление, дифференцировку, миграцию). Адгезионные взаимодействия требуют поддержки интегринов и включения специфических сигнальных путей (RAS/MARK; RBK/AKT; RhoA/ROCK; Wnt/ β -catenin; TGF- β), которые связывают актомиозиновый скелет с ЕСМ. В костномозговых нишах ЕСМ обеспечивает микроокружение ГСК в целях сохранения их подвижности и дифференцированного потенциала с образованием различных предшественников [8, 35].

Дифференцировка мегакариоцитов и образование протромбоцитов зависит от жесткости матрицы [19, 32]. Коллаген I типа является негативным регулятором формирования протромбоцитов из-за активации им интегрин-зависимой 2 β 1/Rho/ROCK сигнализации [44]. Как известно, мегакариоциты секретируют многие компоненты ЕСМ, которые постепенно осаждаются в костном мозге у пациентов с прогрессирующим костномозговым фиброзом и включают фибронектин, ламинин и коллаген IV типа [4, 47]. Кроме того, коллаген I типа создает условия для дифференцировки ГСК по направлению мегакариоцитарной ниши, но тормозит протромбоцитообразование за счет активации Rho-ROCK-сигнального пути [33].

Локализованные в сосудистой нише мегакариоциты взаимодействуют с коллагеном IV типа, производя протромбоциты, мигрирующие в сосудистые синусоиды костного мозга [6].

Фибробласты костного мозга, активируемые мегакариоцитарными факторами внеклеточного матрикса (в т. ч. TGF- β -регулятора экспрессии коллагена) у пациентов с фиброзом костного мозга, существенно повышают экстраклеточное отложение этого белка по сравнению со здоровыми. Важно отметить, что мегакариоциты у пациентов с фиброзом костного мозга также обладают повышенной экспрессией коллагена III и IV типов по сравнению с мегакариоцитами, полученными от доноров. У больных с первичным миелофиброзом при возрастании степени фиброза снижается повышенное количество тромбоцитов, что отчасти объясняется изменениями во внеклеточном матриксе на более поздних стадиях заболевания [4].

Кроме коллагенов, важнейшим структурным белком ECM является гликопротеин – фибронектин, который поддерживает клеточную адгезию, миграцию, рост и дифференцировку, а также участвует в созревании мегакариоцитов и тромбоцитов [26]. Костномозговые ниши в изобилии содержат фибронектин и способствуют поддержанию образования ГСК/мегакариоцитов, благодаря активации рецепторов фибронектина (VLA-4 и VLA-5) [10].

У больных с профиброгенными миелопролиферативными новообразованиями проводимая терапия мезенхимальными стволовыми клетками способствовала повышению секреции фибронектина, по сравнению с контролем [4, 46]. Отмечено, что фибронектин активирует моноциты у пациентов с миелофиброзом путем повышения производства субстанции P и провоспалительных цитокинов [51].

Тромбоспондины – небольшая группа гликопротеинов, функции которых мало исследованы, однако предполагается, что их действие связано с модуляцией клеточной матрицы. Взаимодействие тромбоспондинов (TSP-1, TSP-2, TSP-3, TSP-4, TSP-5) с рецепторами клеточной поверхности и компонентами ECM способствуют осуществлению посреднических клеточно-матричных функциональных реакций, являясь распространёнными компонентами тромбоцитов, а также эндотелиоцитов, фибробластов и гладкомышечных клеток, тромбоспондины более активно участвуют в процессах мегакариопоэза и миелофиброза [15].

TSP-1 мобилизует продукцию TGF- β 1, а также является индуктором активации фибробластов и синтеза элементов матрицы при фиброзе костного мозга. TSP-1 активно экспрессируется на всех стадиях костномозгового фиброза, независимо от степени миелофиброза.

Необходимо отметить важную роль TSP-1 в образовании мегакариоцитов и протромбоцитов в процессе костномозгового фиброобразования, а также в торможении активности матриксных металлопротеиназ на фоне осаждения расщеплённых компонентов матрикса во внеклеточном пространстве.

Еще одним структурным белком ECM является остеоонектин (также известный как SPARC, «secreted protein acidic and rich in cysteine»), который связывает различные компоненты ECM, такие как TSP-1 и фибриллярные коллагены. Высокие уровни экспрессии остеоонектина в мегакариоцитах связаны со снижением коллагена IV типа в результате его осаждения экстраклеточно [28].

Известно, что белок остеоонектин способствует частичной реакции стромы клеточного мозга на миелопролиферацию и поддержание миелопролиферативного фенотипа. В случаях выраженных стромальных изменений при фиброзе костного мозга уровни экспрессии остеоонектина стромальными клетками костного мозга коррелируют со степенью изменения стромы и соответственно тяжестью костномозгового фиброза.

В последние годы появились новые подтверждения специфической роли костномозговых ниш ГСК в лейкозогенезе. Ранее было показано, что опухолевые клетки острого лимфобластного лейкоза метастазируют в специфические sdf-1(“stromal cell-derived factor-1”) – позитивные сосудистые ниши костного мозга [29]. Лейкоз-индуцированные изменения в микроокружении костного мозга тормозило начальное самонаведение CD34⁺ клеток в сосудистые ниши, экспрессирующих E-селектин, CXCL12 и связанных с гипоксией или воспалением [30]. В дальнейшем CD34⁺ клетки лейкозных мышей не оставались в месте первоначального самонаведения, а мигрировали в другие (эндостальные) опухоль-свободные ниши [14].

Оказалось, что лейкозная пролиферация в костном мозге изменяет стромальное микроокружение и формирует злокачественные ниши, вытесняя находящиеся неизмененные ГСК и их прогениторы с целью приживания CD34⁺ клеток лейкозных мышей [14, 56]. В частности, ксено-трансплантация лейкозных клеток вызывала серьезные повреждения в сосудистой и эндостальных клеточных нишах костного мозга и в процессе самоусиливающегося патологического ремоделирования приводила к образованию аномальных (лейкозных) ниш, прежде всего в результате формирования клеток-мутантов с высокой экспрессией факторов стволовых клеток

и низким уровнем CXCL12 [29]. В этих абберантных нишах отмечено снижение количества ГСК и их трафика на фоне формирования процесса патологического ремоделирования. Было высказано предположение о том, что нормальное кроветворение может нарушаться даже при наличии незначительного количества опухолевых клеток [56].

Сравнительно недавно было показано, что экспозиции перепрограммированных мезенхимальных СК у пациентов с миелодиспластическим синдромом могут изменять программу экспрессии генов, связанных с миелодисплазией и фиброзообразованием, по направлению повышения экспрессии генов, связанных с судьбой остеопрогениторных клеток, а также – по направлению торможения процессов воспаления и фиброза [4]. Эти мезенхимальные СК также способствовали приживлению или распространению миелодисплазии при ортотопической ксенотрансплантации.

Появились свидетельства того, что аномальные лейкозные клетки костного мозга экспрессируют провоспалительные и миелофиброзродственные гены, что способствует дальнейшему развитию фиброза костного мозга, самоусиливающегося патологического ремоделирования. К тому же, развитие JAK2V617F-индуцированных миелопролиферативных новообразований сопровождается потерей симпатической регуляции в ГСК нише костного мозга [7]. Уменьшение количества симпатических нервных волокон и Шванновских клеток в костном мозге у JAK2V617F-позитивных пациентов с миелопролиферативными новообразованиями у экспериментальных животных связано, по мнению авторов, с развитием апоптотического сценария клеточной гибели, путем инициации провоспалительных ($IL-1\beta$) механизмов.

Стратегические направления лечения и профилактики фиброза костного мозга.

Фиброз костного мозга рассматривается как реактивный процесс, инициируемый клональным ростом злокачественных клеток, но не производящий сам бластомной клеточной популяции. Ранее появились данные о том, что хромосомные аномалии в фибробластах отличались от тех, которые регистрировались в гемопоэтических клетках. Эти результаты подтверждали гипотезу о том, что активация популяции фибробластов в процессе развития миелофиброза является следствием реактивного процесса, а не злокачественного роста.

В дальнейшем появились данные, подтверждавшие возможность клонального роста фибро-

бластов при фиброзе костного мозга, о чем свидетельствовало обнаружение JAK2V617F и других хромосомных аномалий фибробластов [5].

Важнейшей стратегией контроля развития миелофиброза является ликвидация патологических $Vcr-ABL1^+$ клеточных клонов для обратного развития фиброза костного мозга. При этом аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток оказалась патогенетической терапией с лечебным потенциалом для эффективной ликвидации злокачественных клонов ГСК при миелопролиферативных новообразованиях на фоне ремоделирования патологического клеточного состава костного мозга.

При исследованиях 19-и пациентов с фиброзом костного мозга (3-4 класса), миелофиброзом и миелоидной аплазией пересадка аллогенных СК завершилась полным приживлением клеточного материала и способствовала достижению длительного выживания (медиана 31 месяц) на фоне регрессии фиброза костного мозга (на протяжении 12 месяцев). Аналогичные результаты были получены в работе, у 57 больных с истинной полицитемией и эссенциальной тромбоцитопенией, у которых полный или частичный регресс фиброза костного мозга (после трансплантации ГСК) был связан с повышением выживаемости (по данным шкал IPSS) [9]. Повышение выживаемости, по мнению авторов, обуславливалось снижением частоты рецидивов.

Известны также данные опубликованных клинических отчетов, описывающих обратное развитие фиброза костного мозга на фоне проводимой терапии интерфероном-альфа (IFN- α) с задокументированным у 17 пациентов улучшением клинических результатов лечения костномозгового ретикулин/коллагенового фиброза, а у двух пациентов – полным разрешением фиброза костного мозга и исчезновением мегакариоцитарной атипии [18, 31].

Проведенный ретроспективный анализ показал, что IFN- α может быть клинически эффективным средством у больных с миелофиброзом без массивной спленомегалии при костномозговом фиброзе III класса. Несмотря на способность IFN- α снижать класс фиброза костного мозга, данные о его влиянии на общую выживаемость пациентов остаются неопределенными [47, 54].

В доклинических и клинических исследованиях миелофиброза представлены результаты оценки лечебной эффективности ингибитора JAK2 тирозинкиназы, руксолитиниба при хроническом миелоидном лейкозе [18]. В биоптатах костного мозга на протяжении 6 и 12 месяцев

наблюдения не выявлены признаки улучшения гистопатологических изменений и снижения класса фиброза костного мозга. Позже в клинических наблюдениях выявлены некоторые признаки разрешения фиброза костного мозга под влиянием руксолитиниба при длительном приеме [10].

Применение пирфенидона (“Pirfenidone”) – антифиброзного препарата, подавляющего активность фиброгенных цитокинов (тромбоцитарного фактора роста, факторов некроза опухоли -альфа и -бета) у больных с миелофиброзом не способствовало обратному развитию фиброза костного мозга и не выявило существенных клинических преимуществ (с точки зрения разрешения анемии или уменьшения спленомегалии) [55].

Комбинированное таргетирование экспрессии профиброгенных цитокинов моноклональными антителами против TGF- β (фрезолимумаб, Genzyme) с JAK2 тирозинкиназой было продемонстрировано в клинике у больных с начальной стадией меланомы и почечно-клеточного рака на фоне миелофиброза. Через 6 и 12 месяцев наблюдения не выявлены признаки обратного развития ретикулинового и коллагенового фиброза костного мозга (после 6/12 циклов лечения), а также заметного уменьшения размеров селезенки [27].

Рекомбинантный человеческий сывороточный амилоид P (“Petraxin”, PRM-151) является сравнительно новым модулятором фиброгенеза [43]. В качестве мощного ингибитора дифференцировки предшественников фибробластов [57] петраксин тормозит развитие фиброза легких, почечного фиброза, фиброза сердечной мышцы на предклиническом этапе исследований. В сочетании с руксолитинибом петраксин снижает симптоматику фиброза костного мозга (на протяжении 24 недель лечения) и отличается удовлетворительной переносимостью без наличия серьезных инфузионных реакций. Длительный прием петраксина (не менее 72 недель) продемонстрировал удовлетворительное уменьшение класса фиброза костного мозга, размеров селезенки, анемии и тромбоцитопении [58, 59].

В настоящее время клиническую оценку проходят новые гуманизированные моноклональные антитела, которые способствуют связыванию и ингибированию активности липоксигеназы LOX2 – симтузумаб (“sintuzumab” NCT01369498) при миелофиброзе и фиброзе костного мозга. При этом отчетливых сигналов ответа в плане обратного развития фиброза костного мозга не достигнуто во II-й фазе клинических исследований [27].

В последние годы еще несколько препаратов (Sonidegib, Saridegib, PF-04449913) проходят многоцентровые исследования противофиброзных свойств у пациентов с миелопролиферативными новообразованиями и находятся на разных фазах клинических испытаний [7, 22].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При многих гематологических и негематологических процессах фиброз костного мозга является ведущим патологическим признаком миелофиброза.

В какой степени костномозговой фиброз участвует в разрушении микроокружения костного мозга и способствует прогрессированию заболеваний окончательно не установлено.

Фиброз костного мозга – кульминационный процесс сложных взаимодействий между костномозговыми клетками и клетками миелопролиферативных новообразований. Он поддерживает стромальное клеточное сообщество путем вовлечения провоспалительных цитокинов, таких как TGF- β и других, в фиброгенез.

Лучшее понимание молекулярных и клеточных механизмов, управляющих миелофиброзом, будет способствовать росту потенциала противофиброзной терапии. Сегодня противофиброзные лечебные стратегии оцениваются в ряде терапевтических исследований на предмет ингибирования образования злокачественных костномозговых ниш и восстановления нормального кроветворения. Совершенствование целевых противофиброзных стратегий, в том числе трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, вероятно, будет способствовать улучшению клинических результатов в будущем.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Клинико-морфологическое исследование миелофиброза при различных типах опухолевого поражения костного мозга у пациентов с хроническим лимфолейкозом / Т.Ю. Долгих, Е.В. Шоленберг, И.В. Качесов [и др.] // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 2016. – Т.161, № 3. – С. 386-390.

2. Модели миелофиброза / А.А. Силютин, И.И. Гин, Н.М. Матюхина [и др.] // Онкогематология. – 2017. – № 10 (1). – С. 75-84.

3. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders / E.J. Baxter,

- L.M. Scott, P. J. Campbell [et al.] // *Lancet*. – 2005. – Vol. 365, N 9464. – P. 1054-1061.
4. Altered fibronectin expression and deposition by myeloproliferative neoplasm-derived mesenchymal stromal cells / V. Abbonante, C. Gruppi, P. Catarsi [et al.] // *Br. J. Haematol.* – 2016. – Vol. 172, N 1. – P. 140-144.
5. Anti-transforming growth factor- β therapy in patients with myelofibrosis / J. Mascarenhas, T. Li, L. Sandy [et al.] // *Leuk. Lymphoma*. – 2014. – Vol. 55, N 2. – P. 450-452.
6. Bone marrow-derived fibroblast precursors mediate ischemic cardiomyopathy in mice / S.B. Haudek, Y. Xia, P. Huebener [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. – 2006. – Vol. 103, N 48. – P. 18284-18289.
7. Bone marrow fibrosis in myelofibrosis: pathogenesis, prognosis and targeted strategies / A.A. Zahr, M.E. Salama, N. Carreau [et al.] // *Haematologica*. – 2016. – Vol. 101, N 6. – P. 660-671.
8. Bone marrow fibrosis: pathophysiology and clinical significance of increased bone marrow stromal fibres / D. J. Kuter, B. Bain, G. Mufti [et al.] // *Br. J. Haematol.* – 2007. – Vol. 139, N 3. – P. 351-362.
9. Bone morphogenetic proteins are overexpressed in the bone marrow of primary myelofibrosis and are apparently induced by fibrogenic cytokines / O. Bock, J. Höftmann, K. Theophile [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2008. – Vol. 172, N 4. – P. 951-960.
10. Bone marrow osteoblastic niche: a new model to study physiological regulation of megakaryopoiesis / I. Pallotta, M. Lovett, W. Rice [et al.] // *PLoS One*. – 2009. – Vol. 4, N 12. – P. 8359.
11. Bornstein P. Thrombospondins function as regulators of angiogenesis / P. Bornstein // *J. Cell Commun Signal*. – 2009. – Vol. 3, N 3-4. – P. 189-200.
12. Boulais P.E. Making sense of hematopoietic stem cell niches / P. E. Boulais, P. S. Frenette // *Blood*. – 2015. – Vol. 125, N 17. – P. 2621-2629.
13. Chang V. T. Synergism between fibronectin and transforming growth factor- β 1 in the production of substance P in monocytes of patients with myelofibrosis / V.T. Chang, C. Yook, P. Rameshwar // *Leuk. Lymphoma*. – 2013. – Vol. 54, N 3. – P. 631-638.
14. Chou J. M. Bone marrow immunohistochemical studies of angiogenic cytokines and their receptors in myelofibrosis with myeloid metaplasia / J.M. Chou, C.Y. Li, A. Tefferi // *Leuk. Res*. – 2003. – Vol. 27, N 6. – P. 499-504.
15. Contribution of comorbidities and grade of bone marrow fibrosis to the prognosis of survival in patients with primary myelofibrosis / D. Lekovic, M. Gotic, M. Perunicic-Jovanovic [et al.] // *Med. Oncol.* – 2014. – Vol. 31, N 3. – P. 869.
16. DIPSS plus: a refined Dynamic International Prognostic Scoring System for primary myelofibrosis that incorporates prognostic information from karyotype, platelet count, and transfusion status / N. Gangat, D. Caramazza, R. Vaidya [et al.] // *J. Clin Oncol.* – 2011. – Vol. 29, N 4. – P. 392-397.
17. Efficacy and safety of pegylated-interferon α -2a in myelofibrosis: a study by the FIM and GEM French cooperative groups / J.C. Ianotto, F. Boyer-Perrard, E. Gyan [et al.] // *Br. J. Haematol.* – 2013. – Vol. 162, N 6. – P. 783-791.
18. Epigenetic abnormalities in myeloproliferative neoplasms: a target for novel therapeutic strategies / J. Mascarenhas, N. Roper, P. Chaurasia [et al.] // *Clin. Epigenetics*. – 2011. – Vol. 2, N 2. – P. 197-212.
19. Gattazzo F. Extracellular matrix: a dynamic microenvironment for stem cell niche / F. Gattazzo, A. Urciuolo, P. Bonaldo // *Biochim. Biophys. Acta* – 2014. – Vol. 1840, N 8. – P. 2506-2519.
20. Guerrouahen B.S. Osteoblastic and vascular endothelial niches, their control on normal hematopoietic stem cells, and their consequences on the development of leukemia / B.S. Guerrouahen, I. Al-Hijji, A.R. Tabrizi // *Stem Cells Int.* – 2011. – P. 375857.
21. Hasselbalch H.C. The role of cytokines in the initiation and progression of myelofibrosis / H.C. Hasselbalch // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2013. – Vol. 24, N 2. – P. 133-145.
22. Identification of an acquired JAK2 mutation in polycythemia vera / R. Zhao, S. Xing, Z. Li [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280, N 24. – P. 22788-22792.
23. Initial bone marrow reticulin fibrosis in polycythemia vera exerts an impact on clinical outcome / T. Barbui, J. Thiele, F. Passamonti [et al.] // *Blood*. – 2012. – Vol. 119, N 10. – P. 2239-2241.
24. JAK inhibition with ruxolitinib versus best available therapy for myelofibrosis / C. Harrison, J. J. Kiladjan, H. K. Al-Ali [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2012. – Vol. 366, N 9. – P. 787-798.
25. Klamer S. The role of novel and known extracellular matrix and adhesion molecules in the homeostatic and regenerative bone marrow microenvironment / S. Klamer, C. Voermans // *Cell Adh. Migr.* – 2014. – Vol. 8, N 6. – P. 563-577.
26. Le Bousse-Kerdilès M. C. Cellular and molecular mechanisms underlying bone marrow and liver fibrosis: a review / M.C. Le Bousse-Kerdilès, M.C. Martyré, M. Samson // *Eur. Cytokine Netw.* – 2008. – Vol. 19, N 2. – P. 69-80.
27. Leukocyte, rather than tumor-produced SPARC, determines stroma and collagen type IV deposition in mammary carcinoma / S. Sangaletti, A. Stoppacciaro, C. Guiducci [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2003. – Vol. 198, N 10. – P. 1475-1485.
28. Lipocalin produced by myelofibrosis cells affects the fate of both hematopoietic and marrow microenvironmental cells / M. Lu, L. Xia, Y. C. Liu [et al.] // *Blood*. – 2015. – Vol. 126, N 8. – P. 972-982.
29. Machlus K. R. The incredible journey: From megakaryocyte development to platelet formation / K.R. Machlus, J. E. Jr. Italiano // *J. Cell Biol.* – 2013. – Vol. 201, N 6. – P. 785-796.
30. Megakaryocyte-matrix interaction within bone marrow: new roles for fibronectin and factor XIII-A / A. Malara, C. Gruppi, P. Rebuzzini [et al.] // *Blood*. – 2011. – Vol. 117, N 8. – P. 2476-2483.
31. Melo J.V. Hematologic malignancies: myeloproliferative disorders / J.V. Melo, J. M. Goldman. – New York: Springer, 2014. – 354 p.

32. Neuropathy of haematopoietic stem cell niche is essential for myeloproliferative neoplasms / L. Arranz, A. Sánchez-Aguilera, D. Martín-Pérez [et al.] // *Nature*. – 2014. – Vol. 512, N 7512. – P.78-81.
33. Net study on the reproducibility of bone marrow features in masked polycythemia vera and differentiation from essential thrombocythemia / H.M. Kvasnicka, A. Orazi, J. Thiele [et al.] // *Am. J. Hematol.* – 2017. – Vol. 92. – P. 1062-1067.
34. New prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment / F. Cervantes, B. Dupriez, A. Pereira [et al.] // *Blood*. – 2009. – Vol. 113, N 13. – P. 2895-2901.
35. Phase 1b Dose-Escalation Study of Sonidegib (LDE225) in Combination with Ruxolitinib (INC424) in Patients with Myelofibrosis / V. Gupta, S. Koschmieder, N. Claire [et al.] // *Blood*. – 2014. – Vol. 124, N 21. – P. 712.
36. Pivotal contributions of megakaryocytes to the biology of idiopathic myelofibrosis / S.O. Ciurea, D. Merchant, N. Mahmud [et al.] // *Blood*. – 2007. – Vol. 110, N 3. – P. 986-993.
37. Programmable 3D silk bone marrow niche for platelet generation ex vivo and modeling of megakaryopoiesis pathologies / C. A. Di Buduo, L. S. Wray, L. Tozzi [et al.] // *Blood*. – 2015. – Vol. 125, N 14. – P. 2254-2264.
38. Prominent role of TGF-beta 1 in thrombopoietin-induced myelofibrosis in mice / H. Chagraoui, E. Komura, M. Tulliez [et al.] // *Blood*. – 2002. – Vol. 100, N 10. – P. 3495-3503.
39. Recombinant human serum amyloid P in healthy volunteers and patients with pulmonary fibrosis / M.R. Dillingh, van den B. Blink, M. Moerland [et al.] // *Pulm. Pharmacol. Ther.* – 2013. – Vol. 26, N 6. – P. 672-676.
40. Reticulin accumulation in essential thrombocythemia: prognostic significance and relationship to therapy / P. J. Campbell, D. Bareford, W. N. Erber [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2009. – Vol. 27, N 18. – P. 2991-2999.
41. Risk models predicting survival after reduced-intensity transplantation for myelofibrosis / H. Alchalby, D. R. Yunus, T. Zabelina [et al.] // *Br. J. Haematol.* – 2012. – Vol. 157, N 1. – P. 75-85.
42. Signals from the sympathetic nervous system regulate hematopoietic stem cell egress from bone marrow / Y. Katayama, M. Battista, W. M. Kao [et al.] // *Cell*. – 2006. – Vol. 124, N 2. – P. 407-421.
43. Silver R. T. Recombinant interferon- α may retard progression of early primary myelofibrosis: a preliminary report / R. T. Silver, K. Vandris, J. J. Goldman // *Blood*. – 2011. – Vol. 117, N 24. – P. 6669-6672.
44. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms / T. Klampfl, H. Gisslinger, A. S. Harutyunyan [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2013. – Vol. 369, N 25. – P. 2379-2390.
45. Stem cell engraftment at the endosteal niche is specified by the calcium-sensing receptor / G. B. Adams, K. T. Chabner, I. R. Alley [et al.] // *Nature*. – 2006. – Vol. 439, N 7076. – P. 599-603.
46. The impact of peripheral blood values and bone marrow findings on prognosis for patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera / K. Abdulkarim, B. Ridell, P. Johansson [et al.] // *Eur. J. Haematol.* – 2011. – Vol. 86, N 2. – P. 148-155.
47. The bone marrow vascular niche: home of HSC differentiation and mobilization / H.G. Kopp, S.T. AVECILLA, A. T. Hooper [et al.] // *Physiology*. – 2005. – Vol. 20. – P. 349-356.
48. The European Consensus on grading of bone marrow fibrosis allows a better prognostication of patients with primary myelofibrosis / U. Gianelli, C. Vener, A. Bossi [et al.] // *Mol. Pathol.* – 2012. – Vol. 25, N 9. – P. 1193-1202.
49. The extracellular matrix at a glance / C. Frantz, K. M. Stewart, V. M. Weaver [et al.] // *J. Cell Sci.* – 2010. – Vol. 123, Pt. 24. – P. 4195-4200.
50. The number of prognostically detrimental mutations and prognosis in primary myelofibrosis: an international study of 797 patients / P. Guglielmelli, T. L. Lasho, G. Rotunno [et al.] // *Leukemia*. – 2014. – Vol. 28, N 9. – P. 1804-1810.
51. The role of the extracellular matrix in primary myelofibrosis / O. Leiva, S. K. Ng, S. Chitalia [et al.] // *Blood Cancer J.* – 2017. – Vol. 7, N 2. – P. 525.
52. Thrombopoietin receptor activation by myeloproliferative neoplasm associated calreticulin mutants / I. Chachoua, C. Pecquet, M. El-Khoury [et al.] // *Blood*. – 2016. – Vol. 127, N 10. – P. 1325-1333.
53. Thrombopoietin/TGF- β 1 loop regulates megakaryocyte extracellular matrix component synthesis / V. Abbonante, C. A. Di Buduo, C. Gruppi [et al.] // *Stem Cells*. – 2016. – Vol. 34, N 4. – P. 1123-1133.
54. Thrombospondin-1 (TSP-1) in primary myelofibrosis (PMF) – a megakaryocyte-derived biomarker which largely discriminates PMF from essential thrombocythemia / M. Muth, B. M. Engelhardt, N. Kröger [et al.] // *Ann. Hematol.* – 2011. – Vol. 90, N 1. – P. 33-40.
55. Transforming growth factor type beta: rapid induction of fibrosis and angiogenesis in vivo and stimulation of collagen formation in vitro / A. B. Roberts, M. B. Sporn, R. K. Assoian [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* – 1986. – Vol. 83, N 12. – P. 4167-4171.
56. Treatment with PF-04449913, an oral smoothened antagonist, in patients with myeloid malignancies: a phase 1 safety and pharmacokinetics study / G. Martinelli, V. G. Oehler, C. Papayannidis [et al.] // *Lancet Haematol.* – 2015. – Vol. 2, N 8. – P. 339-346.
57. Wilson A. Bone-marrow haematopoietic-stem-cell niches / A. Wilson, A. Trumpp // *Nat. Rev. Immunol.* – 2006. – Vol. 6, N 2. – P. 93-106.
58. Wynn T.A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis / T. A. Wynn // *J. Pathol.* – 2008. – Vol. 214, N 2. – P. 199-210.
59. Yin T. The stem cell niches in bone / T. Yin, L. Li // *J. Clin. Invest.* – 2006. – Vol. 116, N 5. – P. 1195-1201.

REFERENCES

1. Dolgih TYu, Sholenberg EV, Kachesov IV. [Clinical and morphological study of myelofibrosis in various types of bone marrow tumor lesion in patients with chronic lymphocytic leukemia]. *Byull. eksperim. biol. i med.* 2016;161,3:386-90. Russian.
2. Silyutina AA, Gin II, Matyuhina NM. [Models of myelofibrosis]. *Onkogematologiya.* 2017;10(1);75-84. Russian.
3. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet.* 2005;365(9464):1054-61.
4. Abbonante V, Gruppi C, Catarsi P. Altered fibronectin expression and deposition by myeloproliferative neoplasm-derived mesenchymal stromal cells. *Br J Haematol.* 2016;172(1):140-4.
5. Mascarenhas J, Li T, Sandy L. Anti-transforming growth factor- β therapy in patients with myelofibrosis. *Leuk Lymphoma.* 2014;55(2):450-52.
6. Haudek SB, Xia Y, Huebener P. Bone marrow-derived fibroblast precursors mediate ischemic cardiomyopathy in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(48):18284-9.
7. Zahr AA, Salama ME, Carreau N. Bone marrow fibrosis in myelofibrosis: pathogenesis, prognosis and targeted strategies. *Haematologica.* 2016;101(6):660-71.
8. Kuter DJ, Bain B, Mufti G. Bone marrow fibrosis: pathophysiology and clinical significance of increased bone marrow stromal fibres. *Br J Haematol.* 2007;139(3):351-62.
9. Bock O, Höftmann J, Theophile K. Bone morphogenetic proteins are overexpressed in the bone marrow of primary myelofibrosis and are apparently induced by fibrogenic cytokines. *Am J Pathol.* 2008;172(4):951-60.
10. Pallotta I, Lovett M, Rice W. Bone marrow osteoblastic niche: a new model to study physiological regulation of megakaryopoiesis. *PLoS One.* 2009;4(12):8359.
11. Bornstein P. Thrombospondins function as regulators of angiogenesis. *J Cell Commun Signal.* 2009;3(3-4):189-200.
12. Boulais PE, Frenette PS. Making sense of hematopoietic stem cell niches. *Blood.* 2015;125(17):2621-29.
13. Chang VT, Yook C, Rameshwar P, Chang VT. Synergism between fibronectin and transforming growth factor- β 1 in the production of substance P in monocytes of patients with myelofibrosis. *Leuk Lymphoma.* 2013;54(3):631-38.
14. Chou JM, Li CY, Tefferi A. Bone marrow immunohistochemical studies of angiogenic cytokines and their receptors in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Leuk Res.* 2003;27(6):499-504.
15. Lekovic D, Gotic M, Perunicic-Jovanovic M. Contribution of comorbidities and grade of bone marrow fibrosis to the prognosis of survival in patients with primary myelofibrosis. *Med Oncol.* 2014;31(3):869.
16. Gangat N, Caramazza D, Vaidya R. DIPSS plus: a refined Dynamic International Prognostic Scoring System for primary myelofibrosis that incorporates prognostic information from karyotype, platelet count, and transfusion status. *J Clin Oncol.* 2011;29(4):392-97.
17. Ianotto JC, Boyer-Perrard F, Gyan E. Efficacy and safety of pegylated-interferon α -2a in myelofibrosis: a study by the FIM and GEM French cooperative groups. *Br J Haematol.* 2013;162(6):783-91.
18. Mascarenhas J, Roper N, Chaurasia P. Epigenetic abnormalities in myeloproliferative neoplasms: a target for novel therapeutic strategies. *Clin Epigenetics.* 2011;2(2):197-212.
19. Gattazzo F, Urciuolo A, Bonaldo P. Extracellular matrix: a dynamic microenvironment for stem cell niche. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1840(8):2506-19.
20. Guerrouahen BS, Al-Hijji I, Tabrizi AR. Osteoblastic and vascular endothelial niches, their control on normal hematopoietic stem cells, and their consequences on the development of leukemia. *Stem Cells Int.* 2011;2011:375857.
21. Hasselbalch HC. The role of cytokines in the initiation and progression of myelofibrosis. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2013;24(2):133-45.
22. Zhao R, Xing S, Li Z. Identification of an acquired JAK2 mutation in polycythemia vera. *J Biol Chem.* 2005;280(24):22788-92.
23. Barbui T, Thiele J, Passamonti F. Initial bone marrow reticulin fibrosis in polycythemia vera exerts an impact on clinical outcome. *Blood.* 2012;119(10):2239-41.
24. Harrison C, Kiladjan JJ, Al-Ali HK. JAK inhibition with ruxolitinib versus best available therapy for myelofibrosis. *N Engl J Med.* 2012;366(9):787-98.
25. Klamer S, Voermans C. The role of novel and known extracellular matrix and adhesion molecules in the homeostatic and regenerative bone marrow microenvironment. *Cell Adh Migr.* 2014;8(6):563-77.
26. Le Bousse-Kerdilès MC, Martyré MC, Samson M. Cellular and molecular mechanisms underlying bone marrow and liver fibrosis: a review. *Eur Cytokine Netw.* 2008;19(2):69-80.
27. Sangaletti S, Stoppacciaro A, Guiducci C. Leukocyte, rather than tumor-produced SPARC, determines stroma and collagen type IV deposition in mammary carcinoma. *J Exp Med.* 2003;198(10):1475-85.
28. Lu M, Xia L, Liu YC. Lipocalin produced by myelofibrosis cells affects the fate of both hematopoietic and marrow microenvironmental cells. *Blood.* 2015;126(8):972-82.
29. Machlus KR, Italiano JE Jr, Machlus KR. The incredible journey: From megakaryocyte development to platelet formation. *J Cell Biol.* 2013;201(6):785-96.
30. Malara A, Gruppi C, Rebuzzini P. Megakaryocyte-matrix interaction within bone marrow: new roles for fibronectin and factor XIII-A. *Blood.* 2011;117(8):2476-83.
31. Melo JV, Goldman JM. Hematologic malignancies: myeloproliferative disorders. Springer: New York. 2014;354.
32. Arranz L, Sánchez-Aguilera A, Martín-Pérez D. Neuropathy of haematopoietic stem cell niche is essential for myeloproliferative neoplasms. *Nature.* 2014;512(7512):78-81.

33. Kvasnicka HM, Orazi A, Thiele J. Net study on the reproducibility of bone marrow features in masked polycythemia vera and differentiation from essential thrombocythemia. *Am J Hematol.* 2017;7.
34. Cervantes F, Dupriez B, Pereira A. New prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood.* 2009;113(13):2895-901.
35. Gupta V, Koschmieder S, Claire N. Phase 1b Dose-Escalation Study of Sonidegib (LDE225) in Combination with Ruxolitinib (INC424) in Patients with Myelofibrosis. *Blood.* 2014;124(21):712.
36. Ciurea SO, Merchant D, Mahmud N. Pivotal contributions of megakaryocytes to the biology of idiopathic myelofibrosis. *Blood.* 2007;110(3):986-93.
37. Di Buduo CA, Wray LS, Tozzi L. Programmable 3D silk bone marrow niche for platelet generation ex vivo and modeling of megakaryopoiesis pathologies. *Blood.* 2015;125(14):2254-64.
38. Chagraoui H, Komura E, Tulliez M. Prominent role of TGF-beta 1 in thrombopoietin-induced myelofibrosis in mice. *Blood.* 2002;100(10):3495-503.
39. Dillingh MR, van den Blink B, Moerland M. Recombinant human serum amyloid P in healthy volunteers and patients with pulmonary fibrosis. *Pulm Pharmacol Ther.* 2013;26(6):672-76.
40. Campbell PJ, Bareford D, Erber WN. Reticulin accumulation in essential thrombocythemia: prognostic significance and relationship to therapy. *J Clin Oncol.* 2009;27(18):2991-9.
41. Alchalby H, Yunus DR, Zabelina T. Risk models predicting survival after reduced-intensity transplantation for myelofibrosis. *Br J Haematol.* 2012;157(1):75-85.
42. Katayama Y, Battista M, Kao WM. Signals from the sympathetic nervous system regulate hematopoietic stem cell egress from bone marrow. *Cell.* 2006;124(2):407-21.
43. Silver RT, Vandris K, Goldman JJ. Recombinant interferon- α may retard progression of early primary myelofibrosis: a preliminary report. *Blood.* 2011;117(24):6669-72.
44. Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med.* 2013;369(25):2379-90.
45. Adams GB, Chabner KT, Alley IR. Stem cell engraftment at the endosteal niche is specified by the calcium-sensing receptor. *Nature.* 2006;439(7076):599-603.
46. Abdulkarim K, Ridell B, Johansson P. The impact of peripheral blood values and bone marrow findings on prognosis for patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Eur J Haematol.* 2011;86(2):148-55.
47. Kopp HG, Avezilla ST, Hooper AT. The bone marrow vascular niche: home of HSC differentiation and mobilization. *Physiology (Bethesda).* 2005;20:349-56.
48. Gianelli U, Vener C, Bossi A. The European Consensus on grading of bone marrow fibrosis allows a better prognostication of patients with primary myelofibrosis. *Mol Pathol.* 2012;25(9):1193-202.
49. Frantz C, Stewart KM, Weaver VM. The extracellular matrix at a glance. *J Cell Sci.* 2010;123(Pt 24):4195-200.
50. Guglielmelli P, Lasho TL, Rotunno G. The number of prognostically detrimental mutations and prognosis in primary myelofibrosis: an international study of 797 patients. *Leukemia.* 2014;28(9):1804-10.
51. Leiva O, Ng SK, Chitalia S. The role of the extracellular matrix in primary myelofibrosis. *Blood Cancer J.* 2017;7(2):525.
52. Chachoua I, Pecquet C, El-Khoury M. Thrombopoietin receptor activation by myeloproliferative neoplasm associated calreticulin mutants. *Blood.* 2016;127(10):1325-33.
53. Abbonante V, Di Buduo CA, Gruppi C. Thrombopoietin/TGF- β 1 loop regulates megakaryocyte extracellular matrix component synthesis. *Stem Cells.* 2016;34(4):1123-33.
54. Muth M, Engelhardt BM, Kröger N. Thrombospondin-1 (TSP-1) in primary myelofibrosis (PMF) – a megakaryocyte-derived biomarker which largely discriminates PMF from essential thrombocythemia. *Ann Hematol.* 2011;90(1):33-40.
55. Roberts AB, Sporn MB, Assoian RK. Transforming growth factor type beta: rapid induction of fibrosis and angiogenesis in vivo and stimulation of collagen formation in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1986;83(12):4167-71.
56. Martinelli G, Oehler VG, Papayannidis C. Treatment with PF-04449913, an oral smoothened antagonist, in patients with myeloid malignancies: a phase 1 safety and pharmacokinetics study. *Lancet Haematol.* 2015;2(8):339-46.
57. Wilson A, Trumpp A. Bone-marrow haematopoietic-stem-cell niches. *Nat Rev Immunol.* 2006;6(2):93-106.
58. Wynn TA. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol.* 2008;214(2):199-210.
59. Yin T, Li L. The stem cell niches in bone. *J Clin Invest.* 2006;116(5):1195-201.

Стаття надійшла до редакції
19.12.2017

