

Обзор литературы / Review article

Особенности состояния эндотелия при Ph-негативных миелопролиферативных новообразованиях

Н.Е. Корсакова

*Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России
191024, г. Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, 16*

Резюме

Тромботические осложнения вносят существенный вклад в тяжесть течения заболевания и смертность при Ph-негативных миелопролиферативных новообразованиях (МПН), включая истинную полицитемию, эссенциальную тромбоцитемию и первичный миелофиброз. Сосудистый эндотелий является неотъемлемым компонентом системы гемостаза, нарушение функциональности которого играет важную роль в развитии протромботических состояний. В обзоре приведен анализ имеющихся данных литературы по оценке особенностей эндотелия при Ph-негативных МПН и их выявлению при помощи различных методов. Поиск литературных источников проводили с использованием баз данных PubMed и eLibrary. Анализ результатов исследований с применением различных методов оценки свидетельствует, что для пациентов с Ph-негативными МПН характерны активация, повреждение и, следовательно, дисфункция эндотелия. Ассоциированные с миелопролиферацией нарушения эндотелия отражаются на реализации всех его функций. Эндотелиальная дисфункция является важным патогенетическим звеном развития тромботических осложнений при Ph-негативных МПН.

Ключевые слова: Ph-негативные миелопролиферативные новообразования, тромбоз, гемостаз, эндотелий, эндотелиальная дисфункция.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Корсакова Н.Е., e-mail: natalya_kors@mail.ru

Для цитирования: Корсакова Н.Е. Особенности состояния эндотелия при Ph-негативных миелопролиферативных новообразованиях. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2021;41(6):30–44. doi: 10.18699/SSMJ20210603

Endothelium state in Ph-negative myeloproliferative neoplasms

N.E. Korsakova

*Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of FMBA of Russia
191024, Saint Petersburg, 2nd Sovetskaya str., 16*

Abstract

Thrombotic complications contribute significantly in morbidity and mortality of patients with Ph-negative myeloproliferative neoplasms (MPN) including polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis. Vascular endothelium is essential component of hemostatic system, and its functionality failure plays important role in prothrombotic states development. This review comprises analysis of available data on assessment of endothelium state characteristics in Ph-negative MPN and their detection with different methods. The search of literature sources was carried out using PubMed and eLibrary databases. The analysis of research results obtained with the use of different estimation techniques indicates that patients with Ph-negative MPN are characterized by endothelium activation, damage, and, consequently, dysfunction. Endothelium abnormalities associated with myeloproliferation have an effect on all endothelial functions fulfillment. Endothelial dysfunction represents important component of thrombosis pathogenesis in Ph-negative MPN.

Key words: Ph-negative myeloproliferative neoplasms, thrombosis, hemostasis, endothelium, endothelial dysfunction.

Conflict of interest. The author declares no conflict of interest.

Correspondence author: Korsakova N.E., e-mail: natalya_kors@mail.ru

Citation: Korsakova N.E. Endothelium state in Ph-negative myeloproliferative neoplasms. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2021;41(6):30–44. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20210603

Введение

Ph-негативные миелопролиферативные новообразования (МПН) – группа заболеваний клональной природы, для которых характерна аномальная пролиферация гемопоэтических стволовых клеток миелоидного ростка кроветворения и соединительнотканых структур костного мозга, приводящая к увеличению количества зрелых клеток одной или нескольких линий дифференцировки. Классические, Ph-негативные, МПН включают истинную полицитемию (ИП), эссенциальную тромбоцитемию (ЭТ) и первичный миелофиброз (ПМФ). Для ИП наиболее характерно опухолевое поражение эритропоэза, ЭТ присущи аномальные проявления мегакариопоэза, ПМФ проявляется развитием фиброза костного мозга [1]. Одним из ключевых моментов патогенеза Ph-негативных МПН считается конститутивная активация сигнального пути JAK-STAT, обусловленная наличием мутации *JAK2 V617F*, мутаций в 12 экзоне гена *JAK2*, в генах *CALR*, *MPL*, либо другими более редкими мутациями. Тромбозы составляют основную часть осложнений при Ph-негативных МПН, особенно при ИП и ЭТ, внося существенный вклад в тяжесть заболевания и смертность. Клинические данные указывают на ассоциацию мутации *JAK2 V617F* с повышенным тромботическим риском у пациентов с ЭТ и ИП [2]. Патогенез тромбоза у пациентов с МПН имеет многофакторный характер и всесторонне исследуется, особенно в отношении ассоциированных с миелопролиферацией гемостатических нарушений [3–5]. Важная роль в развитии протромботических состояний отводится дисфункции эндотелия.

Физиологические особенности эндотелия и предполагаемые механизмы развития эндотелиальной дисфункции при Ph-негативных МПН

Эндотелий – основной компонент гистогематических барьеров, выполняющий разнообразные функции. Вазомоторная функция обеспечивает регуляцию сосудистого тонуса и, соответственно, кровотока за счет продукции вазоконстрикторов и вазодилататоров. Гемостатическая функция осуществляется благодаря продукции целого ряда факторов, принимающих непосредственное

участие в осуществлении гемостаза. Адгезивная функция необходима для регуляции взаимодействия сосудистой стенки с клетками крови, в том числе с лейкоцитами. Ангиогенная функция выполняется посредством модуляции роста гладкомышечных клеток и ремоделирования сосудистого русла. Выделяют также иммунную функцию эндотелия, реализуемую за счет синтеза цитокинов и антигенпрезентирующей роли [6].

В физиологических условиях эндотелий способствует кровотоку, обеспечивая антитромботическую поверхность, которая подавляет адгезию тромбоцитов и активацию коагуляции [4, 5, 7], поддерживая жидкое состояние крови. В ответ на повреждение или воспаление происходит стимуляция и активация эндотелия с повышением экспрессии тромбогенных факторов и поверхностных адгезивных молекул, что увеличивает гемостатический потенциал в месте повреждения. В определенных условиях это можно рассматривать как защитную реакцию организма, направленную на ограничение патологического процесса. Однако при нарушении механизмов, контролируемых гемостаз, результатом может быть развитие локального тромбоза или внутрисосудистое свертывание крови [8, 9]. Действие повреждающих факторов различной природы может приводить к структурным изменениям эндотелиальных клеток (ЭК), нарушению их межклеточных и клеточно-матриксных взаимодействий и выполняемых функций, т.е. к эндотелиальной дисфункции (ЭД), которая является ключевым звеном патогенеза широкого круга заболеваний, а в ряде случаев – и начальным этапом развития патологических процессов [6]. Дисфункция эндотелия принадлежит ведущая роль в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний, при которых ЭД присутствует на доклинической фазе, располагая в дальнейшем к развитию тромбозов [10].

Различные факторы могут оказывать влияние на функцию эндотелия у пациентов с МПН, нарушая физиологическое состояние эндотелия и превращая его в проадгезивную и прокоагулянтную поверхность. Патологические особенности циркулирующих клеток крови, происходящих в результате клональной пролиферации гемопоэтических стволовых клеток, включают не только ко-

личественные, но и качественные изменения, которые определяют проявление прокоагулянтного фенотипа, в том числе экспрессию прокоагулянтных и протеолитических факторов, секрецию воспалительных цитокинов и экспрессию молекул адгезии [4, 5]. Повышенное число и активационный статус циркулирующих тромбоцитов, эритроцитов и лейкоцитов вызывают активацию свертывания, определяя развитие гиперкоагуляционного состояния у пациентов с МПН даже в отсутствие тромботических проявлений [4, 7].

Воспалительные цитокины, взаимодействие с активированными тромбоцитами и лейкоцитами и реологические нарушения кровотока могут вызывать протромботические изменения в сосудистом эндотелии пациентов с МПН [5], способствуя активации ЭК, а также нарушая целостность их монослоя [4]. Активные формы кислорода и внутриклеточные протеазы, высвобождаемые активированными нейтрофилами, могут индуцировать открепление или лизис ЭК, нарушая функции, вовлеченные в тромборегуляцию [4, 5, 7]. В последнее время появились свидетельства наличия в ЭК драйверных мутаций, ассоциированных с миелоидной неоплазией, таких как *JAK2 V617F*, и их вклада в развитие проадгезивного и протромботического фенотипа ЭК [11, 12]. Развитие хронической эндотелиальной дисфункции в свою очередь усиливает состояние приобретенной тромбофилии, ассоциированной с МПН [4]. Определение избыточной активации и дисфункции эндотелия как начального патогенетического звена в развитии тромбозов, в том числе оценка роли клеточных и растворимых биомаркеров активации и повреждения эндотелия, имеет существенное значение для выявления протромботических состояний и предупреждения тромботических осложнений у пациентов с МПН.

Особенности вазомоторной функции эндотелия при Ph-негативных МПН

Оценка вазомоторной функции эндотелия возможна при помощи методов функциональной диагностики, которые включают определение эндотелий-зависимой вазодилатации с использованием различных средств детекции и тем самым позволяют оценить изменения продукции оксида азота (NO) и других вазоактивных веществ [6]. В настоящее время поток-зависимая вазодилатация (flow-mediated dilatation, FMD) посредством ультразвуковых датчиков является наиболее широко используемым функциональным тестом для оценки ЭД [6]. При этом учитывается вазодилаторный ответ плечевой артерии на увеличение напряжения сдвига, вызываемое реактивной гиперемией при повышении внутрисосудистого

тока крови. Показано, что неинвазивная оценка ЭД в плечевой артерии при помощи ультразвука не только отражает нагрузку факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний, но и соотносится с результатами инвазивного исследования коронарной эндотелиальной функции и с выраженностью и степенью тяжести коронарного атеросклероза. ЭД как в коронарных, так и в периферических артериях коррелирует с прогнозом риска развития артериальной патологии [13].

Первое исследование по оценке FMD у пациентов с МПН было осуществлено T. Neunteufl et al. Авторы продемонстрировали, что эндотелий-зависимая FMD значительно нарушена у пациентов с ИП даже без клинических признаков артериальной патологии. Напротив, эндотелий-независимая индуцируемая нитроглицерином вазодилатация, также оценивавшаяся с помощью ультразвука высокого разрешения в плечевой артерии, сохранялась у пациентов с ИП и была сопоставима со значениями контрольной группы, указывая на определяющий вклад эндотелия в снижение показателей FMD. Данные T. Neunteufl et al. свидетельствовали об ассоциации ИП с нарушением вазомоторной функции эндотелия на доклинической фазе артериальной патологии, что в дальнейшем могло predispose к развитию тромботических осложнений [10].

Значительное снижение FMD у пациентов с ИП отмечалось также G. Lessiani et al. [14]. Существенное нарушение FMD в группе больных МПН, включая ИП, ЭТ и ПМФ, в сравнении с показателями здоровых лиц продемонстрировано в исследовании A. Yildiz et al. Значения FMD отдельных подгрупп МПН были сходны между собой и снижены относительно величин контрольной группы, но уровня статистической значимости достигали только у пациентов с ЭТ, тем самым подтверждая наличие ЭД. При этом наибольшее уменьшение FMD наблюдалось у пациентов с МПН, имевших тромботические осложнения в анамнезе, свидетельствуя о большей выраженности нарушения вазомоторной функции эндотелия. Авторы предполагают, что вазомоторная дисфункция эндотелия вносит вклад в развитие тромбозов и становится более выраженной при наличии тромботических проявлений при МПН [15].

Биохимическая оценка вазомоторной функции эндотелия может быть проведена путем определения концентрации в крови продуцируемых им вазоактивных веществ. Зависимая от эндотелия вазодилатация в основном связана с синтезом в нем NO, эндотелиального гиперполяризующего фактора (EDHF) и простаглицлина, другие вазодилататоры, такие как адреномедулин,

анандамид, натрийуретический пептид С, по-видимому, имеют меньшее значение в регуляции сосудистого тонуса. Кроме эндотелий-зависимой вазодилатации выделяют также механизмы эндотелий-зависимой вазоконстрикции, связанные с синтезом тромбоксана А₂, 20-НЕТЕ (20-гидроксиэйкозотетраеновой кислоты), эндотелина-1, ангиотензина II [8].

NO, наиболее мощный вазодилатирующий агент, представляет собой свободнорадикальный продукт, образующийся при окислении L-аргинина до L-цитруллина NO-синтазами. NO эндотелиального происхождения является одним из основных медиаторов, влияющих на сосудистую гемодинамику и взаимодействие лейкоцитов и тромбоцитов с ЭК. Действительно, NO опосредует дилатацию сосудов в ответ на действие вазоактивных субстанций и повышение напряжения сдвига; ингибирует адгезию, активацию, секрецию и агрегацию тромбоцитов; стимулирует дезагрегацию тромбоцитов. Более того, NO ингибирует экспрессию Р-селектина на тромбоцитах, а также препятствует адгезии лейкоцитов к эндотелию. Дефицит продукции эндогенного NO может вносить вклад в развитие тромботических явлений [4, 7]. Для оценки синтеза NO используют определение концентрации его стабильных метаболитов – нитритов и нитратов [6].

Оценка активационного статуса сосудистых клеток у пациентов с МПН путем измерения плазменного уровня производных NO впервые была проведена группой G. Cella et al. Авторы выявили снижение содержания NO в плазме пациентов с ЭТ в сравнении с контролем [16]. Сходные данные получены A. Piccin et al., отмечавшими существенное уменьшение концентрации NO у пациентов с ЭТ без медикаментозного лечения относительно здоровых лиц, что предполагает значительное потребление и дефицит NO при ЭТ, свидетельствуя о дисфункции эндотелия и протромботических изменениях [17]. Наряду с этим пациенты с ЭТ, получавшие гидроксимочевину, обнаруживали значительное повышение уровня производных NO в плазме в сравнении как с остальными больными ЭТ, так и с контрольной группой [16]. По данным A. Piccin et al., содержание NO также заметно больше у лиц с ЭТ, принимавших гидроксимочевину в сочетании с аспирином, по сравнению с пациентами как без терапии, так и получавшими анагредид и/или аспирин [17]. По-видимому, гидроксимочевина может усиливать продукцию NO ЭК, вероятно, за счет активации эндотелиальной NO-синтазы [18]. Подобный эффект гидроксимочевины на уровень NO в плазме может вносить вклад в ее известную способность предотвращать тромбо-

эмболические осложнения у пациентов с ЭТ [4, 7]. В то же время больные ИП демонстрировали высокую концентрацию NO в плазме в сравнении с контролем вне зависимости от лечения гидроксимочевиной, при этом отмечалась значимая прямая корреляция содержания метаболитов NO с гематокритом [16], что может представлять компенсаторный механизм в ситуации высокого тромботического риска [4, 7].

Адреномедуллин (ADM) представляет собой мощный вазодилатирующий пептид, действующий на ЭК как стимулятор высвобождения NO. По данным A. Piccin et al., повышение уровня ADM относительно показателей здоровых лиц наблюдалось у всех пациентов с ЭТ независимо от наличия терапии, что подтверждает предположение об активации ЭК при ЭТ, продуцирующих NO либо за счет синтеза эндотелиальной NO-синтазой, либо посредством стимуляции его высвобождения адреномедуллином в качестве компенсаторного механизма для ограничения протромботических изменений при ЭТ [17].

Определение концентрации эндотелина-1, мощного вазоконстриктора, вызывающего значительные изменения гемодинамики и ремоделирование сосудистого русла [6], выявляло значимое падение величины этого показателя у пациентов с ЭТ, принимавших анагредид в сочетании с аспирином, относительно контрольных значений. По-видимому, кроме снижения числа тромбоцитов при ЭТ, анагредид может также ослаблять вазоконстрикцию за счет уменьшения уровня эндотелина-1 [17].

По предположению A. Piccin et al., терапия цитостатическими препаратами косвенно влияет на эндотелиальную активность при МПН за счет изменения продукции эндотелиальных модуляторов, причем гидроксимочевина стимулирует вазодилатацию за счет повышения уровня NO и ADM, в то время как анагредид подавляет вазоконстрикцию посредством уменьшения концентрации эндотелина-1, приводя к сходному терапевтическому эффекту [17].

Таким образом, выявляемое у пациентов с МПН существенное снижение уровня NO может обуславливать ослабление эндотелий-зависимой FMD и свидетельствовать о нарушении вазомоторной функции эндотелия. Учитывая, что продукция эндогенного NO выполняет роль физиологического механизма ограничения распространения тромбообразования, снижение уровня NO при МПН вносит дополнительный вклад в прокоагулянтный сценарий при данных патологиях. При этом циторедуктивная терапия, по-видимому, способствует восстановлению вазодилататорной активности эндотелия при МПН.

Особенности гемостатической функции эндотелия при Ph-негативных МПН

Среди веществ, образующихся в эндотелии и участвующих в гемостазе или влияющих на этот процесс, можно выделить две группы – тромбогенные и атромбогенные факторы. К тромбогенным факторам, индуцирующим адгезию и агрегацию тромбоцитов, тромбоногенез, угнетающим фибринолиз, относятся фактор Виллебранда (ФВ), фактор активации тромбоцитов, АДФ, тромбоксан А₂, тканевой фактор, ингибиторы тканевого активатора плазминогена. Уровень их продукции определяет тромбогенный потенциал сосудов. К атромбогенным веществам относятся NO, простаглицлин, экто-АДФазы, ингибитор внешнего пути свертывания крови, тромбомодулин, протеогликаны, тканевой активатор плазминогена и некоторые другие, которые тормозят процессы адгезии и агрегации тромбоцитов, тромбоногенез, активируют фибринолиз и тем самым определяют тромборезистентность. Снижение тромборезистентности сосудов, сопровождающееся сосудистой тромбофилией, – одно из проявлений дисфункции эндотелия [8]. Наиболее распространенными маркерами нарушения тромборезистентности эндотелия являются ФВ, тромбомодулин, а также тканевой фактор [6, 8].

ФВ – крупный мультимерный гликопротеин, который синтезируется клетками эндотелия и мегакариоцитами. Определенная концентрация ФВ в плазме крови обеспечивается в основном за счет конститутивной секреции белка эндотелием. Под действием различных вазоактивных субстанций или повреждающих агентов происходит высвобождение крупных мультимеров ФВ в циркуляцию из гранул хранения ЭК. ФВ играет важную роль в формировании тромбоцитами тромба, принимая непосредственное участие в адгезии и агрегации кровяных пластинок. Кроме того, являясь белком-носителем фактора VIII свертывания крови, ФВ способствует его сохранности и функциональной активности [9]. Высокий уровень ФВ в крови отражает повреждение ЭК и развитие ЭД [6].

Ранние опубликованные данные описывают повышение уровня ФВ в ассоциации с тромбозами в анамнезе у пациентов с хроническими МПН [19], в то время как другие авторы отмечали лишь незначительное увеличение уровня ФВ у больных ЭТ относительно контрольных показателей, не достигавшее статистической значимости [20]. Существенный рост концентрации ФВ в циркуляции относительно показателей здоровых лиц наблюдали A. Falanga et al. в группе пациентов с ЭТ и ИП независимо от наличия и вида медикаментозной терапии [21], а также E. Arellano-Ro-

drigo et al. у лиц с ЭТ, находившихся на лечении антиагрегантами и/или цитолитическими препаратами [22]. При этом наиболее выраженное повышение плазменного уровня ФВ выявлялось у больных ЭТ с тромбозами в анамнезе относительно пациентов без тромбозов, а также у позитивных по *JAK2 V617F* пациентов с ЭТ относительно носителей аллеля дикого типа. Содержание ФВ в плазме крови коррелировало с аллельной нагрузкой *JAK2 V617F* [22]. Кроме того, у больных ЭТ, не принимавших гидроксимочевину, концентрация ФВ была больше, чем у пациентов с ЭТ, находившихся на лечении данным препаратом [21]. Авторы предполагают, что высокий уровень ФВ в циркуляции у пациентов с МПН может обуславливать акселерацию свертывания, приводящую к повышенному риску тромбообразования, особенно при наличии тромботического анамнеза и мутации *JAK2 V617F* [19, 21, 22].

В экспериментах по исследованию фенотипа и функций позитивных по *JAK2 V617F* ЭК, проведенных рядом авторов (S.L. Etheridge et al. [23], A. Guadall et al. [24], A. Guy et al. [25]) с использованием мышинных моделей *in vivo* и моделей ЭК человека *in vitro*, было выявлено увеличение экспрессии ФВ [23–25] и его секреции в растворимой форме вследствие усиления дегрануляции телец Вейбеля – Палади в ЭК, экспрессирующих *JAK2 V617F* [25]. Число и интенсивность флюоресценции телец Вейбеля – Палади также были значительно выше при наличии в ЭК мутации *JAK2 V617F* [24]. Эти результаты предполагают существенный вклад экспрессии *JAK2 V617F* в ЭК в их провоспалительный и протромботический фенотип и функциональную проадгезивность.

В то же время имеются данные о снижении уровня и активности ФВ при МПН с развитием приобретенного синдрома Виллебранда у 12–20 % пациентов [26–28] (до 55 % при ЭТ [29]), сопровождающегося выраженной кровоточивостью. Его формирование при МПН связывают с потерей крупных мультимеров ФВ из-за усиления их протеолиза расщепляющей протеазой ADAMTS13 при повышенном напряжении сдвига, а также абсорбции ФВ на поверхности тромбоцитов или других клеток опухолевого клона [26, 28].

Одной из наиболее значимых тромбогенных субстанций, образующихся в эндотелии и участвующих в гемостазе, является **тканевой фактор (ТФ)** [8]. Повреждение эндотелиального слоя сосудистой стенки сопровождается экспозицией в кровь ТФ, его контакт с кровью приводит к образованию комплекса ТФ с активированным фактором VII, что является критическим событи-

ем для активации всего коагуляционного каскада. Малое количество тромбина, которое первоначально образуется на клетках, несущих ТФ, существенно для формирования последующих фаз распространения и усиления процесса свертывания крови. Экспрессия ТФ ЭК повышается в ответ на повреждение или воспаление, вызывая локальное увеличение гемостатического потенциала [9].

По плазменному уровню тканевого фактора у пациентов с ЭТ и ПМФ, находившихся на лечении различными антиагрегантными и/или цитолитическими препаратами, не выявлялось статистически значимых различий с группой здоровых добровольцев [22, 30]. Однако значительное повышение содержания ТФ отмечалось у позитивных по *JAK2 V617F* пациентов с ЭТ относительно носителей аллеля дикого типа, при этом плазменная концентрация ТФ значимо коррелировала с аллельной нагрузкой *JAK2 V617F* [22]. Имеющиеся данные дают основания предположить, что повышение уровня тканевого фактора в плазме характерно для пациентов с МПН при наличии мутации *JAK2 V617F*.

Важным компонентом, обеспечивающим антикоагулянтную активность сосудистой стенки, является **тромбомодулин (ТМ)** [6], представляющий собой рецептор тромбина, экспрессируемый в большом количестве ЭК, особенно в зоне микроциркуляции. Тромбин, поступающий в кровь из зоны повреждения, связывается с ТМ на интактных ЭК, где под действием комплекса тромбин/ТМ происходит активация протеина С – одного из важнейших естественных антикоагулянтов. Активированный протеин С в комплексе с протеином S расщепляет и инактивирует факторы свертывания крови Va и VIIIa – сильнейшие катализаторы образования тромбина. Активация системы протеинов С и S комплексом тромбина с ТМ предотвращает распространение образования коагуляционных энзимов на интактном слое эндотелия [9]. Об активации и повреждении ЭК свидетельствует высокий уровень растворимого ТМ в плазме крови [6], источником которого могут быть микрочастицы эндотелиального происхождения, а также циркулирующие клетки эндотелия.

Увеличение содержания растворимого ТМ в плазме пациентов с МПН отмечалось в ряде работ. Так, плазменный уровень растворимого ТМ в группе пациентов с ИП и ЭТ значительно превышал показатели здоровых лиц по ранним данным С. Musolino et al. [31]. Исследование А. Falanga et al. обнаружило такую же особенность у пациентов с ИП и ЭТ независимо от наличия и вида медикаментозной терапии [21]. Существенный рост уровня растворимого ТМ в плазме пациен-

тов с ПМФ, находившихся на лечении антиагрегантными, циторедуктивными препаратами и/или терапии эритропоэтином, отмечался в работе А. Alvarez-Larran et al., указывая на активацию и повреждение эндотелия при ПМФ, сходные с ИП и ЭТ [30]. Подтверждая данные перечисленных исследований, значимое увеличение уровня ТМ в сравнении с контрольной группой описано в работе М.К. Jensen et al. у пациентов с МПН независимо от наличия терапии и циторедуктивного лечения, указывая на повреждение ЭК и нарушение эндотелиальной функции [32].

Однако отдельный анализ нозологических групп в исследовании А. Falanga et al. обнаружил существенное повышение содержания ТМ в сравнении с показателями здоровых лиц лишь у пациентов с ИП, в то время как у больных ЭТ оно возрастало незначимо [21], согласуясь с ранними данными S. Bellucci et al. [20]. Е. Arellano-Rodriguez et al. также не обнаружили значимых различий по уровню растворимого ТМ между пациентами с ЭТ, находившимися на лечении антиагрегантными и/или цитолитическими препаратами, и здоровыми добровольцами. При этом отмечаемое у части больных увеличение концентрации ТМ было ассоциировано с наличием мутации *JAK2 V617F* [22]. Данные другой работы С. Musolino et al. свидетельствовали о значимом повышении растворимого ТМ лишь у пациентов с хроническими МПН, имевшими тромбозы в анамнезе, относительно пациентов без тромботических эпизодов [33]. Терапия гидроксимочевинной, видимо, не влияла на уровень растворимого ТМ в группе пациентов с ЭТ и ИП [21].

Повышение концентрации растворимого ТМ у пациентов с МПН, отмеченное в ряде представленных работ, предполагает длительное повреждение ЭК, которое может вносить существенный вклад в патогенез тромбозов. В то же время в некоторых исследованиях увеличение уровня растворимого ТМ выявлялось не во всех нозологических формах МПН либо только при наличии тромботического анамнеза или мутации *JAK2 V617F*.

Таким образом, повышение содержания циркулирующих маркеров активации и повреждения эндотелия, таких как ФВ, тромбомодулин и тканевой фактор, выявляемое у пациентов с МПН, особенно при наличии мутации *JAK2 V617F* и тромбозов в анамнезе, указывает на прокоагулянтный статус ЭК и снижение тромборезистентности сосудистого эндотелия, что напрямую способствует развитию тромботических осложнений. Снижение уровня ФВ у пациентов с МПН, принимающих гидроксимочевину, вероятно, может свидетельствовать о благоприятном

действию циторедуктивной терапии на восстановление тромборезистентности эндотелия при данных патологиях.

Особенности адгезивной функции эндотелия при Ph-негативных МПН

Выявление и оценка нарушений адгезивной функции сосудистой стенки возможны путем определения концентрации в крови растворимых форм адгезивных молекул эндотелия. На люминальной поверхности ЭК представлены P- и E-селектины, межклеточные и сосудистые клеточные молекулы адгезии (intracellular adhesion molecule-1 – ICAM-1, vascular adhesion molecule-1 – VCAM-1). Экспрессия молекул адгезии происходит под влиянием медиаторов воспаления, провоспалительных цитокинов, окисленных липопротеинов низкой плотности, тромбина и других стимулов. При участии P- и E-селектинов осуществляются задержка и роллинг лейкоцитов, ICAM-1 и VCAM-1 обеспечивают полную остановку (адгезию) лейкоцитов. Повышение адгезивности эндотелия и неконтролируемая адгезия лейкоцитов в результате изменения количества и распределения адгезивных молекул на поверхности ЭК имеют большое значение в патогенезе ЭД и воспаления при различных заболеваниях, в том числе сердечно-сосудистой системы, а также при онкологических процессах [6, 8]. Определение экспрессируемых эндотелием и высвобождаемых в циркуляцию селектинов и молекул клеточной адгезии применяется в качестве показателя активации эндотелия.

Значительное увеличение плазменного уровня растворимых E- и P-селектина у пациентов с ИП и ЭТ описано в ранних работах исследовательской группы С. Musolino et al. [31]. Сходный вывод относительно растворимого P-селектина представлен в работе G. Cella et al., в то время как уровень растворимого E-селектина лишь у пациентов с ИП превышал показатели здоровых лиц [16]. При этом более высокие значения концентрации растворимого E-селектина в плазме крови отмечались у больных хроническими МПН с тромбозами в анамнезе относительно пациентов без тромботических осложнений [31, 33]. В то же время рост концентрации растворимого P-селектина в зависимости от наличия тромбозов в анамнезе выявлялся лишь среди пациентов с ЭТ [31]. По данным A. Belotti et al., повышение уровня растворимого E-селектина у больных ЭТ относительно показателей здоровых добровольцев наблюдалось вне зависимости от мутационного статуса *JAK2* V617F пациентов [34]. Обследование крупной когорты пациентов с МПН, проведенное B. Robertson et al., позволило показать

значительное увеличение концентрации растворимого P-селектина, наиболее выраженное у позитивных по *JAK2* V617F больных в сравнении с носителями аллелей дикого типа. При этом по уровню растворимого E-селектина значимых различий не наблюдалось [35].

В исследовании M. Karakantza et al. у пациентов с ЭТ и ИП с ассоциированным тромбоцитозом продемонстрировано значительное увеличение уровня растворимого VCAM-1 относительно здоровых добровольцев, указывающее на активацию эндотелия. По данному показателю не обнаруживалось различий у лиц с артериальными тромбозами крупных сосудов и больных без тромботических осложнений. Высокий уровень растворимого VCAM-1 отмечался как до, так и после проведения циторедуктивного лечения и коррелировал у больных с артериальными тромбозами и эритромегалгией с активацией тромбоцитов *in vivo* [36]. Исследование С. Bilgir et al. также выявило значимый рост уровня VCAM-1 в сыворотке пациентов с ЭТ относительно контрольной группы здоровых лиц, а также его корреляцию с числом тромбоцитов, предполагая, что данная особенность может выступать фактором сосудистых осложнений и ассоциироваться с тромбоцитозом. В то же время по уровню растворимого E-селектина и ICAM-1 в сыворотке значимых различий между двумя группами не обнаруживалось [37].

При оценке фенотипа и функций ЭК, экспрессирующих *JAK2* V617F, с помощью моделей *in vivo* и *in vitro* группами авторов A. Guadall et al. [24] и A. Guy et al. [25] выявлено значительное увеличение экспрессии P-селектина, сопровождавшееся его аккумуляцией на клеточной поверхности [24, 25]. Усиление дегрануляции телец Вейбеля – Палади, описанное A. Guy et al. в ЭК при наличии мутации *JAK2* V617F, наряду с ростом уровня ФВ и его секреции также способствовало повышению экспрессии P-селектина на поверхности клеток. Результаты экспериментов с использованием блокирующих антител к P-селектину показали, что протромботический фенотип ЭК, экспрессирующих *JAK2* V617F, главным образом обусловлен усилением адгезивных свойств в связи с повышенной экспрессией мембранного P-селектина. Увеличение уровня мембранно-связанного и растворимого P-селектина эндотелиального происхождения отмечалось авторами на фоне отсутствия изменений экспрессии ЭК других адгезивных молекул, таких как ICAM-1, VCAM-1 и E-селектин. Применение гидроксимочевины *in vitro* и *in vivo* приводило к снижению секреции и поверхностной экспрессии эндотелиального P-селектина

ЭК, экспрессирующими *JAK2 V617F*, и, соответственно, способствовало ослаблению протромботического фенотипа [25].

Таким образом, представленные работы демонстрируют достаточно противоречивые результаты, однако в целом свидетельствуют о том, что пациенты с МПН характеризуются измененным паттерном продуцируемых эндотелием растворимых адгезивных молекул, особенно селективных. Имеющиеся данные о повышении уровня растворимых E- и P-селективных и VCAM-1 у больных МПН, особенно при наличии тромбозов в анамнезе, отражают изменения активационного статуса сосудистых клеток, способствующие повышению адгезивности эндотелия, и свидетельствуют о его непрерывной активации, приводящей к развитию ЭД, что может вносить вклад в патогенез тромбозомболических событий при данных заболеваниях.

Особенности ангиогенной функции эндотелия при Ph-негативных МПН

Одним из важных патогенетических звеньев ЭД являются нарушения пролиферации и миграции ЭК. Поэтому для мониторинга дисфункции эндотелия применимо определение концентрации в крови регуляторов процесса ангиогенеза, таких как фактор роста эндотелия сосудов (*vascular endothelial growth factor, VEGF*), фактор роста фибробластов (*fibroblast growth factor, FGF*) и др. VEGF и FGF и их рецепторы, по-видимому, являются основными индукторами ангиогенеза. Оба ангиогенных фактора вовлечены в аутокринную регуляцию митогенной активности ЭК. В то время как члены семейства FGF оказывают биологические эффекты на разные типы клеток, VEGF является наиболее селективным ростовым фактором, действующим на ЭК [38], а также выступает ключевым медиатором ангиогенеза, действуя в качестве индуктора сосудистой проницаемости [39, 40].

Высокий уровень VEGF и FGF в сыворотке крови описан при различных патологических состояниях, включая воспаление и рак [38]. Клиническое значение VEGF как маркера ЭД в настоящее время показано в онкологии (коррелирует с неблагоприятным прогнозом), ревматологии, кардиологии [6]. Роль ангиогенеза в прогрессирующем росте и метастазировании многих солидных опухолей хорошо установлена. Тем не менее клинико-прогностическая значимость ангиогенных факторов при онкогематологических заболеваниях не столь очевидна [38]. Повышение их концентрации, в частности VEGF, как наиболее значимого и эндотелий-специфичного маркера, отмечается при различных гематологических но-

вообразованиях, ассоциируясь при этом с неблагоприятным прогнозом [39], в том числе при миелоидных новообразованиях, таких как острый и хронический миелолейкоз, миелодиспластический синдром [38]. Имеются свидетельства, что ангиогенез также играет важную роль в биологии Ph-негативных МПН [38, 41–44].

Одно из первых исследований уровня циркулирующих ангиогенных факторов при МПН проведено F. Di Raimondo et al. [45, 46]. Авторами отмечалось значительное повышение содержания циркулирующего VEGF в сыворотке пациентов с миелофиброзом и ЭТ относительно здоровых лиц, подтверждающее усиленную ангиогенную активность [45, 46]. В многочисленных исследованиях также показано увеличение концентрации растворимого VEGF в сыворотке или плазме больных ИП, ЭТ и ПМФ, не получавших терапию циторедуктивными препаратами [38, 39, 41, 43, 44, 47]. В то время как высокий уровень VEGF наблюдался у пациентов с различными формами Ph-негативных МПН, не получавших терапии циторедуктивными препаратами [38, 39, 43–45, 47], в работе J. Trelinski et al. содержание VEGF было заметно меньше у лиц, находившихся на терапии гидроксимочевинной, относительно больных, не получавших данный препарат, свидетельствуя о существенной роли циторедуктивной терапии в ограничении ангиогенеза при МПН [44].

Несмотря на то что в ранних работах ангиогенная активность не коррелировала с какими-либо клиническими или лабораторными особенностями заболевания [45, 46], в последующих исследованиях показана ассоциация уровня растворимого VEGF в плазме/сыворотке пациентов с МПН с числом тромбоцитов, эритроцитов и лейкоцитов, содержанием гемоглобина, гематокритом и выраженностью спленомегалии, указывая на возможную роль ангиогенеза в патофизиологии хронических МПН [38, 39, 41, 44].

Данные ряда работ позволяют предположить, что ангиогенез играет роль в патогенезе тромбоза – основной клинической проблемы при ЭТ и ИП, и, соответственно, повышенный уровень VEGF и других ангиогенных цитокинов может быть важным фактором тромботического риска [43, 48]. R.R. Cacciola et al. обнаружили тесную корреляцию между содержанием VEGF в сыворотке крови пациентов с ИП и частотой встречаемости тромбозов [49]. По данным С. Musolino et al., концентрация растворимого VEGF в плазме достигала наиболее высоких значений у пациентов с ЭТ, ИП и ПМФ с тромботическими осложнениями в анамнезе, свидетельствуя об ассоциации уровня растворимого VEGF с риском их развития [38].

Данные приведенных исследований свидетельствуют о повышении концентрации циркулирующих проангиогенных факторов, таких как VEGF, у пациентов с МПН, что в свою очередь указывает на активацию ангиогенеза и может выступать важным маркером тромботического риска. Корреляция ангиогенной активности с клиническими и лабораторными особенностями заболеваний подчеркивает возможную роль ангиогенеза в патофизиологии МПН. По-видимому, ангиогенные цитокины, такие как VEGF, усиливают активацию эндотелия при МПН с последующим переключением к преимущественно протромботическому фенотипу и могут способствовать тромбозу. Следовательно, повышенный уровень VEGF в плазме может выступать важным маркером тромботического риска у пациентов с МПН.

Циркулирующие ЭК при Ph-негативных МПН

В качестве одного из маркеров нарушения функции эндотелия служит изменение количества циркулирующих ЭК, которые появляются в результате открепления зрелых дифференцированных ЭК от эндотелиального монослоя сосудистой стенки. В малых количествах они присутствуют в периферической крови здоровых лиц, отражая физиологическое обновление эндотелия. Повышение числа циркулирующих ЭК ассоциировано с повреждением сосудов и описано при различных патологических состояниях, включая сердечно-сосудистые и иммуноопосредованные заболевания, инфекционные и воспалительные состояния и онкопатологию [34, 50–52]. В отличие от циркулирующих ЭК, попадающих в кровоток в результате повреждения эндотелия, в крови выделяют незрелые предшественники ЭК, которые мигрируют из красного костного мозга к месту повреждения сосудистой стенки, способствуя регенерации эндотелия [6, 51–53]. Таким образом, циркулирующие ЭК могут служить маркером повреждения эндотелия, отражая протромботические изменения, в то время как циркулирующие предшественники ЭК могут быть показателем ангиогенной активности и сосудистого ремоделирования [34, 52].

Оценка роли циркулирующих ЭК при МПН при помощи цитофлуориметрического анализа, впервые проведенная в работе A. Alonci et al., выявила значимое увеличение их количества у всех пациентов с МПН, в том числе при ИП, ЭТ и ПМФ [41]. Повышенный уровень циркулирующих ЭК в периферической крови описан и другими авторами у больных ИП и ЭТ вне зависимости от наличия или отсутствия циторедуктивной

терапии [34, 43, 44, 52]. При этом у пациентов с ЭТ и ИП продемонстрирован значительный рост количества активированных циркулирующих ЭК, идентифицируемых по экспрессии рецепторных (эндоглин) и адгезивных (VCAM-1) молекул [43, 44]. Дифференцированное определение активированных циркулирующих ЭК по экспрессии адгезивных (ICAM-1, E-селектин) и/или прокоагулянтных (ТФ) молекул у больных ЭТ и ИП обнаружило повышенное количество клеток, экспрессирующих E-селектин. Увеличение числа циркулирующих ЭК, экспрессирующих ICAM-1, у пациентов с МПН не достигало статистической значимости в сравнении со здоровыми лицами, а по количеству клеток, экспрессирующих ТФ, не наблюдалось различий между контрольной группой и больными МПН [52].

A. Alonci et al. показали повышение числа циркулирующих предшественников ЭК у пациентов с ИП и ПМФ [41]; значительное увеличение их количества относительно показателей здоровых добровольцев также описано J. Trelinski et al. у пациентов с ЭТ и ИП независимо от приема циторедуктивной терапии [43, 44]. В то же время в некоторых работах отмечаемый рост количества циркулирующих предшественников ЭК в периферической крови больных ЭТ и ИП не достигал статистической значимости в сравнении с группой здоровых лиц [52].

Лечение гидроксимочевинной/анагредидом, по-видимому, не влияло на количество циркулирующих ЭК и их предшественников при МПН [34, 44]. Мутационный статус *JAK2* V617F не оказывал значимого влияния на общий уровень циркулирующих ЭК, количество активированных циркулирующих ЭК и циркулирующих предшественников ЭК у пациентов с ЭТ и ИП независимо от наличия или отсутствия циторедуктивной и/или антиагрегантной терапии [34, 43, 44, 52]. Также не обнаруживалось значимых различий по уровню циркулирующих ЭК в зависимости от наличия тромботических эпизодов в анамнезе у пациентов с ЭТ [34].

Общее количество циркулирующих ЭК и их предшественников, а также число циркулирующих ЭК, экспрессирующих E-селектин, напрямую коррелировало с содержанием лейкоцитов у больных МПН [52]. Значимо повышенное количество активированных циркулирующих ЭК у пациентов с ИП выявлялось при числе лейкоцитов $>8,7 \times 10^9/\text{л}$ [43], являющимся фактором риска тромбозов при МПН [54, 55]. Учитывая, что лейкоцитоз ассоциирован с тромбозами у больных МПН, а также является воспалительным маркером [54–56], прямая зависимость между числом лейкоцитов и как общим количеством циркулиру-

ющих ЭК, так и уровнем активированных циркулирующих ЭК [52] указывает на то, что процессы активации и повреждения эндотелия являются одним из связующих звеньев в тромбовоспалительном механизме сосудистых осложнений при МПН.

Представленные данные свидетельствуют о повышении количества зрелых циркулирующих ЭК независимо от статуса *JAK2 V617F* и терапии, указывая на высокую степень повреждения эндотелия, что вносит существенный вклад в развитие состояния гиперкоагуляции у пациентов с МПН. Рост числа активированных циркулирующих ЭК, экспрессирующих адгезивные молекулы, может представлять дополнительный фактор риска тромбоза при МПН. Увеличение числа циркулирующих предшественников ЭК, отмечаемое в ряде представленных работ, свидетельствует об усилении ангиогенеза у пациентов с МПН, подчеркивая возможную роль этого процесса в патофизиологии хронических МПН. В целом данные литературы по оценке состояния эндотелия при МПН цитологическими методами аргументируют значимость определения количества циркулирующих ЭК и их предшественников в качестве сосудистых биомаркеров повреждения и ремоделирования эндотелия при МПН и указывают, что эти клетки могут играть роль в патогенетических механизмах тромбоза у пациентов с МПН.

Микрочастицы эндотелиального происхождения при Ph-негативных МПН

В последнее время в качестве маркера протромботических изменений, характерных для пациентов с МПН, отмечают появление в циркуляции прокоагулянтных микрочастиц, в том числе эндотелиального происхождения [4]. Микрочастицы – мембранные фрагменты размером 0,1–1 нм, высвобождаемые всеми типами клеток крови (особенно тромбоцитами) и эндотелием при их активации. Предоставляя свою поверхность для сборки теназных и протромбиназных комплексов, они являются одними из основных участников тромбообразования *in vivo*. Увеличение уровня микрочастиц обнаруживается при тромбозах и новообразованиях [57]. При МПН прокоагулянтные микрочастицы могут образовываться вследствие активации как происходящих от МПН-клона клеток крови, так и нормальных клеток сосудов пациента [4]. Существенное повышение числа циркулирующих микрочастиц, позитивных по тромбоцитарным и эндотелиальным маркерам, так же как и по ТФ, выявлено у пациентов с ЭТ при помощи проточно-цитометрического анализа в исследовании M.C. Trappenburg et al. [58]. Кро-

ме того, богатая микрочастицами плазма крови пациентов с ЭТ демонстрировала высокий уровень тромбина, который в значительной степени коррелировал с общим числом микрочастиц, свидетельствуя о повышенной прокоагулянтной активности, ассоциированной с микрочастицами [4]. Обнаружение выраженного роста количества циркулирующих микрочастиц эндотелиального происхождения у больных МПН свидетельствует об увеличении степени активации эндотелия и может выступать важным маркером для прогнозирования тромботического риска у пациентов с МПН.

Экспрессия мутации *JAK2 V617F* в ЭК при Ph-негативных МПН

В последнее время в ряде исследований показано, что экспрессия эндотелием прокоагулянтных и проадгезивных белков при МПН может увеличиваться не только вследствие активации при взаимодействии с активированными клетками крови и под действием секретируемых ими субстанций, но и в связи с наличием драйверных мутаций, ассоциированных с миелоидной неоплазией, а именно *JAK2 V617F* [11, 12, 59] – наиболее частой генетической перестройкой, ведущей к МПН. Обычно обнаруживаемая в гемопоэтических предшественниках, стволовых клетках и клетках крови, эта мутация также описана в эндотелиальных клетках пациентов с МПН, позитивных по *JAK2 V617F*. Экспрессия *JAK2 V617F* продемонстрирована в зрелых ЭК [60,61] и их предшественниках [62]. Так, S. Sozer et al. описали зрелые ЭК с мутацией *JAK2 V617F* в просвете венул печени у нескольких больных ИП с синдромом Бадда – Хиари [60]. V. Rosti et al. позднее подтвердили наличие *JAK2 V617F* в ЭК селезеночной вены 67 % пациентов с миелофиброзом [61].

Выявление мутации *JAK2 V617F* в ЭК некоторых пациентов с МПН способствовало проведению дополнительных исследований по изучению ее возможных функциональных последствий. S.L. Etheridge et al., используя трансгенных мышей, впервые описали ключевую роль ЭК с мутацией *JAK2 V617F* в развитии нарушений гемостаза. В их модели мутация *JAK2 V617F* присутствовала исключительно в ЭК, мыши характеризовались развивающимся в ответ на повреждение нарушением функции гемостаза, напоминающим геморрагический диатез, наблюдаемый у пациентов с МПН. Авторы связывали описанные проявления с приобретенным синдромом Виллебранда [23].

В то же время в исследовании A. Guadall et al. получены свидетельства протромботических

свойств ЭК, позитивных по *JAK2 V617F*. При помощи индукции плюрипотентных стволовых клеток, полученных от пациента с МПН, и переориентации этих клеток в сторону эндотелиальной линии дифференцировки авторы сравнивали ЭК с мутацией *JAK2 V617F* и ЭК с *JAK2* дикого типа. При наличии мутации *JAK2 V617F* в ЭК число и интенсивность флуоресценции телец Вейбеля – Палади, а также экспрессия белков ФВ и Р-селектина были значительно повышены, сопровождаясь более значительной аккумуляцией Р-селектина на клеточной поверхности. При проведении транскриптомного анализа в ЭК с мутацией *JAK2 V617F* отмечалась сверхэкспрессия транскриптов генов, вовлеченных в воспаление и клеточную адгезию, регуляцию внеклеточного матрикса, образование гликопротеинов и ряд процессов, которые происходят при венозном стенозе и тромбозе. Кроме того, наблюдалась более сильная адгезия лейкоцитов пациентов с МПН к ЭК, позитивным по *JAK2 V617F*. Полученные результаты свидетельствовали, что ЭК, несущие мутацию *JAK2 V617F*, имеют провоспалительный и протромботический фенотип и функционально проадгезивны [24].

A. Guu et al. исследовали роль экспрессирующих *JAK2 V617F* ЭК в тромбообразовании при помощи *in vitro* модели эндотелиальных клеток человека, экспрессирующих *JAK2 V617F*, и *in vivo* модели мышей с эндотелий-специфической экспрессией *JAK2 V617F*. Мыши демонстрировали повышенную предрасположенность к спонтанным тромбозам, несмотря на нормальное число клеток крови и нормальный уровень генерации тромбина. При этом их ЭК характеризовались повышенной поверхностной экспрессией Р-селектина и ФВ, которые содержатся в тельцах Вейбеля – Палади. Эксперименты A. Guu et al. с использованием блокирующих антител продемонстрировали, что блокада Р-селектина достаточна для снижения проадгезивных свойств ЭК, несущих *JAK2 V617F*, и повышенной тромботической предрасположенности. Тем самым авторы подтвердили, что ЭК, экспрессирующие *JAK2 V617F*, в отсутствие сходным образом мутированных гемопоэтических клеток способствуют тромбозу в связи с их проадгезивным фенотипом в результате повышенной экспозиции эндотелиального Р-селектина вследствие дегрануляции телец Вейбеля – Палади. При этом тромботическая тенденция усиливалась при создании провоспалительной среды путем введения низких доз фактора некроза опухолей α . Применение гидроксимочевины *in vitro* и *in vivo* свидетельствовало о прямом действии этого антиметаболита на ЭК, позитивные по *JAK2 V617F*, которое приводило

к снижению секреции и поверхностной экспрессии эндотелиального Р-селектина, способствуя ослаблению протромботического фенотипа [25].

M. Castiglione et al. описали, что мыши приобретали МПН фенотип и развивали спонтанную возраст-ассоциированную дилатационную кардиомиопатию с повышенным риском внезапной смерти наряду с протромботическим и васкулопатическим фенотипом лишь при одновременной экспрессии *JAK2 V617F* как гемопоэтическими, так и эндотелиальными клетками. Животные, экспрессировавшие *JAK2 V617F* исключительно в клетках крови, не демонстрировали каких-либо нарушений кардиальной функции или тромбоза, это позволяет предположить, что экспрессия драйверной мутации МПН в ЭК необходима для развития фенотипа сердечно-сосудистой патологии. Более того, авторы продемонстрировали, что ЭК, несущие *JAK2 V617F*, ассоциированы с развитием провоспалительной среды и реагируют на напряжение сдвига иначе, чем ЭК дикого типа (увеличением экспрессии молекул адгезии тромбоцитов и эндотелиальных клеток – PECAM и E-селектина) [63]. Дополнительные свидетельства указывают, что носительство *JAK2 V617F* как гемопоэтическими стволовыми клетками, так и ЭК способствует миелолипролиферативному процессу при МПН [12].

Несмотря на имеющиеся данные о роли экспрессирующих *JAK2 V617F* ЭК в развитии протромботического фенотипа, на настоящее время их значение при МПН продолжает оспариваться рядом исследователей [12]. Свидетельства наличия мутации *JAK2 V617F* как в гемопоэтических, так и в эндотелиальных клетках пациентов с Ph-негативными МПН поддерживают гипотезу существования общей клетки-предшественника гемопоэтической и эндотелиальной линий, которую может поражать онкогенное нарушение, ассоциированное с миелоидной неоплазией [12, 62].

Заключение

Результаты приведенных исследований по оценке состояния эндотелия у пациентов с Ph-негативными МПН демонстрируют некоторую противоречивость, однако в целом имеющиеся данные свидетельствуют о высоком уровне активации, повреждения и, следовательно, дисфункции эндотелия, ассоциированной с МПН. Активация и последующие изменения сосудистого эндотелия могут быть связаны как с обусловленными миелолипролиферацией изменениями самих ЭК, так и с повышением количества и активированным состоянием циркулирующих клеток крови. Отмечаемые нарушения эндоте-

лия отражаются на реализации всех его функций. ЭД у пациентов с Rh-негативными МПН в свою очередь вносит существенный вклад в развитие гиперкоагуляции и способствует прогрессированию протромботических состояний при данных патологиях.

Список литературы / References

1. Абдулкадыров К.М., Шуваев В.А., Мартынкевич И.С. Миелопролиферативные новообразования. М.: Литтерра, 2016. 304 с.
Abdulkadyrov K.M., Shuvaev V.A., Martynkevich I.S. Myeloproliferative neoplasms. Moscow: Litterra, 2016. 304 p. [In Russian].
2. Finazzi G., Rambaldi A., Guerini V., Carobbo A., Barbui T. Risk of thrombosis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera according to JAK2V617F mutation status. *Haematologica*. 2007;92:135–136. doi: 10.3324/haematol.10634
3. Landolfi R., di Gennaro L. Pathophysiology of thrombosis in myeloproliferative neoplasms. *Haematologica*. 2011;96(2):183–186. doi: 10.3324/haematol.2010.038299
4. Falanga A., Marchetti M. Thrombotic disease in the myeloproliferative neoplasms. *Hematology. Am. Soc. Hematol. Educ. Program*. 2012;2012:571–581. doi: 10.1182/asheducation-2012.1.571
5. Barbui T., Finazzi G., Falanga A. Myeloproliferative neoplasms and thrombosis. *Blood*. 2013;122(13):2176–2184. doi: 10.1182/blood-2013-03-460154
6. Иванов А.Н., Гречихин А.А., Норкин И.А., Пучиньян Д.М. Методы диагностики эндотелиальной дисфункции. *Регионар. кровообращ. и микроциркуляция*. 2014;13(4-52):4–11.
Ivanov A.N., Grechikhin A.A., Norkin I.A., Puchin'yan D.M. Methods of endothelial dysfunction diagnostics. *Regionarnoye krovoobrashcheniye i mikrotsirkulyatsiya = Regional Blood Circulation and Microcirculation*. 2014;13(4-52):4–11. [In Russian].
7. Vianello F., Battisti A., Cella G., Marchetti M., Falanga A. Defining the thrombotic risk in patients with myeloproliferative neoplasms. *Scientific World Journal*. 2011;11:1131–1137. doi: 10.1100/tsw.2011.108
8. Петрищев Н.Н., Васина Л.В., Власов Т.Д., Гавришева Н.А., Меншутина М.А. Типовые формы дисфункции эндотелия. *Клин.-лаб. консилдум*. 2007;18:31–35.
Petrishchev N.N., Vasina L.V., Vlasov T.D., Gavrisheva N.A., Menshutina M.A. Typical forms of endothelium dysfunction. *Kliniko-laboratornyy konsilium = Clinical and Laboratory Concilium*. 2007;18:31–35. [In Russian].
9. Папаян Л.П., Капустин С.И., Шмелева В.М., Кобылянская В.А. Общие представления о системе гемостаза. Гемофилии. ДВС. Тромбофилии. В кн.: *Гематология: национальное руководство*. Ред. О.А. Рукавицын. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017;90–133.
Papayan L.P., Kapustin S.I., Shmeleva V.M., Kobilyanskaya V.A. General overview of the hemostatic system. Hemophilia. DIC. Thrombophilia. In: *Hematology: National Guidelines*. Ed. O.A. Rukavitsyn. Moscow: GEOTAR-Media, 2017;90–133. [In Russian].
10. Neunteufl T., Heher S., Stefanelli T., Pabinger I., Gisslinger H. Endothelial dysfunction in patients with polycythemia vera. *Br. J. Haematol*. 2001;115(2):354–359. doi: 10.1046/j.1365-2141.2001.03092.x
11. Reeves B.N., Beckman J.D. Novel pathophysiological mechanisms of thrombosis in myeloproliferative neoplasms. *Curr. Hematol. Malig. Rep*. 2021;16(3):304–313. doi: 10.1007/s11899-021-00630-8
12. Farina M., Russo D., Hoffman R. The possible role of mutated endothelial cells in myeloproliferative neoplasms. *Haematologica*. 2021. doi: 10.3324/haematol.2021.278499 [Epub ahead of print]
13. Flammer A.J., Anderson T., Celermajer D.S., Creager M.A., Deanfield J., Ganz P., Hamburg N.M., Lüscher T.F., Shechter M., Taddei S., Vita J.A., Lerman A. The assessment of endothelial function: from research into clinical practice. *Circulation*. 2012;126(6):753–767. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.093245
14. Lessiani G., Dragani A., Falco A., Fioritoni F., Santilli F., Davi G. Soluble CD40 ligand and endothelial dysfunction in aspirin-treated polycythemia vera patients. *Br. J. Haematol*. 2009;145(4):538–540. doi: 10.1111/j.1365-2141.2009.07636.x
15. Yildiz A., Güryildirim M., Pepeler M.S., Yazol M., Oktar S.O., Acar K. Assessment of endothelial dysfunction with flow-mediated dilatation in myeloproliferative disorders. *Clin. Appl. Thromb. Hemost*. 2018;24(7):1102–1108. doi: 10.1177/1076029618766260
16. Cella G., Marchetti M., Vianello F., Panova-Novova M., Vignoli A., Russo L., Barbui T., Falanga A. Nitric oxide derivatives and soluble plasma selectins in patients with myeloproliferative neoplasms. *Thromb. Haemost*. 2010;104(1):151–156. doi: 10.1160/TH09-09-0663
17. Piccin A., Steurer M., Feistritz C., Murphy C., Eakins E., van Schilfgaarde M., Corvetta D., di Piero A.M., Pusceddu I., Marcheselli L., Gambato R., Langes M., Veneri D., Perbellini O., Pacquola E., Gottardi M., Gherlinzoni F., Mega A., Tauber M., Mazzoleni G., Piva E., Plebani M., Krampera M., Gastl G. Observational retrospective study of vascular modulator changes during treatment in essential thrombocythemia. *Transl. Res*. 2017;184:21–34. doi: 10.1016/j.trsl.2017.02.001
18. Cokic V.P., Beleslin-Cokic B.B., Tomic M., Stojilkovic S.S., Noguchi C.T., Schechter A.N. Hydroxyurea induces the eNOScGMP pathway in endothelial cells. *Blood*. 2006;108(1):184–191. doi: 10.1182/blood-2005-11-4454
19. Friedenber W.R., Roberts R.C., David D.E. Relationship of thrombohemorrhagic complications

to endothelial cell function in patients with chronic myeloproliferative disorders. *Am. J. Hematol.* 1992;40(4):283–289. doi: 10.1002/ajh.2830400408

20. Bellucci S., Ignatova E., Jaillet N., Boffa M.C. Platelet hyperactivation in patients with essential thrombocythemia is not associated with vascular endothelial cell damage as judged by the level of plasma thrombomodulin, protein S, PAI-1, tPA and vWF. *Thromb. Haemost.* 1993;70(5):736–742.

21. Falanga A., Marchetti M., Evangelista V., Vignoli A., Licini M., Balicco M., Manarini S., Finazzi G., Cerletti C., Barbui T. Polymorphonuclear leukocyte activation and hemostasis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Blood.* 2000;96(13):4261–4266.

22. Arellano-Rodrigo E., Alvarez-Larran A., Reverter J.-C., Colomer D., Villamor N., Bellosillo B., Cervantes F. Platelet turnover, coagulation factors, and soluble markers of platelet and endothelial activation in essential thrombocythemia: Relationship with thrombosis occurrence and JAK2 V617F allele burden. *Am. J. Hematol.* 2009;84(2):102–108. doi: 10.1002/ajh.21338

23. Etheridge S.L., Roh M.E., Cosgrove M.E., Sangkhae V., Fox N.E., Chen J., López J.A., Kaushansky K., Hitchcock I.S. JAK2V617F-positive endothelial cells contribute to clotting abnormalities in myeloproliferative neoplasms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014;111(6):2295–2300. doi: 10.1073/pnas.1312148111

24. Guadall A., Lesteven E., Letort G., Toor S.A., Delord M., Pognant D., Brusson M., Verger E., Maslah N., Giraudier S., Larghero J., Vanneaux V., Chomienne C., El Nemer W., Cassinat B., Kiladjian J.-J. Endothelial cells harbouring the JAK2V617F mutation display pro-adherent and pro-thrombotic features. *Thromb. Haemost.* 2018;118(9):1586–1599. doi: 10.1055/s-0038-1667015

25. Guy A., Gourdou-Latyszenok V., Le Lay N., Peghaire C., Kilani B., Dias J.V., Duplaa C., Renault M.-A., Denis C., Villeval J.L., Boulaftali Y., Jandrot-Perrus M., Couffignal T., James C. Vascular endothelial cell expression of JAK2V617F is sufficient to promote a prothrombotic state due to increased P-selectin expression. *Haematologica.* 2019;104(1):70–81. doi: 10.3324/haematol.2018.195321

26. Mital A., Prejzner W., Bieniaszewska M., Hellmann A. Prevalence of acquired von Willebrand syndrome during essential thrombocythemia: a retrospective analysis of 170 consecutive patients. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2015;125(12):914–920. doi: 10.20452/pamw.3211

27. Mital A., Prejzner W., Hellmann A. Acquired von Willebrand syndrome during the course of myelofibrosis: Analysis of 32 cases. *Adv. Clin. Exp. Med.* 2015;24(6):1001–1006. doi: 10.17219/acem/52361

28. Mital A., Prejzner W., Swiatkowska-Stodulska R., Hellmann A. Factors predisposing to acquired von Willebrand syndrome during the course of poly-

cythemia vera – retrospective analysis of 142 consecutive cases. *Thromb. Res.* 2015;136(4):754–757. doi: 10.1016/j.thromres.2015.07.029

29. Rottenstreich A., Kleinstern G., Krichevsky S., Varon D., Lavie D., Kalish Y. Factors related to the development of acquired von Willebrand syndrome in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Eur. J. Intern. Med.* 2017;41:49–54. doi: 10.1016/j.ejim.2016.11.011

30. Alvarez-Larra'n A., Arellano-Rodrigo E., Reverter J.C., Domingo A., Villamor N., Colomer D., Cervantes F. Increased platelet, leukocyte, and coagulation activation in primary myelofibrosis. *Ann. Hematol.* 2008;87(4):269–276. doi: 10.1007/s00277-007-0386-3

31. Musolino C., Alonci A., Bellomo G., Tringali O., Spatari G., Quartarone C., Rizzo V., Calabrò L., Bagnato G., Frisina N. Myeloproliferative disease: Markers of endothelial and platelet status in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Hematology.* 2000;4(5):397–402. doi: 10.1080/10245332.1999.11746464

32. Jensen M.K., de Nully Brown P., Thorsen S., Hasselbalch H.C. Frequent occurrence of anticardiolipin antibodies, Factor V Leiden mutation, and perturbed endothelial function in chronic myeloproliferative disorders. *Am. J. Hematol.* 2002;69(3):185–191. doi: 10.1002/ajh.10054

33. Musolino C., Alonci A., Allegra A., Spatari G., Bellomo G., Tringali O., Quartarone C., Squadrito G., Quartarone M. Increased levels of the soluble adhesion molecule E-selectin in patients with chronic myeloproliferative disorders and thromboembolic complications. *Am. J. Hematol.* 1998;57(2):109–112. doi: 10.1002/(sici)1096-8652(199802)57:2<109::aid-ajh3>3.0.co;2-#

34. Belotti A., Elli E., Speranza T., Lanzi E., Pioltelli P., Pogliani E. Circulating endothelial cells and endothelial activation in essential thrombocythemia: Results from CD146⁺ immunomagnetic enrichment – Flow cytometry and soluble E-selectin detection. *Am. J. Hematol.* 2012;87(3):319–320. doi: 10.1002/ajh.22264

35. Robertson B., Urquhart C., Ford I., Townend J., Watson H.G., Vickers M.A., Greaves M. Platelet and coagulation activation markers in myeloproliferative diseases: relationships with JAK2 V617 F status, clonality, and antiphospholipid antibodies. *J. Thromb. Haemost.* 2007;5(8):1679–1685. doi: 10.1111/j.1538-7836.2007.02626.x

36. Karakantza M., Giannakoulas N.C., Zikos P., Sakellaropoulos G., Kouraklis A., Aktypi A., Metallinos I.C., Theodori E., Zoumbos N.C., Maniatis A. Markers of endothelial and in vivo platelet activation in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Int. J. Hematol.* 2004;79(3):253–259. doi: 10.1532/IJH97.E0316

37. Bilgir F., Bilgir O., Calan M., Sari F. The levels of adhesion molecules in essential thrombocythemia. *Panminerva Med.* 2013;55(4):385–390.

38. Musolino C., Calabro' L., Bellomo G., Martello F., Loteta B., Pezzano C., Rizzo V., Alonci A. Soluble angiogenic factors: implications for chronic myeloproliferative disorders. *Am. J. Hematol.* 2002;69(3):159–163. doi: 10.1002/ajh.10020
39. Murphy P., Ahmed N., Hassan H.T. Increased serum levels of vascular endothelial growth factor correlate with splenomegaly in polycythemia vera. *Leuk. Res.* 2002;26(11):1007–1010. doi: 10.1016/s0145-2126(02)00053-x
40. Medinger M., Passweg J. Angiogenesis in myeloproliferative neoplasms, new markers and future directions. *Memo.* 2014;7:206–210. doi: 10.1007/s12254-014-0142-z
41. Alonci A., Allegra A., Bellomo G., Penna G., D'Angelo A., Quartarone E., Musolino C. Evaluation of circulating endothelial cells, VEGF and VEGFR2 serum levels in patients with chronic myeloproliferative diseases. *Hematol. Oncol.* 2008;26(4):235–239. doi: 10.1002/hon.865
42. Panteli K., Bai M., Hatzimichael E., Zagorianakou N., Agnantis N.J., Bourantas K. Serum levels, and bone marrow immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor in patients with chronic myeloproliferative diseases. *Hematology.* 2007;12(6):481–486. doi: 10.1080/10245330701554664
43. Treliński J., Wierzbowska A., Krawczynska A., Sakowicz A., Pietrucha T., Smolewski P., Robak T., Chojnowski K. Circulating endothelial cells in essential thrombocythemia and polycythemia vera: correlation with JAK2-V617F mutational status, angiogenic factors and coagulation activation markers. *Int. J. Hematol.* 2010;91:792–798. doi: 10.1007/s12185-010-0596-7
44. Treliński J., Wierzbowska A., Krawczyńska A., Sakowicz A., Pietrucha T., Smolewski P., Robak T., Chojnowski K. Plasma levels of angiogenic factors and circulating endothelial cells in essential thrombocythemia: correlation with cytoreductive therapy and JAK2-V617F mutational status. *Leuk. Lymphoma.* 2010;51(9):1727–1733. doi: 10.3109/10428194.2010.500435
45. di Raimondo F., Azzaro M.P., Palumbo G.A., Bagnato S., Stagno F., Giustolisi G.M., Cacciola E., Sortino G., Guglielmo P., Giustolisi R. Elevated vascular endothelial growth factor (VEGF) serum levels in idiopathic myelofibrosis. *Leukemia.* 2001;15(6):976–980. doi: 10.1038/sj.leu.2402124
46. di Raimondo F., Palumbo G.A., Molica S., Giustolisi R. Angiogenesis in chronic myeloproliferative diseases. *Acta Haematol.* 2001;106(4):177–183. doi: 10.1159/000046614
47. Gadomska G., Bartoszewska-Kubiak A., Boiniska J., Matiakowska K., Ziołkowska K., Haus O., Ros'c' D. Selected parameters of angiogenesis and the JAK2, CALR, and MPL mutations in patients with essential thrombocythemia. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 2018;24(7):1056–1060. doi: 10.1177/1076029617740222
48. Weltermann A., Wolzt M., Petersmann K., Czerni C., Graselli U., Lechner K., Kyrle P.A. Large amounts of vascular endothelial growth factor at the site of hemostatic plug formation *in vivo*. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1999;19(7):1757–1760. doi: 10.1161/01.atv.19.7.1757
49. Cacciola R.R., di Francesco E., Giustolisi R., Cacciola E. Elevated serum vascular endothelial growth factor levels in patients with polycythemia vera and thrombotic complications *Haematologica.* 2002;87(7):774–775.
50. Fadini G.P., Avogaro A. Cell-based methods for ex vivo evaluation of human endothelial biology. *Cardiovasc. Res.* 2010;87(1):12–21. doi: 10.1093/cvr/cvq119
51. Goon P.K., Boos C.J., Lip G.Y. Circulating endothelial cells: markers of vascular dysfunction. *Clin. Lab.* 2005;51(9-10):531–538.
52. Torres C., Fonseca A.M., Leander M., Matos R., Morais S., Campos M., Lima M. Circulating endothelial cells in patients with venous thromboembolism and myeloproliferative neoplasms. *PLoS One.* 2013;8(12):e81574. doi:10.1371/journal.pone.0081574
53. Wu H., Chen H., Hu P.C. Circulating endothelial cells and endothelial progenitors as surrogate biomarkers in vascular dysfunction. *Clin. Lab.* 2007;53(5-6):285–295.
54. Carobbio A., Finazzi G., Guerini V., Spinelli O., Delaini F., Marchioli R., Borrelli G., Rambaldi A., Barbui T. Leukocytosis is a risk factor for thrombosis in essential thrombocythemia: interaction with treatment, standard risk factors, and Jak2 mutation status. *Blood.* 2007;109(6):2310–2313. doi: 10.1182/blood-2006-09-046342
55. Landolfi R., di Gennaro L., Barbui T., de Stefano V., Finazzi G., Marfisi R., Tognoni G., Marchioli R. Leukocytosis as a major thrombotic risk factor in patients with polycythemia vera. *Blood.* 2007;109(6):2446–2452. doi: 10.1182/blood-2006-08-042515
56. Lowe G.D.O. Circulating inflammatory markers and risks of cardiovascular and non-cardiovascular disease. *J. Thromb. Haemost.* 2005;3(8):1618–1627. doi: 10.1111/j.1538-7836.2005.01416.x
57. Zwicker J.I., Liebman H.A., Neuberg D., Lacroix R., Bauer K.A., Furie B.C., Furie B. Tumor-derived tissue factor-bearing microparticles are associated with venous thromboembolic events in malignancy. *Clin. Cancer Res.* 2009;15(22):6830–6840. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0371
58. Trappenburg M.C., van Schilfgaarde M., Marchetti M., Spronk H.M., ten Cate H., Leyte A., Terpstra W.E., Falanga A. Elevated procoagulant microparticles expressing endothelial and platelet markers in essential thrombocythemia. *Haematologica.* 2009;94(7):911–918. doi: 10.3324/haematol.13774
59. Bar-Natan M., Hoffman R. New insights into the causes of thrombotic events in patients with myeloproliferative neoplasms raise the possibility of novel ther-

- peutic approaches. *Haematologica*. 2019;104(1):3–6. doi:10.3324/haematol.2018.205989
60. Sozer S., Fiel M.I., Schiano T., Xu M., Mascarenhas J., Hoffman R. The presence of *JAK2* V617F mutation in the liver endothelial cells of patients with Budd-Chiari syndrome. *Blood*. 2009;113(21):5246–5249. doi: 10.1182/blood-2008-11-191544
61. Rosti V., Villani L., Riboni R., Poletto V., Bonetti E., Tozzi L., Bergamaschi G., Catarsi P., Dal-lera E., Novara F., Massa M., Campanelli R., Fois G., Peruzzi B., Lucioni M., Guglielmelli P., Pancrazzi A., Fiandrino G., Zuffardi O., Magrini U., Paulli M., Van-nucchi A.M., Barosi G., Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro Gruppo Italiano Malattie Mielop-roliferative (AGIMM) investigators. Spleen endothe-lial cells from patients with myelofibrosis harbor the *JAK2*V617F mutation. *Blood*. 2013;121(2):360–368. doi: 10.1182/blood-2012-01-404889
62. Teofili L., Martini M., Iachininoto M.G., Cap-odimonti S., Nuzzolo E.R., Torti L., Cenci T., Laroc-ca L.M., Leone G. Endothelial progenitor cells are clonal and exhibit the *JAK2*V617F mutation in a subset of thrombotic patients with Ph-negative myeloprolifer-ative neoplasms. *Blood*. 2011;117(9):2700–2707. doi 10.1182/blood-2010-07-297598
63. Castiglione M., Jiang Y.-P., Mazzeo C., Lee S., Chen J.-S., Kaushansky K., Yin W., Lin R.Z., Zheng H., Zhan H. Endothelial *JAK2* V617F mutation leads to thrombosis, vasculopathy, and cardiomyopa-thy in a murine model of myeloproliferative neoplasm. *J. Thromb. Haemost.* 2020;18(12):3359–3370. doi: 10.1111/jth.15095

Сведения об авторе

Наталья Евгеньевна Корсакова, ORCID: 0000-0003-1762-6862, e-mail: natalya_kors@mail.ru

Information about the author

Natalya E. Korsakova, ORCID: 0000-0003-1762-6862, e-mail: natalya_kors@mail.ru

Поступила в редакцию 06.09.2021

После доработки 27.09.2021

Принята к публикации 30.10.2021

Received 06.09.2021

Revision received 27.09.2021

Accepted 30.10.2021