



Перший в Україні* рекомбінантний тромбопоетин людини

ЕМАПЛАГ - основний фізіологічний регулятор процесів розвитку мегакаріоцитів і тромбоцитів

ЕМАПЛАГ специфічно стимулює проліферацію і диференціацію мегакаріоцитів, сприяє утворенню і вивільненню тромбоцитів, а також відновленню загального вмісту лейкоцитів

ЕМАПЛАГ містить в 1 мл 15000 ОД рекомбінантного тромбопоетину людини

ЕМАПЛАГ застосовується п/ш ін'єкція 1 раз на добу курсом до 14 днів



Дізнайтесь більше
на сайті www.uf.ua

Коротка інструкція для медичного застосування лікарського засобу ЕМАПЛАГ®

Склад: 1 мл розчину містить рекомбінантного тромбопоетину людини 15000 ОД; допоміжні речовини: людський сироватковий альбумін, натрію хлорид, вода для ін'єкцій. Фарм. властивості. Тромбопоетин – це глікопротеїн, який специфічно стимулює проліферацію і диференціацію мегакаріоцитів, сприяє утворенню й вивільненню тромбоцитів і відновленню тромбоцитів периферичної крові, а також відновленню загального вмісту лейкоцитів. Протипоказання. Підвищена індивідуальна чутливість до компонентів препарату. Тяжка форма ангіопатії серця та мозку. Аглютинація крові або нещодавно перенесений тромбоз. Застосування пацієнтам із тяжкими формами інфекційних захворювань допускається лише після встановлення контролю за інфекцією. Упаковка. По 1 мл у флаконі; по 1 флакону в пачці. Категорія відпуску. За рецептом. РП МОЗ України UA/15181/01/01 до 21.06.2021 р. Інформація для професійної діяльності спеціалістів медицини і фармації. Для розповсюдження на семінарах, конференціях на медичну тематику. Повна інформація, в тому числі і можливі побічні ефекти, міститься в інструкції для медичного застосування.

* станом на 01.12.2016 за даними сайту "Державний реєстр лікарських засобів України", <http://www.drlz.com.ua/>



Комплексна патофізіологія набутної апластичної анемії

Апластична анемія (AA) – синдром недостатності кісткового мозку, що характеризується аплазією кісткового мозку і панцитопенією в периферичній крові. У пацієнтів з AA часто спостерігаються симптоми анемії, пурпура і геморагії, а також інфекції. Найчастіше AA є набутною й ідіопатичною. Хоча патофізіологія AA є не повністю зрозумілою, той факт, що 80% пацієнтів відповідають на імуносупресивну терапію (ІСТ) антимоноцитарним глобуліном і циклоспорином, вказує на роль імунних механізмів у розвитку захворювання. У багатьох пацієнтів ІСТ дозволяє досягти тривалої виживаності без подій, проте ризик рецидиву, клональної еволюції в мієлодиспластичний синдром або мієлолейкоз залишається високим. У випадках тяжкої AA в дітей і дорослих молодого віку радикальним методом лікування є трансплантація гемопоетичних стовбурових клітин (ГСК). Наявні лабораторні та клінічні дані свідчать про те, що в патогенезі набутної AA (НАА) важливу роль відіграє імуносередковане пригнічення гемопоезу. Проте в нещодавніх дослідженнях було встановлено, що гемопоетичні стовбурові клітини / клітини-попередники (ГСК/КП) і мезенхімальні стовбурові клітини кісткового мозку (МСК-КМ), отримані від пацієнтів з НАА, мають первинний дефект, який робить ці клітини вразливими в умовах недостатності кісткового мозку. У цьому огляді обговорюються останні досягнення в патофізіології НАА з акцентом на дизрегульовані імунні відповіді.

Дизрегульовані відповіді Т-клітин

Експериментальні і клінічні дані свідчать про важливу роль $CD8^+$ Т-клітин (цитотоксичних Т-лімфоцитів, Т-кілерів) у патогенезі НАА. У раних дослідженнях було встановлено, що лімфоцити кісткового мозку і периферичної крові пацієнтів з НАА здатні пригнічувати гемопоез *in vitro*. У подальшому виявилось, що лімфоцитами, що пригнічують гемопоез, є $CD8^+$ олігоклональні (тобто з високообмеженою різноманітністю рецепторів Т-лімфоцитів – TCR) Т-клітини. У пацієнтів, які відповіли на ІСТ, знижуються кількість імунодомінантних клонів і варіабельність TCR. У момент рецидиву захворювання початкові патогенні домінуючі клони з'являються знову, іноді разом з новими клонами, що корелює з розширенням епітопу імунної відповіді. У деяких випадках клони під час ремісії персистують, що свідчить про толерантність Т-клітин.

Причини активації Т-клітин при НАА не встановлені. Підвищена презентація певних алелів HLA вказує на роль розпізнавання антигенів. Аберантна експресія генів, які відповідають за сигнали TCR, може сприяти дисфункції Т-клітин при НАА. Зокрема, у пацієнтів з НАА значно підвищується експресія генів $CD3\gamma$, $CD3\delta$, $CD3\epsilon$ і $CD3\zeta$ порівняно зі здоровими пацієнтами. Підвищена експресія цих генів при НАА свідчить, що периферичні Т-клітини можуть піддаватися постійній стимуляції, і це призводить до патологічної активації Т-клітин.

У пацієнтів з НАА підвищується кількість і/або функція $CD4^+$ Т-клітин (Т-хелперів), зокрема таких, що продукують інтерферон- γ – $IFN\gamma$ (Th1-клітини), інтерлейкін – $IL-4$ (Th2-клітини), $IL-17$ (Th17-клітини), а також T_{reg} . Giannakoulas і співавт. (2004) встановили, що пацієнти з нелікваною або рефрактерною НАА мають значно підвищену частку нестимульованих Th1-клітин, які продукують $IFN\alpha$ і $IL-2$, за нормальної кількості Th2-клітин; це призводить до зсуву співвідношення $IFN\gamma/IL-4$ у бік Th1-відповіді. У пацієнтів у ремісії також спостерігається підвищення частки Th1-клітин з паралельним збільшенням кількості Th2-клітин і нормальним співвідношенням $IFN\gamma/IL-4$. Клональність Th1-клітин, як і $CD8^+$ Т-клітин, є обмеженою, що свідчить про антиген-обумовлену експансію Th1. Функціонально ці домінуючі $CD4^+$ Th1-клони при НАА секретиують $IFN\gamma$ і фактор некрозу пухлини (TNF), здатні викликати лізис аутологічних $CD34^+$ клітин і інгібувати формування їх гемопоетичних колоній.

Регуляторні Т-лімфоцити – це $CD4^+ CD25^+ FoxP3^+$ клітини, що відіграють фундаментальну роль в аутоімунітеті. Людські $CD4^+ CD25^+ FoxP3^+$ клітини складаються з трьох фенотипово й функціонально відмінних популяцій: $CD45RA^+ FoxP3^{low} T_{reg}$ -клітин у стані спокою (gT_{reg}) й активованих $CD45RA^- FoxP3^{high}$ (aT_{reg}), які *in vitro* проявляють супресивну дію, і цитокінсекретиуючих $CD45RA^- FoxP3^{low}$ несупресивних T_{reg} -клітин. Співвідношення і функції цих субпопуляцій T_{reg} варіюють при різних аутоімунних хворобах. У пацієнтів з НАА кількість T_{reg} корелює з тяжкістю захворювання; крім того, спостерігається відносне зниження gT_{reg} і aT_{reg} з підвищенням цитокінсекретиуючих не- T_{reg} -клітин. Функціонально T_{reg} у пацієнтів з НАА мають первинний дефект, а саме порушену здатність до міграції через знижену експресію CXCR4 і зменшену здатність пригнічувати нормальні функції

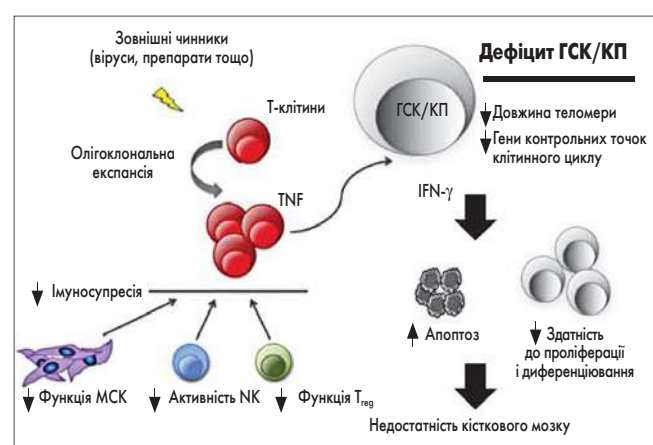


Рис. Імуносередковане руйнування ГСК/КП. Після дії зовнішніх чинників у пацієнтів з НАА розвиваються патологічні імунні відповіді, які включають олігоклональну експансію Т-клітин і патологічну продукцію мієлосупресивних цитокінів, зокрема $IFN\gamma$ і TNF, що призводить до апоптозу ГСК/КП. Дефектні T_{reg} , NK і МСК не здатні пригнічувати дизрегульовані імунні відповіді. Первинний дефект ГСК/КП ще більше поглиблює недостатність кісткового мозку

ефекторних Т-лімфоцитів, зокрема продукцію $IFN\gamma$. Пацієнти з більшою кількістю T_{reg} краще відповідають на ІСТ.

Th17-клітини – $CD4^+$ Т-лімфоцити, що секретиують $IL-17A$, – цитокін, який координує запалення тканин шляхом індукування цитокінів (CXCL8, CXCL6, CXCL1), факторів росту (гранулоцитарного колонієстимулюючого і гранулоцитарно-макрофагального колонієстимулюючого факторів) і молекул адгезії (молекула міжклітинної адгезії 1), що посилює наочинення нейтрофілів і гранулопоєз. $IL-17$ пов'язаний з багатьма аутоімунними хворобами, зокрема ревматоїдним артритом і запальними захворюваннями кишечника, проте роль цього цитокіну при НАА вивчена недостатньо. Відомо, що в більшості пацієнтів з НАА плазмові рівні $IL-17$ не підвищуються. У деяких дослідженнях експансія популяції Th17-клітин корелювала з виснаженням натуральних T_{reg} у крові, що вказує на зворотний зв'язок між Th17/ $CD4^+ CD25^{high} FoxP3^+$ T_{reg} й аутоімунним процесом при НАА.

Загалом наявні дані свідчать, що поєднання експансії Th1, Th2 і, можливо, Th17 зі зниженими або порушеними імуннофенотипом і функцією T_{reg} бере участь у патогенезі НАА, особливо тяжких і дуже тяжких форм. Експансія Th1-клітин, імовірно, є антигеносередкованою, Th17-клітини можуть безпосередньо або опосередковано модулювати Th1-клітини, а присутність дисфункціональних T_{reg} -клітин може посилювати цю аутоімунну відповідь. Специфічні аутоантигени, які спричиняють аберантні імунні відповіді проти ГСК/КП при НАА, дотепер не встановлені.

Вроджений імунітет

Більшість досліджень НАА були спрямовані на вивчення Т- і В-клітин, проте останнім часом все більше доказів свідчать, що в патогенезі захворювання також може брати участь дисфункціональний вроджений імунітет.

У низці досліджень було встановлено, що в пацієнтів з НАА зменшуються кількість і активність натуральних кілерів (NK), а відновлення цитотоксичності NK-клітин корелює з відновленням гемопоезу після ІСТ. Дефіцит цитолітичної активної NK може бути наслідком мутації гена перфоруину або пригнічення аутологічних гранулоцитів.

У пацієнтів з НАА визначається дефіцит стресіндуцибельних лігандів NKG2D, зокрема UL16-зв'язувальних білків ULBP1, ULBP2 і ULP3, а також білка MICA на гранулоцитах і клітинах кісткового мозку, при цьому рівень експресії цих лігандів позитивно корелює з недостатністю кісткового мозку й адекватною відповіддю на ІСТ. Ідентифікація лігандів NKG2D може бути корисною в ранній діагностиці імуносередкованого ураження кісткового мозку і прогнозуванні відповіді на ІСТ.

Мієлосупресивні цитокіни

Аутореактивні Т-клітини в пацієнтів з НАА секретиують прозапальні цитокіни, зокрема $IFN\gamma$ і TNF, що призводить до підвищення рівнів цих цитокінів у кістковому мозку і периферичній крові. $IFN\gamma$ і TNF знижують формування колоній гемопоетичних клітин-попередників внаслідок індукування апоптозу $CD34^+$ клітин Fas-Fas-лігандним та/або TNF-обумовленим апоптозіндукующим лігандним (TRAIL) шляхом. Присутність внутрішньоклітинного $IFN\gamma$ у Т-клітинах у крові і кістковому мозку пацієнтів з НАА може слугувати предиктором відповіді на ІСТ, а також індикатором розвитку рецидиву. Натомість внутрішньоклітинна експресія TNF у Т-клітинах кісткового мозку асоціюється з негативними клінічними результатами.

Трансформуючий фактор росту β_1 ($TGF\beta_1$) – ще один багатифункціональний цитокін, який бере участь у гемопоезі. У пацієнтів з НАА часто визначаються генотипи, які асоціюються з високою продукцією $TGF\beta_1$, особливо генотип -509 TT, проте в деяких випадках може спостерігатися зниження рівнів $TGF\beta_1$ у крові і кістковому мозку. Такі поліморфізми $TGF\beta_1$, як -590 C/T rs1800469 і P10L C/T rs1800470, не впливають на схильність до НАА, хоча можуть асоціюватися з кращою відповіддю на ІСТ.

Гемопоетичні стовбурові клітини / клітини-попередники

Нещодавні дослідження свідчать, що в певних підгрупах пацієнтів з НАА до основного патофізіологічного механізму захворювання – імуносередкованого руйнування ГСК/КП – може приєднуватись ще один механізм, а саме первинний дефект ГСК/КП.

Так, у деяких пацієнтів з НАА, особливо в тих, які не відповідають на ІСТ, спостерігається значне зменшення довжини теломер в лейкоцитах. Мутації в генах теломерального

комплексу, зокрема теломерального РНК-компонента ($TERC$) і теломеральної зворотної транскриптази ($TERT$), порушують здатність підтримувати довжину теломери, що призводить до зниження здатності до проліферації і виживаності гемопоетичних клітин та, як наслідок, до зменшення пулу ГСК. У разі дії зовнішнього чинника, що викликає імуносередковане руйнування ГСК, пацієнти з такими мутаціями можуть бути більш вразливими до розвитку недостатності кісткового мозку і неадекватно відповідати на ІСТ.

Проте більшість хворих на AA зі скороченими теломерами не мають відомих мутацій, які відповідають за таке скорочення, що вказує на залучення інших генів та/або зовнішніх факторів. Прискорене скорочення теломер у деяких нелікванних або рефрактерних до лікування пацієнтів з НАА може бути наслідком підвищеної проліферації ГСК/КП, подібно до такої в пацієнтів після алогенної ТГСК, коли обмежений клональний гемопоєз і «регенеративний стрес» призводять до хромосомної нестабільності ГСК/КП. При цьому менша довжина теломер корелює зі стійкою цитопенією після ІСТ, підвищеним ризиком рецидиву, клональної еволюцією, моносомією 7 і зниженою загальною виживаністю.

Незалежно від етіології зменшення довжини теломер, у пацієнтів з НАА більш короткі й дисфункціональні теломери не лише обмежують проліферацію нормальних ГСК/КП, а й спричиняють хромосомну нестабільність і схильність до злоякісної трансформації. При НАА критично мала довжина теломер може слугувати біомаркером клональної еволюції до моносомії 7.

У пацієнтів з НАА $CD34^+$ ГСК/КП демонструють значно знижену регуляцію генів контрольних точок клітинного циклу, зокрема генів, які кодують циклінзалежну кіназу 6 ($CDK6$), $CDK2$, цикліни E і A, комплементарну групу G анемії Фанконі ($FANCG$), генів $c-myb$ і $c-myc$. Це може пояснювати нездатність ГСК/КП до повної реплікації і компенсації імуносередкованого пошкодження, а також появу передракових або анеуплоїдних клітин у пацієнтів з НАА, які залишаються вразливими до розвитку мієлодисплазії та мієлолейкозу навіть через багато років після гематологічного відновлення завдяки ІСТ.

У багатьох пацієнтів з НАА визначаються набуті соматичні мутації в генах, пов'язаних з мієлоїдними злоякісними процесами, зокрема $ASXL1$, $DNMT3A$, $TET2$ і $BCOR$; наявність таких мутацій є предиктором високого ризику трансформації у мієлодиспластичний синдром або гострий мієлолейкоз.

Мезенхімальні стовбурові клітини кісткового мозку

МСК-КМ є ключовими клітинами-попередниками мікросередовища кісткового мозку, які відіграють важливу роль у довгостроковому підтриманні гемопоезу. МСК-КМ диференціюються в низку стромальних клітин, що становлять нішу ГСК. Своєю функцією МСК-КМ і диференційовані стромальні пухлини здійснюють шляхом продукції і секреції цитокінів, хемокінів і молекул екстрацелюлярного матриксу. МСК чинять виражені імуносупресивні ефекти на Т-клітини, NK і антигенпрезентуючі клітини, тож вони можуть залучатися до патогенезу НАА.

У низці досліджень було продемонстровано, що МСК з апластичного кісткового мозку мають первинні та/або вторинні дефекти, зокрема знижений проліферативний і клонігенний потенціал, підвищений апоптоз, аберантну диференціацію, а також неадекватне пригнічення активації Т-клітин, продукції TNF і $IFN\gamma$. Цікаво, що функціональний дефіцит МСК-КМ щодо зниження праймування, проліферації і вивільнення цитокінів Т-клітин персистує нескінченно довго після ІСТ, проте може нормалізуватися після трансплантації кісткового мозку.

Профілювання експресії генів МСК-КМ, отриманих від пацієнтів з НАА, дозволило визначити значну різницю в експресії великої кількості генів, залучених до клітинного циклу, поділу клітин, хемотаксису, передачу сигналів адипогенезу й диференціації ГСК. Наприклад, у пацієнтів з НАА експресія гена, що кодує GATA-зв'язувальний протеїн 2 ($GATA2$; транскрипційний фактор, необхідний для утворення і нормального функціонування ГСК/КП), знижується не лише в ГСК/КП, а й у МСК-КМ. У дітей з НАА також спостерігається значне зниження експресії $CXCL12$ у МСК-КМ, що асоціюється зі зниженням виживаності і потенціалу до диференціації цих клітин. Одночасна трансплантація ГСК/КП й алогенних МСК, отриманих з кісткового мозку або пуповинної крові, зменшувала ризик хвороби «трансплантат проти хазяїна» і покращувала стромальну функцію в пацієнтів з НАА. Ці дані не лише підтверджують імуномодулюючі властивості МСК, а й надають непрямі докази того, що МСК-КМ можуть брати участь у патогенезі НАА.

Висновки

Патологічно змінена імунна регуляція при НАА, що залучає $CD8^+$ Th1, T_{reg} і клітини вродженого імунітету, призводить до деструкції ГСК/КП (рис.). Антигени, які беруть участь у цьому процесі, дотепер не встановлені. Первинний дефект ГСК/КП, присутній у пацієнтів з НАА, поглиблює недостатність кісткового мозку. Хоча сучасне лікування дозволяє значно поліпшити прогноз захворювання, для кращого розуміння патофізіологічних механізмів і створення більш ефективних препаратів необхідні подальші дослідження.

Список літератури знаходиться в редакції.

Zeng Y., Katsanis E. The complex pathophysiology of acquired aplastic anaemia. Clin Exp Immunol, 2015 Jun; 180 (3): 361-70.

Переклад з англ. Олексій Терещенко

