

13. Sawant R. Protease: an enzyme with multiple industrial / R. Sawant, S. Nagendran // World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. – 2014. – Vol. 3, № 6. – P.568-579.

14. Schiaparella S. A reassessment of the distribution of the common Antarctic scallop *Adamussium colbecki* (Smith, 1902) / S. Schiaparella, K. Linseb // Deep-Sea Research II. – 2006. – Vol. 53. – P. 912–920.

#### References

1. Bradford MM. A rapid and sensitive method for quantities of utilizing the principle of protein binding. Analytical Biochemistry. 1976;86:193–200.

2. Fuchise T, Sekizaki H, Kishimura H, et al. Simple preparation of pacific cod trypsin for enzymatic peptide synthesis. Journal of Amino Acids. 2014; 8:1–8.

3. Gupta A, Roy I, Khare SK, et al. Purification and characterization of a solvent stable protease from *Pseudomonas aeruginosa* PseA. Journal of Chromatogr A. 2005;1069:155–161.

4. Joo HS, Kumar CG, Park GC, et al. Oxidant and SDS-stable alkaline protease from *Bacillus clausii* I-52: production and some properties. J Appl Microbiol. 2003;95:267–72.

5. Karan K, Capes MD, DasSarma S. Function and biotechnology of extremophilic enzymes in low water activity. Aquatic Biosystems. 2012;8:1-15.

6. Klomklo S. Digestive proteinases from marine organisms and their applications. Songklanakarin Journal of Sci. Technology. 2008;30(1):37–46.

7. Li Q, Yi L, Marek P, Inverson BL. Commercial Proteases: Present and future. FEBS Lett. 2013;587:1155-1163.

8. Munilla-Moran R, Stark JR. Protein digestion in early turbot larvae, *Scophthalmus maximus* (L.). Aquaculture. 1989;8:315–327.

9. Ogino H, Uchiho T, Yokoo J, et al. Role of intermolecular disulfide bonds of the organic solvent-stable PST-01 protease in its organic solvent stability. Applied and Environmental Microbiology. 2001;67(2): 942-947.

10. Ostapchenko L, Savchuk O, Burlova-Vasilieva N. Enzyme electrophoresis method in analysis of active components of hemostasis system. Advances in Bioscience and Biotechnology. 2011;2:20–26.

11. Peck LS, Webb KE, Bailey DM. Extreme sensitivity of biological function to temperature in Antarctic marine species. Functional Ecology. 2004;18:625–630.

12. Rai SK, Mukherjee AK. Ecological significance and some biotechnological application of an organic solvent stable alkaline serine protease from *Bacillus subtilis* strain DM-04. Bioresour. Technol. 2009;100:2642–2645.

13. Sawant R, Nagendran S. Protease: an enzyme with multiple industrial. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2014;3(6):568-579.

14. Schiaparella S, Linseb K. A reassessment of the distribution of the common Antarctic scallop *Adamussium colbecki* (Smith, 1902). Deep-Sea Research II. 2006;53:912–920.

Надійшла до редколегії 11.05.16

Н. Ракша, канд. біол. наук, Д. Гладун, асп.  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ,

### ДЕТЕРГЕНТ-СТІЙКІ ПРОТЕЇНАЗИ АНТАРКТИЧНОГО ГРЕБІНЦЯ *ADAMUSSIUM COLBECKI*

Показано, що екстракт тканин Антарктичного морського гребінця *Adamussium colbecki* містить протеїнази стійкі до дії ряду детергентів. Результати ензим-електрофорезу з використанням як субстрату желатину свідчать про наявність ферментів, що зберігають активність за присутності SDS, в той час як активність плазміну і мініплазміну рееструвалася лише після повного його видалення. Загальна протеолітична активність, яку оцінювали за ступенем гідролізу казеїну після інкубації екстракту тканин *A. colbecki* з детергентами Tween 80 і SDS, зберігалася на рівні контролю, тоді як активність трипсину за аналогічних умов інкубації значно знижувалася.

Ключові слова: морський гідробіонт *Adamussium colbecki*, SDS, Tween 80, етанол, загальна протеолітична активність.

Н. Ракша, канд. біол. наук, Д. Гладун, асп.  
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

### ДЕТЕРГЕНТ-УСТОЙЧИВЫЕ ПРОТЕИНАЗЫ АНТАРКТИЧЕСКОГО ГРЕБЕШКА *ADAMUSSIUM COLBECKI*

Показано, что экстракт тканей Антарктического гребешка *Adamussium colbecki* содержит протеиназы устойчивые к действию ряда детергентов. Результаты энзим-электрофореза с использованием как субстрата желатина свидетельствуют о наличии ферментов, сохраняющих активность в присутствии SDS, в то время как плазмин и миниплазмин сохраняли активность только после полного удаления детергента. Общая протеолитическая активность, оцененная по степени гидролиза казеина после инкубации экстракта тканей *A. colbecki* с детергентами Tween 80 и SDS, сохранялась на уровне контроля, тогда как активность трипсина в аналогичных условиях инкубации значительно снижалась.

Ключевые слова: морской гидробионт *Adamussium colbecki*, SDS, Tween 80, этанол, общая протеолитическая активность.

УДК 612.119+616.155.392-036.12+616.15-07

І. Свєженцева, асп., Д. Білько, канд. біол. наук., Н. Білько, д-р мед. наук, проф.  
Національний університет "Києво-Могилянська академія", Київ,  
І. Дягіль, д-р мед. наук  
Державна Установа "Науковий центр радіаційної медицини НАМН України", Київ

### ОСОБЛИВОСТІ ПРОЛІФЕРАЦІЇ ТА ДИФЕРЕНЦІЮВАННЯ КЛІТИН-ПОПЕРЕДНИКІВ ЕРИТРОПОЕЗУ ПРИ ХРОНІЧНІЙ МІЄЛОЇДНІЙ ЛЕЙКЕМІЇ В КУЛЬТУРІ КЛІТИН *IN VIVO*

Досліджено особливості проліферації та диференціювання клітин еритроїдної ланки гемопоезу в культурі дифузійних камер *in vivo* у пацієнтів з хронічною мієлоїдною лейкемією при терапії інгібіторами тирозинкіназ – імаїнібом та нілотинібом. У результаті культивування було виявлено, що відбувається підвищення проліферативної активності клітин-попередників еритропоезу як у випадку пацієнтів із вперше виявленою лейкемією, так і у зразках кісткового мозку пацієнтів зі стійкістю клітин лейкемічного клону до терапії інгібіторами тирозинкіназ. Продемонстровано пригнічення диференціювання клітин-попередників еритроїдного ряду із набуттям клітинами лейкемічного клону стійкості до інгібіторів тирозинкіназ.

Ключові слова: хронічна мієлоїдна лейкемія, клітини-попередники еритропоезу, культура клітин *in vivo*, інгібітори тирозинкіназ.

**Вступ.** Хронічна мієлоїдна лейкемія (ХМЛ) вважається одним із найбільш поширених онкогематологічних захворювань [12]. Захворювання характеризується підвищенням проліферації ранніх клітин-попередників мієлоїдної ланки кровотворення, що призводить до накопичення незрілих клітин гранулоцито-макрофагального ряду у кістковому мозку та периферичній крові пацієнтів [2, 3]. Причиною лейкемічної трансформації є поява в ранній гемопоетичній клітині-попереднику дериватної хромосоми 22, яку прийнято називати Філадельфійсь-

кою (Ph-хромосома) [9]. На ній міститься химерний онкоген *bcr-abl*, що кодує однойменний онкобілок, який характеризується тирозинкіназою активністю. BCR-ABL тирозинкіназа активує низку внутрішньоклітинних сигнальних шляхів, призводячи до надмірної проліферативної активності, нечутливості до впливу сигналів кістковомозкового мікрооточення та блокування апоптозу у клітинах лейкемічного клону [7, 10, 11].

Із розвитком більш чутливих модів молекулярної біології було встановлено, що в хронічній фазі захо-

рювання, коли клітини вже характеризуються підвищеною проліферетивною активністю, але ще не втратили здатності до диференціювання, Ph-хромосома міститься у гемопоетичних клітинних всіх клітинних ланок, включаючи еритроїдну [4, 8]. Деякі автори припускають, що під час прогресії ХМЛ за фізіологічних умов відбувається інгібування проліферації та диференціювання клітин еритроїдної ланки гемопоезу за допомогою факторів мікрооточення [13]. Однак, існують експериментальні підтвердження того, що у культурах клітин кісткового мозку пацієнтів із ХМЛ окрім збільшення кількості гранулоцито-макрофагальних, також спостерігається підвищення рівня еритроїдних колоній [6, 8, 11]. Крім того, наразі в науковій літературі нема однозначних результатів стосовно впливу препаратів нового покоління – інгібіторів тирозинкіназ на функціональну активність клітин еритроїдної ланки гемопоезу у напіврідкому середовищі *in vivo*. Отже, метою роботи було виявлення особливостей зміни функціональних характеристик клітин-попередників еритропоезу у разі терапії інгібіторами тирозинкіназ першого і другого покоління – іматинібом та нілотинібом, у культурі дифузійних камер *in vivo*.

**Матеріали і методи.** Здійснювали дослідження в культурі *in vivo* 300 зразків кісткового мозку від 75 пацієнтів, серед яких було 27 чоловіків та 48 жінок. Вік пацієнтів знаходився в межах від 28 до 64 із середнім значенням 56 років. Залежно від тактики терапії, яку отримували пацієнти, їх було поділено на три групи: ті, у яких ХМЛ діагностовано вперше ( $n=7$ ), пацієнти, що у якості терапії отримували препарат іматиніб ( $n=47$ ), та хворі, котрі у якості таргетної терапії отримували препарат нілотиніб ( $n=21$ ). Всі пацієнти перебували на амбулаторному лікуванні гематологічного відділення інституту клінічної радіології ДУ "Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України" і перед початком дослідження підписували добровільну інформовану згоду.

Для підтвердження діагнозу та оцінки відповіді клітин лейкоїчного клону на терапію інгібіторами тирозинкіназ проводили цитогенетичне дослідження гемопоетичних клітин пацієнтів на 12-й місяць від початку терапії, вираховуючи процентний вміст метафаз, що містять Ph-хромосому. Відповідно до отриманих результатів пацієнтів підрозділяли на підгрупи з оптимальною відповіддю (відсутність клітин з Ph-хромосомою) та резистентністю до терапії інгібіторами тирозинкіназ (у їх кістковому мозку відзначалося від 1 до 100% Ph<sup>+</sup>-клітин).

З метою виявлення впливу факторів мікрооточення на функціональну активність клітин кісткового мозку при ХМЛ здійснювали їх дослідження в культурі клітин *in vivo* із використанням оригінальної моделі гелевих дифузійних камер, які занурювали у черевну порожнину спеціально підготованих мишей лінії Balb/C. Для цього протягом тижня із синуса ока тварин за допомогою скляної піпетки Пастера, попередньо обробленої гепарином, забирали по 0,5 мл крові. За 20 хвилин до оперування у черевну порожнину мишам вводили тіопентал натрію (Київмедпрепарат, Україна) у дозі 200 мг/кг маси тварини. На 13-ту добу культивування тварин забивали методом цервікальної дислокації спинного мозку у шийному відділі, вилучали камери, очищали їх від сполучної тканини та досліджували під інвертованим мікроскопом (Zeiss, Німеччина). Всі маніпуляції із тваринами проводили відповідно до вимог біоетики та міжнародних принципів Європейської конвенції про захист тварин і національного законодавства з гуманного поводження із тваринами, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей [5].

По закінченню терміну культивування, під інвертованим мікроскопом (Zeiss, Німеччина) підраховували кількість сформованих клітинних агрегатів, які після підрахунку вилучали з напіврідкого середовища за допомогою автоматичної мікропіпетки і готували препарати за допомогою цитоцентрифуги (Shandon, Німеччина) протягом 1 хв. при 360 g. Отримані препарати еритроїдних колоній забарвлювали за методом Паппенгейма і здійснювали диференційний підрахунок та дослідження морфологічних особливостей клітин у агрегатах за допомогою мікроскопа (Leika, Японія) при збільшення  $\times 630$ . Статистичний аналіз проводили за допомогою критерію Манна-Уїтні. Достовірність оцінювали на рівні значущості  $p < 0,05$ .

**Результати дослідження та їх обговорення.** З літературних джерел відомо, що при ХМЛ відбувається розширення пулу переважно гранулоцито-макрофагальних попередників [2, 3]. Оскільки гранулоцито-макрофагальні попередники походять зі спільної для обох ланок гемопоетичної клітини-попередника мієлоїдного ряду, то не виключається, що зміни в проліферації і диференціюванні в клонах стосуються не лише гранулоцито-макрофагальної, а й еритроїдної ланки гемопоезу [8]. Тому, для перевірки даної гіпотези здійснювали дослідження особливостей впливу розчинних факторів нормального мікрооточення на функціональну активність клітин-попередників еритроїдної ланки гемопоезу, використовуючи модель культивування гемопоетичних клітин у гелевих дифузійних камерах. Їх занурювали у черевну порожнину мишей-реципієнтів, що попередньо були анемізовані шляхом забору із синуса ока 0,5 мл крові за допомогою обробленої гепарином скляної піпетки Пастера. Забір проводили щодня протягом тижня. За рахунок цього у тварин розвивалася анемія і вироблялися еритропоетин та інші фактори нормального мікрооточення, що беруть участь у регуляції еритропоезу [1].

Колонієутворюючі одиниці еритроїдні (КУО-Е), що формувалися на 13-ту добу від початку культивування, в напіврідкому агарі *in vivo* являли собою клітинні агрегати, що склалися з дрібних, щільно розташованих клітин червоного відтінку за рахунок синтезу гемоглобіну. У дифузійній камері еритроїдні колонії переважно розміщувалися по периферії, біля її стінок. У результаті морфологічного дослідження КУО-Е виявили, що до їхнього складу входили диференційовані клітини еритроїдної ланки кровотворення із вираженою базофілією цитоплазми: проеритробласти та поліхроматофільні еритробласти і нормобласти.

У результаті підрахунку кількості КУО-Е у культурах зразків кісткового мозку досліджуваних груп пацієнтів виявилось, що найбільша їхня кількість була у культурах *in vivo* зразків кісткового мозку пацієнтів зі стійкістю до інгібіторів тирозинкіназ (рис. 3). Так, у групі з резистентністю до нілотинібу кількість КУО-Е була найвищою і сягала  $65,1 \pm 4,2$  на  $1 \times 10^5$  експлантованих мононуклеарів, а випадку резистентності до іматинібу число КУО-Е становило  $56,2 \pm 3,7$  на  $1 \times 10^5$  експлантованих мієлокаріоцитів. У групі зразків із вперше виявленою ХМЛ кількість КУО-Е була дещо меншою і становила  $47,8 \pm 3,7$  на  $1 \times 10^5$  експлантованих мононуклеарів. У випадку, коли терапія інгібіторами тирозинкіназ була ефективною і після 12 місяців застосування у зразках кісткового мозку пацієнтів за результатами цитогенетичного дослідження не виявляли Ph-клітин, число КУО-Е було у 5 разів нижчим і сягало  $14,9 \pm 2,1$  та  $11,2 \pm 0,9$  на  $1 \times 10^5$  експлантованих мієлокаріоцитів у випадку застосування іматинібу та нілотинібу, відповідно.

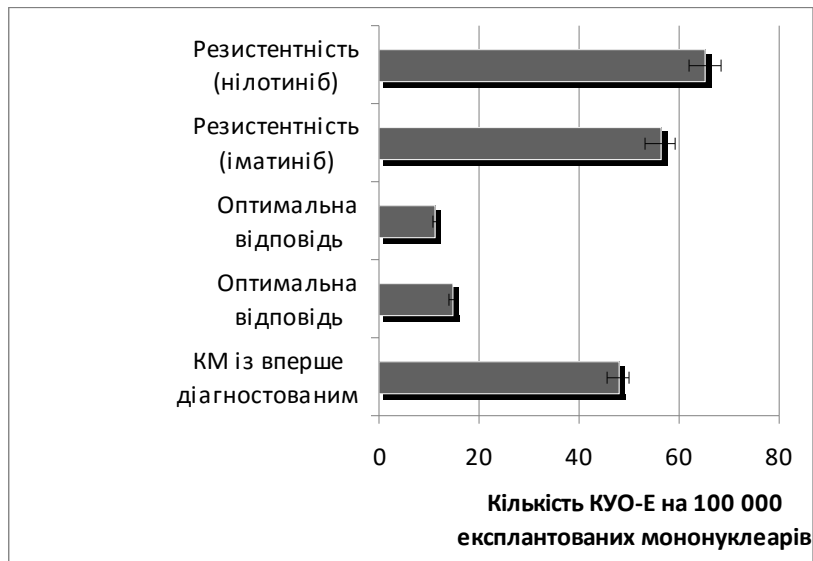


Рис. 3. Показники ефективності формування еритроїдних колоній зразків кісткового мозку досліджуваних груп у культурі дифузійних камер *in vivo*

За результатами кількісного аналізу клітин, що диференціювалися у КУО-Е в культурі клітин *in vivo* було виявлено, що агрегати переважно склалися із ранніх форм клітин-попередників еритропоезу. Крім того, в культурах кісткового мозку усіх груп виявлено значну перевагу еритробластів, порівняно із числом нормобластів та проеритробластів (рис. 4). Також було встановлено, що у випадку резистентності клітин лейкемічного клону до імаїнібу та нілотиніб, а також в тому випадку,

коли клітини лейкемічного клону не підлягали впливові жодних терапевтичних препаратів, статистично достовірної різниці між кількістю проеритробластів у агрегатах не було. Так, їх число становило  $24,3 \pm 1,1\%$ ,  $27,7 \pm 2,4\%$  та  $23,1 \pm 2,5\%$ , відповідно. В свою чергу у тому випадку, коли за результатами цитогенетичного дослідження не виявляли Рн-клітин, кількість проеритробластів була значно меншою та сягала  $14,2 \pm 3,2\%$  та  $12,7 \pm 0,9\%$  у випадку терапії імаїнібом та нілотинібом, відповідно.

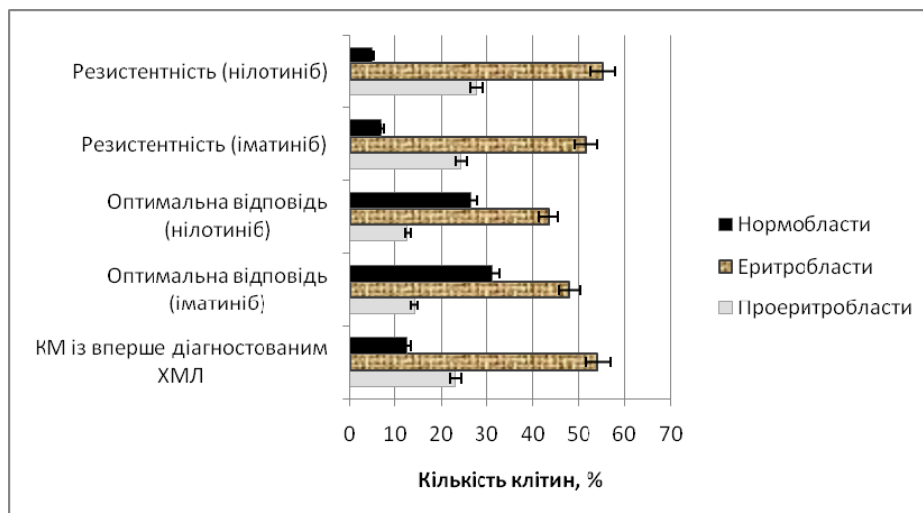


Рис. 4. Внутрішній склад еритроїдних колоній, отриманих у результаті культивування кісткового мозку при ХМЛ у культурі клітин *in vivo*

Кількість еритробластів була високою і достовірно не різнилася у всіх досліджуваних групах зразків кісткового мозку. Так, у випадку стійкості до імаїнібу та нілотиніб число еритробластів сягало  $51,5 \pm 3,1\%$  та  $55,3 \pm 4,7\%$ , відповідно. У випадку ефективності терапії їх кількість становила  $47,9 \pm 5,3\%$  та  $43,3 \pm 3,7\%$  для груп із застосуванням імаїнібу та нілотиніб, відповідно. Наразті, у культурах кісткового мозку пацієнтів, діагноз яким було встановлено вперше, число еритробластів сягало  $54,2 \pm 4,1\%$ .

На відміну від еритробластів, число нормобластів у культурах кісткового мозку різних груп значно різнило-

ся. Так, їх найменша кількість спостерігалася у культурах зразків зі стійкістю клітин лейкемічного клону до терапії інгібіторами тирозинкінази і становила  $7,1 \pm 0,4\%$  та  $5,2 \pm 1,2\%$  у випадку застосування імаїнібу та нілотиніб, відповідно. У групі зразків із вперше діагностованою ХМЛ число нормобластів було вдвічі вищим і становило  $12,7 \pm 3,1\%$ . В свою чергу при резистентності клітин лейкемічного клону до імаїнібу та нілотинібу кількість нормобластів була найвищою і становила  $31,3 \pm 2,7\%$  та  $26,4 \pm 2,4\%$ , відповідно.

Таким чином, було виявлено, що у зразках кісткового мозку пацієнтів зі стійкістю до терапії імаїнібом та

нілотинібом відбувається підвищення проліферативної активності клітин-попередників еритропоезу, а також пригнічення диференціювання проеритробластів до еритробластів у клітинних агрегатах. Подібна картина спостерігалася і у культурах зразків кісткового мозку із вперше виявленою ХМЛ. Це може свідчити про те, що із набуттям стійкості до інгібіторів тирозинкінази клітини-попередники еритропоезу втрачають здатність реагувати на дію розчинних факторів мікрооточення, що продукуються в організмі анемізованої тварини.

#### Висновки

Результати досліджень вказують на підвищення проліферативної активності клітин-попередників еритропоезу у пацієнтів із стійкістю до терапії інгібіторами тирозинкінази, що не залежить від факторів нормального мікрооточення. Паралельно зі збільшенням проліферативної активності клітин-попередників еритропоезу відбувалася також затримка диференціювання до більш зрілих форм у пацієнтів зі стійкістю до терапії інгібіторами тирозинкінази, що проявлялося накопиченням проеритробластів, порівняно еритробластами та нормобластами, в КУО-Е як в культурі дифузійних камер *in vivo*.

#### Список використаної літератури

1. Гольдберг Е.Д. Методы культуры рыткани в гематологи / Е.Д. Гольдберг, А.М. Дыгай, В.П. Шахов // Томск: Изд-во Том. Ун-та. – 1992. – 246 с.
2. Глузман Д.Ф. Эволюция лейкоэмических стволовых клеток при хроническом миелолейкозе / Д.Ф. Глузман, Л.М.Скляренко, Т.С. Ивановская и др. // Лабораторна діагностика. – 2012. – Т. 4, № 62. – С. 44–49.
3. Bacco D.A. Molecular Abnormalities in Chronic Myeloid Leukemia: Deregulation of Cell Growth and Apoptosis / D.A. Bacco, K. Keeshan, S.L. McKenna, et al. // The Oncologist. – 2000. – Vol. 5. – P. 405–415.
4. Catriona H.M. Granulocyte–Macrophage Progenitors as Candidate Leukemic Stem Cells in Blast-Crisis CML / H.M. Catriona, M.D. Jamieson, L. E. Ailles et al. // The new England Journal of Medicine. – 2004. – № 351. – P. 657–667.
5. Commission of European Communities. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes // 1986. – 86/609/EEC. – ISSN 03780698.
6. Deininger M. The tyrosine kinase inhibitor CGP57148B selectively inhibits the growth of BCR-ABL positive cells / M. Deininger, J.M. Goldman, N.B. Lydon, et al. // Blood. – 1997. – Vol. 90. – P. 3691–3698.
7. Hariharan I.K. *bcr-ab1* oncogene renders myeloid cell line factor independent: Potential autocrine mechanism in chronic myeloid leukemia / I.K. Hariharan, J.M. Adams, S. Cory // Oncogene Res. – 1988. – Vol. 3. – P. 387.

8. Issaad C. Growth of erythroid colonies in chronic myelogenous leukemia is independent of erythropoietin only in the presence of steel factor / C. Issaad, W. Vainchenker // Blood. – 1994. – Vol. 84, № 10. – P. 3447–3456.
9. Lozzio C.B. Human chronic myelogenous leukemia cell-line with positive Philadelphia chromosome / C.B. Lozzio, B.B. Lozzio // Blood. – 1975. – Vol. 45. – P. 321–334.
10. Majsternek I. Chromosom Philadelphia / I. Majsternek, J. Blasiak // Postępy biochemii. – 2002. – Т. 48, № 3 – S. 156–166.
11. Mayani H. In vitro biology of human myeloid leukemia / H. Mayani, E. Flores-Figueroa, A. Chavez-Gonzalez // Leukemia Research – 2009. – № 33. – P. 624–637.
12. Weisberg E. Beneficial effects of combining nilotinib and imatinib in preclinical models of BCR-ABL<sup>+</sup> leukemias / E. Weisberg, L. Catley, R.D. Wright, et al. // Blood. – 2007. – Vol. 19, № 5. – P. 2112–2120.
13. Zhou H. Leukemia stem cells: the root of chronic myeloid leukemia / H. Zhou, R. Xu // Protein & Cell. – 2015. – Vol. 6, № 6. – P. 403–412.

#### References

1. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Шахов В.П. Методы культуры рыткани в гематологи. Томск: Изд-во Том. Ун-та; 1992, 246.
2. Глузман Д.Ф., Скляренко Л.М., Ивановская Т.С. и др. Эволюция лейкоэмических стволовых клеток при хроническом миелолейкозе. Лабораторна діагностика. 2012; 4 (62): 44–49.
3. Bacco DA, Keeshan K, McKenna SL et al. Molecular Abnormalities in Chronic Myeloid Leukemia: Deregulation of Cell Growth and Apoptosis. Oncologist. 2000; 5: 405–415.
4. Catriona HM, Jamieson MD, Ailles LE, et al. Granulocyte–Macrophage Progenitors as Candidate Leukemic Stem Cells in Blast-Crisis CML. The new England Journal of Medicine. 2004; 351: 657–667.
5. Commission of European Communities. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. 1986/609/EEC. – ISSN 03780698
6. Deininger M, Goldman JM, Lydon NB, et al. The tyrosine kinase inhibitor CGP57148B selectively inhibits the growth of BCR-ABL positive cells. Blood. 1997; 90: 3691–3698.
7. Hariharan IK, Adams JM, Cory S. *bcr-ab1* oncogene renders myeloid cell line factor independent: Potential autocrine mechanism in chronic myeloid leukemia. Oncogene Res. 1988; 3: P. 387.
8. Issaad C, Vainchenker W. Growth of erythroid colonies in chronic myelogenous leukemia is independent of erythropoietin only in the presence of steel factor. Blood. 1994; 84 (10): 3447–3456.
9. Lozzio CB, Lozzio BB. Human chronic myelogenous leukemia cell-line with positive Philadelphia chromosome. Blood. 1975; 45: 321–334.
10. Majsternek I, Blasiak J. Chromosom Philadelphia. Postępy biochemii. 2002; 48 (3): 156–166.
11. Mayani H, Flores-Figueroa E, Chavez-Gonzalez A. In vitro biology of human myeloid leukemia. Leukemia Research. 2009; 33: 624–637.
12. Weisberg E, Catley L., Wright RD, et al. Beneficial effects of combining nilotinib and imatinib in preclinical models of BCR-ABL<sup>+</sup> leukemias. Blood. 2007; 19(5): 2112–2120.
13. Zhou H, Xu R. Leukemia stem cells: the root of chronic myeloid leukemia. Protein & Cell. 2015; 6(6): 403–412.

Надійшла до редколегії 01.04.16

И. Свеженцева, асп., Д. Билько, канд. биол. наук, Н. Билько, д-р мед. наук, проф.

Национальный университет "Киево-Могилянская академия", Киев, Украина,

И. Дягель, д-р мед. наук

Государственное Учреждение "Национальный центр радиационной медицины НАМН Украины", Киев, Украина

### ОСОБЕННОСТИ ПРОЛИФЕРАЦИИ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ КЛЕТОК-ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ЭРИТРОПОЭЗА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ МИЕЛОИДНОЙ ЛЕЙКЕМИИ В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК *IN VIVO*

Исследованы особенности пролиферации и дифференцировки клеток эритроидного ряда гемопоэза в культуре диффузных камер *in vivo* у пациентов с хронической миелоидной лейкемией при терапии ингибиторами тирозинкиназы – иматинибом и nilotinибом. В результате культивирования показано, что происходит повышение пролиферативной активности клеток-предшественников эритропоэза как в случае пациентов с впервые диагностированной лейкемией, так и в образцах костного мозга пациентов с резистентностью клеток лейкоэмического клона к терапии ингибиторами тирозинкиназы. Продемонстрировано подавление дифференцировки клеток-предшественников эритроидного ряда с приобретением клетками лейкоэмического клона резистентности к ингибиторам тирозинкиназы.

Ключевые слова: хроническая миелоидная лейкемия, клетки-предшественники эритропоэза, культура клеток *in vivo*, ингибиторы тирозинкиназы.

I. Sviezhentseva, PhD stud., D. Bilko, PhD., N. Bilko, DSc.

The National University of "Kyiv-Mohyla Academy", Kyiv, Ukraine,

I. Dyagil, DSc.

SI<sup>1</sup> National Research Center for Radiation Medicine of the NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine

### CHARACTERISTICS OF PROLIFERATION AND DIFFERENTIATION OF ERYTHROID PROGENITOR CELLS AT CHRONIC MYELOID LEUKEMIA IN CELL CULTURE *IN VIVO*

The article presents a study of proliferation and differentiation features of erythroid progenitor cells of patients with chronic myeloid leukemia during the treatment with tyrosine kinase inhibitors – imatinib and nilotinib. The cultivation results showed an increase in proliferative activity of erythropoiesis progenitor cells both in the case of patients with leukemia, diagnosed for the first time, and in the case of bone marrow samples of patients with a resistance of leukemic cells clone to treatment with tyrosine kinase inhibitors. Moreover, the results showed an inhibition of erythroid progenitor cell differentiation and acquisition of resistance to tyrosine kinase inhibitors by leukemic cells clone.

Keywords: chronic myeloid leukemia, erythroid progenitor cells, cell culture *in vivo*, tyrosine kinase inhibitors.