

УДК 616-006.446.8+57.085.23

## РОЛЬ ЛЕЙКОЗНОЇ СТОВБУРОВОЇ КЛІТИНИ У ПАТОГЕНЕЗІ ХРОНІЧНОЇ МІЄЛОЇДНОЇ ЛЕЙКЕМІЇ

Свєженцева І.О.

Національний університет «Києво-Могилянська академія», м. Київ

[iilona@ukr.net](mailto:iilona@ukr.net)

На сьогодні стає очевидним, що онкологічні захворювання людини та тварин виникають у результаті порушення процесів самооновлення та диференціювання у стовбурових клітинах та найближчих клітинах-попередниках [1]. Перші докази існування ракових стовбурових клітин були отримані при гемобластозах. Так, введення імунодефіцитним NOD/SCID мишам невеликої кількості лейкозних клітин призводило до розвитку гострої мієлоїдної лейкемії у тварин. Це розцінювалося як наявність у кістковому мозку людини лейкозних стовбурових клітин (ЛСК) [1]. Пізніше подібні результати було отримано і при хронічній мієлоїдній лейкемії (ХМЛ) [2].

Після лікування стандартними хімотерапевтичними засобами чи препаратами таргетної терапії ЛСК залишаються у кістковому мозку, створюючи мінімальну залишкову хворобу, і часто є причиною рецидиву ХМЛ або подальшої прогресії захворювання до фази бластного кризу [3]. У ранніх експериментах було продемонстровано, що в кістковому мозку пацієнтів із ХМЛ кількість ЛСК становить близько  $0,4 \times 10^5$  мононуклеарних клітин [1] і, навіть, у стані повної молекулярної ремісії захворювання, їх кількість суттєво не зменшується [4]. Тому, важливою залишається розробка методів елімінації ЛСК для лікування захворювання, які б дозволили вибірково знищувати ЛСК, не впливаючи на нормальні гемопоетичні стовбурові клітини (ГСК).

Для розробки подібної терапії необхідним є пошук принципових відмінностей між ЛСК та ГСК, а ключові механізми регуляції життєдіяльності ЛСК можуть слугувати мішенями для таргетної терапії ХМЛ нового покоління, що будуть направлені на знищення всього пулу лейкемічних клітин.

### Гемопоетичні стовбурові клітини в нормі та при хронічній мієлоїдній лейкемії

Вважається, що ЛСК походять із гемопоетичних стовбурових клітин у результаті хромосомної транслокації t(9;22). На цій стадії розвитку ГСК та ЛСК функціонально, морфологічно та фенотипово майже не відрізняються, хоча кількість більш диференційованих нащадків ЛСК, порівняно із ГСК, є дещо зміненою [6, 7]. Крім того, популяції нормальних ГСК та ЛСК використовують подібні молекулярні механізми проліферації та самооновлення. Також ЛСК, як і нормальні ГСК, знаходяться у нішах кісткового мозку, що захищає їх від впливу несприятливих факторів, зокрема дії хімотерапевтичних препаратів. Разом з тим вони мають і певні відмінності (табл. 1). Так, Вайсман та колеги запропонували три основних властивості ЛСК:

- унікальна здатність розвитку лейкемії при трансплантації імунодефіцитним тваринам;
- здатність повторювати морфологічні та імунофенотипові характеристики вихідної пухлини;
- здатність до послідовної трансплантації (від тварини до тварини) [8].

Пізніше, із розвитком методів молекулярної біології та біохімії, а також із подальшим дослідженням ЛСК, виявили, що вони також характеризуються наявністю мутацій в генах кіназних доменів, транскрипційних факторів та пухлинних супресорів (генах ростових факторів FLT3, C-KIT, генах K- та N-RAS, зміни в генах STAT5A, TP53, AML1, RB1, MYC, p16/NK4a, ENVI). Крім того, у ЛСК, порівняно з нормальними ГСК спостерігаються певні зміни фізіології, а саме, зміни у процесах гліколізу та оксидативного стресу [7].

Таблиця 1. Порівняльна характеристика лейкемічної та нормальної гемопоетичної стовбурових клітин

| Характерні риси                                     | ЛСК  | ГСК   |
|---|--|---|
| Спільні риси  |  |   |
| Поверхневімаркери                                   | CD34 <sup>+</sup> , CD71 <sup>+</sup> , HLA-DR <sup>+</sup>  |   |
| Транскрипційні фактори                              | Гени гомеобокса <i>Hox</i> , включаючи <i>HoxA/B</i><br>Гени родини <i>Wnt</i><br><i>Bmi1</i> та <i>Shh</i>  |   |
|   | Здатність знаходитися у стані спокою   |   |
|   | Стійкість до лікарських препаратів за рахунок експресії АТФ-залежних білків-транспортів                      |   |
|   | Наявність системи антиапоптозичного захисту  |   |
|   | Здатність диференціюватися у декілька типів клітин   |   |
| Поверхневімаркери (відмінності)                     | Thy1 <sup>-</sup> (CD70), c-Kit <sup>-</sup><br>(CD117), CD123 <sup>+</sup> , рецептор до IL-3α <sup>+</sup> | Thy1 <sup>+</sup> (CD70), c-Kit <sup>+</sup> (CD117), CD123 <sup>+</sup> , рецептор до IL-3α <sup>+</sup> |
| Транскрипційні фактори                              | NfκB, Alox-5, ANI-1  | -   |
| Конститутивна активація фосфатидилінозитид-3-кінази | +  | -   |

|  |  |                                    |
|--|--|------------------------------------|
| Експресія гена <i>Pten</i>               | -  | Задіяний у процессах самопідтримки |
| Експресія гена <i>p21<sup>Cip1</sup></i> | -  | Задіяний у процессах самопідтримки |
| Наявність додаткових мутацій             | Порушення в генах ростових факторів <i>FLT3</i> , <i>C-KIT</i> , генах <i>K-</i> та <i>N-RAS</i> , зміни в генах <i>STAT5A</i> , <i>TP53</i> , <i>AML1</i> , <i>RBI</i> , <i>MYC</i> , <i>p16/NK4a</i> , <i>ENVI</i> | -                                  |
| Мембранні транспортери                   | <i>ABCB-1</i> , <i>ABCG-2</i> , <i>Oat-4</i>   | -                                  |

Як зазначалося вище, морфологічно ЛСК та ГСК відрізнити неможливо, адже ці два типи клітин кісткового мозку є невеликими за розмірами та мають агранулярну цитоплазму. Візуально вони є подібними до лімфоцитів. Крім того, було встановлено, що ЛСК та ГСК мають подібний фенотип за низкою поверхневих маркерів: *CD34<sup>+</sup>*, *CD71<sup>-</sup>*, *HLA-DR<sup>-</sup>*. До того ж, у нещодавніх дослідженнях продемонстровано, що *CD123* коекспресуються із *CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>* на поверхні клітин при ХМЛ і цей антиген вважається маркерним для мієлоїдних лейкоїдів [5].

Також існує припущення, що ЛСК є більш примітивними, ніж мультипотентні ГСК. Так, онкоген *BCR-ABL* було виявлено у гемангіобластних клітинах, а Фанг та колеги у серії досліджень продемонстрували наявність цього гену у ще більш примітивних *Fk<sup>+</sup>*, *CD31<sup>-</sup>*, *CD34<sup>-</sup>* клітинах-попередників [9]. Важливо зазначити, що використання методів проточної цитофлуориметрії з метою відсортування ЛСК із загального пулу клітин кісткового мозку пацієнта виключно на основі експресії поверхневих маркерів є недостатнім для збагачення ЛСК. Адже, будь-яка виділена популяція ЛСК є гетерогенною не лише за різними типами поверхневих маркерів, але й функціонально. Так, у експериментах було підтверджено, що колонії ЛСК мають неоднорідний генотип і, навіть, деякі ЛСК взагалі можуть мати специфічні генетичні аберації [6].

На сьогодні важливе місце у вивченні біології ЛСК займає дослідження сигнальних каскадів, що беруть участь у процессах життєдіяльності клітини. Саме ключові молекули сигнальних шляхів ЛСК стануть мішенями таргетних препаратів, що потенційно можуть використовуватися для елімінації всього лейкоїдного клону у кістковому мозку пацієнта. Однак, варто відрізнити молекулярні каскади, котрі притаманні для усіх стовбурових клітин кісткового мозку людини від специфічних для ЛСК шляхів передачі внутрішньоклітинних сигналів. Так, загальними для ЛСК та ГСК є наступні сигнальні шляхи:

- канонічна взаємодія *Wnt/β-катенін*;
- *Sonic Hedgehog*;
- *Noch* сигнальний шлях [10].

*Wnt/β-катеніновий* шлях є необхідним для виживання та оновлення як нормальних ГСК, так і ЛСК [5]. Стабілізований *β-катенін* є основним компонентом *Wnt* сигнального каскаду, який сприяє

самооновленню стовбурових клітин та інших типів клітин-попередників [11]. Активація *β-катеніну* та десигналювання *Wnt* шляху є спільним для більшості онкологічних захворювань [12]. Крім того, при ХМЛ у результаті другої, відмінної від *BCR-ABL* мутації, у більшості клітин-попередників відбувається блокування диференціювання, що призводить до розвитку бластного кризу, який за симптоматикою подібний до гострої мієлоїдної лейкоїдів [12].

*Hedgehog* сигнальний шлях бере участь у регуляції функцій стовбурових клітин багатьох тканин, а також при більшості онкологічних захворювань, включаючи лейкоїдів. Варто підкреслити, що активація каскаду *Hedgehog* підвищує кількість ЛСК при ХМЛ та зменшує виживаність у тварин, яким було введено подібні трансформовані клітини [13]. Так, фармакологічне інгібування *Smoothened* (ключового білка каскаду *Hedgehog*) призводить до зниження ЛСК *in vitro* та збільшує тривалість ремісії після закінчення терапії [14].

*Nes1*, котрий є цільовим геном *Noch*, відіграє важливу роль у самооновленні ЛСК, а також сприяє подальшій трансформації клітин лейкоїдного клону, що призводить до прогресування захворювання до фази бластного кризу [10]. При ХМЛ також підвищується рівень експресії *Noch* регуляторного гену *BMI-1*, який бере участь у активації проліферативної активності як ГСК, так і ЛСК та здатен репресувати супресори пухлин *p16INK4a* та *p14ARF* [9]. Варто зазначити, що рівень експресії *BMI-1* вважається прогностичним фактором подальшого перебігу захворювання, так як він корелює із трансформацією клітин лейкоїдного пулу [15, 16]. З іншого боку у пацієнтів із високим рівнем експресії *BMI-1* після аlogenної трансплантації був високий рівень виживаності без рецидивів [30]. Крім того, у регуляції процесів проліферації та самооновлення як ГСК, так і ЛСК важливу роль виконують гени гомеобоксу *Hox*, включаючи *Hox4B* [2].

Однак існують сигнальні каскади, що є характерними лише для стовбурових клітин. Так, необхідною умовою для проліферації та диференціювання ЛСК при ХМЛ є активність *Alox5*. В експериментах було доведено, що інгібування *Alox5* пригнічує функції ЛСК і не впливає на нормальні ГСК [17]. Ген *Alox5* активується за допомогою *BCR-ABL*. Так, на нокаутованих за геном *Alox5* мишах було продемонстровано, що трансдукція ГСК таких мишей геном *BCR-ABL* не призводить до розвитку ХМЛ [18]. Точніше, перші два тижні лейкоїд розвивається, потім починає спадати і зникає до 7-о

тижня після введення тваринам трансформованих клітин. Натомість дефіцит Alox5 сприяє розвитку гострої лімфобластної лейкемії [19].

АНІ-1 (Abelson helper integration site 1) – онкоген, який є потенційною мішенню для таргетної терапії ЛСК. У ЛСК спостерігається його надекспресія, що сприяє підвищенню впливу BCR-ABL на проліферацію клітин [17]. Він здатен взаємодіяти не лише із BCR-ABL, але і з JAK2/STAT шляхом, який залучений до формування резистентності до інгібіторів тирозинкінази (ІТК) [20].

ЛСК також володіють здатністю ухилятися від апоптозу шляхом підвищення експресії регуляторного фактора NFκB [21]. Крім того, у ЛСК підвищується активність теломери, що може свідчити про вищу проліферативну активність ЛСК порівняно із нормальними ГСК.

ГСК характеризуються експресією ABCB-1 та ABCG-2 транспортерів, які також притаманні ЛСК при ХМЛ. Однак в цих клітинах вони експресуються надлишково та забезпечують відтік із клітини хіміотерапевтичних препаратів [5]. Крім того, для ХМЛ притаманна зменшена експресія мембранного транспортера Ost-4, що відповідає за надходження до клітини лікарських препаратів, зокрема імаїнібу [5].

#### ***Роль лейкозної стовбурової клітини у процесах формування резистентності до хіміотерапевтичних засобів***

Як відомо, в кістковому мозку ЛСК використовують ті ж шляхи виживання, що і нормальні ГСК. Стійкості до ІТК та апоптозу клітини набувають у тому випадку, коли знаходяться у стані спокою, а з часом, можуть стати причиною рецидиву захворювання. В експериментах *in vitro* було продемонстровано, що клітини, котрі знаходилися у спокої, виявляли стійкість до імаїнібу та ставали причиною подальшої прогресії захворювання [22]. В культурі *in vitro* було проаналізовано функціональний стан клітин кісткового мозку пацієнтів, котрі досягли цитогенетичної ремісії при терапії імаїнібом. На початку культивування BCR-ABL-позитивних клітин в культурі не виявлялося, однак, починаючи з 10 дня культивування, їх наявність підтвердилася, що свідчить про нечутливість ЛСК до препаратів групи ІТК [23].

Крім того, ЛСК характеризувалися вищим рівнем експресії транскрипту BCR-ABL, порівняно з більш зрілими клітинами лейкемічного клону. А також, безпосередньо, популяція ЛСК складалася з різних субпопуляцій клітин, що мали різні точкові мутації у гені BCR-ABL [22], що може сприяти стійкості ЛСК до терапії препаратами групи ІТК.

Також відомо, що порівняно з більш зрілими клітинами лейкемічного клону, у ЛСК знижується рівень органічного катіонного транспортера, котрий бере участь у активному поглинанні ІТК та підвищення рівня протеїнів, що володіють здатністю зв'язувати лікарські препарати, в тому числі й MDR1 [22]. Крім того, ЛСК можуть змінюватися залежно від стадії захворювання протягом якої вони виникли. Тому, стійкість до хіміотерапевтичних агентів також

може різнитися в залежності від походження трансформованої клітини [24].

Іншою важливою причиною стійкості ЛСК до хіміотерапевтичних засобів є, так звана, середовище опосередкована резистентність. Однак, деякі дослідники вважають, що така резистентність є перехідним станом, адже ЛСК, деякий час можуть бути захищені через посередництво сигналів із ніші, котрі, в підсумку, призводять до виникнення вторинних генетичних змін, у результаті яких з'являються клітини, що набувають одразу кількох механізмів резистентності до лікарських засобів [25]. На підтвердження цього, було виявлено, що колонії ЛСК мають неоднорідний генотип, а деякі ЛСК, взагалі можуть мати специфічні хромосомні аберації [6].

Наразі, існує думка, що найголовнішою характеристикою ЛСК, яка надає їм стійкості до ТКІ, є статус циклу, тобто можливість тривалий час знаходитися у стані спокою. Так, дослідження показують, що у випадку примусового виведення ЛСК із фази G<sub>0</sub>, відповідь пацієнтів на ТКІ значно покращується [25]. ЛСК, як і нормальні ГСК, знаходяться у стані спокою в нішах кісткового мозку, при безпосередній взаємодії з факторами мікрооточення.

#### ***Роль мікрооточення у процесах підтримання стійкості ЛСК до терапевтичних препаратів***

Нішу кісткового мозку прийнято поділяти на остеобластну та васкулярну. Остеобластна ніша локалізована на внутрішній поверхні порожнини кістки та містить кілька різних клітинних елементів: мезенхімальні стовбурові клітини (МСК), остеобласти, остеокласти та фібробласти. Васкулярна, або судинна ніша, складається із синусоїдальних клітин ендотелію, що вистилають кровеносні судини, а також периваскулярних клітин строми [3].

Перш за все, варто зазначити, що МСК не пов'язані з лейкемічним клоном, так як не експресують онкоген BCR-ABL, однак вони відіграють важливу роль у обслуговуванні клітин під час ХМЛ [9]. Адже, паралельно із трансформацією клітин відбувається зміна спектру сигнальних молекул, що продукуються мікрооточенням [25]. Це було підтверджено спостереженнями пригнічення нормального кровотворення, за умов наявності навіть невеликого пулу лейкемічних клітин [26]. Так, у експериментальних дослідженнях показано, що МСК здатні продукувати ростові фактори. Наприклад, при співкультивуванні МСК та ГСК при ХМЛ, МСК виділяють значну кількість інтерферону-α, що перешкоджає проліферації клітин [9]. Крім того, відомо, що дефіцити компонентів ніші здатні призводити до мієлодиспластичного синдрому та лейкемії. Так, дерегулювання Notch у МСК сприяє мієлопроліферативним розладам [27].

Для забезпечення стану спокою ЛСК необхідним є прямий контакт із нішею. Так, між МСК та ЛСК (як і ГСК) утворюються міжклітинні контакти: червоподібні відростки, з'єднувальні комплекси, інвагінації та ворсинки [6]. Прямий

контакт потрібен для того, щоб мати здатність регулювати асиметричні поділи ЛСК (і ГСК), а також їх самооновлення [28, 29].

Важливу роль у контактах між ЛСК, ГСК та компонентами мікрооточення відіграють остеобласти ніші. Саме між остеобластами та ЛСК і ГСК формуються фізичні контакти через молекули адгезії, такі як інтегрини та кадгерини (VLA-5 та VLA-4). Це призводить до активації синтезу ростових факторів та цитокінів, котрі набувають здатності активувати внутрішньоклітинні сигнальні каскади (Wnt/ $\beta$ -катеніновий, STATs, SMADs, TGF $\beta$ , Tl2 та Noch). Як наслідок, у ЛСК активуються процеси адгезії до клітин мікрооточення, вони набувають здатності входити у стан спокою, а також блокувати самооновлення [30].

Важливу роль остеобластної ніші для ЛСК було продемонстровано у експериментах на мишах. Так, при трансплантації ЛСК людини мишам, вони знаходилися переважно у епіфізарних областях трубчастих кісток тварини, в ендості, а більш диференційовані клітини лейкемічного пулу – у периваскулярній ніші, в судинах поблизу ендосту [31]. Крім того, саме остеобластне мікрооточення здатне підтримувати умови гіпоксії, які є важливими як для функціонування ГСК, так і ЛСК [32, 29].

Крім остеобластів у процесах адгезії ГСК до кісткомозкової ніші важливу роль також відіграють фібробласти. На їхній мембрані є фактор FGF-1, який відіграє важливу роль у самооновленні та проліферації ГСК і ЛСК. Після зв'язування цього фактора з рецептором відбувається індукція сигнальних каскадів, включаючи MAP-кінази, STATs та PI3K.

Перші докази впливу мікрооточення на стійкість ЛСК до іматинібу було продемонстровано в експериментах, у яких виявили, що ЛСК *in vitro* під дією препарату еліминувалися, а за фізіологічних умов були стійкими до іматинібу [9]. Пізніше у експериментах *in vitro* показали, що культивування ЛСК разом із людськими МСК призводить до підвищення стійкості ЛСК до хіміотерапевтичних препаратів [6].

Також варто зазначити, що мікрооточення як ГСК, так і ЛСК є гіпоксичним. В експериментах *in vitro* було продемонстровано, що гіпоксичні умови культивування сприяють резистентності до ТКІ [33, 34]. Такі умови притаманні саме для ендостної ніші, де основними клітинами строми є остеобласти, прикріплюючись до яких ЛСК набувають здатності знаходитися у стані спокою та характеризуються певними змінами метаболізму: блокування мітохондріального окислювального фосфорилування та перехід до гліколізу [22].

Стійкість до ІТК також може бути пов'язана зі змінами метаболізму ЛСК, які можуть бути спричинені Hif-1a (hypoxia inducible factor 1a) [16], що призводить до змін оксидативного метаболізму в анаеробному гліколізі шляхом регулювання Hif-1a генів, які кодують ферменти, що беруть участь у процесах гліколізу, наприклад транскеталази [6].

ТКІ здатні впливати на мікросередовище кісткового мозку [6]. Так, іматиніб може підвищувати хоумінг ЛСК до кісткомозкової ніші, впливаючи на регуляцію CXCR-4 [35]. Таким чином, іматиніб сприяє міграції ЛСК до сайтів строми кісткового мозку, де вони знаходяться у стані спокою, стають несприятливими до терапії та призводять до нових рецидивів ХМЛ. Саме тому важливою є розробка та застосування препаратів, які б сприяли елімінації ЛСК для запобігання рецидивів захворювання та набуття тривалої ремісії.

### **Терапія, що може бути направлена проти ЛСК**

Останнім часом дослідження методів елімінації ЛСК у хворих із ХМЛ переживають період бурхливого розвитку. Адже, ЛСК є нечутливими до стандартних хіміотерапевтичних препаратів та препаратів групи ІТК за рахунок їхньої здатності тривалий час знаходитися у стані спокою, взаємодіючи із клітинами мікрооточення. Це призводить до частих рецидивів захворювання у пацієнтів, що досягли ремісії, або ж стійкості до препаратів, що застосовуються для лікування ХМЛ, зокрема ІТК [6]. Наразі вчені схилиються до двох можливих тактик подолання проблеми ЛСК:

- специфічними до ЛСК препаратами сприяти їх елімінації;
  - здійснювати постійне введення пацієнтові препаратів, які б сприяли тривалому знаходженню ЛСК у стані спокою, з метою перешкоджання відновленню лейкемічного пулу після досягнення пацієнтом повної молекулярної ремісії (Рис.1).
  - До першого підходу, який передбачає повну елімінацію ЛСК, можна віднести також дві стратегії лікувальної тактики проти ЛСК у нішах кісткового мозку пацієнта. Перша передбачає розробку спеціальних препаратів, які б впливали на молекули-мішені ЛСК – білки сигнальних каскадів, які є важливими для їх виживання та функціонування, але не впливають на нормальні ГСК [2]. Наприклад, було показано, що ініціювання оксидативного стресу у поєднанні з інгібуванням ядерного фактора *JB(NFjB)*, котрий забезпечує передачу сигналів виживання у ЛСК [6]. Гусман та колеги продемонстрували, що інгібітор протесом MG-132 може активно інгібувати ці процеси та призводити до апоптозу ЛСК, як у експериментах *in vivo*, так і *in vitro* [21]. Агенти, що інгібують PI3K (володіє здатністю індукувати Nrf2 шлях після активації НМОХ-1 – компоненту антиоксидантної системи) можуть спричиняти оксидативний стрес, блокуючи антиоксидантні системи клітини. Крім того, існує думка, що оксидативний стрес може не лише викликати загибель клітин, але й блокувати їх здатність до самооновлення [25].
- Також в експериментах було продемонстровано, що інгібування шаперона для BCR-ABL Hsp90 також може бути потенційним шляхом елімінації ЛСК при ХМЛ [36]. Крім того, розроблено кілька нових низькомолекулярних агентів, що направлені на елімінацію ЛСК, інгібуючи активність NF $\kappa$ B

(пантенолід, ідарубіцин у поєднанні із інгібіторами протесом, а також TDZD-8). Всі ці препарати здатні діяти проти ЛСК із мінімальним впливом на ГСК [24]. Іншим можливим способом повного знищення ЛСК у кістковом мозку пацієнта є штучне створення стресових умов для ініціації виходу клітин із фази G<sub>0</sub>.

Одним із можливих препаратів для цієї ролі може стати триоксид арсенуму (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), котрий володіє здатністю блокувати білок супресор пухлин PML (інтенсивно експресується у ЛСК при ХМЛ і вважається негативним прогностичним фактором захворювання).



Рис. 1. Можливі терапевтичні стратегії боротьби з ЛСК

PML-клітини після тривалого культивування (понад 3 тижні) давали значно меншу кількість гранулоцито-макрофагальних колоній у напіврідкому агарі *in vitro*), що бере участь у підтримці ГСК та ЛСК. Так, використання триоксиду арсенуму у поєднанні зі стандартними хімотерапевтичними препаратами призводило до виживання мишей при ХМЛ [6]. Крім того, нормальні ГСК у таких тварин залишалися неушкодженими [11].

Друга стратегія полягає у впливові на процеси адгезії ЛСК до клітин кістковомозкового мікрооточення, що сприятиме звільненню ЛСК від захисту ніші кісткового мозку [2]. Ішікава та колеги продемонстрували, що перспективним є використання антагоністів та модуляторів CXCR4, таких як піріксафор, для пригнічення адгезії ЛСК до МСК [6, 37].

Таким чином, дослідження ключових відмінностей між ЛСК та ГСК є надзвичайно актуальним, адже це може стати підґрунтям для розробки препаратів таргетної терапії нового покоління.

#### References

1. Buss, E. C. Leukemia stem cells / E. C. Buss, A. D. Ho // *Int. J. of Cancer.* – 2011. Vol. 129. – P. 2328 – 2336.
2. Gluzman, D. F. Evolution of leukemic stem cells in chronic myeloid leukemia / D. F. Gluzman, L. M.

- Sklyarenko, T. S. Ivanovskaya [at all] // *Laboratory diagnostic.* – 2013. – Vol. 3, № 65. – P. 50 – 54.
3. Nwajei, F. The Bone Marrow Microenvironment as Niche Retreats for Hematopoietic and Leukemic Stem Cells / F. Nwajei, M. Konopleva // *Advances in Hematology.* – 2013. - Vol. 2013. – P. 1 – 8.
4. Drize, N. I. The differences between normal and leukemic hematopoietic stem cells / N. I. Drize // *Hematology.* – 2006. – Vol. 2. – P. 5 – 9.
5. Bing Z. Carter The elusive CML stem cell: does it matter and how do we eliminate it? / Bing Z. Carter, Duncan D. Mak, Jorge Cortes, at al. // *Semin Hematol.* – 2010. – Vol 47, № 4. – P. 362 – 370.
6. Buss, E. C. Leukemia stem cells / E.C. Buss, A.D. Ho // *International Journal of Cancer.* – 2011. – Vol. 129. – P. 2328 – 2336.
7. Craig T. Jordan. The leukemic stem cell / Craig T. Jordan // *Best Pract Res Clin Haematol.* – 2007. – Vol. 20, № 1. – P. 13 – 18.
8. Park, C.Y. Cancer stem cell-directed therapies: recent data from the laboratory and clinic / C.Y. Park, D. Tseng, I.L. Weissman // *Mol. Ther.* – 2009. – Vol. 17, № 2. – P. 219 – 223.
9. Seke Etet, P.F. Signaling pathways in chronic myeloid leukemia and leukemic stem cell maintenance: Key role of stromal microenvironment / P.F. Seke Etet, L. Vecchio, A.H. Nwabo Kamdje // *Cellular Signalling.* – 2012. – Vol. 24. – P. 1883 – 1888.
10. Chomel, J.C. Chronic myeloid leukemia stem cells in the era of targeted therapies: resistance, persistence and

- long-term dormancy / J.C. Chomel, A.G., Turhan // *Oncotarget*. – 2011. – Vol 2, № 9. – P. 713 – 727.
11. Luo, L. Leukemia Stem Cells / L. Luo, Z. Chao Han // *International Journal of Hematology*. – 2006. – Vol. 8. – P. 124 – 127.
12. Jamieson, C.H. Granulocyte-macrophage progenitors as candidate leukemic stem cells in blast-crisis CML / C.H. Jamieson, L.E. Ailles, S.J. Dylla, [et all] // *N Engl. J. Med.* – 2004. – Vol. 351. – P. 657 – 667.
13. Zhao, C. Hedgehog signalling is essential for maintenance of cancer stem cells in myeloid leukaemia / C. Zhao, A. Chen, C. H. Jamieson, [et all] // *Nature*. – 2009. – Vol. 458. – P. 776 – 779.
14. Babashah, S. Targeting of the signal transducer Smo links microRNA-326 to the oncogenic Hedgehog pathway in CD34<sup>+</sup> CML stem/progenitor cells / S. Babashah, M. Sadeghizadeh, A. Hajifathali // *Int. J. of Cancer*. – 2013. – Vol. 133. – P. 579 – 590.
15. Merkerova, M. Bmi-1 over-expression plays a secondary role in chronic myeloid leukemia transformation / M. Merkerova, H. Bruchova, A. Kracmarova, [at all] // *Leuk Lymphoma*. – 2007. – Vol. 48, № 4. – P. 793 – 801.
16. Roboz, G.J. Acute myeloid leukemia stem cells: seek and destroy / G. J. Roboz, M. Guzman // *Expert Rev Hematol*. – 2009. – Vol. 2. – P. 663 – 672.
17. Nakahara, F. Hes1 immortalizes committed progenitors and plays a role in blast crisis transition in chronic myelogenous leukemia / F. Nakahara, M. Sakata-Yanagimoto, Y. Komeno, [et all] // *Blood*. – 2010. – Vol. 115. – P. 2872 – 2881.
18. Pardal, R. Applying the principles of stem-cell biology to cancer / Pardal R., Clarke M.F., Morrison S.J. // *Nat. Rev. Cancer*. – 2003. – Vol. 3, № 12. – P. 895 – 902.
19. Donato, N.J. Chronic myeloid leukemia stem cells and developing therapies / N. J. Donato, L. F. Peterson // *Leukemia & Lymphoma*. – 2011. – Vol. 52. – P. 60 – 80.
20. Warsch, W. High STAT5 levels mediate imatinib resistance and indicate disease progression in chronic myeloid leukemia / W. Warsch, K. Kollmann, E. Eckelhart // *Blood*. – 2011. – Vol. 117. – P. 3409 – 3420.
21. Guzman, M.L. The sesquiterpene lactone parthenolide induces apoptosis of human acute myelogenous leukemia stem and progenitor cells / M. L. Guzman, R. M. Rossi, L. Karnischky [et al] // *Blood*. – 2005. – Vol. 105. – P. 4163 – 4169.
22. Rajesh, R. Hazlehurst The bone marrow microenvironment as a sanctuary for minimal residual disease in CML / R. Nair Rajesh, J. Tolentino, A. Lori // *Biochemical Pharmacology*. – 2010. – Vol. 80. – P. 602 – 612.
23. Mayani, H. In vitro biology of human myeloid leukemia / H. Mayani, E. Flores-Figueroa, A. Chavez-Gonzalez // *Leukemia Research*. – 2009. – Vol. 33. – P. 624 – 637.
24. Craig, T. J. The leukemic stem cell / Craig // *Best. Pract. Res. Clin. Haematol*. – 2007. – Vol. 20, № 1. – P. 13 – 18.
25. Konopleva, M. Y. Leukemia Stem Cells and Microenvironment: Biology and Therapeutic Targeting / M. Y. Konopleva, C.T Jordan // *J. of Clin. Oncol*. – 2011. – Vol. 29, № 5. – P. 591 – 599.
26. Colmone, A. Leukemic cells create bone marrow niches that disrupt the behavior of normal hematopoietic progenitor cells / A. Colmone, M. Amorim, A.L. Pontier, [et all] // *Science*. – 2008. – Vol. 322. – P. 1861 – 1865.
27. Essers, M. A. IFN $\alpha$  activates dormant haematopoietic stem cells in vivo / M. A. Essers, S. Offner, W. E. Blanco-Bose, [et all] // *Nature*. – 2009. – Vol. 458. – P. 904 – 908.
28. Wagner, W. Hematopoietic progenitor cells and cellular microenvironment: behavioral and molecular changes upon interaction / W. Wagner, R. Saffrich, U. Wirkner // *Stem Cells*. – 2005. – Vol. 23. – P. 1180 – 1191.
29. Zeng, Z. Targeting the leukemia microenvironment by CXCR4 inhibition overcomes resistance to kinase inhibitors and chemotherapy in AML / Z. Zeng, Y. X. Shi, I. J. Samudio // *Blood*. – 2009. – Vol. 113. – P. 6215 – 6224.
30. Nwajei, F. The Bone Marrow Microenvironment as Niche Retreats for Hematopoietic and Leukemic Stem Cells / F. Nwajei, M. Konopleva // *Adv. in Hematol*. – 2013. Vol. 2013. – P. 1 – 8.
31. Ninomiya, M. Homing, proliferation and survival sites of human leukemia cells in vivo in immunodeficient mice / M. Ninomiya, A. Abe, A. Katsumi [et all] // *Leukemia*. – 2007. – Vol. 21, № 1. – P. 136 – 142.
32. Mayerhofer, M. BCR/ABL induces expression of vascular endothelial growth factor and its transcriptional activator, hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , through a pathway involving phosphoinositide 3-kinase and the mammalian target of rapamycin / M. Mayerhofer, P. Valent, W.R. Sperr // *Blood*. – 2002. – Vol. 100, - № 10. – P. 3767 – 3775.
33. Eliasson, P. The hematopoietic stem cell niche: low in oxygen but a nice place to be / P. Eliasson, J. I. Jonsson // *J. Cell Physiol*. – 2010. – Vol. 222. – P. 17 – 22.
34. Mohyeldin, A. Oxygen in stem cell biology: a critical component of the stem cell niche / A. Mohyeldin, T. Garzo'n-Muvdi, A. Quinones-Hinojosa // *Cell Stem Cell*. – 2010. – Vol. 7. – P. 150 – 161.
35. Jin, L. CXCR4 up-regulation by imatinib induces chronic myelogenous leukemia (CML) cell migration to bone marrow stroma and promotes survival of quiescent CML cells / L. Jin, Y. Tabe, S. Konoplev, [et all] // *Mol. Cancer. Ther.* – 2008. – Vol. 7. – P. 48 – 58.
36. Peng, C. Inhibition of heat shock protein 90 prolongs survival of mice with BCR-ABL-T315I-induced leukemia and suppresses leukemic stem cells / C. Peng, J. Brain, Y. Hu, [et all] // *Blood*. – 2007. Vol. 110. – P. 678 – 685.
37. Ishikawa, F. Development of functional human blood and immune systems in NOD/SCID/IL2 receptor {gamma} chain(null) mice / F. Ishikawa, M. Yasukawa, B. Lyons, [et all] // *Blood*. – 2005. – Vol. 106. – P. 1565 – 1573.



**UDC 616-006.446.8+57.085.23**  
**ROLE OF LEUKEMIC STEM CELLS IN THE**  
**CHRONIC MYELOID LEUKEMIA**  
**PATHOGENESIS**  
**Sviezhentseva I.O.**

The presence of leukemic stem cells (LSC) in the bone marrow of patients with chronic myeloid leukemia (CML) is the cause of relapses as a result of the treatment with chemotherapeutic agents and target therapy drugs. This is due to the ability of LSC to attach itself to the microenvironment cells and to remain at rest for a long time. Vascular and osteoblasts niche play a very important role in this process. However, for being in G0 phase LSC have direct contact with the cellular elements of bone marrow microenvironment. So LSK contact with mesenchymal cells of bone marrow using the appendices, connecting components invaginations and lint. The cadherins and integrins are important in the interaction of osteoblasts niche. They are able to activate intracellular signaling cascades that provide resting state of LSK. In addition, a bone marrow niche provides changes of LSC oxidative metabolism, which also plays an important role for cell entry into the G0 phase. Further, LSC also have certain physiological properties, which play an important role in the drug resistance formation, particularly drugs with targeted actions - tyrosine kinase inhibitors. LSK characterized by a high level of BCR-ABL expression and their population can have a lot of point mutations in the *bcr-abl* gene in the same patient. This leads to the fact that the taken medicines dose does not act against LSK, reducing the number of a whole leukemic cells clone. However, complete LSC elimination from the the patient's bone marrow need search the main differences between the LSC and normal HSC. After the literature analysis it was found that LSC have several significant differences such as the ability to cause leukemia during the transplantation to immunodeficient animals, this leukemia is morphologically and phenotypically similar to the original tumor, in addition the LSC can be transmitted from animal to animal. In addition, the LSC is also characterized by the mutations presence in the genes of kinase domains, transcription factors and tumor suppressors (genes of growth factors FLT3, C-KIT, genes K-RAS and N-RAS, mutations in genes STAT5A, TP53, AML1, RB1, MYC, p16 / NK4a, ENV1). Now the most important role in LSK biology research takes studying of signaling cascades involved in the processes of cell activity. This key molecule of cell signaling pathways can become targeted agents that may be used for the elimination of LSC from the patient bone marrow. However, it is necessary to distinguish the molecular cascades that are inherent to all bone marrow stem cells from LSC specific intracellular signal transmitters. Common to the LSC and HSC are the following signaling pathways: Wnt/ $\beta$ -catenin, Sonic Hedgehog and Notch signaling pathways. Moreover, there are signaling cascades that are specific only for LSC. They are characterized by the exclusive expression of Alox5, AHI-1 and NF $\kappa$ B genes. In addition, the LSC are also characterized by the increased expression of AVSV-1 and ABCG-2 transporters, providing the evacuation of the cell chemotherapeutic drugs. LSC are characterized by the

decreased expression of Oct-4, which ensures the supply of drugs to cells. The article also highlights the key therapeutic tactics that can be used to eliminate the recurrence of CML associated with the presence of LSC, which remain at rest for a long time, in the bone marrow of patients. The first tactic is elimination of LSC using the targeted drugs that operate solely on the target molecule in leukemic cells. The second approach is a direct administration of drugs to a patient that could promote a permanent state of rest for LSC in order to prevent relapses.

**Keywords:** leukemic stem cells, chronic myeloid leukemia, hematopoietic stem cell microenvironment.