

**АПОПТОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА У
БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ МИЕЛОЛЕЙКОЗОМ НА ФОНЕ ЛЕЧЕНИЯ
ИМАТИНИБОМ (ГЛИВЕКОМ).**

Козлов А.В., Сяпина Т.В., Бессмельцев С.С.* , Удальева В.Ю.* , Зарицкий А.Ю.**
*ГОУ ВПО Санкт-Петербургская Медицинская академия последипломного образования
Росздрава, кафедра клинической лабораторной диагностики,*

Санкт-Петербург, 191015, Кирочная ул., д. 41, тел.(812)303-50-00,

E.mail:kafedrabb@mail.ru

**ФГУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и
трансфузиологии», Санкт-Петербург, 191024, 2-я Советская ул., д. 16,
тел. (812) 717-67-80,*

E.mail: RNIINT @ mail . ru

***ФГУ «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Рентгена ул., д. 12, тел. (812) 234-34-24,*

E.mail:eshlyakhto@spmu.rssi.ru

Резюме.

В работе представлены результаты изучения действия препарата иматиниб мезилат (гливек) на апоптотическую активность клеток костного мозга у больных ХМЛ. Установлено, что гливек в дозе 400 мг/сут у больных с полным гематологическим ответом, полным цитогенетическим и большим цитогенетическим ответом обеспечивает высокую активность апоптотических процессов в клетках костного мозга. Так же обнаружено, что гливек приводит к стабилизации апоптоза в клетках костного мозга с 6 месяца терапии.

Ключевые слова: апоптоз, иматиниб мезилат (гливек), хронический миелолейкоз.

**THE APOPTOTIC ACTIVITY CELLS OF BONE MARROW AT PATIENTS CHRONIC
MYELOGENOUS LEUKEMIA DURING TREATMENT WITH IMATINIB MESYLATE
(GLIVEC).**

Kozlov A.V., Syasina T.V., Bessmeltsev S.S.* , Udaliyeva V.U.* , Zaritzkiy A., Yu.**

*St-Petersburg Medical Academy of Postgraduate Studies, Russia; St-Petersburg, 191015,
Kirochnaya str., 41;*

**Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, St-Petersburg,
191024, 2nd Sovetskaya str., 16;*

*** St-Petersburg Pavlov State Medical University, St-Petersburg, Rentgena str., 12*

Summary:

The article presents the results of studying of action of a preparation imatinib mesylate (glivec) on апоптотическую activity of cells of a bone marrow at patients chronic myelogenous leukemia. It is established that glivec in a dose 400mg. at patients with complete hematologic response, the complete cytogenetic and major cytogenetic response provides high activity apoptotic processes in bone marrow cells. As it is revealed that glivec leads to stabilisation of apoptosis in cells of bone marrow about 6 months of therapy.

Key words: apoptosis, imatinib mesylate (glivec), chronic myelogenous leukemia.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение хронического миелолейкоза (ХМЛ) привело к пониманию того, что механизмом, обуславливающим развитие заболевания, является транслокация t(9;22) с образованием химерного гена BCR-ABL, кодирующего выработку BCR-ABL-тирозинкиназы [1]. Накоплены экспериментальные доказательства в пользу того, что экспрессия белка Bcr-Abl – ключевое событие в развитии ХМЛ [2]. В результате постоянной активации ABL-тирозинкиназа способствует пролиферации гемопоэтических клеток и защищает их от апоптоза, индуцированного различными стимулами [3].

В ряде клинических исследований была выявлена корреляция между уровнем экспрессии антиапоптотических генов bcl-2 и bcl-xL в различных опухолевых клетках и их высокой устойчивостью к химиотерапевтическим препаратам [4]. Полагают, что торможение апоптоза может быть тем механизмом, путем которого опухолевые клетки приобретают устойчивость к лекарственным препаратам [5].

В то же время вопросы прогнозирования характера течения ХМЛ по апоптотической активности клеток остаются до конца не разрешенными. В частности, нет ответа на вопрос, могут ли быть использованы характеристики апоптотической активности клеток на этапе первичной диагностики заболевания для выработки адекватной лечебной тактики. Нет ясности и относительно того, можно ли использовать величину апоптотического потенциала клеток для оценки эффективности терапии [6].

Решение этих вопросов позволит усовершенствовать лабораторные методы диагностики ХМЛ, а поиск дополнительных критериев прогнозирования заболевания, основанных на выявлении апоптотической активности в клетках костного мозга больных, позволит своевременно выявлять развитие химиорезистентности [7].

Препарат иматиниб мезилат (иматиниб, гливек), ингибирующий bcr/abl-тирозинкиназу, стал стандартом терапии больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ) во всех фазах болезни. В серии экспериментальных исследований выявлено, что препарат повышает апоптотическую активность в лейкемических клетках [8].

Целью данного исследования явилась оценка влияния препарата иматиниб мезилат (Гливек) на характер спонтанного и индуцированного апоптоза в клетках костного мозга у больных хроническим миелолейкозом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пациенты

Исследование было проведено на клетках костного мозга 35 больных ХМЛ в хронической фазе, которые получали лечение иматинибом. Эффективность лечения оценивали согласно рекомендациям European LeukemiaNet по лечению ХМЛ иматинибом и ингибиторами тирозинкиназ II поколения [9].

Критерии ответа определяли по гематологическому ответу (ГО) и цитогенетическому ответу (ЦО):

- Полный гематологический ответ (ПГО): Лейкоциты $< 10 \times 10^9/\text{л}$, базофилы $< 5\%$, в лейкоцитарной формуле нет миелоцитов, промиелоцитов, миелобластов, число тромбоцитов $< 450 \times 10^9/\text{л}$, селезенка не пальпируется.

Цитогенетический ответ:

- Полный (ПЦО): Ph+ метафаз нет
- Частичный (ЧЦО): 1–35 % Ph+ метафаз
- Малый (МЦО): 36–65 % Ph+ метафаз
- Минимальный (минЦО): 66–95 % Ph+ метафаз
- Отсутствие: $> 95\%$ Ph+ метафаз [10].

По признаку достижения или отсутствия гематологического и цитогенетического ответа на терапию больные были разделены на 4 группы.

Первую группу составили 6 больных, с впервые выявленным ХМЛ и у которых не было ни гематологического (ОГО), ни цитогенетического ответа (ОЦГО). Во вторую группу были включены 4 больных ХМЛ с ПГО и малым (МЦГО) или с отрицательным цитогенетическим ответом (ОЦГО). В третью группу вошли 13 пациентов с ХМЛ, достигших ПГО и большого цитогенетического ответа (БЦГО). Четвертая группа была образована 12 больными, у которых был получен полный гематологический (ПГО) и цитогенетический ответ (ПЦГО).

Все больные получали иматиниб в дозе 400 мг/сутки. Больные 1-й группы были обследованы до начала терапии. Больные 2-й группы получали иматиниб в течение 2 мес., 3-й - от 5 до 11 месяцев (в среднем 9,9 мес.), 4-й группы – от 6 до 26 месяцев (в среднем 15,6 мес.).

Выделение моноклеарной клеточной фракции.

Костный мозг (1-2 мл) получали при стерильной пункции. Выделение моноклеарной клеточной фракции проводили методом центрифугирования в градиенте плотности раствора фиколл-верографин с относительной плотностью 1,077 г/мл.

Связывание акридин оранжа клетками костного мозга.

Об апоптотической активности клеток костного мозга (КМ) судили по связыванию акридин оранжа (АО). Оценку связывания клеток с АО проводили по методу Е.Б. Ласунской в модификации Зиминой В.А.[11,12]. Для обнаружения клеток, находящихся в апоптозе, 5 мкл клеточной суспензии, содержащей в среднем 4×10^4 клеток, помещали на предметное стекло и смешивали с равным объемом раствора АО (100 мкг/мл), накрывали покровным стеклом и просматривали под масляной иммерсией. Микроскопию проводили в люминесцентном микроскопе Leica DM4000 B в синем ультрафиолетовом свете (светофильтр H3). Подсчитывали не менее 100 клеток в разных полях зрения. Оценивали процент клеток с типичными для апоптоза признаками.

Индукция апоптоза.

Апоптоз индуцировали путем создания в среде инкубации дефицита энергетического субстрата – глюкозы. Ее дефицит вызывали путем инкубации клеток КМ (в среднем, $4,0 \times 10^4$) в минимальном объеме (50 мкл) буферного раствора. Для оценки спонтанного апоптоза то же количество клеток инкубировали в оптимальных условиях – в 1 мл буферного раствора. Обе пробы выдерживали в термостате при температуре 37°C в течение 18 часов. После инкубации в обеих пробах определяли количество клеток, связавших АО. О способности клеток КМ вступать в апоптоз судили по разнице в количестве клеток, связавших краситель АО в условиях спонтанного и индуцированного апоптоза.

При анализе клеток в условиях флуоресцентной микроскопии учитывали следующие признаки: размеры ядра (уменьшение), характер распределения хроматина (конденсация в глыбки неправильной формы, уплотнение), хроматиновые тела (сохранность мембранной изолированности), характер свечения ДНК. Апоптотическая ДНК выглядит конденсированной ярко-желто-зеленой. В жизнеспособных клетках АО вызывает диффузную зеленую флуоресценцию [13]. Характер свечения клеток представлен на рисунке 1.

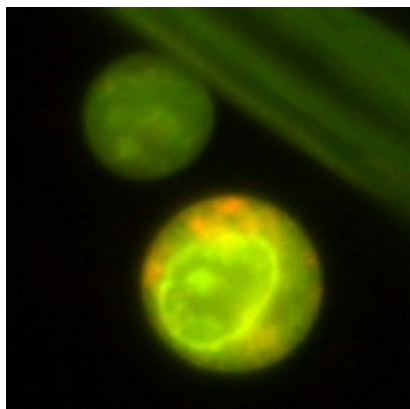


Рис.1. Клетка в состоянии апоптоза (внизу) и жизнеспособная клетка (вверху).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные по связыванию АО клетками КМ исследуемых групп больных представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Связывание акридин оранжа клетками костного мозга в зависимости от условий их культивирования.

Исследуемые группы больных	Количество клеток костного мозга связывающих АО, %		
	Спонтанный апоптоз	Индукцированный апоптоз	Прирост клеток
ОГО, ОЦГО (1-я группа n=6)	6,5±0,8 ^{2,3,4}	9,5±1,2 [*] 2,3,4	3,0±0,8 ^{2,3,4}
ПГО, МЦГО (ОЦГО) (2-я группа n=4)	9,5±1,3	16,0±1,6 [*]	6,5±0,6 ^{1,2}
ПГО, БЦГО (3-я группа n=13)	11,3±1,3	20,5±1,7 [*]	9,2±1,0
ПГО, ПЦГО (4-я группа n=12)	10,7±1,1	20,8±1,6 [*]	10,1±0,8

^{2,3,4} достоверность (<0,005) различий по сравнению с 2,3 и 4 - группой

^{*} достоверность различий по сравнению со значениями спонтанного апоптоза

Как видно из таблицы 1 в каждой группе больных между количеством клеток, связавших АО в условиях как спонтанного, так и индуцированного апоптоза отмечена достоверная разница $p < 0,005$.

У больных 1-й группы прирост числа АО связывающих клеток в ответ на индукцию апоптоза был самым низким – 3% и статистически отличался от показателей 2, 3 и 4 групп. Во 2-й группе прирост числа клеток в условиях индукции апоптоза составил 6,5% и достоверно был меньше по сравнению с 3-й и 4-й группами. У больных 3-й и 4-й группы прирост числа АО связывающих клеток при индукции апоптоза статистически не отличался: 9,2% в 3-й группе и - 10,1 % в 4-й группе.

У больных ХМЛ с положительным ответом на терапию иматинибом (гливеком) и достижением ПГО, ПЦГО и БЦГО прирост количества клеток костного мозга, связывающих АО, достоверно выше по сравнению с группами 1 и 2, в которых больные не достигли ЦГО и ПГО. Показатели апоптоза не отличаются в группах больных с БЦГО и ПЦГО.

Лечение гливеком приводит к восстановлению способности клеток к апоптозу, что, по мнению многих авторов, лежит в основе эрадикации патологического клона клеток [14,15,16]. К похожим выводам пришли другие авторы: Е.Ю. Осипова, М. Благодосклонный и В. Smith связывают эффективность полихимиотерапии (ПХТ) с восстановлением способности клеток различных опухолей, в частности гемобластозов, к апоптозу [17,18,19]. Кроме того, неспособность клеток к вступлению в апоптоз является показателем неэффективности ПХТ [20,21,22,23,24]. Имеются сведения, что интенсивность апоптотических процессов (апоптотический потенциал клеток) позволяет оценивать эффект ПХТ [25,26].

По данным зарубежных авторов противоопухолевые эффекты иматиниба связаны не только с его способностью восстанавливать апоптоз [27,28]. Так, например J. Geau и соавторы утверждают, что одним из ключевых эффектов гливека является увеличение экспрессии хемокинового рецептора практически до нормального уровня [29]. Известно, что иматиниб имеет дозозависимый эффект. Увеличение дозы препарата до 800 мг/день при отсутствии ПЦГО на дозе 400 мг/день приводило к достижению БЦГО у 40% больных [30].

В связи с этим нами было проведено сравнение интенсивности реакций апоптоза в клетках КМ больных в зависимости от срока лечения иматинибом. Для этого дополнительно были обследованы 13 впервые выявленных больных, либо не лечившихся, либо срок лечения не превышал 1 недели. Полученные данные представлены на рисунке 2.

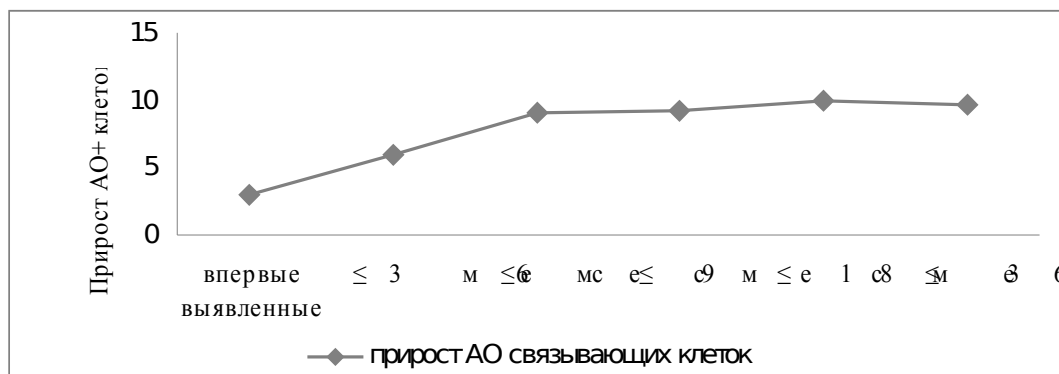


Рис. 2. Прирост клеток КМ, связывающих АО в условиях индукции апоптоза, в зависимости от продолжительности лечения гливекком.

Как следует из представленных на рис.2 данных, у впервые выявленных больных прирост числа АО⁺ клеток (клетки, связавшие АО) в ответ на индукцию апоптоза составил $2,9 \pm 0,8\%$. У больных, леченных иматинибом в течение 3 месяцев, число АО⁺ клеток увеличивалось до $6,0 \pm 1,2\%$, что соответствует минимальному уровню по сравнению с другими больными, получавшими иматиниб ($p < 0,005$). Прирост числа АО⁺ клеток в группе больных, лечившихся в течение 6 месяцев составил $9,0 \pm 1,0\%$, что достоверно выше по сравнению с больными, срок лечения которых равнялся 3 месяцам. При анализе остальных групп больных со сроком лечения 6 месяцев и более установлено, что, несмотря на увеличение длительности приема иматиниба интенсивность апоптотических реакций в клетках КМ больных колеблется в пределах максимальных значений 9 – 10% (прирост составил $9,0 \pm 1,0\%$, $9,2 \pm 1,3\%$, $9,9 \pm 0,8\%$ и $9,7 \pm 1,0\%$) и существенно не отличается ($p > 0,05$).

Наряду с этим были изучены процессы индукции апоптоза у 3 больных ХМЛ с успешной аллотрансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК). АллоТГСК этим больным была проведена в связи с наличием гистосовместимого донора. Обращает внимание то, что у этих больных прирост АО⁺ клеток, а так же количество апоптотических клеток при спонтанном и индуцированном апоптозе было значительно выше по сравнению с 4-й группой больных (табл. 1), у которых был получен ПГО и ПЦГО. В качестве примера приводятся результаты связывания АО клетками КМ всех трех больных. У больного К. (18 лет) число АО⁺ клеток составило при спонтанном апоптозе - 14%, при индуцированном – 25%, прирост - 11%. У больного С. (42 года) число АО⁺ клеток при спонтанном апоптозе – 13%, при индуцированном – 24%, прирост – 11%. У больной Л. (40 лет) при спонтанном апоптозе число АО⁺ связывающих клеток – 12%, при индукции – 24%, прирост – 12%.

Тот факт, что у больных ХМЛ с ПЦГО и ПГО величина индуцированного апоптоза ниже, чем у больных с успешной аллоТГСК, указывает на то, что, во-первых, использование аллогенной трансплантации позволяет добиться максимальной элиминации минимальной остаточной болезни, и, во-вторых, возможно, что не все аспекты действия иматиниба расшифрованы.

В литературе имеются указания на то, что одной из проблем терапии иматинибом является нечувствительность покоящихся клеток - примитивных лейкемических клеток находящихся в фазе G0/G1. Эти клетки составляют до 0,5% от общего числа Ph-позитивных клеток. Точные механизмы резистентности этих клеток к иматинибу не установлены [31,32]. В настоящее время возможность полной эрадикации лейкемических клеток на фоне терапии иматинибом ставится под сомнение из-за низкой чувствительности примитивных гемопоэтических предшественников к препарату [33,34].

Таким образом, лечение больных иматинибом (гливеком) достоверно ускоряет процессы апоптоза у больных ХМЛ. Минимальное количество АО⁺ клеток в состоянии апоптоза было обнаружено у нелеченных больных. Увеличение апоптотической активности выявлено при достижении ПГО. Максимальные значения апоптоза выявлены у больных с ПГО, ПЦГО и БЦГО. В то же время, нам не удалось обнаружить различий в интенсивности реакций апоптоза в зависимости от наступления ПЦГО и БЦГО, что указывает на то, что с момента достижения БЦГО интенсивность апоптоза максимальна. Обнаружение того, что количество клеток КМ, связывающих АО выше у больных с аллотГГСК (аллотрансплантация гемопоэтических стволовых клеток) предполагает, что восстановление проапоптотической активности клеток костного мозга может зависеть от полного уничтожения опухолевых генов, а не только от их угнетения.

Полученные нами данные о влиянии терапии гливека на величину индуцированного апоптоза указывают на то, что достижение ПЦГО и ПГО через 6 месяцев сопровождается стабилизацией скорости индуцированного апоптоза, что в целом согласуется с данными European Leukemia Net о получении оптимального ответа на терапию иматинибом [9].

Прирост количества АО⁺ клеток, в ответ на индукцию, может использоваться в качестве дополнительного критерия ответа на лечение иматинибом и быть доказательным до 6 месяца лечения, пока показатели индуцированного апоптоза не выйдут на плато (рис.2).

ВЫВОДЫ

1. У больных хроническим миелолейкозом, положительно ответивших на терапию, индукция апоптоза в культуре клеток костного мозга приводит к увеличению количества акридинсвязывающих клеток.
2. При химиорезистентных формах ХМЛ апоптотическая активность опухолевых клеток низкая, что предопределяет их низкую чувствительность к химиотерапии.
3. Определение у больных ХМЛ количества клеток костного мозга, связывающих акридин оранж, может быть использовано в качестве одного из критериев для оценки эффективности противоопухолевой терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдулкадыров К.М., Бессмельцев С.С., Рукавицын О.А. Хронический миелолейкоз. – СПб: “Специальная Литература”, 1998.- 464 с.
2. Daley G.Q., van Etten R.A., Baltimore D. Induction of chronic myelogenous leukemia in mice by the P210bcr/abl gene of the Philadelphia chromosome. Science 1990;247:824-30.
3. Sattler M., Salgia R. Activation of hematopoietic growth factor signal transduction pathways by the human oncogene BCR/ABL. Cytokine Growth Factor Rev 1997; 8:63-79.
4. Копнин Б. П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза// Биохимия. – 2000 – Т.65. – Вып. 1. – С. 5–33.
5. Владимирская Е. Б. Апоптоз и его роль в регуляции клеточного равновесия // Клиническая лабораторная диагностика. – 2002. – №11. – С.25 – 32.
6. Sturm I., Bosanquet A. G., Hermann S., Gurner D., Dorken B., Daniel P. T. Mutation of p53 and consecutive selective drug resistance in B-CLL occurs as a consequence of prior DNA-damaging chemotherapy // Cell. Death Differ.—2003.—Vol.10, №4.—P. 477—484.
7. Владимирская Е.Б. Механизмы апоптоза клеток крови.// Лабораторная медицина.- 2001. – Т.121. - №4. – с. 47-54.
8. Gambacorti-Passerini C, le Coutre P, Mologni L, et al. Inhibition of the ABL kinase activity blocks the proliferation of BCR/ABL+ leukemic cells and induces apoptosis. //Blood Cells Mol Dis. — 1997. — Vol.23. — P. 380-394.
9. Baccarani M., Cortes G., et al: Chronic Myeloid Leukemia: An Update of Concepts and Management Recommendations of European LeukemiaNet.// J. Clin. Oncol.—2009.—V. 27. —P.6041-6051.
10. Baccarani M, Saglio G, Goldman J, et al: Evolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia: Recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet. Blood 108:1809-1820, 2006

11. Зимина В.А. Особенности апоптотической активности клеток костного мозга у больных неходжкинскими злокачественными лимфомами: дис. канд. мед. наук. – СПб.2003. – С.61 – 62., 78 – 79.
12. Ласунская Е.Б., Кравцов В.Д., Фрейдлин И.С. Взаимодействие макрофагов и стволовых кроветворных клеток мышей *in vitro* // Цитология. – 1989. – Т.31, №3. – С. 359-363.
13. Тронов В.А., Константинов Е.М. Репарация ДНК и гибель покоящихся лимфоцитов крови человека, индуцированные перекисью водорода //Биохимия. – 2000. – Т.65 – Вып. 11. – С.1516 – 1524.
14. Mayerhofer M, Valent P, Sperr W.R, Griffin J.D, Sillaber C. 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. // Blood. — 2002. — Vol.100(10). — P.3767-3775.
15. Parmar S, Smith J, Sassano A, Uddin S, Katsoulidis E, Majchrzak B, Kambhampati S, Eklund E.A, Tallman M.S., Fish E.N, Platanias L.C. Differential regulation of the p70 S6 kinase pathway by interferon alpha (IFNalpha) and imatinib mesylate (STI571) in chronic myelogenous leukemia cells.// Blood. — 2005. — Vol. 106(7). — P.2436-2443.
16. Vigneri P, Wang J.Y. Induction of apoptosis in chronic myelogenous leukemia cells through nuclear entrapment of BCR-ABL tyrosine kinase.// Nat. Med. — 2001. — Vol.7. — P.228-234.
17. Осипова Е. Ю., Астрелина Т. А., Румянцева С. А., Владимирская Е. Б., Сторожаков Г. И. Прогностическое значение уровня спонтанного апоптоза лимфобластов в оценке ответа на индукционную терапию острого лимфобластного лейкоза у детей// Гематол. и трансфузиол. – 2003. – Т.48, №1. – С.16-19.
18. Blagosklonny M. //Leukemia. – 2000. – Vol.14. – P.1502 – 1518.
19. Smith B.D., Bambach B. J., Vala M. S., Barder J.P., Eger C., Brodsky R. A., Burke P. J., Gore S. D., Jones R. J. Inhibited apoptosis and drug resistance in acute myeloid leukemia // Br. J. Haematol. — 1998. — Vol. 102. — №4. — P. 1042—1049.

20. Поспелова Т.И., Лосева М.И., Ковынев И.Б. и др. Основы опухолевой прогрессии гемобластозов // Бюл. СО РАМН. – 2004. – Т. 112, № 2. – С. 73—76.
21. Anthoney D.A., Mc Ilwrath A.J., Gallagher W.M., Edlin A.R. M., Brown R. Microsatellite Instability, Apoptosis and Loss of h53 Function in Drug-resistant Tumor Cells. // Cancer Res. —1996. — Vol.56. — N.6 — P.1374-1381.
22. Bible K.C. et al. // Clin. Cancer Research. —2000.—V.6. —P. 661—670.
23. Korystov Y.N. et al. // Eur. J. Pharmacol.—2004.—V. 493, N 13. —P. 57—64.
24. Reed J.C. Bcl-2 family proteins: regulators of apoptosis and chemoresistance in hematologic malignancies // Seminars in Hematology.—1997.—V. 34.—№ 4.—P.9—19.
25. Karen S. Ballard, Howard D., Homesley, Charles Hodson, Cary A. Presant, James Rutledge, Allan Hallquist, Mathieu Perree. Endometrial carcinoma *in vitro* chemosensitivity testing of single and combination chemotherapy regimens using the novel microculture kinetic apoptosis assay: implications for endometrial cancer treatment.// J. Gynecol. Oncol. – 2010. - 21(1) 45-49.
26. Kravtsov VD, Priego V, Reilly GJ, Sethi H, Cooke J, Smith W, et al. Chemotherapy of myeloid leukemia directed by a microculture kinetic (MiCK) assay for apoptosis; The 42nd American Society of Hematology Meeting; 2000. Abstract 3129.
27. Barnes K, McIntosh E, Whetton A.D, Daley G.Q, Bentley J, Baldwin S.A. Chronic myeloid leukaemia: an investigation into the role of Bcr-Abl-induced abnormalities in glucose transport regulation.// Oncogene.—2005.—Vol.24,№20.—PP. 3257-3267.
28. Cullinane C, Dorow D.S, Kansara M, Conus N, Binns D, Hicks R.J, Ashman L.K, McArthur G.A, Thomas D.M. An *in vivo* tumor model exploiting metabolic response as a biomarker for targeted drug development.// Cancer Res.—2005.—Vol.65, №21.—PP. 9633-9636.
29. Geay J.F, Buet D, Zhang Y, Foudi A, Jarrier P, Berthebaud M, Turhan A.G, Vainchenker W, Louache F. p210BCR-ABL inhibits SDF-1 chemotactic response via alteration of CXCR4 signaling and down-regulation of CXCR4 expression.// Cancer Res.—2005.—Vol.65, №7.—P. 2676-2683.

30. Kantarjian H, Talpaz M, O'Brien S. Dose escalation of imatinib mesylate can overcome resistance to standard-dose therapy in patients with chronic myelogenous leukemia.- Blood.- 2003.-Vol. 101.PP.473-475.
31. Barnes D.J, Melo J.V. Primitive, quiescent and difficult to kill: the role of non- proliferating stem cells in chronic myeloid leukemia.// Cell Cycle.—2006.— Vol.5, №24.—P. 2862-2866.
32. Graham S.M, Jorgensen H.G, Allan E, Pearson C, Alcorn M.J, Richmond L, Holyoake T.L. Primitive, quiescent, Philadelphia-positive stem cells from patients with chronic myeloid leukemia are insensitive to STI571 in vitro.//Blood.—2002. —Vol.99, №1.—P. 319-325.
33. Copland M, Jorgensen H.G, Holyoake T.L. Evolving molecular therapy for chronic myeloid leukaemia—are we on target?//Hematology.—2005.—Vol.10, №5.—P. 349-359.
34. Deininger M.W., Druker B.J. Specific targeted therapy of chronic myelogenous leukemia with imatinib.//Pharmacol. Rev.—2003.—Vol.55, №3.—P. 401-423.