

Білько Д. І., Пахаренко М. В.

ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ ГЕМОПОЕТИЧНИХ КЛІТИН-ПОПЕРЕДНИКІВ КІСТКОВОГО МОЗКУ ХВОРИХ НА МІЄЛОДИСПЛАСТИЧНИЙ СИНДРОМ У КУЛЬТУРІ *IN VITRO* І В ГЕЛЕВИХ ДИФУЗІЙНИХ КАМЕРАХ *IN VIVO*

Мієлодиспластичний синдром (МДС) – це клональне захворювання зі змінами, які відбуваються завдяки мутаціям, що призводять до цитогенетичних порушень і охоплюють відділ гемопоетичної стовбурової клітини. Дослідники показали, що типи росту колоній у культурі лейкоцитних клітин із гострою та хронічною мієлоїдною лейкемією мають прогностичне значення для визначення ймовірності отримання ремісії чи прогресування захворювання. Проте єдиної думки щодо прогностичної цінності клональних культуральних методів досліджень у разі МДС немає.

Метою дослідження було з'ясування ролі гемопоетичних клітин-попередників, найближчих нащадків стовбурової клітини, у формуванні патологічного процесу у разі МДС і виявлення особливостей колонієутворення та морфологічного складу колоній з кісткового мозку пацієнтів у культурі *in vitro* та *in vivo* в дифузійних камерах, імплантованих у черевну порожнину лінійних тварин, для визначення їх можливого прогностичного значення. Зразки кісткового мозку пацієнтів з МДС із надлишком бластів-1 досліджували гематологічним, культуральним, цитологічними і статистичними методами. Виявлено особливості колонієутворення в культурі з напіврідким агаром кісткового мозку пацієнтів з МДС із надлишком бластів-1. Встановлено, що у хворих у разі виявлення захворювання відбувається пригнічення колонієутворювальної здатності в напіврідкому агарі клітин-попередників, зменшення кількості клітин у колоніях і поява примхливих форм клітинних агрегатів із змінами в диференціюванні в культурі. У роботі оцінено здатність кісткового мозку у разі МДС із надлишком бластів-1 до утворення колоній-клонів гемопоетичними клітинами-попередниками під час культивування в напіврідкому агарі як *in vitro*, так і *in vivo*. Визначено інформативні показники морфофункціональних характеристик стовбурових клітин та їхніх нащадків у культурі, як-от колонієутворювальна здатність і клітинний вміст колоній. Доведено, що результати культивування в дифузійних камерах *in vivo* зіставні з даними, отриманими *in vitro*, і можуть стати додатковою ознакою виявлення і прогресування МДС поряд із традиційними методами.

Ключові слова: мієлодиспластичний синдром, гемопоетичні клітини-попередники, колонієутворювальна активність, культура *in vitro* та *in vivo*.

Вступ

Моделі вивчення кровотворення в нормі і патології відрізняються джерелом отримання клітин (кров, кістковий мозок), обробкою біоматеріалу, запуском різних напрямів диференціювання клітин, обраними субпопуляціями і кількісними параметрами, які включено в модель. Це пояснює різні дані, які отримуються в лабораторіях світу. Особливо це стосується культивування клітин, для підтримки яких використовується безліч цитокінів і ростових факторів, сироваток і живильних середовищ різних виробників. Тому валідація поточних аналізів, узгодження

методів, уніфікація підходів є передумовою для широкого застосування їх у клінічній практиці. Пошук методів, які дають змогу поза організмом вивчати особливості проліферації і диференціювання гемопоетичних клітин у культурі, триває. Доцільним виявилось їх використання у разі онкогематологічних захворювань. Метод виявлення в культурі з напіврідким агаром колоній-клонів розробили Дональд Меткалф (*Donald Metcalf*) і Малкольм Мур (*Malcolm Moor*) у середині 1970-х років, він став першою *in vitro* системою для вивчення гемопоетичних клітин-попередників [1]. Цей тип культур базується на здатності попередників формувати колонії

клітин завдяки їх проліферації і диференціюванню в зрілі клітини. Розвиток колоній залежить від присутності ростових стимулювальних факторів, які у вигляді рекомбінантних факторів додаються в культуру. Тип, кількість і розмір колоній залежать від кількості експлантованих клітин, джерела отримання, природи і комбінації гемопоетичних цитокінів. Проте існує підхід культивування в дифузійних камерах, який усуває потребу застосування різних добавок під час культивування і забезпечує стабільні, близькі до природних, умови для зростання. Клітини-попередники в напіврідкому агарі формують колонії і кластери у внутрішній порожнині камер. Запропоновані системи мали суттєві недоліки, головним з яких є тверда, зроблена з оргскла, камера з міліпоровим фільтром, що сприяє утворенню сполучотканинних наростань, які обволікають її з усіх боків, затримуючи надходження живильних речовин у порожнину камер. Запропонований спосіб культивування у м'якому поліакриламідному гелі сприяв створенню умов, найбільш наближених до природних, що позначилося на ефективності колонієутворення гемопоетичних клітин і дало змогу використати його паралельно з культивуванням *in vitro* для норми і патології [2,3]. Дослідники показали, що типи росту колоній у культурі лейкемічних клітин із гострою і хронічною мієлоїдною лейкемією мають прогностичне значення для визначення імовірності отримання ремісії чи прогресування захворювання [4]. Проте єдиної думки щодо ролі гемопоетичних клітин-попередників, найближчих нащадків стовбурової клітини, і прогностичної цінності клональних культуральних методів досліджень у разі захворювання на МДС немає [5,6]. Гетерогенність форм МДС є причиною складнощів у виявленні прогностичних ознак [7]. Тому ми дослідили лише форму МДС, яку за класифікацією 2016 року називають МДС із надлишком бластів-1, як одну з найчисленніших форм МДС. Вона характеризується наявністю 5–9 % мієлобластів у кістковому мозку чи 2–4 % мієлобластів у периферичній крові. Сидеробластів може не бути, або вони виявляються в будь-якій кількості. На частку МДС із надлишком бластів припадає 40 % випадків МДС [7]. Причину виникнення МДС остаточно не з'ясовано, але можна з впевненістю сказати, що це клональне захворювання зі змінами, які сталися завдяки мутаціям, що призвели до цитогенетичних порушень і охоплюють відділ стовбурової клітини [8]. Усе більше даних дають змогу припускати вирішальну роль не лише гемопоетичних стовбурових клітин (ГСК), але й клітин-попередників кісткового мозку (КМ)

як у виникненні, так і в прогресуванні онкогематологічних захворювань [8,9]. Припускають, що сигнальні шляхи, які регулюють проліферацію, диференціювання та чутливість до апоптозу ГСК і клітин-попередників КМ у процесі еволюції захворювання, задіяні і в разі МДС [8].

Одним із важливих питань на сьогодні залишається вивчення ролі гемопоетичних клітин-попередників у формуванні патологічного процесу у разі МДС і його прогнозуванні. Тому метою дослідження стало з'ясування ролі гемопоетичних клітин-попередників, найближчих нащадків стовбурової клітини, у формуванні патологічного процесу у разі МДС і виявлення особливостей колонієутворення та морфологічного складу колоній з кісткового мозку пацієнтів у двох культуральних системах – *in vitro* та *in vivo* в дифузійних камерах, імплантованих у черевну порожнину лінійних тварин, для визначення їх можливого прогностичного значення.

Матеріали та методи досліджень

Обстежено 23 хворих на МДС із надлишком бластів-1, із них 14 чоловіків та 9 жінок віком 56–78 років (середній вік – 66 років). Як контроль використовували кістковий мозок, отриманий у результаті діагностичної стеральної пункції в 11 пацієнтів без онкогематологічної патології.

Діагноз встановлено відповідно до сучасної класифікації ВООЗ пухлин кровотворної і лімфоїдної тканин [10,11]. У дослідження було включено тільки пацієнтів із вперше виявленим МДС.

Зразки пацієнтів було отримано згідно з вимогами Комісії з етики. Усі пацієнти дали інформовану згоду на використання свого матеріалу в дослідницьких цілях відповідно до національних протоколів лікування та збору біологічного матеріалу під час лікування. Діагностичну стеральну пункцію пацієнтам проводили медичні працівники Інституту гематології та трансфузіології НАМН України. Діагноз було встановлено на підставі обов'язкових лабораторних досліджень за міжнародною класифікацією хвороб (з уточненням від 2016 року). Зразки кісткового мозку розводили 1:3 PBS (Sigma-Aldrich, США), нашаровували на градієнті щільності 3 мл Histopaque (Gibco, США) (1,077 г/мл) і центрифугували 30 хв за 740 g. Кільце ядровмісних клітин збирали автоматичною піпеткою і тричі промивали PBS (Sigma-Aldrich, США) протягом 10 хв за 430 g. Очищені клітини потім ресуспендували в 1 мл середовища і підраховували меланжерним методом з використанням камери Горяєва з 200-кратним збільшенням.

Наступним кроком було культивування гемопоетичних клітин-попередників у середовищі DMEM (Sigma, США) з додаванням 20 % FBS (Sigma-Aldrich, США), 1 % антибіотиків пеніциліну/стрептоміцину (Sigma-Aldrich, США) та 2 мМ L-глутаміну (Sigma-Aldrich, США) і 20 нг гранулоцитарно-макрофагального колонієстимулюючого фактора (PeproTech, США) [9]. Для отримання напіврідкого середовища використовували бактоагар (Difco, США) із вихідною концентрацією 3,3 %. Суспензію клітин кісткового мозку додавали так, щоб кінцева їх концентрація відповідала заданій (1×10^5 мононуклеарів). Клітини в напіврідкому агарі переносили в планшети, які ставили в термостат на 14 діб за умов абсолютної вологості, 37°C та 5 % CO_2 . Паралельно клітинний матеріал у такій самій концентрації занурювали в дифузійні камери з поліакриламідом і поміщали в червну порожнину мишей лінії СВА, за добу опромінених у сублетальній дозі (500 R). В експериментах використано 115 тварин. Результати культивування в обох системах отримували на 12-ту добу. Мишей забивали згідно з Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей і внутрішньодержавними правовими актами. Камери вилучали. Завдяки прозорості камер, під інвертованим мікроскопом, підраховували кількість колонієутворювальних одиниць (КУО-ГМ). Далі вміст камер переносили на предметне скельце.

Отримані клітинні агрегати аналізували під інвертованим мікроскопом (Olympus СК-2, Японія) з подальшим виділенням окремих колоній та їх забарвленням за Паппенгеймом (Sigma-Aldrich, США).

Після завершення експерименту частки агару з колоніями (кластерами) переносили на скло, розділяли тонкими голками. Колонії індивідуально виділяли з агару за допомогою мікропіпетки варіабельного об'єму та ресуспендували в середовищі DMEM (Sigma, США). Препарати як початкової (до культивування *in vitro*) суспензії мононуклеарів КМ, так і клітин, які становили клон (колонію, кластер), виготовляли за допомогою цитоцентрифуги (Shandon, США) (центрифугування протягом 1 хв за 360 g), підсушували на повітрі та забарвлювали за методом Паппенгейма [2].

Для опрацювання результатів використовували статистичну програму Microsoft Excel. Достовірність відмінностей середніх значень двох вибірок визначали за допомогою t-критерію Стьюдента; різницю між результатами вважали значущою на рівні значущості 95 % ($p < 0,05$).

Результати досліджень та їх обговорення

З метою встановлення особливостей функціональної активності гемопоетичних стовбурових клітин і клітин-попередників кісткового мозку пацієнтів з МДС із надлишками бластів-1 у порівнянні з нормою проводили підрахунок кількості клітинних агрегатів, утворених після 14 діб культивування в напіврідкому середовищі *in vitro*. Аналіз отриманих результатів показав,

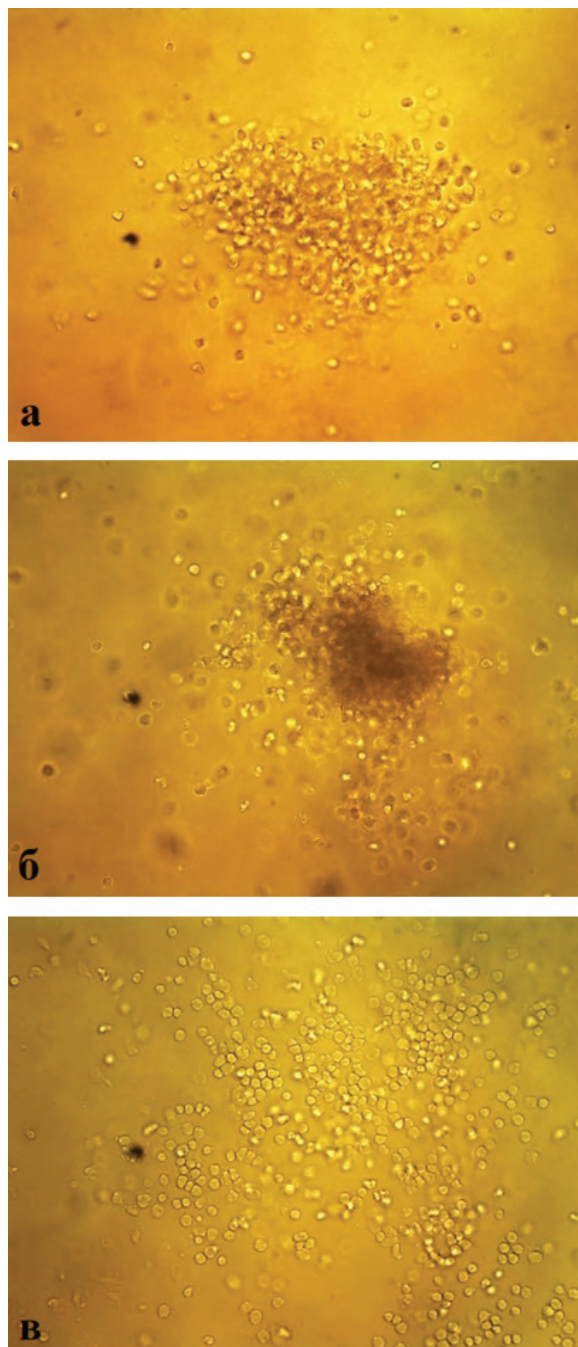


Рис. 1. Колонії гемопоетичних клітин-попередників у культурі кісткового мозку здорових донорів: а – колонія компактного типу; б – компактна з вінчиком; в – дифузна колонія.
36. x 200. Інвертований мікроскоп

що колонії, сформовані кістковомозковими клітинами осіб без онкогематологічної патології, містили від 50 до 200 клітин гранулоцитарного і моноцитарного ряду різного ступеня диференціювання. Розрізняли компактні колонії (рис. 1 а), компактні з вінчиком (рис. 1 б) і дифузні (рис. 1 в).

Аналіз результатів культивування зразків з МДС показав, що на момент діагностики кількість клітинних агрегатів становила $4,0 \pm 1,3$ на 1×10^5 експлантованих клітин, що у 9 разів менше колонієутворювальної активності клітин КМ пацієнтів без онкогематологічних захворювань.

Для підтвердження факту стабільності результатів культивування *in vitro* у разі МДС ми використали паралельно оригінальний метод культивування в напіврідкому агарі, який відрізнявся від *in vitro* тим, що клітини в напіврідкому агарі занурювались у гелеві дифузійні камери оригінальної конструкції, імплантовані в черевну порожнину лінійних мишей [2]. Камера з порожниною для клітин зроблена з поліакриламідного гелю м'якої консистенції, використання якого для культивування клітин довів співавтор роботи в попередніх дослідженнях [3]. Не визначено ознак невідповідності росту клітин-попередників у культурі *in vitro* та *in vivo* у нормі, незважаючи на відсутність *in vitro* тих необхідних для трансформованих клітин факторів, які в достатній кількості надходять у камеру з перитонеальної порожнини тварин-реципієнтів камер. Водночас виявлено, що оптимальним терміном для зняття результатів культивування *in vivo* став 12-й день культивування, тоді як *in vitro* він становив 14 днів. Поясненням відставання росту клітин *in vitro* може слугувати той факт, що *in vivo* клітини перебувають у фізіологічних умовах, створених у дифузійній камері завдяки її м'якій консистенції і тим живильним речовинам, які надходять у камеру в процесі культивування з черевної порожнини миші. Крім того, вартість постановки експерименту *in vivo*

суттєво відрізняється від затрат у разі культивування *in vitro*, тому що замість ростових факторів, фетальної сироватки, культуральних добавок і CO_2 інкубатора клітини вирощуються в камерах, занурених в організм мишей. Отже, клітини культивуються в умовах, найбільш наближених до природних. Стабільність результатів гарантується надходженням з черевної порожнини живильних речовин однакового складу. Порівняльний аналіз колонієутворення в обох системах – *in vitro* та *in vivo* – у разі МДС показав, що ядровмісні клітини кісткового мозку в культурі з напіврідким агаром формують колонії-клони, ефективність колонієутворення яких зівставна. Під час виявлення МДС колонієутворювальна активність у культурі *in vitro* дорівнювала $4,0 \pm 1,3$, а *in vivo* – $4,6 \pm 1,5$ з розрахунку 1×10^5 експлантованих клітин. Різниця статистично не достовірна ($p \geq 0,05$), тоді як у контролі цей показник сягав *in vitro* $36,5 \pm 5,8$ та *in vivo* – $37,6 \pm 4,8$.

За формою у разі МДС, як і в нормі, розрізняли три типи колоній: компактні, змішані та дифузні [9]. Проте в разі культивування кістковомозкових клітин у нормі переважали компактні колонії округлої форми, які становили 60 % від решти типів колоній. Примітивні клітини, які проліферують, формували центр колоній (бласти, промієлоцити), їх оточували проліферуючі клітини-мієлоцити і метамієлоцити, тоді як дозріваючі клітини (паличкоядерні і сегментоядерні лейкоцити) перебували на периферії колоній (рис. 2).

У разі МДС поряд із пригніченням колонієутворювальної активності визначали зменшення кількості клітин у клонах. Цей показник не перевищував 50 клітин, що свідчило про обмежену здатність клітин-попередників до проліферації. Спостерігався порушений порядок перебування клітин у клонах, коли більш примітивні і дозріваючі клітини розташовувались хаотично. Колонії мали примхливу форму. Серед них переважали дифузні колонії і дифузні з вінчиком (рис. 3).

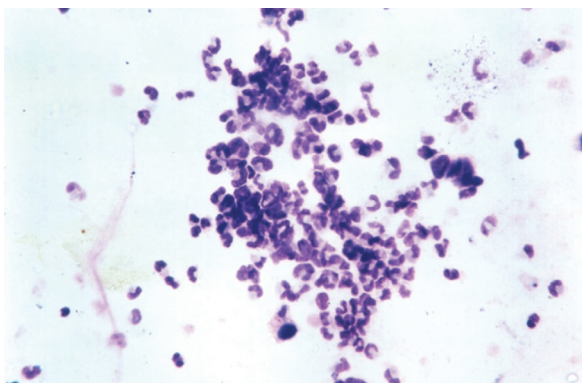


Рис. 2. Гранулоцитарно-моноцитарна колонія в нормі. Забарвлення за Паппенгеймом. 36×630

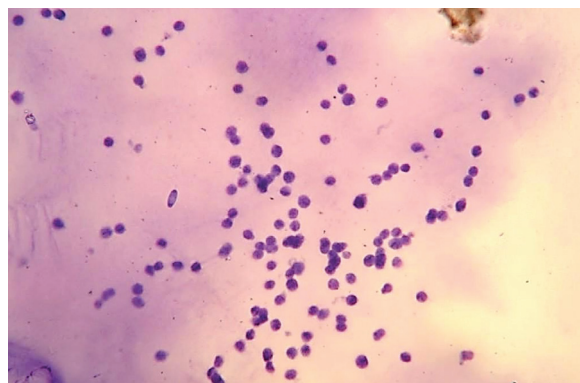


Рис. 3. Дифузна колонія у разі МДС. Забарвлення за Паппенгеймом. 36×250

Аналіз цитологічного складу колоній свідчив про зміни в процесі диференціювання в порівнянні з нормою. Кількість бластних клітин у препаратах з колоній дорівнювала *in vitro* $8,5 \pm 0,7$ % та *in vivo* – $9,0 \pm 0,9$ %, тоді як у контролі цей показник дорівнював $1,0 \pm 0,1$ і $0,8 \pm 0,2$, відповідно. Кількість макрофагів у порівнянні з контролем була збільшена і дорівнювала *in vitro* $27,2 \pm 3,7$ % та *in vivo* $25,1 \pm 4,3$ %, тоді як у нормі цей показник становив $10,0 \pm 1,5$ % і $8,0 \pm 2,5$ %, відповідно. Визначено суттєву різницю в наявності макрофагальних елементів в обох культурах у порівнянні з контролем ($p < 0,05$).

Висновки

Отримані нами дані дають змогу зробити висновки щодо ролі гемопоетичних клітин-попередників у формуванні патологічного процесу у разі МДС, про що свідчить здатність гемопоетичних стовбурових клітин і клітин-попередників кісткового мозку до утворення дефектних клонів

у культурі як *in vitro*, так і *in vivo* в порівнянні з нормою. У гелевих дифузійних камерах, занурених у черевну порожнину мишей-реципієнтів, як і *in vitro*, формуються колонії з обмеженою кількістю клітин, з порушеною проліферативною активністю і викривленим диференціюванням. Виявлені зміни функціональної активності клітин-попередників свідчать про глибину патологічного процесу, який захоплює рівень гемопоетичних клітин-попередників, найближчих нащадків стовбурових клітин, що може слугувати поряд із традиційними методами додатковою ознакою для виявлення МДС із надлишком бластів-1 і його прогресування у МДС із надлишком бластів-2, який передує ГМЛ. Дослідження, проведені паралельно у двох культуральних системах – *in vitro* та *in vivo*, свідчать про адекватність способу культивування в гелевих дифузійних камерах і доцільність його використання для оцінювання морфофункціональних характеристик гемопоетичних клітин у разі патології кровотворення і для подальшого вивчення механізмів лейкозогенезу.

Список літератури

1. Flores-Figueroa E, Gutierrez-Espindola G, Guerrero-Rivera S, et al. Hematopoietic progenitor cells from patients with myelodysplastic syndromes: *in vitro* colony growth and long-term proliferation. *Leukemia Research*. 1999 Apr;23:385–94. DOI: 10.1016/s0145-2126(98)00176-3
2. Білько ДІ. Методи культури клітин і тканин у біології, біотехнології та медицині: навч.-метод. посіб. Київ: НаУКМА; 2017. 87 с.
3. Білько ДІ, Чайковський ЮБ. Роль жорсткості підложки для підтримки плюрипотентності ембріональних стовбурових клітин у культурі *in vitro*. *Фізіол. журн.* 2021;67(3): 27–34. DOI: 10.15407/fz67.03.027
4. Dyachenko MV, Zhaleyko IV, Diagil IS, Perekhrenenko TP, Bilko NM. Characteristics of bone marrow progenitor cells as one of the criteria for assessing the individual response of patients with chronic myeloid leukemia to tyrosine kinase inhibitor therapy. *Oncology*. 2013;15(3):224–9.
5. Teodorescu P, Pasca S, Dima D, Tomuleasa C, Ghiaur G. Targeting the microenvironment in MDS: The Final Frontier. *Front. Pharmacol.* 2020;11:1044. DOI: 10.3389/fphar.2020.01044
6. Stanchina M, Chaudhry S, Karr M, Taylor J. Current state and challenges in development of targeted therapies in myelodysplastic syndromes (MDS). *Hemato*. 2021;2:217–36. DOI: 10.3390/hemato2020013
7. Tefferi A, Vardiman JW. Myelodysplastic Syndromes. *The New England Journal of Medicine*. 2009;361:1872–85. DOI: 10.1056/NEJMra0902908
8. Nolte F, Hofmann WK. Molecular mechanisms involved in the progression of myelodysplastic syndrome. *Future Oncol.* 2010;6:445–55. DOI: 10.2217/fon.09.175
9. Пахаренко МВ, Білько ДІ, Третяк НМ, Стародуб ГС, Лагоднюк ІЮ, Білько НМ. Функціональна активність кровотворних клітин-попередників при мієлодиспластичному синдромі в умовах *in vitro*. *Наукові записки НаУКМА. Біологія і екологія*. 2020;3:48–52. DOI: 10.18523/2617-4529.2020.3.48-52
10. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphatic tissues. Lyon, France: IARC Press; 2008. ISBN-13 (Print Book).
11. Глузман ДФ, Склярєнко ЛМ, Коваль СВ, Ивановская ТС, Завелевич МП, Фильченков АА, Полищук АС, Родионова НК. Современная классификация и диагностика миєлодиспластических синдромов: науч.-метод. посіб. Київ: Інтерсервіс; 2018. 152 с.

References

1. Flores-Figueroa E, Gutierrez-Espindola G, Guerrero-Rivera S, et al. Hematopoietic progenitor cells from patients with myelodysplastic syndromes: *in vitro* colony growth and long-term proliferation. *Leukemia Research*. 1999 Apr;23:385–94. DOI: 10.1016/s0145-2126(98)00176-3
2. Bilko D. Methods of cell culture in biology, biotechnology and medicine. Kyiv: NaUKMA; 2017. 87 p. Ukrainian.
3. Bilko D, Chaikovskiy Y. The role of substrate stiffness in maintaining pluripotency of embryonic stem cells *in vitro* culture. *Fiziol.Zhurn.* 2021;67(3):27–34. DOI: 10.15407/fz67.03.027. Ukrainian.
4. Dyachenko MV, Zhaleyko IV, Diagil IS, Perekhrenenko TP, Bilko NM. Characteristics of bone marrow progenitor cells as one of the criteria for assessing the individual response of patients with chronic myeloid leukemia to tyrosine kinase inhibitor therapy. *Oncology*. 2013;15(3):224–9.
5. Teodorescu P, Pasca S, Dima D, Tomuleasa C, Ghiaur G. Targeting the microenvironment in MDS: The Final Frontier. *Front. Pharmacol.* 2020;11:1044. DOI: 10.3389/fphar.2020.01044
6. Stanchina M, Chaudhry S, Karr M, Taylor J. Current state and challenges in development of targeted therapies in myelodysplastic syndromes (MDS). *Hemato*. 2021;2:217–36. DOI: 10.3390/hemato2020013
7. Tefferi A, Vardiman JW. Myelodysplastic Syndromes. *The New England Journal of Medicine*. 2009;361:1872–85. DOI: 10.1056/NEJMra0902908
8. Nolte F, Hofmann WK. Molecular mechanisms involved in the progression of myelodysplastic syndrome. *Future Oncol.* 2010;6:445–55. DOI: 10.2217/fon.09.175

9. Pakharenko M, Bilko D, Tretiak N, et al. Functional activity of hematopoietic progenitor cells in myelodysplastic syndrome *in vitro*. NaUKMA Research Papers. Biology and Ecology. 2020;3:48–52. DOI: 10.18523/2617-4529.2020.3.48-52. Ukrainian.
10. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphatic tissues. Lyon, France: IARC Press; 2008. ISBN-13 (Print Book).
11. Gluzman DF, Sklyarenko LM, Koval SV, Ivanovskaya TS, Zavelevich MP, Philchenkov AA, Polischuk AS, Rodionova NK. Modern classification and diagnosis of myelodysplastic syndromes. Kyiv: Interservis; 2018. 152 p. Russian.

D. Bilko, M. Pakharenko

PECULIARITIES OF FUNCTIONING OF HEMATOPOIETIC PROGENITOR CELLS OF BONE MARROW OF PATIENTS WITH MYELODYSPLASTIC SYNDROME IN CULTURE *IN VITRO* AND IN GEL DIFFUSION CHAMBERS *IN VIVO*

Myelodysplastic syndrome is a clonal disease with changes that occur due to mutations that lead to cytogenetic disorders and involve the hematopoietic stem cell. Researchers have shown that colony growth types in leukemic cell culture with acute and chronic myeloid leukaemia are of a prognostic value to determine the likelihood of remission or disease progression. However, there is no single point of view on the prognostic value of clonal culture research methods in MDS. The aim of the study was to determine the role of hematopoietic progenitor cells, the closest descendants of stem cells, in the formation of the pathological process in MDS, and identify the features of colony formation and morphological composition of bone marrow colonies in patients *in vitro* and *in vivo* in diffusion chambers implanted in the abdominal cavity of linear animals to determine their possible prognostic value. Bone marrow samples from patients with MDS with an excess of blasts-1 were examined by haematological, cultural, cytological and statistical methods. The features of colony formation in culture with semi-liquid agar of bone marrow of patients with MDS with an excess of blasts-1 were revealed. It has been established that in patients with the disease detection, the colony-forming ability in the semi-liquid agar of progenitor cells is reduced, the number of cells in the colonies decreases, and the appearance of capricious forms of cell aggregates with changes in culture differentiation were detected. The ability of bone marrow in MDS with an excess of blasts-1 to form colony clones by hematopoietic progenitor cells when cultured in semi-liquid agar both *in vitro* and *in vivo* was evaluated. Informative indicators of morphofunctional characteristics of stem cells and their descendants in culture, such as colony-forming ability and cell content of colonies, were determined. It is proved that the results of cultivation in diffusion chambers *in vivo* are comparable with the data obtained *in vitro*, and can become, along with traditional methods, an additional sign of detection and progression of MDS.

Keywords: myelodysplastic syndrome, hematopoietic progenitor cells, colony-forming activity, *in vitro* and *in vivo* culture.

Матеріал надійшов 14.07.2022



Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)