

ОСОБЕННОСТИ НИШЕОБРАЗУЮЩИХ СТРУКТУР И СТРОМЫ КОСТНОГО МОЗГА БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЦИТАРНЫМ ЛЕЙКОЗОМ

Ругаль В.И., Бессмельцев С.С., Семенова Н.Ю.,
ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России»,
Санкт-Петербург, 193024, ул. 2-я Советская, д. 16,
Тел. (812) 274-66-40, email: bloodscience@mail.ru

Резюме. Изучена паренхиматозная и стромальная ткань костного мозга в трепанобиоптатах подвздошной кости 79 больных с впервые выявленным хроническим лимфоцитарным лейкозом. Выявлено 3 типа опухолевой инфильтрации: нодулярный, интерстициальный, диффузный. Установлены изменения стромального микроокружения при всех типах поражения костного мозга. Увеличение плотности микрососудов, увеличение количества и изменение состояния эндостальных стромальных клеток свидетельствуют о поражении ниши гемопоэтических стволовых клеток. Дефект ниши может быть патогенетическим фактором неопластической трансформации предшественников В-лимфопоэза, а функция ниши может быть направлена на поддержание лейкозного клона.

Ключевые слова: хронический лимфоцитарный лейкоз, костный мозг, ниша гемопоэтических стволовых клеток.

NICHE FORMED STRUCTURES AND BONE MARROW STROMA CHARACTERISTICS OF PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

Rugal V., Bessmeltsev S., Semenova N.,
Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology,
16, 2nd Sovetskaya Str., Saint-Petersburg, 191024, Russia
Tel. (812) 274-66-40, email: bloodscience@mail.ru

Summary. Studied parenchymal and stromal tissue of the bone marrow in the trephine biopsies 79 patients with chronic lymphocytic leukemia. Identified 3 types of tumor infiltration: nodular, interstitial, diffuse. Showed changes of stromal microenvironment in all types of bone marrow. Increase in the density of microvessels, as well as state change and increase in number of endostal stromal cells showed lesions of hematopoietic stem cells niche. The defect of niche

may be a pathogenetic factor in neoplastic transformation of precursor B-lymphopoiesis and function of niche may be directed to the maintenance of leukemic clone.

Keywords: chronic lymphocytic leukemia, bone marrow, stem cell niche.

Состоянию костномозговой стромы, оценке ее роли в нормальном гемолимфопоэзе и значению ее дефектов в развитии гемобластозов, включая лимфопролиферативные заболевания, в последние годы уделяется большое внимание [1-3]. При этом, особенности структурной организации элементов стромального микроокружения, участвующие в формировании ниши клеток предшественниц гемолимфопоэза в целом и при хроническом лимфоцитарном лейкозе (ХЛЛ) в частности, практически не изучены. Согласно гипотезе "ниш" кроветворное микроокружение содержит специализированные стромальные клеточные структуры - "ниши", которые определяют расположение стволовых клеток и создают условия для их длительного самоподдержания, а также регулируют их дифференцировочный и пролиферативный потенциал [4-7]. Ниша является не просто локальным местопребыванием стволовых клеток, а имеет структурно-анатомические и функциональные характеристики. Вне ниши стволовые кроветворные клетки не способны выполнять свои функции. Было показано, что клеточные и внеклеточные образования губчатой кости эндостальных зон и система микрососудов являются структурами, формирующими нишу клеток-предшественниц гемолимфопоэза [8-10]. Также хорошо известно, что именно в костном мозге гемопоэтические стволовые клетки получают первоначальные сигналы гемопоэзиндуцирующего микроокружения, направляющие развитие гемопоэтических предшественников в лимфоидном направлении. Коммитированные лимфоидные предшественники мигрируют из костного мозга в лимфоидные органы, где происходит их дальнейшее развитие [5, 11, 12].

В связи с этим анализ структурных особенностей кроветворной ткани и состояния стромального микроокружения больных ХЛЛ является актуальным, так как на основании сведений о морфофункциональном статусе паренхимы и стромы костного мозга представляется возможным получить факты, уточняющие патогенез появления и становления неопластического клона В-лимфоцитов при ХЛЛ [2]. Кроме того, сведения о взаимоотношениях кроветворной и стромальной ткани костного мозга больных ХЛЛ могут быть использованы в целях оценки прогноза заболевания и совершенствования методов лечения.

Цель работы - изучение особенностей опухолевой инфильтрации паренхимы костного мозга больных ХЛЛ с одновременной характеристикой перестроек стромальных

структур кроветворного микроокружения, участвующих в формировании ниши гемопоэтических стволовых клеток.

Материал и методы исследования

Материалом исследования послужили цельные фрагменты подвздошной кости 79 больных с впервые выявленным ХЛЛ в возрасте 49-73 лет, полученные при трепанобиопсии до начала лечения. Контрольную группу составили фрагменты подвздошной кости 30 здоровых лиц в возрасте 50-75 лет. Трепанаты не менее 2 см фиксировались и декальцинировались с использованием набора Mielodec, после чего обезжизнялись и пропитывались парафином по общепринятой стандартной методике. Приготавливались гистологические препараты толщиной 3-5 мкм, которые окрашивались гематоксилин-эозином. Ретикулиновые волокна выявлялись на основе импрегнации серебром. Степень опухолевой инфильтрации оценивалась на основании иммуногистохимических исследований с использованием панели RTU антител фирмы DAKO: CD 20, CD 79 α , CD5, CD 10, CD 23, Cyclin D1. При оценке состояния ниши применялись RTU антитела также фирмы DAKO: CD34 Class II, Anti-collagen IV, Anti-laminin. Морфометрические исследования структур стромального микроокружения проводились с использованием пакета программ VideoTest® (Видеотест, Санкт-Петербург).

Результаты

Анализ гистологических препаратов подвздошной кости больных ХЛЛ по сравнению с контрольной группой (рис. 1.1) свидетельствовал об изменении клеточного состава интрамедуллярной кроветворной паренхимы и указывал на структурные перестройки стромального микроокружения, включая образования, формирующие нишу для стволовых кроветворных клеток – сосуды микроциркуляции и тканевые элементы, располагающиеся вблизи и на поверхности костных трабекул.

При изучении паренхимы костного мозга была отмечена неоднородность специфической опухолевой инфильтрации интрамедуллярных пространств. На основании гистологических исследований губчатой кости больных ХЛЛ в паренхиме костного мозга было выделено три типа лимфоидной инфильтрации: нодулярный, интерстициальный, диффузный.

Нодулярный тип опухолевой инфильтрации характеризовался появлением в кроветворной паренхиме одного или нескольких нечетко отграниченных от миелоидной ткани скоплений лимфоидных клеток (рис. 1.2). Как правило, нодулярный инфильтрат располагался в субэндостальных зонах костномозговых лакун. Нечеткие границы

нодулярных инфильтратов были обусловлены тем обстоятельством, что происходило распространение лимфоидных клеток в прилежащую миелоидную ткань. Светлые центры размножения при указанной инфильтрации не обнаруживались. Незначительно увеличивалось количество микрососудов в нодулярных лимфоидных скоплениях. При импрегнации препаратов серебром отмечалось появление отдельных грубых нитей отложений ретикулина. Размер очагов поражения варьировал. В части случаев наблюдалось слияние очаговых инфильтратов. При увеличении размеров опухолевых нодулей могли выявляться зоны соприкосновения с поверхностью костных трабекул. Клеточный состав нодулярных инфильтратов был мономорфен и представлен малыми лимфоцитами, имеющими округлые ядра с глыбчатым, комковатым хроматином, практически не контурированными ядрышками. Клетки имели малозаметную узкую цитоплазму. В небольшом количестве также были представлены лимфоциты средних размеров с дисперсным хроматином, наличием мелких ядрышек.

Интерстициальный тип поражения костного мозга (рис. 1.3) устанавливался в наблюдениях, когда клетки лимфоидных инфильтратов располагались в миелоидной ткани между сохранившимся объемом адипоцитов. При этом клеточный состав миелокариоцитов изменялся в зависимости от степени их замещения опухолевыми лимфоцитами. Характер клеточного состава лейкозных инфильтратов был подобен типу клеток образующих нодулярные скопления. Выявлялись преимущественно лимфоциты мелких размеров, среди которых присутствовали в небольшом количестве клетки средних размеров.

При диффузной опухолевой инфильтрации костного мозга (рис. 1.4) лимфоидные клетки занимали все пространство костномозговых полостей. Происходило практически полное замещение опухолью жировой ткани в лакунах губчатой кости. Обнаруживалось небольшое количество клеток деятельного костного мозга диффузно располагающихся между лимфоцитами мелких и средних размеров.

Иммунофенотип опухолевых клеток был установлен при иммуногистохимическом исследовании. Лимфоидные инфильтраты содержали клеточную лимфоидную популяцию экспрессирующую пан-В-клеточные маркеры CD20 и CD79 α , а также CD5 и CD23. Отсутствовала экспрессия Cyclin D1, CD10.

Морфологические признаки реакции стромы костного мозга имелись при всех трех видах опухолевой инфильтрации костномозговой паренхимы. Однако были выражены неравнозначно в целом и относительно нишеобразующих элементов стромального микроокружения. Количественная характеристика стромальных структур

микроокружения, включая микрососуды и клеточные элементы эндоста, проводилась с использованием пакета программ VideoTest®. Данные представлены в табл. 1.

Объем структур костного мозга коррелировал с типом лимфоидной пролиферации. Во всех трепанобиоптатах больных ХЛЛ выявлена гиперплазия гемопоэтической ткани. Увеличение объема гемопоэтической ткани и соответственно лимфоидных пролифератов идет за счет уменьшения объема жировой ткани и в меньшей степени костной, и более выражено при диффузном типе. При выявлении в костномозговых пространствах губчатого вещества подвздошной кости нодулярных лимфоидных инфильтратов структурных перестроек элементов стромального микроокружения в кроветворной паренхиме вне зон инфильтрации обнаружено не было. Морфология микроциркуляторного русла, а также клеточных элементов эндоста и костных балок на светооптическом уровне в гистологических препаратах, окрашенных рутинными методами, не изменялась. При иммуногистохимическом окрашивании с антителами CD 34 class II наблюдалось незначительное увеличение числа сосудов в пределах опухолевых инфильтратов (рис. 2.3). Что касается зон поражения, можно было отметить наличие стромальной реакции на патологический процесс в форме увеличения количества ретикулиновых нитей в месте расположения нодулярных инфильтратов (рис. 3.2). При этом в некоторых случаях отмечался очаговый ретикулиновый склероз.

Таблица 1

Морфометрические показатели структур костного мозга подвздошной кости в зависимости от типа лимфоидной пролиферации ($M \pm m$)

Структура костного мозга	Контроль	Нодулярная инфильтрация	Интерстициальная инфильтрация	Диффузная инфильтрация
Гемопоэтическая ткань (в том числе лимфоидные пролифераты) (площадь, %)	51,2 $\pm$ 3,3	52,3 $\pm$ 5,1 (15,7 $\pm$ 7,5)	57,6 $\pm$ 4,3 (28,0 $\pm$ 6,2)	70,72 $\pm$ 3,91 (51,15 $\pm$ 6,92)
Жировая ткань (площадь, %)	28,1 $\pm$ 1,0	27,5 $\pm$ 0,7	23,8 $\pm$ 3,8	13,0 $\pm$ 4,22

Костная ткань (площадь, %)	21,0±2,4	19,6±4,4	18,3±1,0	17,08±1,26
Сосуды МЦР (площадь, %)	9,1±1,2	12,3±2,5	13,1±3,1	17,9±4,7
Эндостальные клетки (кол-во на ед. пл.)	1,4±0,2	1,3±0,5	1,8±0,4	2,3±0,7

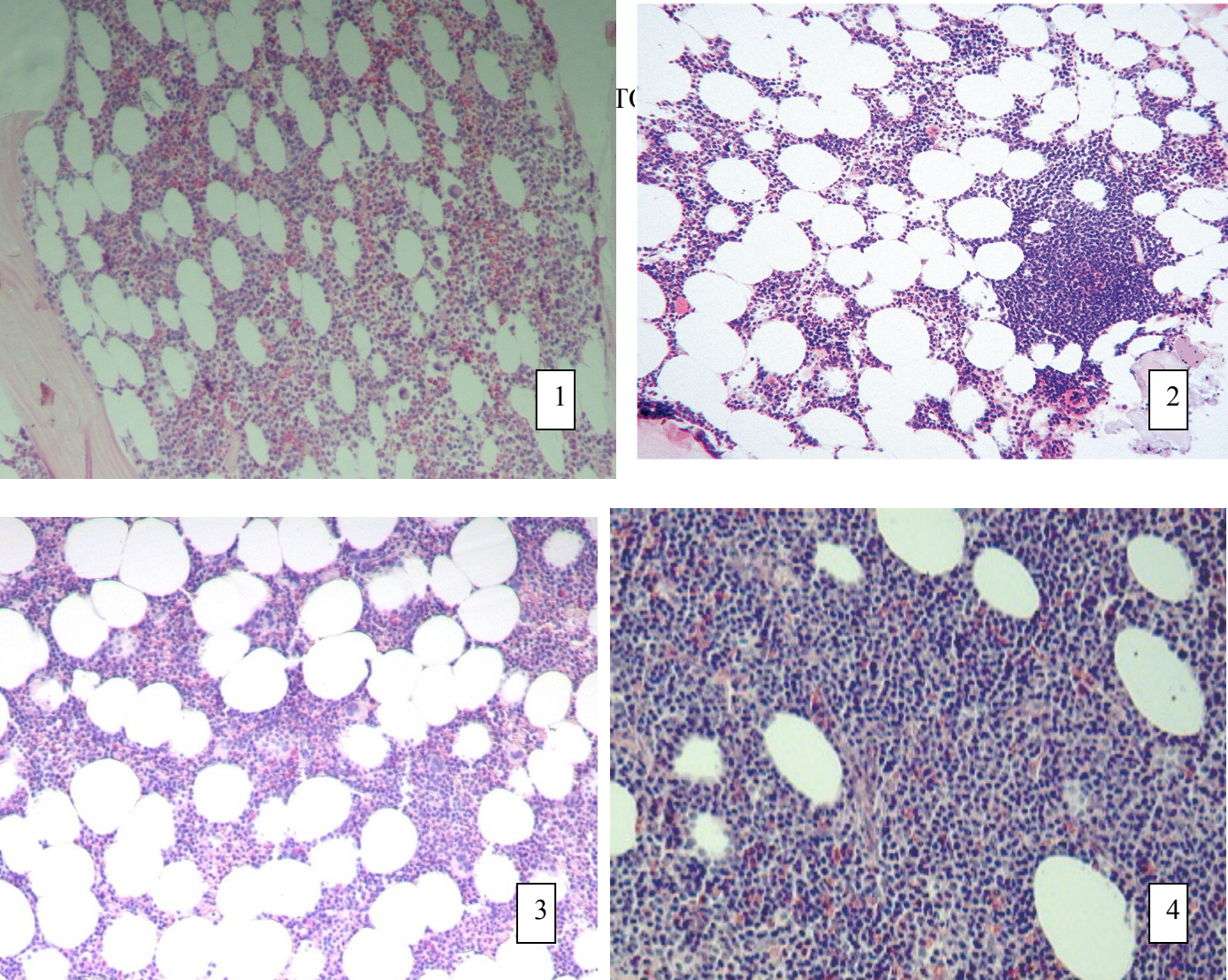


Рис. 1. Костный мозг, окраска гематоксилин-эозин. 1 – контроль, ув. 100х; 2 – нодулярная инфильтрация, ув. 100х; 3 – интерстициальная инфильтрация ув. 100х; 4 – диффузная инфильтрация, ув. 200х.

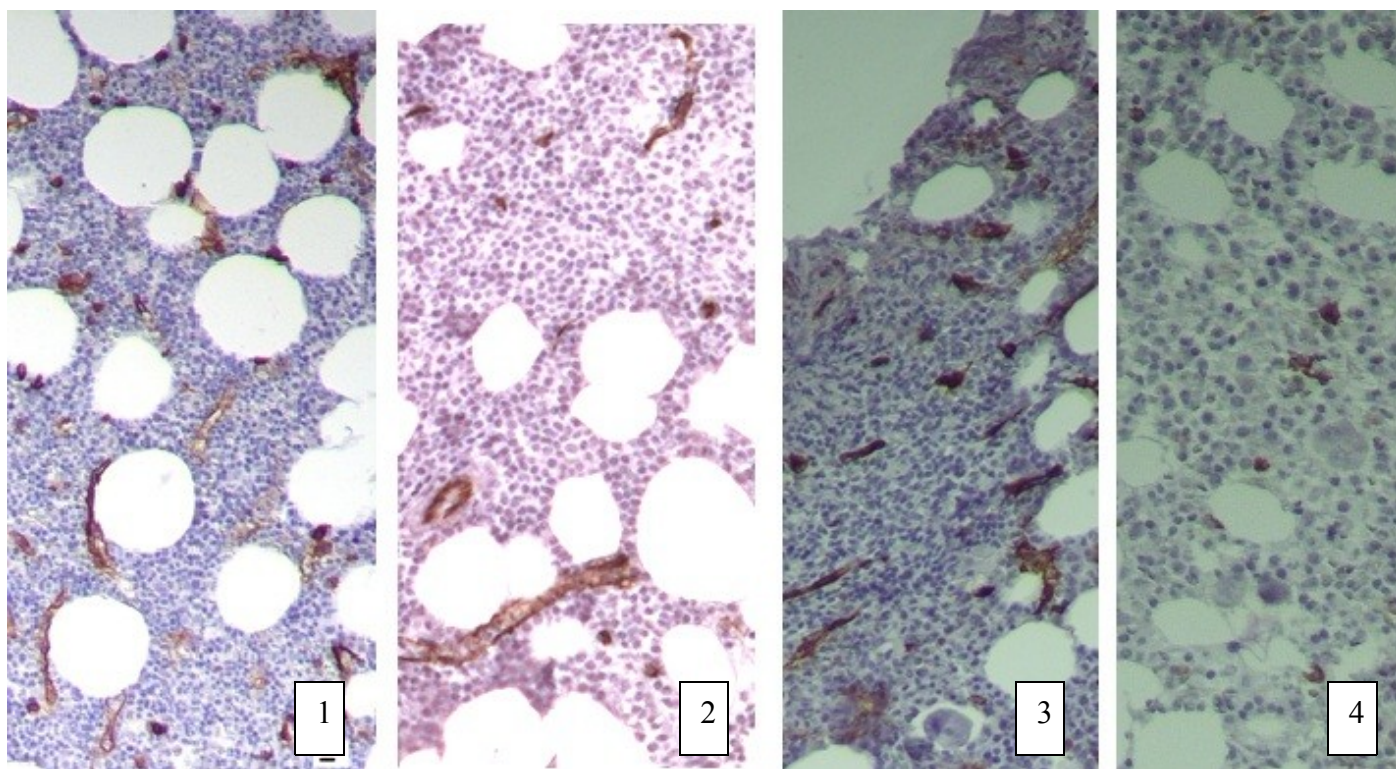


Рис. 2. Иммуногистохимическое окрашивание с антителами CD 34 class II на сосуды.

1 – диффузная инфильтрация, ув. 100х; 2 – интерстициальная инфильтрация, ув. 100х; 3 – нодулярная инфильтрация ув. 100х; 4 – контроль, ув. 100х.

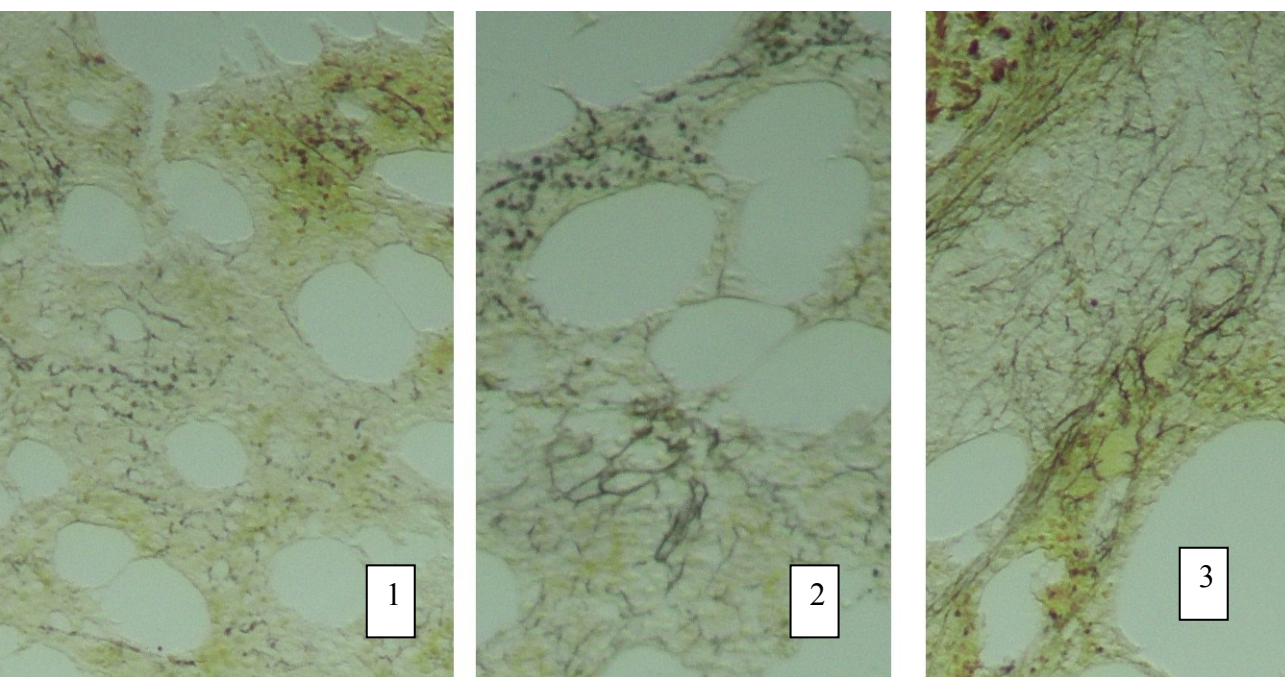


Рис. 3.

Ретикулиновый каркас костного мозга, импрегнация серебром. 1 – контроль, ув. 200х; 2 – нодулярная инфильтрация, ув. 200х; 3 – интерстициальная инфильтрация, ув. 200х.

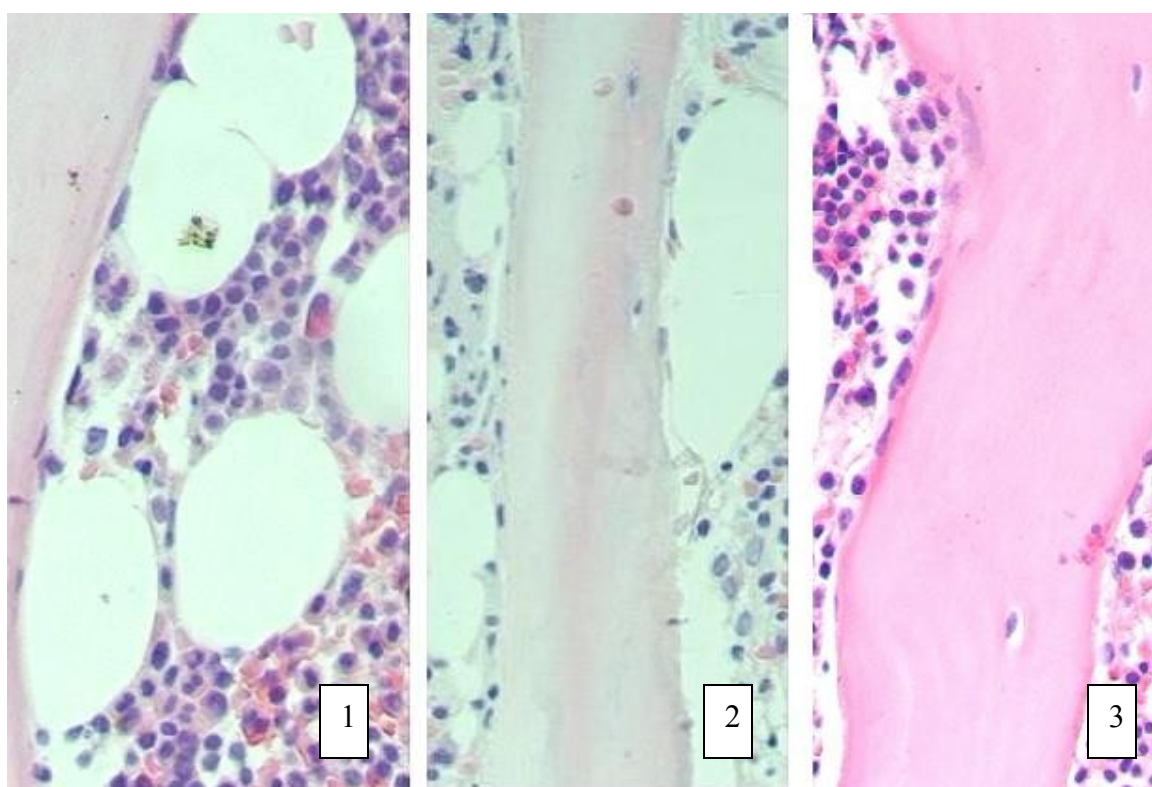


Рис. 4. Эндостальные клетки. 1 – контроль, ув. 200х; 2- интерстициальная инфильтрация, ув. 200х; 3 – диффузная инфильтрация, ув. 200х;

Гистологические исследования стромальных структур микроокружения костного мозга при интерстициальном варианте опухолевой инфильтрации не выявили

статистически значимых количественных перестроек нишеобразующих структур. Однако были заметны морфологические изменения организации элементов микроокружения. Стромальная реакция заключалась в изменении ретикулинового каркаса паренхимы кроветворной ткани. У больных ХЛЛ при интерстициальной пролиферации лимфоцитов в лакунах отчетливо определялось увеличение количества отдельно располагающихся фрагментов ретикулина (рис. 3.3). Нити располагались изолированно и не образовали пересечений или сетчатого рисунка. Отмеченный факт может свидетельствовать об изменении функциональной активности ретикулярных клеток. Как было отмечено выше, количественные изменения клеток эндоста при данном поражении костного мозга, не выявлено. Увеличена плотность сосудов по сравнению с нормальным костным мозгом - $13,1 \pm 3,1$ % сосудов по сравнению с $9,1 \pm 1,2$ % в контрольной группе (рис. 2.2). Однако здесь следует заметить, что в большинстве сосудов костного мозга наблюдалось появление эндотелиоцитов с крупными, активными ядрами. Примерно такие же изменения наблюдались в ядрах стромальных клеток, располагающихся на поверхности костных балок.

Отчетливо проявлялись изменения стромального микроокружения костного мозга, включая структуры, образующие васкулярную и эндостальную ниши стволовых клеток при морфометрическом исследовании трепанобиоптатов с диффузным поражением костного мозга при ХЛЛ. Нарастало количество микрососудов во всех отделах костно-мозговых пространств и, что особенно важно, в субэндостальных пространствах – площадь сосудов составила $17,9 \pm 4,7$ %, что почти в два раза больше по сравнению с контрольной группой (рис. 2.1). При этом при окраске с антителами Anti-collagen IV, Anti-laminin в большинстве сосудов выявлялась прерывистая базальная мембрана. Морфология эндотелиоцитов характеризовались наличием клеток с крупными ядрами. Морфометрически показано увеличение количества клеток на эндосте - $2,3 \pm 0,7$ на единицу площади по сравнению с $1,4 \pm 0,2$ в контрольной группе. Одновременно с увеличением числа эндостальных клеток стромы, изменялась структурная организация ядер. В выстилающих поверхность костных балок клетках доля клеточных элементов с вытянутыми уплощенными формами ядер уменьшалась (рис. 4).

Наблюдалось нарастание в эндостальных и субэндостальных зонах стромальных клеток с крупными просветленными ядрами. Наряду с изменением количества и структуры нишеобразующих элементов, происходили качественные перестройки стромального микроокружения в целом. Диффузная инфильтрация костного мозга сопровождалась редукцией адипоцитов. Остающиеся жировые клетки характеризовались

снижением объема жировой вакуоли. В костно-мозговых пространствах происходило усиление ретикулинового рисунка вплоть до появления грубых ретикулиновых волокон, образующих пересечения с формированием ретикулинового склероза.

Таким образом, по типу лимфоидной пролиферации в костном мозге можно сделать вывод о доброкачественном течении ХЛЛ при нодулярном и интерстициальном типах инфильтрации, и прогрессирующем при диффузном типе поражения костного мозга. Можно предположить, что характер лимфоидной пролиферации в костном мозге – единый опухолевый процесс с переходом нодулярного типа в интерстициальный и, наконец, в диффузный.

Обсуждение

Представленные выше данные морфологических исследований свидетельствуют о нарушении паренхиматозно-стромальных взаимоотношений в кроветворной ткани губчатого вещества подвздошной кости больных ХЛЛ. Взаимоотношения строма – паренхима в системе гемолимфопоэза является базисным для развития и созревания миелоидных и лимфоидных клеток в норме и, как сейчас доказано, стромальные дефекты могут играть ключевую роль в развитии гемобластозов, включая заболевания, обусловленные малигнизацией гемолимфопоэза [1, 6, 7].

Важная роль в получении фактов, способствующих раскрытию патогенеза ХЛЛ, принадлежит изучению стромального микроокружения костного мозга. Согласно одной из гипотез развития ХЛЛ в основе заболевания лежит неопластическая трансформация В-лимфопоэза, а ключевая роль в развитии В-лимфоцитов принадлежит интрамедуллярным стромальным клеткам, которые коммитируют направление их развития, регулируют пролиферацию и дифференцировку [13]. Естественно полагать, что нарушение структуры и функции костномозговых стромальных регуляторов В-лимфопоэза могут вести к нарушению развития лимфоидных клеток-предшественниц, не исключая их малигнизацию. Также известно, что распространенность опухолевого поражения костного мозга и характер инфильтрации кроветворной ткани опухолевыми клетками является значимым, так как эти факторы во многом определяют дальнейшее течение заболевания и его лечение [14]. Полученные нами данные о типах инфильтрации костного мозга при ХЛЛ не противоречат этому утверждению. Нами выделено три типа инфильтрации костного мозга – нодулярный, интерстициальный и диффузный, и на основе гистоморфологических и иммуногистохимических исследований показано, что тип инфильтрации является одним из факторов прогноза заболевания.

Представленные результаты изучения состояния стромы костного мозга больных ХЛЛ свидетельствовали о реакции стромального микроокружения на появление опухолевых клеток в интрамедуллярных пространствах губчатого вещества кости. Именно в костной ткани присутствовала специализированная популяция стромальных остеогенных клеток, формирующих нишу для предшественниц гемолимфопоэза. Указанная категория клеток определяет, в частности, развитие стволовых клеток в направлении В-лимфопоэза. Ключевыми структурными компонентами, формирующими нишу, являются эндостальные стромальные клетки губчатого вещества кости, которые совместно с нарабатываемыми ими гуморальными регуляторными факторами и экстрацеллюлярным матриксом при участии микрососудов обеспечивают реализацию генетической программы пролиферации и дифференцировки стволовых клеток, включая лимфоидные предшественники, из которых может возникнуть пул неопластических клеток при ХЛЛ [7, 10, 14]. Как следует из наших исследований, отчетливые изменения регистрируются именно в эндостальных зонах, где происходит перестройка соотношения эндостальных клеток и системы микроциркуляции. Это обстоятельство может служить весомым аргументом, указывающим на возможность перестройки функционального потенциала гемопоэтической ниши. На сегодняшний день твердо установлено значение дефектов ниши в расстройствах гемолимфопоэза, вплоть до непосредственного участия стромальных элементов формирующих нишу в появлении лейкозного клона [3, 7, 13]. На наш взгляд, вероятность важной, если не ключевой, роли в патогенезе ХЛЛ дефектов стромального микроокружения очень высока. Прежде всего, это может быть связано с тем, что дефекты ниши могут приводить к нарушению сигнальных путей запуска генетически детерминированной программы пролиферации и дифференцировки нормальных гемопоэтических предшественников, включая клетки-предшественницы В-лимфопоэза. В условиях дисбаланса сигнальных путей вероятность появления неопластического клона крайне высока, а функция ниши может перейти на поддержание трансформированных клеток [2, 7].

Обобщая результаты исследований кроветворной и стромальной ткани подвздошной кости больных ХЛЛ можно сделать следующее заключение. Характер развития опухолевого процесса характеризуется неоднородностью пролиферации лимфоидных клеток в костном мозге. Лимфоидные пролифераты могут образовывать нодулярные скопления, располагаться интерстициально и замещать костномозговые пространства губчатой кости, вытесняя жировую и миелоидную ткани. Одновременно в зависимости от

степени поражения паренхимы изменяется структурная организация стромального микроокружения.

Показана редукция жировой ткани в костном мозге больных. В условиях нормального кроветворения адипоциты заполняют все пространство костномозговых полостей, не занятое миелоидной тканью. Кроме того, часть из них представлена незрелыми клетками, тесно взаимодействующими с молодыми гранулоцитами. Их редукция в костном мозге больных ХЛЛ может иметь существенное значение в изменении нормальной регуляции развития кроветворных предшественников. Возможно, относительная площадь жировой ткани может быть одним из критериев эффективности специфической терапии при ХЛЛ.

Наиболее выраженные изменения стромы костного мозга происходят при диффузном варианте инфильтрации. При этом особенно важно отметить, что перестройки регистрируются в микроциркуляции и в стромальных элементах эндостальных зон костномозговых пространств – ключевых образований, формирующих нишу клеток предшественников гемолимфопоэза. С большой долей вероятности можно предположить наличие реакции нишеобразующих структур стромы и при других типах инфильтрации, что может быть установлено на основании дополнительных углубленных исследований оценки состояния морфофункционального статуса, прежде всего элементов, образующих эндостальную нишу стволовых клеток. В этом направлении перспективны иммуногистохимические исследования с использованием панели антител для идентификации фенотипа гетерогенной группы эндостальных стромальных клеток. К примеру, это позволит выделить из указанной группы наличие и определить количество эндостальных клеток, определяющих не только остеогенез, но в большей степени функционально направленных на обеспечение самоподдержания стволовых кроветворных клеток и регуляцию их пролиферации и дифференцировки.

Выводы

1. Установлено три типа опухолевой инфильтрации костного мозга при ХЛЛ: нодулярный, интерстициальный, диффузный.

2. У больных ХЛЛ выявлены изменения стромального микроокружения костного мозга, формирующего эндостально-васкулярную нишу клеток-предшественниц гемолимфопоэза:

- увеличение количества эндостальных клеток и изменением их морфологии;
- увеличение плотности сосудов микроциркуляции костномозговой паренхиме.

3. Обнаруженные изменения наиболее ярко представлены при диффузном типе инфильтрации костного мозга при ХЛЛ, что может быть использовано в оценке прогноза течения заболевания.

4. Качественные и количественные перестройки нишеобразующих структур костного мозга свидетельствуют о вовлечении стромального микроокружения в генез ХЛЛ и могут непосредственно влиять на появление лейкозного клона.

Литература

1. Ghia P., Circosta P., Scielzo C. et al. Differential effects on CLL cell survival exerted by different microenvironmental elements // *Curr Top Microbiol Immunol.* – 2005. – Vol. 294. - P. 135-145.
2. Jonathan W. Friedberg. CLL microenvironment: macro important // *Blood.* – 2011. - Vol. 117, № 2. – P. 377-378.
3. Ругаль В.И., Семенова Н.Ю., Бессмельцев С.С. Состояние интрамедулярной стромы больных неходжкинскими лимфомами с поражением костного мозга // *Вестник гематологии.* – 2011. - Т. VII, №2. - С. 36-37.
4. Nagasawa T. Microenvironmental niches in the bone marrow required for B-cell development // *Nat. Rev. Immunol.* – 2006. – Vol. 6. – P. 107-116.
5. Nagasawa T., Sugiyama T. Bone Marrow Niches for Hematopoietic Stem Cells and Immune Cells // *Inflammation & Allergy.* - 2012. - Vol. 11. – P. 201-206.
6. Krause D., Scadden D., Preffer L. The Hematopoietic Stem Cell Niche - Home for Friend and Foe? // *Clinical Cytometry.* - 2012. – P. 7-20.
7. Scadden D.T. The stem cell niche in health and leukemic disease // *Best Pract Res Clin Haematol.* – 2007. - Vol. 20, № 1. – P. 19–27.
8. Zhang J., Li L. Stem Cell Niche: Microenvironment and Beyond // *J Biol Chem.* – 2008. – Vol. 283, № 15. – P. 9499–9503.
9. Ding L., Saunders T.L., Enikolopov G., et al. Endothelial and perivascular cells maintain haematopoietic stem cells // *Nature.* – 2012. – Vol. 25. – P. 457-462.
10. Calvi L.M., Adams G.B., Weibrecht K.W., et al. Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche // *Nature.* – 2003. – Vol. 425. – P. 841-846.
11. Mendez-Ferrer S., Michurina T.V., Ferraro F., et al. Mesenchymal and haematopoietic stem cells form a unique bone marrow niche // *Nature.* – 2010. – Vol. 466. – P. 829-834.

12. Tokoyoda K., Egawa, T., Sugiyama, T., et al. Cellular niches controlling B lymphocyte behavior within bone marrow during development // *Immunity*. – 2004. Vol. 20. – P. 707-718.
13. Rosati S., Kluin P.M. Chronic lymphocytic leukaemia: a review of the immunoarchitecture // *Curr Top Microbiol Immunol*. – 2005. - Vol. 294. – P. 91-107.
14. Bueso-Ramos C.E., Ferrajoli A., Medeiros L.J. et al. Aberrant morphology, proliferation, and apoptosis of B-cell chronic lymphocytic leukemia cells // *Hematology*. – 2004. - Vol. 9. – P. 279-286.