

УДК 575.853:611.018.46:616-006.44

Ж. М. Мінченко¹, Т. Ф. Любарець¹✉, В. В. Балан¹, О. О. Дмитренко¹, Т. Ю. Шляхтиченко¹,
В. О. Мойсеєнко^{2,3}, Ю. О. Сілаєв¹, В. Г. Бебешко¹

¹Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України», вул. Юрія Іллєнка, 53, м. Київ, 04050, Україна

²Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця МОЗ України, бульвар Тараса Шевченка, 13, м. Київ, 01601, Україна

³Приватний вищий навчальний заклад «Міжнародна академія екології і медицини», Харківське шосе, 121, м. Київ, 02000, Україна

ЕФЕКТИВНІСТЬ КОЛОНІЄУТВОРЕННЯ КЛІТИН-ПОПЕРЕДНИКІВ КІСТКОВОГО МОЗКУ, ЯК ПРОГНОСТИЧНИЙ ФАКТОР ПЕРЕБІГУ ПЛАЗМОКЛІТИННОЇ МІЄЛОМИ У ОСІБ З РАДІАЦІЙНИМ АНАМНЕЗОМ

Мета роботи: на основі дослідження ефективності колонієутворення клітин кісткового мозку хворих на плазмноклітинну мієлому на різних етапах лікування оцінити її значення як прогностичного критерію перебігу захворювання.

Матеріали і методи. Ефективність колонієутворення (ЕКУ) оцінено у 37 пацієнтів віком 42–73 років з плазмноклітинною мієломою (ПКМ) I–II ст.: 21 пацієнта, постраждалого внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС, та 16 неопромінених хворих. Серед опромінених з I ст. обстежено 11 чоловіків, серед хворих з II ст. – 9 чоловіків та 3 жінок, серед неопромінених з I ст. – 3 чоловіків, 3 жінок, серед пацієнтів з II ст. – 6 чоловіків та 2 жінок. Контрольна група склали 20 здорових осіб.

Результати. Кількість колонієутворюючих гранулоцитарно-макрофагальних одиниць (КУО-ГМ) кісткового мозку (КМ) хворих на ПКМ об'єднаної групи (опромінені, неопромінені) залежала від стадії захворювання. У хворих з I ст. КУО-ГМ становила $16,7 \pm 1,2$ проти $11,1 \pm 1,1$ при II ст. і була нижчою ($p < 0,05$), порівняно з контролем ($64,5 \pm 2,2$). Подібними були зміни при утворенні кластерів (I ст. – $37,7 \pm 1,6$; II ст. – $19,4 \pm 1,3$; контроль – $89,8 \pm 3,6$). У хворих з I та II ст. на момент діагностики ЕКУ була нижчою ($5,7 \pm 1,5$ та $2,4 \pm 1,1$ відповідно), порівняно з контролем ($39,5 \pm 1,51$, $p < 0,05$), при ремісії ЕКУ зростала ($29,6 \pm 1,8$ та $13,8 \pm 1,2$ відповідно). Показники опромінених і неопромінених пацієнтів не відрізнялись. На етапі діагностики кількість колонієутворюючих одиниць фібробластів (КУО-Ф) була нижчою ($p < 0,05$), порівняно з контролем ($110,5 \pm 4,9$) – $43,9 \pm 5,4$ та $22,5 \pm 3,7$ у пацієнтів з I та II ст. ПКМ відповідно. При досягненні ремісії КУО-Ф зростала ($p < 0,05$): у хворих з I ст. ПКМ КУО-Ф сягала $87,4 \pm 4,2$; у пацієнтів з II ст. – $55,6 \pm 2,7$.

Висновки. Встановлена залежність ЕКУ клітин КМ від стадії ПКМ та наявності/відсутності ремісії. Показано прогностичне значення показника ЕКУ КУО-ГМ КМ щодо тривалості життя пацієнтів ($\text{Ro Spearman} = 0,39$, $p < 0,02$): за наявності ЕКУ > 20 до проведення поліхіміотерапії тривалість життя хворих на ПКМ була суттєво довшою порівняно з пацієнтами, у яких показник ЕКУ < 20 .

Ключові слова: плазмноклітинна мієлома, кістковий мозок, гранулоцитарно-макрофагальна колонієутворююча одиниця, колонієутворююча одиниця фібробластів, кластер.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2020. Вип. 25. С. 490–501. doi: 10.33145/2304-8336-2020-25-490-501

✉ Любарець Тетяна Федорівна, e-mail: tliubarets@yahoo.com

Zh. M. Minchenko¹, T. F. Liubarets¹✉, V. V. Balan¹, O. O. Dmytrenko¹, T. Yu. Shlyakhtichenko¹, V. O. Moyseyenko^{2,3}, Yu. O. Silayev¹, V. G. Bebashko¹

¹State Institution «National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», 53 Yurii Illienka St., Kyiv, 04050, Ukraine

²Bogomolets National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, 13 Tarasa Shevchenko Blvd., Kyiv, 01601, Ukraine

³Private Higher Educational Institution «International Academy of Ecology and Medicine», 121 Kharkivske Hwy., Kyiv, 02000, Ukraine

EFFICIENCY OF BONE MARROW PRECURSOR CELL COLONY-FORMING AS A PREDICTOR OF DISEASE COURSE IN PLASMA CELL MYELOMA PATIENTS WITH A HISTORY OF RADIATION EXPOSURE

Objective. Assessment of role of the bone marrow colony-forming efficiency in plasma cell myeloma patients at different stages of treatment as a prognostic criterion for the disease course.

Materials and methods. The colony forming efficiency (CFE) was assayed in stage I–II plasma cell myeloma (PCM) patients ($n = 37$) aged 42–73, namely in patients survived after the Chornobyl NPP accident ($n = 21$) and persons not exposed to ionizing radiation ($n = 16$). There were 11 males exposed to ionizing radiation and having got stage I PCM, 9 males and 3 females exposed and having got stage II PCM, 3 males and 3 females not exposed and having got stage I PCM, 6 males and 2 females not exposed and having got stage II PCM. Healthy persons ($n = 20$) were included in the control group.

Results. Number of the bone marrow (BM) granulocyte-macrophage colony-forming units (CFU-GM) in both exposed and not exposed PCM patients depended on a disease stage. CFU-GM was (16.7 ± 1.2) in the stage I PCM patients vs. (11.1 ± 1.1) in the stage II PCM ones both being lower ($p < 0.05$) compared to control (64.5 ± 2.2). Changes in cluster formation were similar, i.e. (37.7 ± 1.6) and (19.4 ± 1.3) correspondingly in the stage I and stage II PCM patients. Respective values in control were (89.8 ± 3.6). The CFE in stage I and stage II PCM patients at the time of diagnosis was lower (5.7 ± 1.5 and 2.4 ± 1.1 respectively) vs. control (39.5 ± 1.51 , $p < 0.05$), but has increased in remission up to (29.6 ± 1.8) and (13.8 ± 1.2) respectively. There was no difference at that between the irradiated and non-irradiated patients. Number of the fibroblast colony-forming units (CFU-F) in the stage I and stage II PCM patients during diagnosis, namely (43.9 ± 5.4) and (22.5 ± 3.7), was lower ($p < 0.05$) vs. control (110.5 ± 4.9). Upon reaching remission the CFU-F value increased significantly ($p < 0.05$), reaching (87.4 ± 4.2) and (55.6 ± 2.7) correspondingly in the stage I and stage II PCM patients.

Conclusion. Dependence of the BM cell CFE on the stage of PCM and presence or absence of remission was established. Prognostic value of the CFE of BM CFU-GM in terms of life span of patients was shown (Ro Spearman = 0.39, $p < 0.02$), namely in case of CFE > 20 before the polychemotherapy administration the life span of PCM patients was significantly longer vs. cases of CFE < 20 .

Key words: plasma cell myeloma, bone marrow, granulocyte-macrophage colony-forming unit, fibroblast colony-forming unit, cluster.

Problems of Radiation Medicine and Radiobiology. 2020;25:490-501. doi: 10.33145/2304-8336-2020-25-490-501

ВСТУП

Сучасна концепція формування плазмоклітинної мієломи (ПКМ) асоціюється з системою злоякісної моноклональної проліферації плазматичних клітин, локалізованих переважно в кістковому мозку (КМ) [1–4]. Збільшення маси пухлини є наслідком повільної прогресії процесу і, як показали дослідження, плазматичні

INTRODUCTION

The contemporary concept of plasma cell myeloma (PCM) formation is associated with a system of malignant monoclonal proliferation of plasma cells localized mainly in the bone marrow (BM) [1–4]. Increase in tumor mass is a consequence of the slow process progression and, as studies have

✉ Tetiana F. Liubarets, e-mail: tliubarets@yahoo.com

клітини здатні формувати колонії *in vitro*, тому ПКМ була віднесена до числа злоякісних захворювань, які характеризуються низькою проліферацією [5–8]. Найбільша проліферативна активність плазматичних клітин спостерігається на початковій стадії і в разі розвитку рецидиву ПКМ. У період ремісії проліферативна активність знижується за рахунок її пригнічення внаслідок дії цитостатичних препаратів. Це підтверджує той факт, що висока проліферативна активність плазматичних клітин є негативною прогностичною ознакою і впливає на тривалість життя хворих [9].

Оцінка стану гемопоєзу у пацієнтів з хронічними лімфопроліферативними новоутвореннями (ХЛПН), зокрема ПКМ, проводиться з урахуванням результатів клонування клітин КМ залежно від відмінностей щодо ефективності колонієутворення (ЕКУ) гранулоцитарно-макрофагальних одиниць КМ (КУО-ГМ) [10–13]. У наявній літературі недостатньо уваги приділено кількісній оцінці фібробластів та їх особливостям при ХЛПН та ПКМ у тому числі. Зокрема, відкритим залишається питання щодо впливу фібробластів на проліферативну активність клітин-попередників гемопоєзу [14]. На сьогодні представлені досить обмежені спроби проаналізувати у хворих на ПКМ стан мікрооточення і дієвого кісткового мозку КМ з урахуванням ступеня його ураження та наявності резервів нормального кровотворення, хоча це має суттєве значення для ранньої диференційної діагностики, прогнозування перебігу захворювання [15–16], оцінки ефективності лікування і здатності КМ до відновлення в період постцитостатичної мієлосупресії.

МЕТА

Метою роботи було на основі дослідження ефективності колонієутворення клітин кісткового мозку хворих на плазмоклітинну мієлому на різних етапах лікування оцінити її значення як прогностичного критерію перебігу захворювання.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Культуральні дослідження проведено у 37 пацієнтів віком 42–73 років з I–II ст. ПКМ, у тому числі 21 хворого, постраждалого внаслідок аварії на ЧАЕС (табл. 1). Серед опромінених осіб з I ст. захворювання обстежено 11 чоловіків, серед хворих з II ст. ПКМ – 9 чоловіків та 3 жінок. Група неопромінених з I ст. хвороби включала 3 чоловіків, 3 жінок, група неопромінених пацієнтів з II ст. захворювання – 6 чоловіків та 2 жінок. Контрольну групу склали 20 здорових осіб.

shown, plasma cells are able to form colonies *in vitro*, thus the PCM was referred to the malignant diseases characterized by low proliferation [5–8]. The greatest proliferative activity of plasma cells is observed at the initial stage and in case of PCM recurrence. During remission the proliferative activity decreases due to its suppression as an effect of cytostatic medications. This confirms the fact that the high proliferative activity of plasma cells is a negative prognostic sign, which affects the life span of a patient [9].

Evaluation of hematopoiesis in the patients having got chronic lymphoproliferative neoplasms (CLPNs) and PCM in particular takes into account the results of BM cells cloning, depending on differences in the BM granulocyte-macrophage units colony-forming efficiency (CFE) [10–13]. There is not enough attention in contemporary scientific literature to the quantitative assessment of fibroblasts and their features in CLPNs including the PCM. Issue of the influence of fibroblasts on proliferative activity of hematopoietic progenitor cells remains open in particular [14]. To date, there were very limited attempts made to analyze the microenvironment and effectiveness of BM in PCM patients, taking into account the degree of BM damage and available capacity of normal hematopoiesis, despite it is essential for early differential diagnosis, disease prognosis [15–16], assay of treatment efficiency and BM recover ability in the period of postcytostatic myelosuppression.

OBJECTIVE

Based on the study of effectiveness of colony-forming of bone marrow cells in plasma cell myeloma patients assess the role of its efficiency at different stages of treatment as a prognostic criterion for the disease course.

MATERIALS AND METHODS

The cultural research was conducted on a material from the stage I–II PCM patients ($n = 37$) aged 42–73, among others the Chornobyl NPP accident survivors ($n = 21$) (Table 1). There were 11 males exposed to ionizing radiation and having got stage I PCM, 9 males and 3 females exposed and having got stage II PCM, 3 males and 3 females not exposed and having got stage I PCM, 6 males and 2 females not exposed and having got stage II PCM. Healthy persons ($n = 20$) were included in the control group.

Таблиця 1

Характеристика пацієнтів з ПКМ з урахуванням радіаційного анамнезу та стадії захворювання за класифікацією Durie-Salmon (1975)

Table 1

Characterization of PCM patients taking in consideration the history of radiation exposure and disease stage according to the Durie-Salmon classification (1975)

Стадія за Durie-Salmon D&S stage	Категорія обстежених Category of study subjects	Чоловіки/Males n = 28	Жінки/Females n = 11	Усього/Total n = 37
I	Без урахування радіаційного анамнезу Disregarding the radiation history	12	5	17
	Постраждали внаслідок аварії на ЧАЕС Survivors of the ChNPP accident	11	-	11
	Неопромінені хворі Not exposed patients	3	3	6
II	Без урахування радіаційного анамнезу Disregarding the radiation history	14	6	20
	Постраждали внаслідок аварії на ЧАЕС Survivors of the ChNPP accident	10	2	12
	Неопромінені хворі Not exposed patients	6	2	8

Вивчення стану резерву клітин КМ (гранулоцитарно-макрофагального пулу) щодо відновлення кровотворення після проведення поліхіміотерапії (ПХТ) проводили шляхом клонування *in vitro* гранулоцитарно-макрофагальних колонієутворюючих одиниць (ГМ-КОУ). Культивування моноклеарів КМ проводили в стерильних чашках Петрі у напіврідкому агаровому середовищі. Облік результатів проводили на 14-ту добу культивування. За колонію приймали скупчення клітин, в яких кількість гранулоцитів-макрофагів перевищувала 100 клітин, за кластер - скупчення клітин, в яких кількість гранулоцитів-макрофагів перевищувала 50 клітин. Кількість колоній підраховували під інвертованим мікроскопом фірми Sedival (Німеччина). Кількісний облік клонів у культурі супроводжували перерахунком на 100 000 клітин. За результат приймали середнє арифметичне результатів культивування, отриманих у 4 зразках культури.

З урахуванням кількості колоній, кластерів і загальної кількості посаджених клітин (кожну колонію та кластер вважали клоном однієї клітини), розраховували ефективність ГМ-КОУ КМ:

$$EKU = \frac{\text{Кількість колоній} + \text{кількість кластерів}}{\text{Загальна кількість посаджених клітин}}$$

Тривалість життя пацієнта (в місяцях) оцінювали від терміну вивчення ЕКУ, залежно від її порогового значення.

Визначення колонієутворюючих одиниць фібробластів (КУО-Ф) КМ проводили шляхом культивування досліджуваних зразків КМ у стерильних фла-

The study of BM cell reserve (featuring the granulocyte-macrophage pool) in respect of hematopoietic restore after the polychemotherapy (PCT) was performed by cloning *in vitro* the granulocyte-macrophage colony-forming units (CFU-GM). The BM mononuclear cells were cultured in sterile Petri dishes on semi-solid agar medium. Results were recorded on the 14th day of culturing. A nest of cells in which the number of granulocytes-macrophages exceeded 100 cells was counted as a colony, otherwise if the number of granulocytes-macrophages exceeded 50 cells it was counted as a cluster. Number of colonies was counted using the Sedival inverted microscope (Germany). Quantitative accounting of clones in a culture was followed by recalculation per 100,000 cells. An arithmetic mean of culturing results obtained in 4 culture samples was accepted as the result.

Taking into account the number of colonies, clusters and total number of planted cells (each colony and cluster was considered a clone of the one cell) the efficiency of CFU-GM in BM was calculated as:

$$CFE = \frac{\text{Number of colonies} + \text{number of clusters}}{\text{Planted cells total}}$$

The patient's life span (in months) was estimated since the study point of CFE, depending on its threshold value.

Assay of the BM fibroblast colony-forming units (CFU-F) was performed by culturing the BM test samples in sterile vials for 14 days. The cell nest of

конах протягом 14 днів. Скупчення клітин, яке складалося з 50 кластерів і більше, трактували як колонію. Підрахунок колоній проводили з використанням світлового мікроскопа МБС-9.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Показано, що важливою характеристикою функціонального стану клітин КМ пацієнтів з ПКМ є ЕКУ, яку визначали на різних стадіях захворювання та з урахуванням ефективності ПХТ (наявність/відсутність ремісії). В табл. 2 представлена кількість колоній та КУО-ГМ КМ з урахуванням стадії ПКМ та у зіставленні з контрольною групою. Не виявлено суттєвої різниці щодо кількості утворених колоній і кластерів при порівнянні опромінених та неопромінених осіб, надалі вони увійшли до складу об'єднаної групи пацієнтів. Незалежно від радіаційного анамнезу, кількість колоній в усіх групах пацієнтів з I–II ст. хвороби була вірогідно нижчою порівняно з контролем ($p < 0,05$). Кількість кластерів була суттєво нижчою лише у пацієнтів з ПКМ II ст. ($p < 0,05$).

На момент встановлення діагнозу показано, що кількість колоній, які утворились в результаті культивування клітин КМ пацієнтів з ПКМ, залежала від стадії захворювання. Так, у пацієнтів об'єднаної групи з ПКМ I ст. кількість колоній становила $16,7 \pm 1,2$ проти $11,1 \pm 1,1$ у пацієнтів з II ст. хвороби У здорових осіб кількість колоній була значно вищою – $64,5 \pm 2,2$. Подібна закономірність спостерігалась при утворенні кластерів при культивуванні клітин КМ пацієнтів досліджуваної групи (рис. 1).

Результати культивування клітин КМ об'єднаної групи хворих на ПКМ (опромінені та неопромінені) представлені на рис. 1.

50 clusters or more was regarded as a colony. Colonies were counted using the MBS-9 light microscope.

RESULTS AND DISCUSSION

The CFE was shown being an important characteristic of the BM cell functional state in PCM patients. The CFE at that was assayed at different disease stages taking into account the effectiveness of PCT (presence or absence of remission). The number of colonies and BM CFU-GM with reference to the PCM stage and in comparison with the control group is shown in Table 2. No significant difference was found in the number of colonies and clusters formed when comparing the irradiated and non-irradiated individuals. Later they were included in a combined group of patients. Regardless of radiation history, the number of colonies in all groups of stage I–II PCM patients was significantly lower vs. control ($p < 0.05$). The number of clusters was significantly lower only in stage II PCM patients ($p < 0.05$).

At the time of diagnosis it was shown that the number of colonies formed as a result of PCM patient's BM cell culturing depended on the disease stage. In such a way the number of colonies was (16.7 ± 1.2) in stage I PCM patients against (11.1 ± 1.1) in stage II cases in the united group. The number of colonies was significantly higher (64.5 ± 2.2) in healthy individuals. A similar pattern was observed in the formation of clusters in cultivation of BM cell from patients in the study group (Fig. 1).

Results of the BM cell culturing in the combined group of PCM patients (irradiated and non-irradiated subjects) are shown in Fig. 1.

Таблиця 2

Характеристика гранулоцитарно-макрофагального пулу КМ пацієнтів з I–II ст. ПКМ ($M \pm m$)

Table 2

Characterization of the BM granulocyte-macrophage pool in stage I–II PCM patients

Показник Parameter	I ст. / Stage I			II ст. / Stage II			Група контролю Control group
	Опромінені	Неопромінені	Об'єднана група	Опромінені	Неопромінені	Об'єднана група	
	Irradiated	Non-irradiated	Combined group	Irradiated	Non-irradiated	Combined group	
Кількість колоній Colonies	$15,8 \pm 1,1^*$	$17,2 \pm 1,2^*$	$16,7 \pm 1,2^*$	$9,4 \pm 0,9^*$	$12,2 \pm 1,3^*$	$11,1 \pm 1,2^*$	$64,5 \pm 2,2$
Кількість кластерів Clusters	$38,4 \pm 1,5$	$36,9 \pm 1,8$	$37,7 \pm 1,6$	$16,8 \pm 0,9^*$	$20,1 \pm 1,1^*$	$19,4 \pm 1,3^*$	$89,8 \pm 3,6$

Примітка. * – значення достовірно нижчі, порівняно з контролем ($p < 0,05$).

Note. * – values significantly lower vs. control ($p < 0.05$).

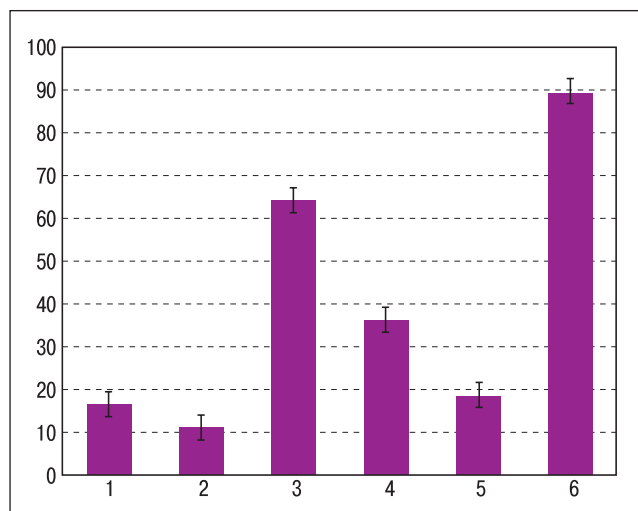


Рисунок 1. Залежність колоніє- і кластероутворення гранулоцитарно-макрофагальних клітин КМ у пацієнтів з ПКМ від стадії захворювання

1 – кількість колоній в результаті культивування клітин КМ пацієнтів з ПКМ I ст.; 2 – кількість колоній культивування клітин КМ пацієнтів з ПКМ II ст.; 3 – кількість колоній в результаті культивування клітин КМ здорових осіб; 4 – кількість кластерів в результаті культивування клітин КМ пацієнтів з ПКМ I ст.; 5 – кількість кластерів в результаті культивування клітин КМ, пацієнтів з ПКМ II ст.; 6 – кількість кластерів в результаті культивування клітин КМ здорових осіб.

Figure 1. Colony and cluster formation of BM granulocyte-macrophage cells in PCM patients depending on the disease stage

1 – colonies as a result of BM cell culturing (stage I PCM patients); 2 – colonies as a result of BM cell culturing (stage II PCM patients); 3 – colonies as a result of BM cell culturing (healthy subjects); 4 – clusters as a result of BM cell culturing (stage I PCM patients); 5 – clusters as a result of BM cell culturing (stage II PCM patients); 6 – clusters as a result of BM cell culturing (healthy subjects).

Проведено вивчення ЕКУ клітин КМ пацієнтів з ПКМ на різних етапах лікування (табл. 3).

Встановлено, що у опромінених і неопромінених пацієнтів з ПКМ на етапі первинної діагностики захворювання, незалежно від стадії, ЕКУ була значно нижчою, порівняно з контролем ($p < 0,05$), і не мала суттєвої різниці між дослідженими групами. У разі досягнення ремісії, регенеративний потенціал КМ зростає, однак у хворих з II ст. залишався суттєво нижчим відносно контрольного значення ($p < 0,05$). ЕКУ клітин КМ пацієнтів з ПКМ об'єднаної групи на момент встановлення діагнозу була достовірно нижчою і становила $5,7 \pm 1,5$ у пацієнтів з ПКМ I ст. та $2,4 \pm 1,1$ – II ст. відносно здорових осіб ($39,5 \pm 1,5$).

На рис. 2 і 3, відповідно, представлено величину гранулоцитарно-макрофагальних колоній, утворених при культивуванні КМ пацієнтів з ПКМ, на момент встановлення діагнозу та при досягненні ремісії.

У разі досягнення ремісії ЕКУ клітин КМ підвищувалась у пацієнтів обох груп (рис. 3, 4), залежала від стадії захворювання і складала у пацієнтів з ПКМ I ст. $29,6 \pm 1,8$; у хворих з II ст. – $13,8 \pm 1,2$.

CFE of BM cells of PCM patients was studied at the specific stages of treatment (Table 3).

CFE in the irradiated and non-irradiated PCM patients at the stage of initial diagnosis of the disease was significantly lower vs. control ($p < 0.05$) regardless of the disease stage with no significant difference between the study groups. In remission the regenerative potential of BM increased, but in stage II patients remained significantly lower vs. control ($p < 0.05$). CFE of BM cells in PCM patients in the combined group was significantly lower at the time of diagnosis, namely (5.7 ± 1.5) and (2.4 ± 1.1) correspondingly in stage I and stage II PCM patients compared to (39.5 ± 1.5) in healthy individuals.

Size of granulocyte-macrophage colonies formed in the PCM patients' BM culturing at the time of diagnosis and in remission is shown in Fig. 2 and 3, respectively.

The BM cell CFU increased in both groups in case of achieving a remission (Fig. 3, 4). The increase at that depended on the disease stage accounting (29.6 ± 1.8) and (13.8 ± 1.2) correspondingly in

Таблиця 3

Ефективність колонієутворення клітин КМ пацієнтів з урахуванням стадії та перебігу ПКМ ($M \pm m$)

Table 3

CFE of BM cells in PCM patients depending on the disease stage and course

Стадія ПКМ PCM stage	Первинна діагностика захворювання At primary diagnosis			Стадія ремісії / In remission			Група контролю Control group
	Опромінені Irradiated	Неопромінені Non-irradiated	Об'єднана група Combined group	Опромінені Irradiated	Неопромінені Non-irradiated	Об'єднана група Combined group	
I	$4,7 \pm 0,8^*$	$6,3 \pm 1,2^*$	$5,7 \pm 1,5^*$	$30,8 \pm 2,4$	$28,5 \pm 1,7$	$29,6 \pm 1,8$	$39,5 \pm 1,5$
II	$2,7 \pm 0,7^*$	$2,7 \pm 0,8^*$	$2,4 \pm 1,1^*$	$14,5 \pm 0,6^*$	$12,8 \pm 0,9^*$	$13,8 \pm 1,2^*$	

Примітка. * – значення достовірно нижчі, порівняно з контролем ($p < 0,05$).

Note. * – values significantly lower vs. control ($p < 0.05$).

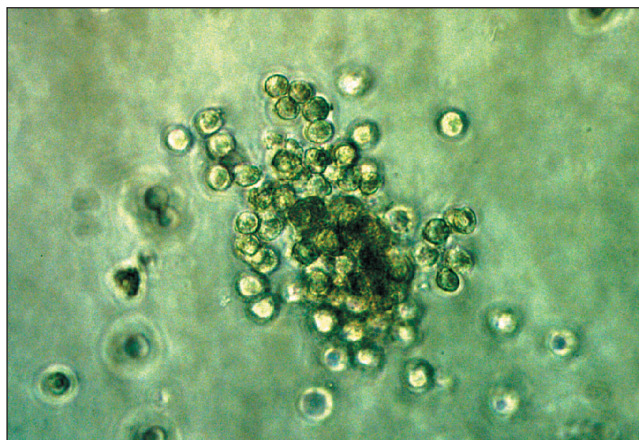


Рисунок 2. Гранулоцито-макрофагальна колонія, утворена при культивуванні КМ пацієнта М. з ПКМ, на момент встановлення діагнозу; інвертований мікроскоп, збільшення об'єктиву $\times 400$

Figure 2. Granulocyte-macrophage colony formation in the culture of PCM patient's BM cells at the time of diagnosis, patient M.; inverted microscope, 400x magnification

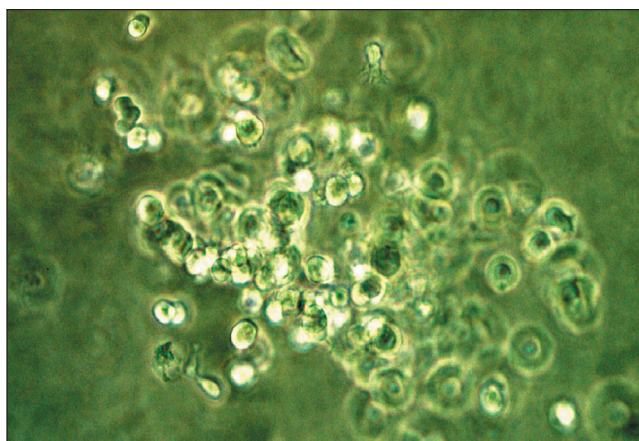


Рисунок 3. Гранулоцито-макрофагальна колонія, утворена при культивуванні КМ пацієнта К. з ПКМ, що знаходився на стадії ремісії; інвертований мікроскоп, збільшення об'єктиву $\times 400$

Figure 3. Granulocyte-macrophage colony formation in the culture of PCM patient's BM cells in remission, patient K; inverted microscope, 400x magnification

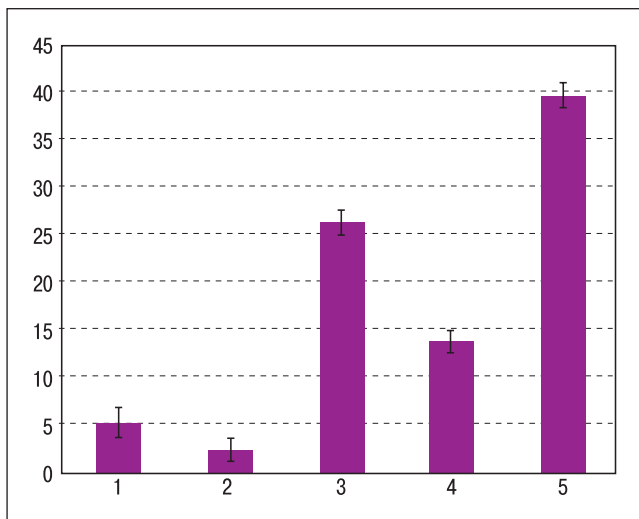


Рисунок 4. Залежність ЕКУ гранулоцитарно-макрофагальних клітин КМ пацієнтів з ПКМ від стадії захворювання

1 – ЕКУ клітин КМ при встановленні діагнозу пацієнтам з ПКМ I ст.; 2 – ЕКУ клітин КМ при встановленні діагнозу пацієнтам з ПКМ II ст.; 3 – ЕКУ клітин КМ в стадії ремісії пацієнтів з ПКМ I ст.; 4 – ЕКУ клітин КМ в стадії ремісії пацієнтів з ПКМ II ст.; 5 – ЕКУ клітин КМ здорових осіб.

Figure 4. BM granulocyte-macrophage cell CFE in PCM patients depending on the disease stage

1 – BM cell CFE in stage I PCM patients at diagnosis; 2 – BM cell CFE in stage II PCM patients at diagnosis; 3 – BM cell CFE in stage I PCM patients in remission; 4 – BM cell CFE in stage II PCM patients in remission; 5 – BM cell CFE in healthy subjects.

Однак ці показники не досягали контрольних значень ($39,5 \pm 1,5$).

Відомо, що популяція стромальних фібробластів забезпечує функціонування дієвого КМ, остеокластів і виконує регулюючу роль, пов'язану зі здатністю продукувати фактори проліферації гемопоетичних клітин, що необхідно для підтримки ранніх клітин-попередників [11]. Культивування фібробластів, отриманих з КМ пацієнтів з ПКМ, проведено для оцінки їхньої функціональної активності. Отримані результати свідчать про зниження функціональної активності колонієутворен-

stage I and stage II PCM cases. However, these parameters did not reach the control values of (39.5 ± 1.5).

The population of stromal fibroblasts is known as providing the function of working BM and osteoclasts, being also involved in regulation of the ability to produce the proliferation factors for hematopoietic cells, which is essential to support the early progenitor cells [11]. Culturing of fibroblasts obtained from the BM of PCM patients was performed to assess their functional activity. The obtained results indicate a decrease in the colony formation functional activity of BM fibroblasts in PCM patients

Таблиця 4

Ефективність колонієутворення фібробластів КМ пацієнтів з урахуванням стадії та перебігу ПКМ

Table 4

Efficacy of the BM fibroblast colony-forming with account taken of PCM stage and course

Стадія ПКМ PCM stage	Первинна діагностика захворювання Primary diagnosis	Стадія ремісії Remission	Група контролю Control group
I	43,9 ± 5,4	87,4 ± 4,2	110,5 ± 4,9
II	22,5 ± 3,7	55,6 ± 2,7	

ня фібробластів КМ пацієнтів з ПКМ, пов'язаної зі стадією захворювання, без суттєвої різниці при порівнянні обстежених груп (опромінені, неопромінені пацієнти). Так, на етапі встановлення діагнозу КУО-Ф була вірогідно нижчою в обох групах пацієнтів з ПКМ відносно контролю: при I ст. — $43,9 \pm 5,4$, при II ст. — $22,5 \pm 3,7$ у порівнянні з контролем ($110,5 \pm 4,9$; $p < 0,05$) (табл. 4).

Відповідно до даних літератури, ступінь резорбції кісткової тканини пов'язаний з активністю колонієутворення фібробластів КМ. Так, резорбція кісткової тканини має місце при низькій здатності КМ до утворення КУО-Ф, зниження процесів деструкції кісткової тканини визначається при високих значеннях КУО-Ф [12]. Таким чином, наші дослідження свідчать про ймовірне прогностичне значення функціональної активності КУО-Ф КМ пацієнтів з ПКМ як предиктора ризику резорбції кісткової тканини. Також слід зазначити суттєве збільшення кількості КУО-Ф, незалежно від стадії захворювання: при досягненні ремісії: у пацієнтів з ПКМ I ст. цей показник становив $84,7 \pm 4,2$, у осіб з II ст. — $55,6 \pm 2,7$, хоча дані величини і не сягала нормативних значень (табл. 4).

На рис. 5 представлена ефективність колонієутворення фібробластів з урахуванням стадії захворювання у порівнянні з групою контролю.

being associated with the disease stage with no significant difference when comparing the study groups, i.e. irradiated and non-irradiated patients. Specifically, at the stage of diagnosis the CFU-F value was significantly ($p < 0.05$) lower in both groups of PCM patients vs. control, namely (43.9 ± 5.4) and (22.5 ± 3.7) correspondingly in stage I and stage II PCM and (110.5 ± 4.9) in control (Table 4).

According to the data from literature, the degree of bone resorption is associated with an activity of BM fibroblast colony formation. Specifically, bone resorption occurs at a low capacity of BM to form the CFU-F, whereas a reduction of bone destruction processes is determined at high values of CFU-F [12]. Thus, our study results indicate a probable prognostic value of the BM CFU-F functional activity in PCM patients as a predictor of bone resorption risk. A significant increase in the number of CFU-F, regardless of the disease stage should also be noted when remission is achieved, namely (84.7 ± 4.2) and (55.6 ± 2.7) correspondingly in stage I and stage II PCM patients, although these values did not reach the normal values (Table 4).

Efficiency of the fibroblast colony formation with account taken of a disease stage in comparison with the control group is shown in Fig. 5.

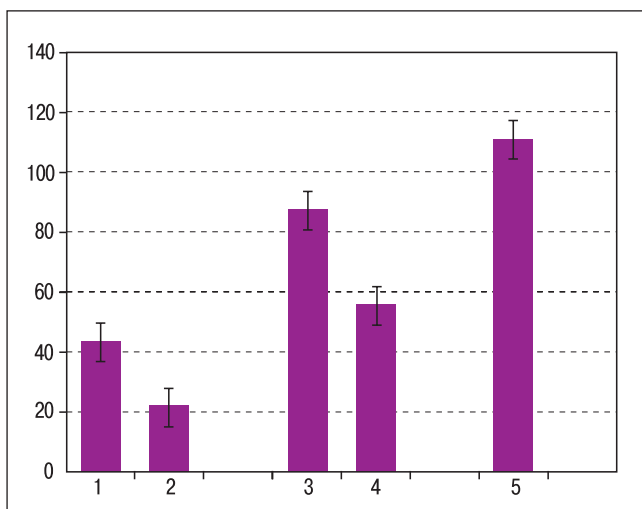


Рисунок 5. Ефективність колонієутворення фібробластів КМ залежно від стадії ПКМ у порівнянні зі здоровими особами

1 — кількість КУО-Ф КМ при встановленні діагнозу пацієнтам з ПКМ I ст.; 2 — кількість КУО-Ф КМ при встановленні діагнозу пацієнтам з ПКМ II ст.; 3 — кількість КУО-Ф КМ на стадії ремісії пацієнтів з ПКМ I ст.; 4 — кількість КУО-Ф КМ на стадії ремісії пацієнтів з ПКМ II ст.; 5 — кількість КУО-Ф КМ здорових осіб.

Figure 5. BM granulocyte-macrophage cell CFE in PCM patients depending on the disease stage

1 — BM CFU-F in stage I PCM patients at diagnosis; 2 — BM CFU-F in stage II PCM patients at diagnosis; 3 — BM CFU-F in stage I PCM patients in remission; 4 — BM CFU-F in stage II PCM patients in remission; 5 — BM CFU-F in healthy subjects.

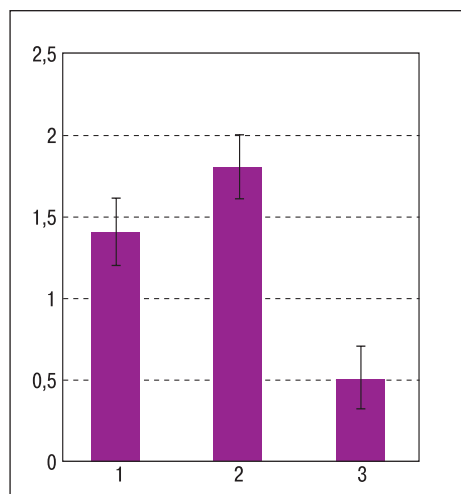


Рисунок 6. Величина проліферативного показника КМ пацієнтів з ПКМ з урахуванням стадії захворювання у порівнянні зі здоровими особами

1 – величина проліферативного показника КМ пацієнтів з ПКМ I ст.; 2 – величина проліферативного показника КМ пацієнтів з ПКМ II ст.; 3 – величина проліферативного показника клітин КМ у здорових осіб.

Figure 6. BM proliferative index in PCM patients with account taken of the disease stage compared to healthy subjects

1 – BM proliferative index in stage I PCM patients; 2 – BM proliferative index in stage II PCM patients; 3 – BM cell proliferative index in healthy subjects.

Відомо, що важливим показником функціональної активності КМ є його проліферативний потенціал (співвідношення кількості гранулоцитних колоній та кластерів). Показана залежність проліферативного показника від стадії захворювання (рис. 6). Так, у пацієнтів з ПКМ I ст. він дорівнював 1,4; у пацієнтів з II ст. хвороби – 1,8; у здорових осіб – 1,0. Підвищення цього показника можна вважати критерієм ризику прогресії захворювання.

Проаналізовано взаємозв'язок ЕКУ КУО-ГМ КМ і термінів життя пацієнта з ПКМ. Встановлено прямий кореляційний зв'язок між даним показником та тривалістю життя хворого ($R_{\text{Spearman}} = 0,39$; $p < 0,02$). Показано, що при високому значенні показника ($\text{ЕКУ} > 20$), визначеного до проведення ПХТ, тривалість життя хворих на ПКМ вища, порівняно з пацієнтами, у яких ЕКУ була низькою (< 20). Таким чином, чим вища ефективність клонування, тим більший регенеративний потенціал КМ і вища можливість для пацієнта щодо виходу з періоду постцистостатичної мієлосупресії.

Приклад 1

Хворий П-ко А. Я., 1935 р. н., іст. хв. № 5487 (2012 р.). Діагноз: плазмоклітинна мієлома, II А ст. Ефективність клонування гранулоцитарно-макрофагальних одиниць КМ – показник ЕКУ становив $20,6 \pm 1,8$. Тривалість життя склала 45 міс.

Приклад 2

Хворий З-ка В. Г., 1953 р. н., іст. хв. № 6172 (2011 р.). Діагноз: плазмоклітинна мієлома, II А ст. Ефективність клонування гранулоцитарно-макрофагальних одиниць КМ – показник ЕКУ становив $15,4 \pm 1,8$. Тривалість життя склала 11 міс.

Отримані результати свідчать про інформативність показника ЕКУ і вивчення стану мікрооточення клітин КМ, як прогностичних критеріїв перебігу ПКМ,

The BM proliferative potential, i.e. ratio of the number of granulocyte colonies and clusters is known being an important index of its functional activity. The dependence of proliferative index on a disease stage was shown (Fig. 6). Specifically, it was equal to 1.4 in stage I PCM patients, 1.8 in stage II patients, and 1.0 in healthy people. An increased index value can be considered a criterion for the disease progression risk.

Relationship between the CFE of BM CFU-GM and the PCM patient life span was analyzed. There was established a direct correlation between this parameter and patient life span ($R_{\text{Spearman}} = 0,39$, $p < 0,02$). It was shown that at a high value of the parameter ($\text{CFE} > 20$) determined before PCT administration the life span of PCM patients is higher compared to the cases with low CFE (< 20). Thus, the higher cloning efficiency appears, the greater BM regenerative potential occurs and the higher possibility is for the patient to come through the postcytostatic myelosuppression period.

Case 1

Patient A. Ya. P-ko, born 1935, case record # 5487 (year 2012). Diagnosis: plasma cell myeloma, stage II A. The CFE value featuring the efficiency of BM granulocyte-macrophage units cloning was (20.6 ± 1.8) . The life span was 45 months.

Case 2

Patient V. G. Z-ka, born 1953, case record # 6172 (year 2011). Diagnosis: plasma cell myeloma, stage II A. The CFE value featuring the efficiency of BM granulocyte-macrophage units cloning was (15.4 ± 1.8) . The life span was 11 months.

The obtained results testify to the informative value of CFE index and the studying of BM microenvironment cells as a prognostic criteria for PCM course,

зокрема здатності КМ до відновлення в період постцитостатичної мієлосупресії.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що ЕКУ гранулоцитарно-макрофагальних одиниць КМ у пацієнтів об'єднаної групи з ПКМ на момент встановлення діагнозу була вірогідно нижчою у зіставленні з контролем ($39,5 \pm 1,51$; $p < 0,05$) і залежала від стадії захворювання: при I ст. становила $5,7 \pm 1,5$, у пацієнтів з II ст. — $2,4 \pm 1,1$. При досягненні ремісії цей показник зростав і визначався на рівні $29,6 \pm 1,8$ та $13,8 \pm 1,2$, відповідно. Не виявлено особливостей щодо культивування клітин КМ залежно від категорії обстежених (опромінені внаслідок аварії на ЧАЕС, неопромінені пацієнти).
2. Визначено зниження активності КУО-Ф КМ пацієнтів з ПКМ на етапі первинної діагностики і залежність даного показника від стадії захворювання. До початку проведення терапії КУО-Ф була вірогідно нижчою ($p < 0,05$), порівняно з групою контролю ($110,5 \pm 4,9$) і становила, відповідно, $43,9 \pm 5,4$ у пацієнтів з ПКМ I ст. та $22,5 \pm 3,7$ у пацієнтів з II ст. хвороби. Виявлено достовірне збільшення ($p < 0,05$) КУО-Ф при досягненні ремісії, порівняно з етапом встановлення діагнозу: у пацієнтів з ПКМ I ст. КУО-Ф сягала $87,4 \pm 4,2$, у пацієнтів з II ст. — $55,6 \pm 2,7$.
3. Доведено прогностичне значення показника ЕКУ гранулоцитарно-макрофагальних одиниць КМ щодо тривалості життя пацієнтів з ПКМ (Ro Spearman = 0,39; $p < 0,02$). Зростання ЕКУ свідчить про підвищення регенеративного потенціалу КМ і можливість швидшого виходу з періоду постцитостатичної мієлосупресії: за наявності ЕКУ > 20 до проведення ПХТ тривалість життя хворих на ПКМ суттєво довша, порівняно з пацієнтами, у яких показник ЕКУ < 20 .

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Tian F., Li J., Li Y., Luo S. Enhancement of myeloma development mediated through myeloma cell-Th2 cell interactions after microbial antigen presentation by myeloma cells. *Blood Cancer J.* 2012. Vol. 2, no. 6. e74. <https://doi.org/10.1038/bcj.2012.19>.
2. Microbial antigens-loaded myeloma cells enhance Th2 cell proliferation and myeloma clonogenicity via Th2-myeloma cell interaction / F. Tian, B. Lu, Z. Chen et al. *BMC Cancer.* 2019. Vol. 19, no. 1. P. 1264. URL: <https://doi.org/10.1186/s12885-019-6469-4>.
3. Primary myeloma interaction and growth in culture with healthy donor hematopoietic bone marrow / R. Bam, S. Khan, W. Ling et al. *BMC Cancer.* 2015. Vol. 15. P. 864. <https://doi.org/10.1186/s12885-015-1892-7>.

with the ability of BM to recover in the period of post-cytostatic myelosuppression in particular.

CONCLUSIONS

1. The CFE of BM granulocyte-macrophage units in the combined group of PCM patients at the time of diagnosis was significantly lower compared with control (39.5 ± 1.51 , $p < 0.05$) and depended on the disease stage, being (5.7 ± 1.5) and (2.4 ± 1.1) in stage I and stage II PCM correspondingly. When remission was achieved, this parameter increased and was assayed at the level of (29.6 ± 1.8) and (13.8 ± 1.2) respectively. There were no peculiarities in BM cell culturing depending on the category of subjects (irradiated as a result of the ChNPP accident or non-irradiated patients).
2. The decreased activity of BM CFU-F in PCM patients at primary diagnosis and the dependence of this indicator on a disease stage were revealed. The CFU-F was significantly lower ($p < 0.05$) prior to therapy compared with the control group (110.5 ± 4.9) being respectively (43.9 ± 5.4) in stage I PCM patients and (22.5 ± 3.7) in stage II cases. There was a significant increase ($p < 0.05$) in CFU-F value upon achieving a remission compared with the time of diagnosis, namely the CFU-F reached (87.4 ± 4.2) and (55.6 ± 2.7) correspondingly in stage I and stage II PCM patients.
3. The prognostic value of BM CFE of granulocyte-macrophage units in relation to the life span of PCM patients (Ro Spearman = 0.39, $p < 0.02$) is proved. The CFE elevation suggests the increase in BM regenerative potential and possibility of a more rapid exit from the period of postcytostatic myelosuppression, that is if the CFE value before PCT administration is over 20, the life expectancy of PCM patients is significantly longer compared to cases with CFE < 20 .

REFERENCES

1. Tian F, Li J, Li Y, Luo S. Enhancement of myeloma development mediated through myeloma cell-Th2 cell interactions after microbial antigen presentation by myeloma cells and DCs. *Blood Cancer J.* 2012;2(6):e74. doi:10.1038/bcj.2012.19.
2. Tian F, Lu B, Chen Z, Liu J, Ji D, Li J, et al. Microbial antigens-loaded myeloma cells enhance Th2 cell proliferation and myeloma clonogenicity via Th2-myeloma cell interaction. *BMC Cancer.* 2019;19(1):1246. doi: 10.1186/s12885-019-6469-4.
3. Bam R, Khan S, Ling W, Randal SS, Li X, Barlogie B, et al. Primary myeloma interaction and growth in coculture with healthy donor hematopoietic bone marrow. *BMC Cancer.* 2015;15:864. doi: 10.1186/s12885-015-1892-7.

4. Investigating osteogenic differentiation in multiple myeloma using a novel 3D bone marrow niche model / M. R. Reagan, Y. Mishima, S. V. Glavey et al. *Blood*. 2014. Vol. 124, no. 22. P. 3250–3259. doi: 10.1182/blood-2014-02-558007.
5. Characterization of multiple myeloma vesicles by label-free relative quantitation / S. W. Harshman, A. Canella, P. D. Ciarlariello et al. *Proteomics*. 2013. Vol. 13, no. 20. P. 3013–3029.
6. Cancer and the microenvironment: myeloma-osteoclast interactions as a model / S. Yaccoby, M. J. Wezeman, A. Henderson et al. *Cancer Res*. 2018. Vol. 64, no. 6. P. 2016–2023. doi: 10.1158/0008-5472.can-03-1131.
7. Characterization of freshly isolated mesenchymal stromal cells from healthy and multiple myeloma bone marrow: transcriptional modulation of the microenvironment / D. Alameda, B. Saez, D. Lara-Astiaso et al. *Haematologica*. 2020. pii: haematol.2019.235135. <https://doi.org/10.3324/haematol.2019.235135>.
8. Reconstructing the human hematopoietic niche in immunodeficient mice: opportunities for studying primary multiple myeloma / R. W. Groen, W. A. Noort, R. A. Raymakers et al. *Blood*. 2012. Vol. 120, no. 3. e9–e16. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-03-414920>.
9. Frequent occurrence of highly expanded but unrelated B-cell clones in patients with multiple myeloma / J. Kriangkum, S. N. Motz, C. S. Debes Marun et al. *PLoS ONE*. 2013. Vol. 8, no 5. e64927. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064927>.
10. Immunosurveillance and therapy of multiple myeloma are CD226 dependent / C. Guillerey, L. Ferrari de Andrade, S. Vuckovic et al. *J. Clin. Invest*. 2015. Vol. 125, no. 7. P. 2904. <https://doi.org/10.1172/JCI82646>.
11. PD-L1/PD-1 presence in the tumor microenvironment and activity of PD-1 blockade in multiple myeloma / B. Paiva, A. Azpilikue-ta, N. Puig et al. *Leukemia*. 2015. Vol. 29, no. 10. P. 2110–2113. doi: 10.1038/leu.2015.79.
12. A simple method for culturing myeloma cells from human bone marrow aspirates and peripheral blood in vitro / B. C. Millar, J. B. Bell, A. Lakhani et al. *Br. J. Haematol*. 1988. Vol. 69, no. 2. P. 197–203. doi: 10.1111/j.1365-2141.1988.tb07622.x.
13. Characterization of clonogenic multiple myeloma cells / W. Matsui, C. A. Huff, Q. Wang et al. *Blood*. 2004. Vol. 103, no. 6. P. 2332–2336. doi: 10.1182/blood-2003-09-3064.
14. Rhu-Epo down-regulates pro-tumorigenic activity of cancer-associated fibroblasts in multiple myeloma / V. Desantis, M. A. Frassanito, R. Tamma et al. *Ann. Hematol*. 2018. Vol. 97, no. 7. P. 1251–1258. doi: 10.1007/s00277-018-3293-x.
15. Hosen N. Multiple myeloma-initiating cells. *Int. J. Hematol*. 2013. Vol. 97, no. 3. P. 306–312. doi: 10.1007/s12185-013-1293-0.
16. High-risk multiple myeloma: integrated clinical and omics approach dissects the neoplastic clone and the tumor microenvironment / A. G. Solimando, M. C. Da Via, S. Cicco et al. *J. Clin. Med*. 2019. Vol. 8, no. 7. pii: E997. <https://doi.org/10.3390/jcm8070997>.
4. Reagan MR, Mishima Y, Glavey SV, Zhang Y, Manier S, Lu ZN, et al. Investigating osteogenic differentiation in multiple myeloma using a novel 3D bone marrow niche model. *Blood*. 2014;124(22):3250-9. doi: 10.1182/blood-2014-02-558007.
5. Harshman SW, Canella A, Ciarlariello PD, Rocci A, Agarwal K, Smith EM, et al. Characterization of multiple myeloma vesicles by label-free relative quantitation. *Proteomics*. 2013;13(20):3013-3029. doi: 10.1002/pmic.201300142.
6. Yaccoby S, Wezeman MJ, Henderson A, Cottler-Fox M, Yi Q, Barlogie B, Epstein J. Cancer and the microenvironment: myeloma-osteoclast interactions as a model. *Cancer Res*. 2004;64(6):2016-2023. doi: 10.1158/0008-5472.can-03-1131.
7. Alameda D, Saez B, Lara-Astiaso D, Sarvide S, Lasa M, Alignani D, et al. Characterization of freshly isolated mesenchymal stromal cells from healthy and multiple myeloma bone marrow: transcriptional modulation of the microenvironment. *Haematologica*. 2020;haematol.2019.235135. doi: 10.3324/haematol.2019.235135.
8. Groen RW, Noort WA, Raymakers RA, Prins HJ, Aalders L, Hoffhuis FM, et al. Reconstructing the human hematopoietic niche in immunodeficient mice: opportunities for studying primary multiple myeloma. *Blood*. 2012 Jul 19;120(3):e9-e16. doi: 10.1182/blood-2012-03-414920.
9. Kriangkum J, Motz SN, Debes Marun CS, Lafarge ST, Gibson SB, Venner CP, Johnston JB, Belch AR, Pilarski LM. Frequent occurrence of highly expanded but unrelated B-cell clones in patients with multiple myeloma. *PLoS One*. 2013;8(5):e64927. doi: 10.1371/journal.pone.0064927.
10. Guillerey C, Ferrari de Andrade L, Vuckovic S, Miles K, Ngiew SF, Yong MC, et al. Immunosurveillance and therapy of multiple myeloma are CD226 dependent. *J Clin Invest*. 2015;125(7):2904. doi: 10.1172/JCI82646.
11. Paiva B, Azpilikueta A, Puig N, Ocio EM, Sharma R, Oyajobi BO, et al. PD-L1/PD-1 presence in the tumor microenvironment and activity of PD-1 blockade in multiple myeloma. *Leukemia*. 2015;29(10):2110-2113. doi: 10.1038/leu.2015.79.
12. Millar BC, Bell JB, Lakhani A, Ayliffe MJ, Selby PJ, McElwain TJ. A simple method for culturing myeloma cells from human bone marrow aspirates and peripheral blood in vitro. *Br J Haematol*. 1988;69(2):197-203. doi: 10.1111/j.1365-2141.1988.tb07622.x.
13. Matsui W, Huff CA, Wang Q, Malehorn MT, Barber J, Tanhehco Y, et al. Characterization of clonogenic multiple myeloma cells. *Blood*. 2004 Mar 15;103(6):2332-2336. doi: 10.1182/blood-2003-09-3064.
14. Desantis V, Frassanito MA, Tamma R, Saltarella I, Di Marzo L, Lamanuzzi A, et al. Rhu-Epo down-regulates pro-tumorigenic activity of cancer-associated fibroblasts in multiple myeloma. *Ann Hematol*. 2018 Jul;97(7):1251-1258. doi: 10.1007/s00277-018-3293-x.
15. Hosen N. Multiple myeloma-initiating cells. *Int J Hematol*. 2013; 97(3):306-312. doi: 10.1007/s12185-013-1293-0.
16. Solimando AG, Da Via MC, Cicco S, Leone P, Di Lernia G, Giannico D, et al. High-Risk Multiple Myeloma: Integrated Clinical and Omics Approach Dissects the Neoplastic Clone and the Tumor Microenvironment. *J Clin Med*. 2019 Jul 9;8(7):997. doi: 10.3390/jcm8070997.

ІНФОРМАЦІЯ ПРО АВТОРІВ

Мінченко Жанна Миколаївна, доктор біологічних наук, професор, завідувач лабораторії імунотенетики відділу гематології та трансплантології Інституту клінічної радіології ННЦРМ

Любарець Тетяна Федорівна, доктор медичних наук, професор, провідний науковий співробітник відділення радіаційної онкогематології та трансплантації стовбурових клітин відділу гематології та трансплантології Інституту клінічної радіології ННЦРМ, м. Київ

Балан Валентина Володимирівна, молодший науковий співробітник лабораторії імунотенетики відділу гематології та трансплантології Інституту клінічної радіології ННЦРМ

Дмитренко Олена Олександрівна, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник лабораторії імунотенетики відділу гематології та трансплантології Інституту клінічної радіології ННЦРМ

Шляхтиченко Тетяна Юріївна, кандидат медичних наук, молодший науковий співробітник лабораторії імунотенетики відділу гематології та трансплантології Інституту клінічної радіології ННЦРМ

Мойсеєнко Валентина Олексіївна, доктор медичних наук, професор; професор кафедри пропедевтики внутрішньої медицини № 2 Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця МОЗ України; завідувач кафедри внутрішньої медицини з курсом ендокринології Приватного вищого навчального закладу «Міжнародна академія екології і медицини»

Сілаєв Юрій Олегович, лікар-гематолог відділення радіаційної гематології клініки ННЦРМ

Бєбешко Володимир Григорович, доктор медичних наук, професор, член-кореспондент НАМН України, керівник відділу гематології та трансплантології Інституту клінічної радіології ННЦРМ

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Zhanna M. Minchenko, Doctor of Biological Sciences, Professor, Head Immunogenetic Laboratory of Hematology and Transplantology Department, Clinical Radiology Institute, NRCRM, Kyiv, Ukraine

Tetiana F. Liubarets, Doctor of Medical Sciences, Professor, Leading Research Associate, Radiation Oncohematology and Stem Cell Transplantation Division of Hematology and Transplantology Department, Clinical Radiology Institute, NRCRM, Kyiv, Ukraine

Valentyna V. Balan, Junior Research Associate, Immunogenetic Laboratory of Hematology and Transplantology Department, Clinical Radiology Institute, NRCRM, Kyiv, Ukraine

Olena O. Dmytrenko, Candidate of Biological Sciences, Senior Research Associate, Immunogenetic Laboratory of Hematology and Transplantology Department, Clinical Radiology Institute, NRCRM, Kyiv, Ukraine

Tetiana Yu. Shlyakhtychenko, Candidate of Medical Sciences, Junior Research Associate, Immunogenetic Laboratory of Hematology and Transplantology Department, Clinical Radiology Institute, NRCRM, Kyiv, Ukraine

Valentyna O. Moyseyenko, Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of Therapy #3, Bogomolets National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; Head of Department of Internal Medicine with Endocrinology Curriculum, Private Higher Educational Institution «International Academy of Ecology and Medicine», Kyiv, Ukraine

Yurii O. Silaiev, Staff Hematologist, Radiation Hematology Department, NRCRM Clinic, Kyiv, Ukraine

Volodymyr G. Bebeshko, Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Head Hematology and Transplantology Department, Clinical Radiology Institute, NRCRM, Kyiv, Ukraine

Стаття надійшла до редакції 2.03.2020

Received: 2.03.2020