

Винахід відноситься до медицини, зокрема до онкогематології і може бути використаний в профільних гематологічних та онкологічних відділеннях лікарень.

Справжня поліцитемія є хронічним мієлопроліферативним захворюванням з ураженням стовлових кровотворних клітин і гіперплазією еритроїдного, гранулоцитарного та мегакаріоцитарного паростків в кістковому мозку в різних співвідношеннях. Наявність гіперплазії цих паростків є одним із діагностичних критеріїв справжньої поліцитемії. Пунктати кісткового мозку при справжній поліцитемії часто бувають розбавленими кров'ю, що зумовлено його венозним повнокров'ям. В зв'язку з цим знижується їх діагностична цінність. Між тим, в клінічній практиці та наукових дослідженнях існує потреба в визначенні ефективності різних видів лікування, яка може бути проведена при використанні комплексного клініко-гематологічного обстеження з урахуванням показників мієлограми.

Найбільш близьким до способу, що заявляється, по досягнутому ефекту, є спосіб, заснований на підрахунку зрілих клітин в мієлограмі, при підвищенні яких діагностується наявність розбавлення кістково-мозкового пунктату кров'ю (Воробьев А.И. Руководство по гематологии. М.: Медицина, 1995, 495с.).

Недоліком цього методу є описовий характер змін з боку мієлограми при її розбавленні кров'ю і відсутність комплексної оцінки всіх її показників.

Задачею даного винаходу є підвищення точності і спрощення діагностування розбавлення кров'ю кістково-мозкового пунктату при справжній поліцитемії в ерітремічній стадії.

Поставлена задача вирішується тим, що проводять забір кісткового мозку з груднини або пахової кістки за стандартними методиками, визначається загальна кількість мієлокаріоцитів в одиниці об'єму (тисяч в 1 мм<sup>3</sup>), доля в мієлограмі (в %) паличкоядерних та сегментоядерних нейтрофілів, еозинофілів, моноцитів та лімфоцитів, підраховується також доля всіх нейтрофільних гранулоцитів та всіх без'ядерних еритроїдних клітин і визначається коефіцієнт розведення за формулою 1. При значенні коефіцієнта розведення нижче нуля діагностується суттєве розведення кістково-мозкового пунктату і дане дослідження вважається неінформативним.

Формула 1

$Kp = 112 + KMK \times 0,03 - НГ + ЕРКЛ - СЯ + ПЯ - ЕО - МО \times 5 - ЛФ \times 2,$

де Кр - коефіцієнт розведення

КМК - загальна кількість мієлокаріоцитів в одиниці об'єму (тисяч в 1 мм<sup>3</sup>)

ПЯ - доля (в %) паличкоядерних нейтрофілів в мієлограмі

СЯ - доля (в %) сегментоядерних нейтрофілів в мієлограмі

ЕО - доля (в %) еозинофілів в мієлограмі

МО - доля (в %) моноцитів в мієлограмі

ЛФ - доля (в %) лімфоцитів в мієлограмі

НГ - доля (в %) всіх нейтрофільних гранулоцитів в мієлограмі

ЕРКЛ - доля (в %) всіх без'ядерних еритроїдних клітин в мієлограмі

Для розробки способу, що заявляється, нами проведено експериментальне дослідження 45 кістково-мозкових пунктів із груднини у 23 практично здорових осіб (18 чоловіків та 5 жінок) без захворювань системи крові та у 22 хворих на справжню поліцитемію (16 чоловіків та 6 жінок) до та після її розбавлення венозною кров'ю. Взяття кістково-мозкового пунктату проводилось за стандартною методикою із груднини в III-IV міжребер'ї в об'ємі 0,4мл і помішувалась в 2 спеціальні пробірки (по 0,2мл в кожену) для забору кісткового мозку. Кров для розведення набиралась із ліктьової вени в об'ємі 0,2мл і додавалась до однієї із пробірок. Аналіз кісткового мозку проводився за загальними методиками. Обстежувались пацієнти, що проходили обстеження в клініці гематології Головного військового клінічного госпіталю Міністерства оборони України.

Статистична обробка проводилась з використанням методів параметричної статистики, кореляційного та дискримінантного аналізів (Боровиков В. STATISTIKA: искусство анализа данных на компьютере. Для профессионалов. - СПб.: Питер. 2001).

При кореляційному та дискримінантному аналізах встановлено, що показниками найбільш суттєво впливаючими на визначення факту розведення кров'ю кістково-мозкового пунктату у хворих на справжню поліцитемію та в контрольній групі є: загальна кількість мієлокаріоцитів одиниці об'єму, доля паличкоядерних та сегментоядерних нейтрофілів, еозинофілів, моноцитів та лімфоцитів, доля всіх нейтрофільних гранулоцитів та всіх без'ядерних еритроїдних клітин. Діагностична значимість показників мієлограми в діагностуванні розбавлення кров'ю мієлограми представлена в таблиці 1.

Визначена нами дискримінантна модель діагностичне значуща (F-критерій 25,8 p<0,001). Значення нестандартизованих коефіцієнтів першої та другої дискримінантних функцій (ДФ) наведені в таблиці 2.

На фігурі 1 наведено діаграму розсіювання по значенням першої ДФ (значення по вісі абсцис Х) та другої ДФ (значення по вісі ординат У) проведених нами досліджень. На даному малюнку окремо позначені мієлограми 4-х груп (до та після розведення кров'ю кістково-мозкових пунктів у пацієнтів без захворювань системи крові 1-ша та 2-га контрольні групи відповідно; до та після розведення кров'ю кістково-мозкових пунктів у хворих на справжню поліцитемію - 3-тя та 4-та групи відповідно). Значення першої ДФ (Х) - є пропонуємим нами коефіцієнтом розведення (Кр). Видно, що значення КР менше нуля відзначається тільки в кістково-мозкових пунктатах розбавлених кров'ю (2-га та 4-та групи).

Прикладом практичного використання винаходу є наступні клінічні дані. Хворий Є. 1946р.н. № історії 3786. 26.02.2003р. в зв'язку з підозрою на справжню поліцитемію хворому виконано трепанобіопсію, під час якої взято 0,3мл кістково-мозкового пунктату і підраховано мієлограму. Її показники наступні: загальна кількість мієлокаріоцитів 100тис. в 1мм, мегакаріоцитів 6,25 в 1мм<sup>3</sup>, ретикулярних клітин не виявлено, бластних клітин 0,2%, нейтрофільних промієлоцитів 1%, нейтрофільних мієлоцитів 3%, нейтрофільних метамієлоцитів 6%, паличкоядерних нейтрофільних гранулоцитів 10%, сегментоядерних 46%, еозинофільних клітин 0,2%, базофільних клітин не виявлено, моноцитів 6,4%, лімфоцитів 13,2%, еритробластів 0,4%, базофільних нормоцитів 1,8%, поліхроматофільних 6%, оксифільних 5,8%. При підрахунку коефіцієнта розведення (Кр) він дорівнював "-31,6" - тому мієлограми виконана повторно з взяттям мінімальної кількості кістково-мозкового пунктату з метою недопущення розведення. В результаті отримані наступні дані: загальна кількість мієлокаріоцитів 160тис. в 1мм<sup>3</sup>, мегакаріоцитів 12,5 в 1мм<sup>3</sup>, ретикулярних клітин не виявлено, бластних клітин 0,6%, нейтрофільних промієлоцитів 1,8%, нейтрофільних мієлоцитів 6,6%, нейтрофільних метамієлоцитів 9,6%, паличкоядерних нейтрофільних гранулоцитів 13,6%, сегментоядерних 29,4%, еозинофільних клітин 1,2%,

базофільних клітин не виявлено, моноцитів 3%, лімфоцитів 6%, плазматичних клітин - 0,4%, еритроblastів 0,8%, базофільних нормоцитів 3,2%, поліхроматофільних 12,8%, оксифільних 11%. Коефіцієнт розведення (Кр) тепер дорівнював 39,6 - тому дана мієлограма визнана не розведеною кров'ю і проведено її аналіз. Виявлено розширення еритроїдного паростка - яке співпадало з характером основного захворювання, в той час як при аналізі першої мієлограми не відмічалось розширення еритроїдного паростка в зв'язку з наявністю розбавлення мієлограми кров'ю.

Хворий Т. 1931р.н. № історії 1768. 3.02.2003р. в зв'язку з підозрою на справжню поліцитемію хворому виконано трепанобіопсію, під час якої взято 0,3мл кістково-мозкового пунктату і підраховано мієлограму. Її показники наступні: загальна кількість мієлокаріоцитів 18тис. в  $1\text{мм}^3$ , мегакаріоцитів - не виявлено, ретикулярних клітин 0,2%, бластних клітин 0,2%, нейтрофільних промієлоцитів 0,4%, нейтрофільних мієлоцитів 2,2%, нейтрофільних метамієлоцитів 2,6%, паличкоядерних нейтрофільних гранулоцитів 11,8%, сегментоядерних 48,2%, еозинофільних клітин 2%, базофільних клітин не виявлено, моноцитів 4,4%, лімфоцитів 19,6%, плазматичних клітин 0,2%, еритроblastів не виявлено, базофільних нормоцитів 0,8%, поліхроматофільних 7,4%, оксифільних не виявлено. При підрахунку коефіцієнта розведення (Кр) він дорівнював "44,1" - діагностовано значне розбавлення кістково-мозкового пунктату кров'ю і пункція кісткового мозку виконана повторно з взяттям мінімальної кількості кістково-мозкового пунктату. В результаті отримані наступні дані: загальна кількість мієлокаріоцитів 21,5тис. в  $1\text{мм}^3$ , мегакаріоцитів 6 в  $1\text{мм}^3$ , ретикулярних клітин 0,2%, бластних клітин 0,4%, нейтрофільних промієлоцитів 0,6%, нейтрофільних мієлоцитів 4%, нейтрофільних метамієлоцитів 7,2%, паличкоядерних нейтрофільних гранулоцитів 16,4%, сегментоядерних 36,6%, еозинофільних клітин 2,4%, базофільних клітин не виявлено, моноцитів 3,8%, лімфоцитів 15,2%, плазматичних клітин 0,2%, еритроblastів не виявлено, базофільних нормоцитів 2,2%, поліхроматофільних - 11%, оксифільних - не виявлено. Коефіцієнт розведення (Кр) тепер дорівнював "10,96" - тому дана мієлограма також визнана значно розведеною кров'ю і її аналіз в діагностиці захворювання не використовувався.

Апробація способу проведена по результатам дослідження 45 кістково-мозкових пунктів, виконаних в Головному військовому клінічному госпіталі МО України (27 мієлограм) та в гематологічному диспансері м. Севастополя (18 мієлограм). З використанням пропонуємого нами методу виявлено 14 кістково-мозкових пунктів, суттєво розбавлених кров'ю (в 26,9% випадків), що достовірно частіше ніж без використання даного методу (лише 3 пунктату, розбавлених кров'ю - в 5,8% випадків) ( $\chi^2 = 3,88$ ,  $p < 0,05$ ). Таким чином використання пропонуємого нами методу дозволяє достовірно частіше виявляти кістково-мозкові пункти, розбавлені кров'ю, що підвищить діагностичну значимість кістково-мозкових пунктів при справжній поліцитемії.

Таким чином, проведені нами дослідження і клінічна апробація свідчать про практичну користь використання пропонуємого нами математичного способу визначення розведення кістково-мозкового пунктату кров'ю у хворих на справжню поліцитемію.

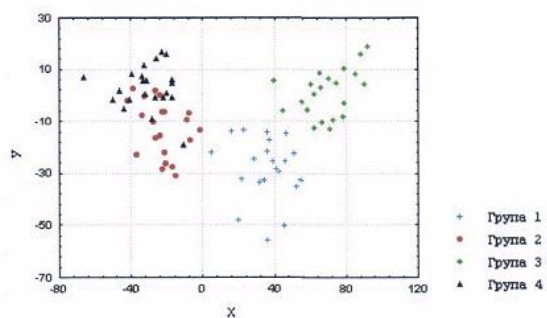
Таблиця 1

Показники мієлограми	F-критерій Фішера	Достовірність (p)
Загальна кількість мієлокаріоцитів (тис. в $1\text{мм}^3$ )	3,12	<0,05
Доля всіх нейтрофільних гранулоцитів (в %)	4,57	<0,01
Доля паличкоядерних нейтрофільних гранулоцитів (в %)	6,08	<0,001
Доля сегментоядерних нейтрофільних гранулоцитів (в %)	4,72	<0,01
Доля всіх еозинофільних гранулоцитів (в %)	4,28	<0,01
Доля моноцитів (в %)	9,86	<0,001
Доля лімфоцитів (в %)	7,17	<0,001
Доля всіх еритроїдних без'ядерних клітин (в %)	7,21	<0,001

Таблиця 2

Показники мієлограми	Коефіцієнти першої ДФ	Коефіцієнти другої ДФ
Загальна кількість мієлокаріоцитів (тис в $1\text{мм}^3$ )	0,03	0,1
Доля всіх нейтрофільних гранулоцитів (в %)	-1	2
Доля паличкоядерних нейтрофільних гранулоцитів (в %)	1	-2
Доля сегментоядерних нейтрофільних гранулоцитів (в %)	-1	1

Доля всіх еозінофільних гранулоцитів (в %)	-1	4
Доля моноцитів (в %)	-5	1
Доля лімфоцитів (в %)	-2	2
Доля всіх еритроїдних без'ядерних клітин (в %)	1	3
Константа	112	-238



Фіг.