



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA

(11) 110760

(13) U

(51) МПК

G01N 33/483 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2016 02980**

(22) Дата подання заявки: **23.03.2016**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **25.10.2016**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **25.10.2016, Бюл.№ 20**

(72) Винахідник(и):

**Бєбешко Володимир Григорович (UA),
Бруслова Катерина Михайлівна (UA),
Панченко Леся Михайлівна (UA),
Цвєткова Наталія Михайлівна (UA),
Пушкарьова Тетяна Іванівна (UA),
Ляшенко Людмила Олександрівна (UA)**

(73) Власник(и):

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "НАЦІОНАЛЬНИЙ
НАУКОВИЙ ЦЕНТР РАДІАЦІЙНОЇ
МЕДИЦИНИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ
МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ",
вул. Мельникова, 53, м. Київ, 04050 (UA)**

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ РЕЦИДИВУ ГОСТРИХ ЛЕЙКЕМІЙ У ДІТЕЙ

(57) Реферат:

Спосіб прогнозування рецидиву гострих лейкемій у дітей включає оцінку впливу стромальних фібробластів кісткового мозку на процеси проліферації та диференціювання еритроїдних елементів кісткового мозку. За відсотком еритробластів та моноцитів в мієлограмі в ремісії після закінчення повного курсу хіміотерапії судять про ефективність лікування: якщо в мієлограмі відсоток еритробластів вищий за 0,6+0,2 %, моноцитів вищий за 1,9+0,4 %, то вірогідність виникнення рецидиву низька, якщо відсоток еритробластів нижчий за 0,4 %, моноцитів нижчий за 0,4 %, то вірогідність розвитку захворювання збільшується.

UA 110760 U

Корисна модель належить до медицини і може бути застосована для прогнозування рецидиву гострих лейкемій (лімфобластних, мієлобластних) у дітей за відсотком еритробластів та моноцитів в мієлограмі.

Відомий спосіб оцінки кількісних показників мієлограми та вплив стромального мікрооточення на гемопоєз людини. Стромальні елементи приймають участь у регуляції гемопоетичних клітин-попередників, забезпечують їх функціональну активність та впливають на етапах диференціювання. Строма складається з клітин та екстрацелюлярного матриксу, на якому розташовуються острівці кровотворних елементів. Матрикс забезпечує специфічну взаємодію між стовбуровими кровотворними клітинами і їх поживним середовищем. Стромальні клітини необхідні для проліферації стовбурових клітин та їхніх нащадків [1, 2].

Недоліком цього способу є відсутність даних щодо показників ефективності колонієутворення стромальних фібробластів кісткового мозку (КУОф), вирощених *ex vivo*, як одного із елементів стромального мікрооточення, та кількості еритробластів - клітин-попередників еритроїдної ланки гемопоєзу, та їх взаємозв'язок у дітей з гострими лейкеміями.

Відомий спосіб диференціювання клітин-попередників червоного ряду в кістковому мозку, починаючи з еритробластів. Еритроїдні острівці є початковим етапом розвитку ери-трону. Вони утворюють компактні скупчення, в центрі яких розташовуються моноцити, що містять запас заліза, необхідний для подальшого процесу проліферації та диференціювання елементів еритроцитарної ланки [3, 4].

Недоліком цього способу є відсутність даних про функціональні особливості стромальних фібробластів кісткового мозку, вирощених *ex vivo*, зокрема ефективність колонієутворення, вплив фібробластів на кількість еритробластів та моноцитів в кістковому мозку у дітей, хворих на гострі лейкемії.

Найбільш близьким аналогом є спосіб оцінки стану стромального мікрооточення, до складу якого входять фібробласти - клітини сполучної тканини організму, що синтезують позаклітинний матрикс і створюють умови для проліферації та диференціювання гемопоетичних клітин-попередників, в тому числі еритроїдних. Позаклітинний матрикс продукує фактори, які стимулюють формування мікросудин і метастатичні молекули, що прискорюють поширення пухлинних клітин у різні органи людини. У пацієнтів з гострою лімфобластною (ГЛЛ) та гострою мієлобластною лейкемією (ГМЛ) стромальні фібробласти кісткового мозку здатні захищати бластні клітини від дії протипухлинних препаратів, і зменшувати чутливість лейкемічних клітин до хіміотерапевтичних засобів. Дослідження ефективності колонієутворення стромальних фібробластів проводять на поживних середовищах, які збагачені цитокінами, необхідними для активації процесів проліферації і розвитку, а також застосовують моноклональні антитіла для подальшої їх ідентифікації [5].

Недоліком цього способу є відсутність інформації щодо ефективності КУОф кісткового мозку, кількості еритроїдних клітин-попередників (еритробластів) та моноцитів в мієлограмі у дітей, хворих на гострі лейкемії, та критеріїв ефективності хіміотерапії. Методика культивування стромальних фібробластів кісткового мозку є багатоетапною, трудомісткою, потребує коштовних реагентів, апаратури та спеціально підготовленого персоналу.

В основу корисної моделі поставлена задача прогнозування рецидиву гострих лейкемій у дітей за відсотком еритробластів та моноцитів в мієлограмі.

Технічний результат досягається за рахунок того, що обстеження хворих проводиться в ремісії після закінчення повного курсу хіміотерапії з приводу первинно встановленого діагнозу гострої лейкемії. Кістковий мозок отримується з груднини при проведенні стерильної пункції, наноситься на предметні скельця, фарбується за Романовським-Гімзою та вивчається у світловому мікроскопі (збільшення $n \times 900$). Підрахунок кількості еритробластів та моноцитів в мієлограмі надається у відсотках. В мієлограмі практично здорових дітей середні значення еритробластів становлять $0,6 \pm 0,2$ %, моноцитів $1,9 \pm 0,4$ %. За критерії ефективності хіміотерапії прийнято відсутність/наявність рецидиву захворювання.

Поставлена задача прогнозування рецидиву гострих лейкемій у дітей вирішується шляхом визначення відсотку еритробластів та моноцитів в мієлограмі в ремісії після закінчення повного курсу хіміотерапії. За відсотком еритробластів та моноцитів в мієлограмі судять про рецидив захворювання: якщо в мієлограмі відсоток еритробластів вищий за $0,6 \pm 0,2$ %, а моноцитів вищий за $1,9 \pm 0,4$ %, то вірогідність виникнення рецидиву низька, якщо відсоток еритробластів нижчий за $0,4$ %, моноцитів нижчий за $0,4$ %, то вірогідність розвитку рецидиву гострої лейкемії у дітей збільшується.

Представлений спосіб прогнозування рецидиву гострих лейкемій у дітей досягається шляхом спрощення багатоетапної методики роботи з культурою стромальних фібробластів кісткового мозку (метод О.Я. Фріденштейна в модифікації В.С. Астахової, 2001). Фібробласти

синтезують колаген і створюють умови для розвитку гемопоетичних клітин-попередників, зокрема еритроїдних, а також моноцитів, впливають на їх кількість, функціональні властивості та чутливість лейкоцитів до хіміотерапевтичних препаратів. Встановлений зворотний зв'язок між показником ефективності клонування стромальних фібробластів кісткового мозку та числом еритробластів ($Ro-Spearman = -0,52$) і моноцитів ($Ro-Spearman = -0,45$) в кістковому мозку у дітей з гострими лейкеміями. Встановлений зворотний кореляційний зв'язок між відсотком моноцитів в мієлограмі та вірогідністю розвитку рецидиву захворювання ($Ro-Spearman = -0,45$).

Приклади здійснення способу.

Приклад 1.

- 10 Хвора М.О., 8 років. Діагноз: гостра лейкемія (історія хвороби № 1307, 2000 рік), обстежена в ремісії після закінчення повного курсу хіміотерапії. Відсоток еритробластів в мієлограмі становив 1,6 %, моноцитів - 8,0 %. Безрецидивна тривалість життя дитини становить понад 15 років.

Приклад 2.

- 15 Хворий С.Є., 14 років. Діагноз: гостра лейкемія (історія хвороби № 370, 2003 рік), обстежений в ремісії після закінчення повного курсу хіміотерапії. Відсоток еритробластів в мієлограмі становив 0,4 %, моноцитів - 0,4 %. Проведена хіміотерапія хворому була неефективною, розвинувся рецидив гострої лейкемії.

- 20 Відсоток еритробластів та моноцитів в мієлограмі у хворих на гострі лейкемії знаходиться у зворотному зв'язку з ефективністю колонієутворення стромальних фібробластів кісткового мозку, що свідчить про роль стромального мікрооточення у функціонуванні гемопоєзу та процесах лейкогенезу. Нормативні значення еритробластів та моноцитів в мієлограмі у хворих на гострі лейкемії в ремісії після закінчення повного курсу хіміотерапії співпадають з низькою ефективністю колонієутворення стромальних фібробластів кісткового мозку та безрецидивною виживаністю хворих і, навпаки, знижена кількість еритробластів та моноцитів в мієлограмі відносно норми спричиняла розвиток рецидиву захворювання.

- 25 Запропонований спосіб прогнозування рецидиву гострих лейкемій у дітей за відсотком еритробластів та моноцитів в мієлограмі може бути застосований у гематологічних відділеннях обласних лікарень України та онкогематологічних диспансерів, де лікуються діти з гострими лейкеміями.

Джерела інформації:

1. Семенова Н.Ю. Бессмельцев С.Е. Ругаль В.И. Биология ниши гемопоэтических стволовых клеток /Клиническая онкогематология. 2014; 7(4): 501-510.
- 35 2. Boulais P., Frenette P. Making sense of hematopoietic stem cell niches /Blood. 2015 Apr 23; 125(17): 2621-2629.
3. Владимирская Е.Б. Клиническая онкогематология /Фундаментальные исследования и клиническая практика. 2015. Т. 8. № 2. С. 109-119.
4. Back D., Kostova E., Kraaij M., Berg T., Bruggen R. Of macrophages and red blood cells; a complex love story /Front. Physiol. 2014, 5, 9.
- 40 5. Raffaghello L., Vacca A., Pistoia V., Ribatti D. Cancer associated fibroblasts in hematological malignancies /Oncotarget. 2015 Feb; 6(5): 2589-2603.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 45 Спосіб прогнозування рецидиву гострих лейкемій у дітей, що включає оцінку впливу стромальних фібробластів кісткового мозку на процеси проліферації та диференціювання еритроїдних елементів кісткового мозку, який **відрізняється** тим, що за відсотком еритробластів та моноцитів в мієлограмі в ремісії після закінчення повного курсу хіміотерапії судять про ефективність лікування: якщо в мієлограмі відсоток еритробластів вищий за 0,6+0,2 %, моноцитів вищий за 1,9+0,4 %, то вірогідність виникнення рецидиву низька, якщо відсоток еритробластів нижчий за 0,4 %, моноцитів нижчий за 0,4 %, то вірогідність розвитку захворювання збільшується.

Комп'ютерна верстка О. Рябо

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601