УДК 616-053.2. 616.1.41: 611.71

В. Г. Бебешко[1], К. М. Бруслова[1]✉, Н. М. Цвєткова[1], Т. Т. Володіна[2], Т. І. Пушкарьова[1], Л. О. Ляшенко[2], Л. М. Панченко[1], С. М. Яцемирський[1]

[1]Державна установа "Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України", вул.Мельникова, 53, м. Київ, 04050, Україна
[2]Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, вул. Леонтовича, 9, м. Київ, 04119, Україна

ОЦІНКА МЕДІАНИ ВИЖИВАНОСТІ ХВОРИХ НА ГОСТРІ ЛІМФОБЛАСТНІ ЛЕЙКЕМІЇ, ЯКІ ЗАЗНАЛИ ВПЛИВУ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЕННЯ ВНАСЛІДОК АВАРІЇ НА ЧАЕС, ЗАЛЕЖНО ВІД АМІНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ СТРОМАЛЬНИХ ФІБРОБЛАСТІВ КІСТКОВОГО МОЗКУ ТА ПОКАЗНИКІВ МІЄЛОГРАМИ

Мета. Вивчення амінокислотного складу стромальних фібробластів кісткового мозку та показників гемограми у дітей з гострими лімфобластними лейкеміями, які зазнали впливу іонізуючого випромінення внаслідок Чорнобильської аварії, для оцінки медіани виживаності.

Матеріали та методи. Обстежено 54 хворих на гострі лімфобластні лейкемії, жителів Київської, Житомирської та Чернігівської областей України. Вивчали ефективність колонієутворюючих одиниць фібробластів кісткового мозку та амінокислотний склад фібробластів. Дослідження кісткового мозку проводились на 33-й день хіміотерапії та після закінчення лікування; оцінювали медіану виживаності хворих та дози опромінення.

Результати. У дітей з гострими лейкеміями ефективність стромальних фібробластів кісткового мозку в 2–2,3 раза нижча, порівняно з нормативною. Встановлено кореляційний зв'язок (r_s = +0,83) між числом еритроїдних клітин-попередників у кістковому мозку та вмістом проліну в стромальних фібробластах. Доведено кореляційну залежність між медіаною виживаності хворих та числом гранулоцитів в мієлограмі (r_s = +0,82). Дози опромінення хворих складали (5,86 ± 1,11) м3в і не корелювали з показниками мієлограми, ефективністю колонієутворення стромальних фібробластів та медіаною виживаності.

Висновки. Медіана виживаності хворих на гострі лейкемії залежить від вмісту амінокислот у стромальних фібробластах кісткового мозку та процесів відновлення кістковомозкового кровотворення після проведення хіміотерапії.

Ключові слова: діти, гострі лімфобластні лейкемії, гемопоез, стромальні фібробласти, амінокислоти в сечі та фібробластах, медіана виживаності.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2015. Вип. 20. С. 311–318.

✉ Бруслова Катерина Михайлівна, e-mail: katerina142@ukr.net

ISSN 2304-8336. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології = Problems of radiation medicine and radiobiology. 2015. Вип. 20.

V. G. Bebeshko[1], K. M. Bruslova[1]✉, N. M. Tsvyetkova[1], T. T. Volodina[2], T. I. Pushkarova[1], L. O. Lyashenko[1], L. M. Panchenko[1], S. M. Iatsemirskii[1]

[1]State Institution "National Research Center for Radiation Medicine of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Melnikova str., 53, Kyiv, 04050, Ukraine
[2]Institute of Biochemistry A.V. Palladina National Academy of Sciences of Ukraine, Leontovich str., 9, Kyiv, 04119, Ukraine

Evaluation of median survival patients with acute lymphoblastic leukemia exposed to ionizing radiation by the Chornobyl accident, depending on the aminoacid composition of stromal fibroblasts bone marrow and indicators of myelogram

Objective. To investigate the aminoacid composition in the stromal fibroblasts of bone marrow and indexes of hemogram in children with acute lymphoblastic leukemias, which exposed to radiation from the Chornobyl accident, for evaluation of the median survival.

Materials and methods. In the study 54 patients with acute lymphoblastic leukemia, residents of Kyiv, Zhytomyr and Chernihiv regions of Ukraine were involved. Effectiveness of stromal fibroblasts colony forming units of bone marrow and aminoacid composition of fibroblasts were studied. Bone marrow examination was conducted on day 33 and after stop of chemotherapy, the median survival of patients and exposure dose were evaluated.

Results. In children with acute leukemias effectiveness of stromal fibroblasts of bone marrow was 2–2.3 times lower than normative. Correlation (r_s = +0.83) between the number of erythroid progenitor cells in the bone marrow and proline content in stromal fibroblasts established . The correlation between patients median survival and number of granulocytes in myelogram (r_s = + 0.82) was proven. Mean exposure doses in patients was (5.86 ± 1.11) mSv and it did not correlate with myelogram results, effectiveness of stromal fibroblasts of bone marrow and median survival.

Conclusions. The median survival of patients with acute leukemias depends on the content of amino acids in stromal fibroblasts of bone marrow and recover of hematopoiesis after chemotherapy.

Key words: children, acute lymphoblastic leukemias, hematopoiesis, stromal fibroblasts, amino acids in the urine and fibroblasts, median survival.

Problems of radiation medicine and radiobiology. 2015;20:311-318.

ВСТУП

Після Чорнобильської аварії частота змін в опорно-руховому апараті у дітей підвищилась. Доведено, що процеси функціонування кісткового мозку, як центрального органу гемопоезу, залежать від стану стромального мікрооточення [1, 2]. Стромальні фібробласти відтворюють процеси колагеноутворення, підтримують структурну цілісність сполучної тканини та відповідають за стан гемопоетичного мікрооточення [3, 4]. Зміни у складі амінокислот, що формують колаген, можуть призводити до розвитку проявів мієлодисплазії, тривалого відновлення кістково-мозкового кровотворення після проведення програмної хіміотерапії та несприятливого перебігу гострих лейкемій у дітей.

Майже немає робіт, де йдеться про вплив малих доз опромінення, які були характерні для Чорнобильської аварії, на перебіг гострої лейкемії у дітей залежно від стану фібробластоутворення та показників гемопоезу.

INTRODUCTION

After Chornobyl accident the frequency changes in musculoskeletal apparatus in children increased. There were proved that bone marrow functioning processes as hematopoiesis central authority depends on stromal microenvironment state [1, 2]. Stromal fibroblasts collagen executing the reproducing processes, maintain the structural integrity of connective tissue and are responsible for the state of the hematopoietic microenvironment [3, 4]. Changes in amino acids that form collagen, can lead to the development of myelodisplasia, long-term recovery of bone marrow hematopoiesis after chemotherapy program and unfavorabl acute leukemia in children.

Almost no works which deals with the influence of small irradiation doses that were characteristic of the Chornobyl accident on the course of acute leukemia in children depending on the fibrablasts-forming condition and performance of hematopoiesis.

МЕТА

Метою роботи було вивчення амінокислотного складу стромальних фібробластів кісткового мозку та показників гемограми у дітей з гострими лімфобластними лейкеміями, які зазнали впливу іонізуючого випромінення внаслідок Чорнобильської аварії, для оцінки медіани виживаності.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Нами було обстежено 54 хворих на гострі лімфобластні лейкемії (ГЛЛ) віком від 3 до 16 років. Хлопчиків було 26, дівчат – 28. Всі хворі проживали після Чорнобильської аварії в найбільш забруднених регіонах Київської, Житомирської та Чернігівської областей України. Діти, хворі на ГЛЛ, лікувались за стандартним протоколом (BFM-ALL-2009). Діагноз ГЛЛ базувався на оцінці морфологічних ознак клітин кісткового мозку і субпопуляційного складу імунокомпетентних клітин та експресії поверхневих антигенів за імунологічними маркерами (дослідження проводились у відділі клінічної імунології ІКР (керівник відділу, чл.-кор. НАМН України Д. А. Базика).

При встановленні діагнозу у хворих в мієлограмі превалювали лімфобластні клітини – (88,6 ± 8,7) %. З урахуванням протоколу лікування для визначення тактики подальшої терапії повторні дослідження кісткового мозку проводились в динаміці: на 33-й день хіміотерапії (ХТ) та після закінчення курсу лікування. В цей період спостереження у хворих була констатована клініко-гематологічна ремісія. Враховуючи відновлення показників кісткового мозку у дітей з ГЛЛ після ерадикації пухлинного клону, приймались до уваги результати мієлограм на 33-й день ХТ та після повного курсу лікування (68,7 ± 3,6 тижнів). Враховували медіану виживаності хворих: до 60 міс. та більшу за 60 міс.

Ефективність клонування колонієутворюючих одиниць фібробластів кісткового мозку (ЕКУОф) оцінювали за методикою О. Я. Фріденштейна [5] в модифікації В. С. Астахової [6, 7]. Амінокислотний склад стромальних фібробластів кісткового мозку визначався у змивах колонієутворюючих одиниць фібробластів кісткового мозку з культурального середовища. Лізували клітини шляхом заморожування і відтаювання. Відокремлювали строму клітин від внутрішньоклітинного матриксу шляхом центрифугування. Отримували осад (строму клітин) і надосадову субстанцію – внутрішньоклітинний вміст, тобто суміш вільних амінокислот. Склад вільних амінокислот визначався на амінокислотному аналізаторі

OBJECTIVE

To investigate the amino acid composition in the stromal fibroblasts of bone marrow and indexes of hemogram in children with acute lymphoblastic leukemias, which exposed to radiation from Chornobyl accident, for evaluation of median survival of the patients.

MATERIALS AND METHODS

We examined 54 patients with acute lymphoblastic leukemias (ALL) aged 3 to 16 years. There were 26 boy sand 28 girls. All patients lived after Chornobyl accident in the most contaminated regions of Kyiv, Zhytomyr and Chernihiv regions of Ukraine. Children patients with ALL treated on a standard protocol (BFM-ALL-2009). The diagnosis of acute lymphoblastic leukemia based on an assessment of morphological characteristics of bone marrow cells and subpopulation composition of immune cells and expression of surface antigens for immunological markers (research conducted at the Department of Clinical Immunology (cheaf – Corresponding Member NAMS DM, Prof. D. A. Bazyka).

At the time of diagnosis lymphoblastic cells (88.6 ± 8.7 %) prevailed in patients myelogram. Subject to the treatment protocol to determine further treatment strategy the bone marrow was repeatedly studied: 33 day and after end of chemotherapy (CT). During this period of observation the clinical and hematological remission in patients was established. Taking into consideration the restore of bone marrow performance of children with ALL after eradication of the tumor clone the results of myelogram on the 33 day CT and after the full course of treatment (68.7 ± 3.6 weeks) were taken into account. Analysis of patients with median survival up to 60 months and more than 60 months was executed.

The cloning efficiency of fibroblast colony-forming units in bone marrow (E-CFUf) executed by O. Y. Fridenshteyn method in V. S. Astakhova modification [5–7]. Amino acid composition of stromal fibroblasts was determined in flushing of bone marrow fibroblast colony-forming units from the culture medium. Cells were lysed by freezing and thawing. Stroma cells were separated from the intracellular matrix by centrifugation. The precipitate (stroma cells) and supernatant substance (intracellular content that is a mixture of free amino acids) were obtained. The composition of free amino acids were determined by amino acid analyzer T-339 (Czech Republic). The elements

ISSN 2304-8336. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології = Problems of radiation medicine and radiobiology. 2015. Вип. 20.

типу Т-339 (Чехія). Елементи мієлограми підраховувались у світловому мікроскопі (збільшення х900) після забарвлення мазків кісткового мозку за Романовським-Гімзою. Аналізувались також результати гемограми дітей, визначених на гемоаналізаторі НЕ-7000 (Sysmex, Японія); біохімічні показники крові досліджувались на аналізаторі Humostar-600 (Німеччина).

Були враховані дози іонізуючого випромінення на кістковий мозок та поверхню кісток у 19 хворих на ГЛЛ [8] та у 35 хворих були розраховані дози згідно з [9]. Обробка отриманих матеріалів проводилась за методами математичної статистики (коефіцієнт кореляції Ст'юдента, Спірмена, U-критерій).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Результати отриманих даних показали, що у дітей, хворих на ГЛЛ (n = 54), ефективність стромальних фібробластів у культурах кісткового мозку (ЕКУОф) була в 2–2,3 раза нижчою, порівняно з культурами пацієнтів без онкогематологічної патології (n = 14). На 33-й день ХТ показник ЕКУОф становив (18,3 ± 1,2), тоді як у осіб групи порівняння він дорівнював (46,1 ± 3,0) серед 105 ядровмісних клітин (табл. 1). Після проведення ХТ у дітей ЕКУОф практично не змінювалась і не досягала нормативних значень.

of myelogram were counted in the light microscope (increase x 900) after staining of bone marrow smears by Romanovsky-Himza. The results of children haemograms which were identified at hemoanalyzer HE-7000 (Sysmex, Japan) were analyzed; blood biochemical parameters were investigated on the analyzer Humostar-600 (Germany).

Radiation doses on the bone marrow and bone surface in 19 ALL patients [8] were considered and in 35 patients werecalculated according [9]. Processing of received data was held by the methods of mathematical statistics (Student's and Spearman's correlation coefficient, U-test).

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the data showed that in children with ALL (n=54), the effectiveness of stromal fibroblasts in cultures of bone marrow (E-CFUf) was 2–2.3 times lower in comparison with the cultures of patients without hematologic pathology (n =14). On 33rd day of CT the E-CFUf index was 18.3 ± 1.2, while in the comparison group it was equal to 46.1 ± 3.0 in 105 nucleated cells (Table 1). After chemotherapy E-CFUf in children practicaly remain unchanged and did not reach the normative values.

Таблиця 1

Показники ЕКУОф у хворих на ГЛЛ залежно від періоду захворювання (M ± m)

Table 1

E-CFUf in patients with ALL considering the period of the disease (M+m)

Групи дітей / період захворювання Groups of children / period of the disease	ЕКУОф кісткового мозку серед 10^5 ядровмісних клітин E-CFUf bone marrow among 10^5 nucleated cells
Діти з ГЛЛ (на 33-й день ХТ) / children with ALL (on 33rd day CT)	18,3 ± 1,2*
Діти з ГЛЛ (після ХТ) / children with ALL (after CT)	16,7 ± 1,6*
Діти групи порівняння / children of comparison group	46,1 ± 3,0

Примітка. * – достовірні відмінності від показників групи порівняння, $p < 0,05$.
Note. * – difference between the indices relative to the comparison group ($p < 0,05$).

Нами не виявлено кореляційного зв'язку між ЕКУОф у хворих на ГЛЛ та загальною кількістю еритроїдних, гранулоцитарних, мегакаріоцитарних елементів в кістковому мозку, а також медіаною виживаності хворих.

Склад амінокислот у стромальних фібробластах кісткового мозку у хворих на ГЛЛ вивчався після закінчення ХТ в період клініко-гематологічної ремісії (табл. 2). У складі амінокислот був відсутній оксипролін – маркер, що підтверджує здатність фібробластів синтезувати колаген.

We found no correlation between E-CFUf and total amount of erythroid, granulocyte, megakariocyte cellular elements in the bone marrow and also with a median survival rate of ALL patients.

The composition of amino acids in bone marrow stromal fibroblasts of ALL patients after the end of CT was studied in time the clinical-hematological remission (Table 2). Hydroxyproline i.e. a collagen marker, proving the ability of fibroblasts to synthesize collagen was absent in the amino acid profile.

Таблиця 2
Вміст амінокислот у стромальних фібробластах у хворих на ГЛЛ (M ± m)

Table 2
The content of amino acids in stromal fibroblasts from patients with ALL (M ± m)

Амінокислоти, мкмоль/л Amino acids, μmol/l	АК з фібробластів кісткового мозку, n = 27 Amino acids in fibroblasts from bone marrow, n-27
Лізин / lysine	12,3 ± 2,0
Оксипролін / hydroxyproline	–
Аспарагінова кислота / aspartic acid	1,18 ± 0,21
Глютамінова кислота / glutamic acid	8,2 ± 2,0
Пролін / proline	1,6 ± 0,17
Гліцин / glycine	3,92 ± 0,08
Тирозин / tyrosine	5,2 ± 1,3

Результати кореляційного аналізу між числом еритроїдних клітин-попередників у кістковому мозку (проеритробластів, еритробластів, нормоцитів) та вмістом проліну в стромальних фібробластах у хворих на ГЛЛ у фазі ремісії свідчать про прямий зв'язок (r_s = +0,83), що є доказом впливу мікрооточення на процеси функціонування кровотворення. Дисбаланс таких амінокислот як лізин, пролін, гліцин, що формують колаген, може впливати на чисельність елементів еритроїдної ланки гемопоезу та призводити до розвитку проявів мієлодисплазії. Нами не було встановлено зв'язку між амінокислотним складом фібробластів, показниками мієлограми та медіаною виживаності хворих на ГЛЛ.

В подальшому ми проаналізували стан паростків кровотворення залежно від процесів відновлення гемопоезу: на 33-й день проведення ХТ та після повного курсу лікуван-ня в період ремісії (табл. 3). У дітей

Results of correlation analysis between the number of bone marrow erythroid progenitor cells (proerytroblasts, erythroblasts, normocytes) and proline content in stromal fibroblasts in ALL remission phase proved a direct relationship (r_s = + 0.83), which is evidence of the influence of the microenvironment processes to functioning of hematopoiesis. The imbalance of amino acids such as lysine, proline and glycine which are forming collagen, may affect the number of erythroid branch elements and lead to myelodysplasia manifestations. We have not established correlation between the amino acid profile of fibroblasts, bone marrow cells evaluation and the median survival of patients with ALL.

Than the state of all hematopoietic lineages was analyzed depending on recovery processes of bone marrow in 33rd day of chemotherapy and after end of the treatment in remission (Table 3). In children

Таблиця 3
Показники мієлограми у хворих на ГЛЛ залежно від строків ХТ

Table 3
Myelogram results of patients with ALL considering the term of CT

Показники мієлограми / myelogram indices	На 33-й день ХТ / 33rd day of CT	Після курсу ХТ / after CT
Мієлокаріоцити, Г/л // myelokariocytes, G/L	203,0 ± 9,6*	123,4 ± 11,3
Гранулоцити (всі), % // granulocytes (all), %	56,3 ± 4,5	54,0 ± 3,1
Гранулоцити (промієлоцити, мієлоцити, метамієлоцити), % Granulocytes (promyelocytes, myelocytes, metamyelocytes), %	14,0 ± 1,6	16,3 ± 2,0
Еритроїдні елементи (всі), % // erythroid elements (all)	25,8 ± 1,4*	31,6 ± 1,7
Еритроїдні елементи (проеритробласти), % Erythroid elements (proerytroblastes), %	1,3 ± 0,1*	0,87 ± 0,2
Лімфоцити, % // lymphocytes , %	9,6 ± 1,2	9,4 ± 1,1
Моноцити, % // monocytes, %	5,3 ± 0,9	4,9 ± 0,8
Мегакаріоцити, % // megakaryocytes, %	0,9 ± 0,1	1,0 ± 0,1

Примітка. * – різниця між показниками під час і після курсу ХТ ($p < 0,05$).
Note. * – difference between the indices ($p < 0,05$).

ISSN 2304-8336. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології = Problems of radiation medicine and radiobiology. 2015. Вип. 20.

Таблиця 4
Дози опромінення хворих на ГЛЛ та медіана виживаності

Table 4
Exposure dose in patients with ALL and median survival

Дози опромінення Exposure dose	До 5 мЗв, n = 48 Up to 5 mSv, n = 48	До 10 мЗв, n = 3 Before 10 mSv, n = 3	За 35,0 мЗв, n = 3 More 35.0 mSv, n = 3
Медіана виживаності, міс. Median survival, month	68,2 ± 4,6	61,2 ± 2,2	Більша за 76 Over 76

з ГЛЛ після курсу ХТ число мієлокаріоцитів та еритроїдних елементів в мієлограмі було нижчим, порівняно з 33-м днем лікування ($p < 0,05$). Хоча кількість клітин-попередників еритроїдної ланки була вища, ніж після закінчення курсу терапії: (1,3 ± 0,1) проти (0,87 ± 0,2) %. Решта показників мієлограми в обидва періоди спостереження не відрізнялись.

Індивідуальна оцінка показників мієлограми у дітей показала, що в кістковому мозку у половини хворих на ГЛЛ превалювали клітини еритроїдної ланки гемопоезу – (38,8 ± 3,2) %), у інших – в однаковій мірі відновлювались як еритроїдні, так і гранулоцитарні елементи: (32,5 ± 2,7) та (36,6 ± 3,1) %, відповідно.

Цікаві дані отримані при визначенні медіани виживаності хворих на ГЛЛ після закінчення ХТ залежно від розподілу еритроїдних, гранулоцитарних та мегакаріоцитарних елементів у кістковому мозку. Так, ми встановили прямі кореляційні залежності між медіаною виживаності дітей з ГЛЛ та числом гранулоцитів в мієлограмі ($r_S = +0,82$); числом мієлокаріоцитів та гранулоцитів ($r_S = +0,49$) і числом мієлокаріоцитів та мегакаріоцитів ($r_S = +0,37$). Це вказує на те, що перспектива сприятливого прогнозу перебігу і шанс на виживання кращі у хворих за наявності відновлення гранулоцитарного паростка кровотворення. Крім того, частота інфекційних ускладнень у хворих при нормативній кількості нейтрофілів кісткового мозку значно менша, ніж у пацієнтів з нейтропеніями та тромбоцитопеніями (в 2,8 раза).

Дози опромінення дітей з ГЛЛ знаходились в межах від 0,12 до 35,0 мЗв (середні величини коливались в межах (5,86 ± 1,11) мЗв). Розподіл дітей за дозами опромінення був таким: до 3,0 мЗв було 48 дітей; до 10,0 мЗв – три хворих; від 10,0 до 35,0 мЗв – три дитини (табл. 4).

Однак, дози опромінення дітей, хворих на ГЛЛ, не корелювали з показником ЕКУОф, показниками мієлограми та медіаною виживаності.

with ALL after the end of CT course the number of myelokariocytes and erythroid elements were lower vs. these data on 33rd day of treatment ($p < 0.05$). Although the number of erythroid progenitor cells was higher than at the end of therapy: (1.3 ± 0.1) % vs (0.87 ± 0.2) %. Other BM aspiration data in both observation period did not differ.

Individual evaluation of children myelogram showed that in half of ALL cases the erythroid cells in bone marrow prevailed – (38.8 ± 3.2) %, while others patients had equally restored as erythroid and so granulocytic elements in bone marrow: (32.5 ± 2.7 %) and (36.6 ± 3.1 %) respectively.

Interesting results were obtained when determining the median survival of patients with ALL after CT was done depending on the distribution of elements of all three hemopoietic lineages of the bone marrow. Thus, we found direct correlations between children with ALL median survival and their granulocytes amount ($r_S = +0.82$); myelokariocytes and granulocytes amount ($r_S = +0.49$) and myelokariocytes and megakaryocytes amount in myelogram ($r_S = +0.37$). These suggests that the perspective of favorable prognosis and the best chance of survival have patients with evidences of granulocyte hemopoietic line recovery after CT. In addition, the frequency of infectious complications in patients with a normal number of bone marrow neutrophils is significantly lower than in patients with neutropenia and thrombocytopenia (2,8 times).

Irradiation doses in children with ALL vary in the range of 0.12 to 35.0 mSv (mean values ranged (5.86 ± 1.11) mSv)). Distribution of children with irradiation dose were as follows: to 3.0 mSv were 48 children; to 10.0 mSv – three patients; from 10.0 to 35.0 mSv – three children (Table 4).

However, value of radiation doses of children with ALL did not correlate with their E-CFUf, myelogram rates and median survival of patients.

ВИСНОВКИ

1. За результатами наших досліджень дози опромінення дітей з ГЛЛ були в межах від 0,12 до 35,0 мЗв (середні величини дорівнювали (5,86 ± 1,81) мЗв) і не впливали на медіану виживаності хворих та показники мієлограми.
2. У хворих на ГЛЛ ефективність колонієутворюючих одиниць стромальних фібробластів була нижчою як на 33-й день ХТ, так і після проведення ХТ, в порівнянні з дітьми без онкогематологічної патології. Не виявлено кореляційного зв'язку між ефективністю колонієутворюючих одиниць стромальних фібробластів у дітей з ГЛЛ, показниками мієлограми та медіаною виживаності.
3. Встановлено прямий кореляційний зв'язок високого ступеня між числом еритроїдних клітин-попередників у кістковому мозку (проеритробластів, еритробластів, нормоцитів) та вмістом проліну в стромальних фібробластах хворих на ГЛЛ (r_s = +0,83).
4. Доведено, що відновлення клітинності кісткового мозку у хворих на ГЛЛ відбувається за рахунок елементів еритроїдної ланки гемопоезу або у сполученні з гранулоцитарними попередниками. Встановлена пряма кореляційна залежність між медіаною виживаності дітей з ГЛЛ та числом гранулоцитів у мієлограмі (r_s = +0,82).

CONCLUSIONS

1. The results of our studies testify that irradiation doses for children with ALL were in the range of 0.12 to 35.0 mSv (average value (5.86 ± 1.11) mSv) and did not affect the median survival of patients and their myelogram performance.
2. The effectiveness of stromal fibroblasts colony forming units was lower in patients with ALL at 33rd day of treatment and after end of chemotherapy, compared with children without hematologic diseases. There were no correlation between the effectiveness of stromal fibroblasts colony forming units, myelogram data and median survival in children with ALL.
3. Direct correlation between the number of erythroid progenitor cells in the bone marrow (proerythroblasts, erythroblasts, normotcytes) and proline content in stromal fibroblasts of patients with ALL was established (r_s = + 0,83).
4. It was shown, that recovery of bone marrow cellularity in ALL patients occurs due to elements of erythroid branch of hematopoiesis or their combination with granulocyte predecessors. Direct correlation between the median survival of children with ALL and the number of granulocytes in their myelogram (r_s = + 0,82) established.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Ding L. Haematopoietic stem cells and early lymphoid progenitors occupy distinct bone marrow niches / L. Ding, S. Morrison // Nature. – 2013. – Vol. 495, no. 7440. – P. 231–235.

2. Reconstitution of bone-like matrix in osteogenically differentiated mesenchymal stem cell-collagen constructs: A three-dimensional in vitro model to study hematopoietic stem cell niche [Electronic resource] / W. Lai, Y. Li, S. Mak [et al.] // J. Tissue Eng. – 2013. – Vol. 4:20417314 13508668. – Available from : http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3927755/pdf/10.1177_2041731413508668.pdf. – doi: 10.1177/2041731413508668. eCollection 2013.

3. Konopleva M. Leukemia stem cells and microenvironment: biology and therapeutic targetin / M. Konopleva, C. Jordan // J. Clin. Oncol. – 2011. – Vol. 29, no. 5. – P. 591–599.

4. Becker P. Dependence of acute myeloid leukemia on adhesion within the bone marrow microenvironment [Electronic resource] // ScientificWorldJournal. – 2012. – Vol. 2012. – Art. ID 856467. – Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3259714/. – doi: 10.1100/2012/856467.

5. Фриденштейн А. Я. Индукция костной ткани и остеогенные клетки-предшественники / А. Я. Фриденштейн, К. С. Лалыкина. – М. : Медицина, 1973. – 223 с.

6. Астахова В. С. Свойства стромальных клеток-предшественников костного мозга при ортопедо-травматологической патологии и перс-

REFERENCES

1. Ding L, Morrison S. Haematopoietic stem cells and early lymphoid progenitors occupy distinct bone marrow niches. Nature. 2013;495(7440):231-5.

2. Lai W, Li Y, Mak S, Ho F, Chow S, Chooi W, et al. Reconstitution of bone-like matrix in osteogenically differentiated mesenchymal stem cell-collagen constructs: A three-dimensional in vitro model to study hematopoietic stem cell niche. J Tissue Eng [Internet]. 2013 Oct 10;4:2041731413508668. doi: 10.1177/2041731413508668. eCollection 2013. Available from : http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3927755/pdf/10.1177_2041731413508668.pdf.

3. Konopleva M, Jordan C. Leukemia stem cells and microenvironment: biology and therapeutic targetin. J Clin Oncol. 2011;29(5):591-9.

4. Becker PS. Dependence of acute myeloid leukemia on adhesion within the bone marrow microenvironment. ScientificWorldJournal [Internet]. 2012;2012:856467. doi: 10.1100/2012/856467. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3259714/. - doi: 10.1100/2012/856467.

5. Fridenstein AYa, Lalykina KS. [Induction of bone and osteogenic progenitor cells]. Moscow: Meditsina; 1973. 223 p. Russian.

6. Astakhova VS. [The properties of stromal cell precursors in the bone marrow orthopedic trauma pathology and the prospects for

ISSN 2304-8336. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології = Problems of radiation medicine and radiobiology. 2015. Вип. 20.

пективы их клинического использова-ния : автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.22, 14.01.29 / В. С. Астахова ; УкрНИИ травма-тологии и ортопедии, Киев. – К., 1988. – 32 с.

7. Астахова В. С. Остеогенные клетки-предшественники костного мозга человека / В. С. Астахова. – К. : Феникс, 2000. – 176 с.

8. Дозы облучения красного костного мозга и клеток поверхности кости у детей с острыми лейкемиями / В. Г. Бебешко, В. С. Репин, С. Ю. Нечаев [и др.] // Международная конференция "Медико-биологические проблемы действия радиации" : тезисы докладов. Москва, 10–11 апреля 2012 г. – М. : ФГУ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, 2012. – С. 29.

9. Ретроспективно-прогнозні дози опромінення населення та загальнодозиметрична паспортизація 1997 р. населених пунктів України, що зазнали радіоактивного забруднення внаслідок Чорнобильської аварії аварії. Узагальнені дані за 1986-1997 рр. Збірка 7 / під ред. І. А. Ліхтарьова. – Київ : МОЗ України, 1998. – 155 с.

their clinical use] [theses of dissertation]. Kyiv: Ukrainian Institute of Traumatology and Orthopedics; 1988. 32 p. Russian.

7. Astakhova VS. [Osteogenic precursor cells of human bone marrow]. Kyiv: Feniks; 2000. 176 p. Russian.

8. Bebeshko VG, Repin VS, Nechaev SYu, Bruslova EM, Tsvetkova NM, Kuznetsova YeYe. [Radiation doses to the red bone marrow and the bone surface cells in children with acute leukemia]. In: International conference "Medical and Biological Problems of radiation action": Abstracts; 2012 Apr 10-11; Moscow, Russia. Moscow: Federal State Institution "Federal Medical Biophysical Center of Al Burnazyan FMBA of Russia"; 2012. p. 29. Russian.

9. Likhtariov IA, editor. [Retrospective-projected population exposure and general dosimetry certification in 1997 settlements of Ukraine, contaminated Chornobyl accident. Summary data for the 1986-1997 biennium]. Collection 7. Kyiv: Ministry of Health of Ukraine; 1998. 155 p.

Стаття надійшла до редакції 5.09.2015 *Received: 5.09.2015*