DOI: 10.26693/jmbs04.06.110
УДК 616.155.392.2: 616–053.2.036. 053

Бебешко В. Г., Бруслова К. М., Цветкова Н. М., Пушкарьова Т. І., Дмитренко І. В.

ВПЛИВ ОТОЧУЮЩОГО СЕРЕДОВИЩА НА СТАН ГЕМОПОЕЗУ, РОЗВИТОК І ПЕРЕБІГ ГОСТРИХ ЛЕЙКЕМІЙ У ДІТЕЙ ПІСЛЯ АВАРІЇ НА ЧАЕС

ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України», Київ, Україна

katerina142@ukr.net

Мета дослідження – розробка критеріїв формування групи ризику з онкогематологічної патології серед дитячого населення, яке зазнає дії несприятливих чинників довкілля, на підставі даних генеалогії, клініко–гематологічних характеристик, структурних змін кісткової тканини та особливостей перебігу гострих лейкемій.

Обстежено 145 хворих на гострі лейкемії. Оцінювали генеалогію дітей, гематологічні показники, варіанти та прогноз перебігу лейкемій. Вивчали рівень кортизолу, тиреотропного гормону гіпофізу, остеокальцину та феритину в сироватці крові, число колонієутворюючих одиниць стромальних фібробластів кісткового мозку, екскрецію амінокислот та фосфатів кальцію в сечі, лужну фосфатазу, щільність кісткової тканини. Вплив негативних чинників довкілля оцінювали за ступенем інтегрального забруднення територій (помірна, забруднена, дуже та надзвичайно забруднена).

Встановлені вікові періоди, інтенсивного росту (до 6 років та після 12 років), характерні для захворювання дітей на гострі лейкемії. Визначено вплив хвороб у родоводі на особливості перебігу захворювання. В гострий період гострих лейкемій у 55,2% діагностували нормохромно–нормоцитарні анемії. Число лейкоцитів вище за 100,0 Г/л було у 6,9%. Проліферативна активність колонієутворюючих одиниць стромальних фібробластів кісткового мозку вища за 70,0 та нижча за 11,0 на 10^5 ядровмісних клітин співпадала з більш короткою виживаністю хворих. За вмістом амінокислот, які входять до складу колагена, в організмі превалювали катаболічні процеси над анаболічними. Рівень лужної фосфатази нижчий за 200 Од/л в сироватці крові співпадав з низькою кількістю колонієутворюючих одиниць стромальних фібробластів кісткового мозку (rs = 0,48). Коротка виживаність хворих корелювала з показником денситометрії нижчим за 65 ум.од. Встановлений зворотний кореляційний зв'язок між показником денситометрії та лужною фосфатазою (rs = – 0,44). Остеокальцин у дітей з гострими лейкеміями в усі періоди був знижений. У 25,0% хворих на гострі лімфобластні лейкемії рівень кортизолу в ініціальний період був на 25–30% нижчий за нормативний, що співпадало з більш короткою виживаністю та вірогідністю розвитку рецидиву захворювання. У жителів дуже та надзвичайно забруднених територій відмічався несприятливий перебіг гострих лейкемій порівняно з мешканцями помірно та забруднених територій.

Сформовані критерії групи підвищеного ризику з онкогематологічної патології серед дітей, які знаходяться під тиском чинників оточуючого середовища, та надана ієрархічна структура показників, які впливають на зміни в кістковій тканині і кістковомозковому мікрооточенні, та відіграють важливу роль в механізмах лейкозогенезу, що є підґрунтям для подальших наукових досліджень.

Ключові слова: лейкемії, структура кісток, прогноз, довкілля, групи ризику.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дане дослідження є частиною НДР «Вплив стромального мікрооточення та його ендокринної регуляції на кістковомозковий гемопоез і стан кісткової тканини у дітей з гострими лейкеміями, які зазнають дії несприятливих факторів Чорнобильської аварії», № державної реєстрації 0115U002695.

Вступ. Чинники оточуючого середовища мають негативний вплив на здоров'я людей і привертають увагу всього суспільства [1]. Діти є найбільш вразливою частиною популяції з приводу підвищеної чутливості організму до впливу різних факторів, в тому числі негативних чинників довкілля, особливо в періоди інтенсивного росту дітей [2]. Крім того, проблема хворої дитини в родині має важливе соціальне значення [3]. Канцерогенні ефекти у дітей, зокрема лейкемії, можуть залежати від впливу екологічних чинників, в тому числі малих доз радіації, і при цьому необхідно враховувати гетерогенність дитячого контингенту, серед якого є особи з різною

чутливістю до репарації ушкоджених структур [4, 5]. Суттєву роль при цьому відіграє стан органічної та мінеральної складової кісткової тканини як елемент кістковомозкового мікрооточення [6]. Встановлені зміни в показниках ендокринної системи у дітей, які можуть бути промоторами лейкемій та впливати на перебіг онкогематологічних захворювань [7]. Тому формування групи підвищеного ризику з онкогематологічної патології серед дитячого населення, яке зазнає несприятливої дії чинників довкілля, є актуальним.

Мета дослідження: розробка критеріїв формування групи ризику з онкогематологічної патології серед дитячого населення, яке зазнає побічної дії несприятливих чинників довкілля, на підставі даних генеалогії, клініко–гематологічних характеристик, структурних змін кісткової тканини та особливостей перебігу гострих лейкемій.

Матеріал та методи дослідження. Обстежено 228 дітей –145 хворих на гострі лейкемії (ГЛ) та 83 особи групи порівняння без онкогематологічної патології, мешканців Київської, Житомирської та Чернігівської областей України (хлопчиків – 126, дівчат – 102). Гостра лімфобластна лейкемія (ГЛЛ) діагностувалась у 104 осіб, гостра мієлобластна лейкемія (ГМЛ) – у 41 дитини. Вік дітей коливався від одного до 18 років. Обстеження та лікування хворих проводилось у відділенні радіаційної гематології дитячого віку клініки ННЦРМ з 1996 по 2018 рр.

Дослідження виконані з дотриманням основних положень «Правил етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участю людини», затверджених Гельсінською декларацією (1964–2013 рр.), ICH GCP (1996 р.), Директиви ЄЕС № 609 (від 24.11.1986 р.), наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р., № 944 від 14.12.2009 р., № 616 від 03.08.2012 р. Батьки або родичі пацієнтів підписували інформовану згоду на участь у дослідженні, і вжиті всі заходи для забезпечення анонімності пацієнтів.

Вивчали субпопуляційний склад імунокомпетентних клітин та експресію поверхневих антигенів за імунологічними маркерами (дослідження проводили у відділі клінічної імунології ІКР (завідувач відділу, академік НАМН України Д.А. Базика).

Оцінювали генеалогію дитини (хвороби в родоводі), клініко–гематологічні характеристики, прогноз перебігу гострих лейкемій (виживаність, результат захворювання – жива дитина чи померла). Враховували наступні варіанти лейкемій: Т–ГЛЛ, В–ГЛЛ (про–В, «загальний» тип, пре–В). У хворих на ГМЛ діагностували варіанти з мінімальним диференціюванням (М0), без дозрівання (М1), ГМЛ з дозріванням (М2), промієлоцитарний (М3), мієломоноцитарний (М4). та монобластний (М5). Діти, хворі на ГЛ, отримували хіміотерапію (ХТ) за адаптованими в Україні сучасними протоколами.

Мієлограми вивчали в мазках кісткового мозку, забарвлених за Романовським–Гімзою, і досліджували в світловому мікроскопі (збільшення n ´ 900). Кількісні показники елементів периферичної крові у дітей отримували на гемоаналізаторі Micro CC–18 (США). Рівень кортизолу, тиреотропного гормону гіпофізу (ТТГ), остеокальцину та феритину в сироватці крові вивчали за допомогою радіоімунного методу (RIA–Kits). Число колонієутворюючих одиниць стромальних фібробластів кісткового мозку (КУОф) in vitro досліджували за методикою О. Я. Фріденштейна в модифікації В. С. Астахової (2006). Склад вільних амінокислот в сечі визначали на амінокислотному аналізаторі типу Т–339 (Чехія), фосфати кальція – в сухому залишку добової сечі за допомогою аналізу інфрачервоних спектрів в спектральному діапазоні 700–2000 $см^{-1}$ з використанням автоматизованого устаткування "ІЧС–31". Біохімічні параметри сироватки крові: загальний білок, лужну фосфатазу (ЛФ), вміст заліза визначали на біохімічному аналізаторі Humostar–600 (Германія). Щільність кісткової тканини досліджували на денситометрі Ultrasonometer Lunar (США) за Т– показниками. Вплив негативних чинників оточуючого середовища оцінювали за ступенем інтегрального забруднення територій: атмосферного повітря, поверхневих вод, ґрунтів (пестицидами, важкими металами: Pb, Cu, Ni, Cr, Mn, Zn, Fe та радіоактивним цезієм ^{137}Cs). Регіони, де проживали діти, поділяли на помірно забруднену територію, забруднену територію, дуже забруднену та надзвичайно забруднену територію за даними Матеріалів Доповіді Міністерства охорони навколишнього природного середовища України «Про стан навколишнього природного середовища…» (2014)**.**

Обробку отриманих матеріалів проводили за методами математичної статистики (коефіцієнт кореляції Ст'юдента, Спірмена, U–test, Манна–Уїтні, метод інтервального оцінювання). Для статистичної обробки даних використовували версію SPSS–18.

Результати дослідження та їх обговорення. Розподіл дітей за імунофенотиповими варіантами ГЛЛ надано в **табл. 1**. У 73,1% хворих встановлений «загальний» тип ГЛЛ, який зустрічався у дітей з однаковою частотою. Інші варіанти лейкемій були практично рівнозначними. «Загальний» тип ГЛЛ частіше був притаманний дітям до 6 років, Т–ГЛЛ – дітям старших за 12 років ($p < 0,05$).

ГМЛ частіше діагностувалась у дітей старших за 6 років. При цьому найбільш часто реєструвалися М1, М2 та М4 варіанти (32 з 41) (**табл. 2**).

Для визначення впливу спадкових факторів на виникнення ГЛ у дітей нами були проаналізовані

Таблиця 1 – Розподіл дітей за віковими групами, статтю та варіантами ГЛЛ

Вікова група, роки		Т–ГЛЛ	В–ГЛЛ			Всього
			про–В	«загальний» тип	Пре–В	
1–6 (хл. – 30, дівч. – 17)		2	2	39	4	47
6–12 (хл. – 13, дівч. – 16)		1	3	22	3	29
↑12 (хл. – 20, дівч. – 8)		7 *	5	15	1	28
Всього	Абс.ч.	10	10	76	8	104
	%	9,6	9,6	73,1	7,7	100,0

Примітка: * – різниця між дітьми ↑12 років та іншим віком при Т– ГЛЛ (p <0,05).

Таблиця 2 – Розподіл дітей за віковими групами, статтю та варіантами ГМЛ

Вікова група, Роки	Варіант ГМЛ							Всього
	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M7	
1–6 (хл. – 4, дівч. – 3)	–	1	3	–	1	–	2	7
6–12 (хл. – 8, дівч. – 6)	2	3	6	–	2	1	–	14
↑12 (хл. – 10, дівч. – 10)	1	3	7	1	6	2	–	20
Всього	3	7*	16*	1	9*	3	2	41

Примітка: * – різниця між кількістю хворих на M1, M2, M4–ГМЛ та особами з іншими варіантами ГМЛ (p <0,05).

У матерів дітей з ГЛ оцінювали число вагітностей, від якої народилась хвора дитина (I, II, III та наступні). Аналіз розподілу вагітності у жінок не виявив суттєвої різниці з групою порівняння (**табл. 5**).

Число вагітностей матері не мало зв'язку з віком їх дітей на час визначення лейкемії. Від патологічної вагітності частіше народжувались хлопчики, ніж дівчата у віці від одного до 6 років (співвідношення хлопчики/дівчата 1,5:1,0).

Переважна більшість дітей народжувалась з масою тіла від 2,5 кг до 4,0 кг як в основній групі, так і групі порівняння (82,4% та 91,6% відповідно). Серед хворих старших за 12 років частка дітей з більшою масою тіла була меншою порівняно з іншими віковими групами (p <0,05). Доречно, що у половини дітей з більшою масою тіла при народженні в родоводі були онкологічні хвороби та алергічні реакції. Діти які народжувались з меншою масою тіла, захворювали в більш ранньому віці, частіше до 6 років в періоді першого витяжіння – найбільш активній фазі росту

хвороби у 724 їх родичів (батьки, бабусі, дідусі) та в 439 дорослих групи порівняння (**табл. 3**).

Показано, що онкологічні хвороби у родоводі дітей реєструвались у 19,3% родичів дітей з гострими лейкеміями, що достовірно перевищувало їх частоту у осіб групи порівняння (9,7%) (p <0,05). Решта патології у родоводі дітей обох груп спостереження не розрізнялась.

Таблиця 3 – Розподіл родичів дітей з гострими лейкеміями та групи порівняння за патологією у родоводі

Патологія у родоводі	Розподіл родичів дітей з ГЛ, n–724		Розподіл родичів дітей групи порівняння, n–439	
	абс.ч.	%	абс.ч.	%
Онкологічні хвороби	140 *	19,3	43	9,7
Ендокринні хвороби	67	9,2	41	9,3
Алергічні реакції	109	15,0	46	10,5

Примітка: *– різниця між показником в межах груп родичів χ^2– 18,1 (p <0,05).

Оцінка патології, яка реєструвалась у дітей за 3–4 роки до встановлення діагнозу ГЛ показала, що у 56,6% хворих були персистуючі вірусні інфекції, прояви конституційного лімфатизму, лімфоцитози. Алергічні реакції спостерігались на продукти харчування, медикаменти, профілактичну вакцинацію тощо). Звертали на себе увагу травми кісток, частота яких була достовірно вища у дітей з ГЛ (17,2% проти 6,0% в групі порівняння (p <0,05) (**табл. 4**).

Таблиця 4 – Частота та вид соматичної патології у дітей до встановлення діагнозу ГЛ

Патологія	Діти з ГЛ, n –145		Група порівняння, n – 83	
	абс.ч	%	абс.ч	%
Часті респіраторні інфекції	32	22,1	24	28,9
Хронічні бактеріальні інфекції	35	24,1	19	22,9
ВПГ, ЦМВ, ЕБВ	82	56,6	34	41,0
Алергічні реакції	19	13,1	11	13,3
Травми кісток	25 *	17,2	5	6,0

Примітка: * – різниця між патологією у дітей різних груп (p <0,05).

Таблиця 5 – Розподіл дітей з лейкеміями за числом вагітностей, від якої вони народились хвора дитина

Вагітність за рахунком	Діти з лейкеміями, n – 145		Група порівняння, n – 83	
	абс.ч	%	абс.ч	%
I	71	49,0	39	47,0
II	49	33,8	27	32,5
III та наступні	25	17,2	17	20,5

кісток, становлення ендокринної та імунної систем організму.

Вади розвитку кісток у хворих дітей спостерігали у 55,8%, м'язові – у 29,8%. В той час як в групі порівняння частота вад кісткової системи була нижча – у 22,7%, а м'язові вади суттєво не розрізнялись і становили у 24,3%. Кількість вад кісткової системи у дітей з ГЛ була вищою, ніж у здорових дітей (4,3±0,2 проти 2,1±0,3).

Щодо ініціальних клінічних проявів лейкемії, то гіперпластичний та осалгічний синдроми реєстрували приблизно у половини хворих, частіше на ГЛЛ, незалежно від їх віку. Хоча у дітей з ГМЛ осалгії були притаманні пацієнтам старшого віку, в періоді другого витяжіння.

У 55,2% діагностували нормохромно–нормоцитарні анемії різного ступеню важкості з нормативним чи підвищеним вмістом заліза та феритину в сироватці крові (22,6±2,4 мкмоль/л та 168,5±12,5 нг/мл відповідно).

Розподіл дітей за початковим числом лейкоцитів в крові показав, що лейкопенія була у 27,6% осіб, число лейкоцитів від 50,0 Г/л – 100,0 Г/л у 8,9%, вище за 100,0 Г/л – у 6,9%.

У хворих О (I) група крові реєструвалась в 33,8%, А (II) – в 40,0%, В (III) – в 22,1% і АВ (IV) – в 4,1% випадках, що відповідає популяційному розподілу населення. Однак ми зазначимо, що у хлопчиків з ГЛЛ віком від 6 до 12 років частіше зустрічалась О (I) група крові (r =0,48).

Нами вивчались показники органічної та мінеральної складової кісткової тканини у дітей як маркерів кістковомозкового мікрооточення в різні фази ГЛ, починаючи з ініціального періоду до початку призначення ХТ. Стромальні фібробласти кісткового мозку відповідають за процеси колагеноутворення, структурну цілісність сполучної тканини, стан гемопоетичного мікрооточення та формують органічну складову кісток. Кількість КУОф як до лікування так і при проведенні ХТ у хворих на ГЛ була значно нижча, ніж у дітей групи порівняння. У хворих на ГЛЛ показник становив 2,8±0,1, у пацієнтів з ГМЛ – 14,9±3,5, осіб групи порівняння – 49,5±4,6 на 10^5 ядровмісних клітин (p <0,05). Доречно зазначити, що висока проліферативна активність КУОф вища за 70,0 та нижча за 11,0 на 10^5 ядровмісних клітин співпадала з більш короткою виживаністю хворих (середня виживаність складала 35,7±2,5 міс та 41,3±3,5 міс. відповідно). Встановлено зворотний кореляційний зв'язок між кількістю колоній КУОф та відсотком еритробластів (rs = –0,52) і моноцитів (rs = –0,41) після закінчення ХТ, незалежно від варіантів захворювання. Це свідчить, що стромальні фібробласти, як елементи мікрооточення, впливають на процеси функціонування гемопоезу в умовах злоякісного процесу.

Проаналізовано вміст амінокислот в сечі, які входять до складу структури колагену, в тому числі кісткового, а саме: лізин, пролін, гліцин, аспарагінова та глютамінова кислоти, а також, маркер деградації колагену оксипролін. На початкових етапах ХТ ГЛ у дітей підвищувалась екскреція проліну, оксипроліну, лізину, аспарагінової кислоти в сечі порівняно з їх рівнями до лікування та спостерігався дефіцит гліцину (p <0,05), 33% якого міститься в колагені. Сума визначених вільних амінокислот була вірогідно вищою на етапах ХТ порівняно з нормативною (50,0±1,0 проти 28,6±1,2 мкмоль/л відповідно) (p <0,05). Направленість процесів метаболізму білка була визначена за їх дисбалансом та превалюванням катаболічних процесів над анаболічними.

Показано, що зміни у рівнях амінокислот впливали на структуру колагену та мінеральну складову кісткової тканини. У хворих на ГЛЛ екскреція всіх солей кальцію була вищою порівняно зі здоровими дітьми, особливо це стосується більш розчинних форм дигідрофосфатів тетрагідратів кальцію (p <0,05). Причому у хворих на ГМЛ дигідрофосфати тетрагідрати кальцію в сечі були вищими порівняно з дітьми з ГЛЛ (1,23±0,03 ум.од. проти 1,00±0,03 ум.од.). При несприятливому прогнозі перебігу ГЛ екскреція дигідрофосфатів тетрагідратів кальцію з сечею була у хворих вищою, ніж при сприятливому, і становила 1,21±0,02 ум.од. проти 1,03±0,01 ум.од. Слід відмітити наявність зв'язку між рівнем кортизолу в ініціальний період захворювання та вмістом фосфатів кальцію в сечі у хворих незалежно від варіантів хвороби. Так, при зниженому рівні кортизолу у дітей з ГЛ екскреція пірофосфатів кальцію з сечею підвищувалась (rs = –0,44) (p <0,05), що вказує на зміни в структурі кісток за наявності проявів гіпокортицизму.

Звертає на себе увагу знижений рівень іонізованого кальцію у половини хворих на ГЛ в І гострий період захворювання.

Маркером метаболічних процесів кісткової тканини є лужна фосфатаза (ЛФ). У третини хворих на ГЛ на початковому етапі ХТ активність ЛФ в сироватці кров підвищувалась в 2 рази порівняно з ініціальною, однак на кінцевому етапі лікування не досягала нормативної величини (p <0,05). Рівень ЛФ нижчий за 200 Од/л в сироватці крові співпадав з низьким показником ефективності колонієутворення КУОф (rs = 0,48) (p <0,05).

Денситометрія кісток є інтегральним показником щільності кісткової тканини, зокрема її органічної та мінеральної складових. Результати вивчення щільності кісткової тканини у хворих на ГЛ та дітей групи порівняння показали, що показники ДМ не залежали від варіантів захворювання і були в

усі періоди спостереження вірогідно нижчими, ніж в групі порівняння (76,4±2,1ум.од., 86,5±1,8 ум.од. відповідно) (p <0,05). Слід відмітити, що на етапах ХТ у 70,3% хворих показник ДМ був 68,5±1,9 од. Причому більш коротка виживаність хворих корелювала з показником ДМ, нижчим за 65 ум.од. (p <0,05). Встановлений зворотний кореляційний зв'язок між показником ДМ та екскрецією дигідрофосфатів тетрагідратів кальцію (rs = –0,34), між показником ЛФ та ДМ (rs = –0,44).

Остеокальцин, що відображає процеси остеоутворення і ремоделювання кісток у дітей з гострими лейкеміями був знижений як в гострий період ГЛ (27,08±5,41 нг/мл), так і ремісію (32,5±4,2 нг/мл), порівняно з пацієнтами без онкогематологічної патології (58,3±3,9 нг/мл) (p <0,05).

Відомий вплив ендокринної системи на стан кісткової тканини. У 26 осіб (25,0%) з ГЛЛ рівень кортизолу в сечі в ініціальний період був на 25–30% нижчий за нормативний, чого не спостерігалось у хворих на ГМЛ. У 8 дітей з ГЛЛ (7,5%) реєструвався підвищений рівень ТТГ в сироватці крові (6,8±1.2 мкМО/мл). В групі порівняння ці зміни мали місце у 3,6% випадків. Слід зазначити, що діти зі зниженим початковим рівнем кортизолу мали більш коротку виживаність (в 2,2 рази) порівняно з хворими з нормативним вмістом кортизолу. Однак зміни рівня ТТГ не впливали на тривалість життя хворих.

Визначений прямий кореляційний зв'язок між рівнем кортизолу в сироватці крові у хворих в ініціальний період ГЛ та показником КУОф (rs = 0,65). Також, встановлено зворотний кореляційний зв'язок між вмістом кортизолу та вірогідністю розвитку рецидиву у хворих на ГЛЛ (rs = –0,67). У хворих на ГМЛ встановлена пряма кореляційна залежність між рівнем кортизолу та виживаністю (rs = 0,79). Отримані дані свідчать, що рівень кортизолу, визначений в І гострий період, може бути критерієм прогнозу перебігу ГЛ у дітей.

У 97,2% дітей з ГЛ була отримана повна клініко–гематологічна ремісія. Виживаність хворих залежала від варіанту ГЛ. Найбільш сприятливий перебіг захворювання був у дітей із «загальним» типом ГЛЛ та пре–В–ГЛЛ (162,6±5,6 міс. та 124,2±4,2 міс відповідно) (спостереження за дітьми триває). Несприятливий перебіг мали хворі на Т–ГЛЛ, про–В–ГЛЛ та ГМЛ (49,7±3,5 міс., 54,5±2,8 міс., 39,4±3,2 міс. відповідно).

Розподіл випадків смерті за варіантами та віковими групами у хворих надано в **табл. 6**. Серед хворих на ГЛЛ вижило 76,0%, при ГМЛ – лише 29,6%.

Отримані нові дані щодо впливу патології у родоводі хворих на ГЛ дітей на їх стать та прогноз перебігу захворювання. Виявлена різниця у співвідношенні хлопчики / дівчата залежно від патології у родоводі. Так, при встановленні онкологічних хвороб у родичів вона складала 1,0:1,0, при алергічних реакціях – 2,0:1,0, при ендокринній патології – 1,3:1,0. Тобто, при алергічних реакціях у дорослих частіше захворювали хлопчики, ніж дівчата (r = = 0,46). Кращий прогноз перебігу був у дітей з ГЛЛ до 6 років, якщо у родоводі були онкологічні хвороби (136,4 ± 4,7 міс.). Гірший прогноз спостерігався у осіб старших за 12 років, родичі яких мали ендокринну патологію та алергічні реакції (56,5 ± ± 4,3 міс.). За наявністю у родоводі ендокринних хвороб у дітей частіше діагностувалась ГМЛ, порівняно з онкологічними захворюваннями (r = 0,44).

Таблиця 6 – Розподіл випадків смерті у дітей залежно від їх віку та варіантів ГЛ

Вікова група, роки	ГЛЛ (випадки смерті)					ГМЛ (випадки смерті)
	Т	Про–В	Загальний	Пре–В	Всі	
1–6	1	2	6	2	11	4
6–12	–	3	4	1	8	12
↑ 12	3	–	3	–	6	13
Всього	4	5	13	3	25 (24,0%)*	29 (70,4%)

Примітка: * – різниця в числі випадків смерті у дітей з ГЛЛ та ГМЛ (p <0,05).

Також визначено, що фактори довкілля негативно впливають на перебіг ГЛ. Так, у дітей – жителів дуже та надзвичайно забруднених територій, ініціальне число лейкоцитів було вище за 100 Г/л та відмічався несприятливий перебіг захворювання, порівняно з мешканцями помірно забруднених територій (r = 0,46).

Результати отриманих нами даних дали змогу сформувати критерії, притаманні для хворих на онкогематологічну патологію, та ранжирувати їх за ступенем значення (**табл. 7**).

Таблиця 7 – Критерії формування групи підвищеного ризику з онкогематологічної патології

Критерії	Ранги *
Знижений рівень кортизолу, остеокальцину	1
Знижена щільність кісткової тканини	1
Нормохромна анемія з порушенням ферокінетичних процесів	2
Онкологічні хвороби в родоводі	3
Вади розвитку кісток, осалгічний синдром, травми кісток в анамнезі	3
Прояви конституційного лімфатизму	3
Вік дитини від одного до 6 років та старший за 12 років	3
Проживання дитини на екологічно несприятливих територіях	4

Примітка: * – за формулою Байєса.

Крім того, нами запропонований алгоритм прогнозу перебігу гострих лейкемій у дітей (**табл. 8**).

На підставі отриманих нами даних сформована ієрархічна структура показників, які впливають на структурно–функціональні зміни в кістковій тканині та кістковомозкове мікрооточення, і відіграють роль в механізмах канцерогенезу: стромальні фібробласти кісткового мозку (стромальне мікрооточення) → структура колагена за складом та вмістом амінокислот → мінеральна складова кісток (фосфати кальцію) → щільність кісткової тканини (показники денситометра) → ендокринна регуляція (остеокальцину, кортизол, ТТГ).

Відомо, що строма кісткового мозку впливає на гемопоез і координує взаємодію з клітинами–попередниками [8, 9, 10]. Зокрема, стромальні фібробласти формують гемопоетичне мікрооточення і можуть відігравати як захисну роль, так і бути промоторами пухлинного процесу [11]. Ми показали, що висока проліферативна активність КУОф вища за 70,0 та нижча за 11,0 на 10^5 ядровмісних клітин співпадала з більш короткою виживаністю хворих. Крім того, нами встановлений зворотний кореляційний зв'язок між кількістю колоній фібробластів кісткового мозку та відсотком еритробластів (rs = –0,52) та моноцитів (rs = –0,41) після закінчення курсу ХТ у хворих на ГЛ, що підтверджує вплив строми на процеси функціонування гемопоезу в умовах злоякісного процесу. Це описано також в роботах деяких авторів, що мікросередовище кісткового мозку є нішею як для нормальних гемопоетичних елементів, так і стовбурових лейкемічних клітин [12].

Стромальні фібробласти беруть участь у синтезі колагену, впливають на його структуру, формують органічну складову кісткової тканини, а також відіграють вирішальну роль в процесах хіміорезистентності [13]. Ці результати узгоджуються з отриманими нами даними щодо інтегрального показника щільності кісткової тканини (органічна та неорганічна складові), при низьких величинах якого спостерігається резистентність до хіміотерапії і коротка виживаність пацієнтів.

Взаємодія пухлини, стромального мікрооточення та ендокринного статусу хворого є вирішальними для розуміння процесів онкогенеза [14, 15]. Отримані нами нові дані переконливо довели, що прояви гіпокортизолемії у хворих в ініціальний період ГЛ супроводжуються пригніченням функції стромальних фібробластів, уповільненням процесів репарації кісткових структур (за рівнем ЛФ) та проявами остеопорозу (показник денситометрії), що призводить до несприятливого прогнозу перебігу захворювання. Тому при формуванні групи підвищеного ризику з онкогематологічної патології серед дитячої популяції, яка зазнає дії несприятливих чинників довкілля, потрібно враховувати спадкові фактори, біохімічні і біофізичні зміни в структурі кісткової тканини у дитини та вади розвитку кісток.

Таблиця 8 – Алгоритм прогнозу перебігу ГЛ у дітей залежно від стану кісткової тканини

Показники	Прогноз перебігу ГЛ		Ранги *
	Сприятливий	Несприятливий	
Регуляторні фактори кісток			
Остеокальцин в сироватці крові, нг/мл	> 50 – 60	< 50	1
Кортизол (ініціальний)	Нормативні значення	Знижений на 25 –30%	1
Кількість колоній КУОф КМ на 10^5 ядровмісних клітин	11,0 – 70,0	<11,0; > 70,0	2
Показники метаболізму кісток			
О–пролін в сечі, мкмоль/л	< 12	> 12	1
Гліцин в сечі, мкмоль/л	> 17	<17	1
Щільність кісток, ум.од.	> 65	< 65	2
ЛФ в сироватці крові, Од/л	Нормативні значення	< 200; > 500	3
ДГФ–ТГСа в сечі,ум.од.	< 1,11	> 1,21	3
Іонізов. Са в сироватці крові, ммоль/л	> 1,0	< 0,99	3

Примітка: 1, 2, 3 **–** ймовірність впливу показника на прогноз, відповідно формулі Байєса.

Висновки

1. В 73,1% у хворих до 6 років верифікувався «загальний» тип ГЛЛ. У дітей старших за 6 років частіше діагностувались М1, М2 та М4 варіанти ГМЛ (32 з 41). У 55,2% хворих в ініціальний період були нормохромно–нормоцитарні анемії з нормативним чи підвищеним вмістом заліза та феритину в сироватці крові (22,6±2,4 мкмоль/л та 168,5±12,5 нг/мл відповідно). У третини дітей в ініціальний період ГЛ була лейкопенія, майже у 7,0% число лейкоцитів було вище за 100,0 Г/л.
2. Онкологічні хвороби у родичів дітей з гострими лейкеміями реєструвались у 19,3%, у осіб групи порівняння – в 9 ,7%. У дітей за 3–4 роки до встановлення діагнозу ГЛ в 56,6% були персистуючі вірусні інфекції, прояви конституційного лімфатизму. алергічні реакції. Частота травм кісток в анамнезі у дітей з ГЛ була достовірно вища, ніж в групі порівняння (17,2% проти 6,0%).
3. КУОф у хворих на ГЛ в усі періоди спостереження була знижена порівняно зі здоровими дітьми, причому у дітей з ГЛЛ в І гострий період кількість

КУОф була нижча, ніж при ГМЛ (2,8±0,1 проти 14,9±3,5 на10^5 ядровміщуючих клітин відповідно), що свідчить про пригнічення фібробластоутворення та зміни в синтез колагену. Підвищена активність КУОф вища за 70,0 та нижча за 11,0 на 10^5 ядровмісних клітин корелювала з більш короткою виживаністю хворих. Встановлений зворотний кореляційний зв'язок між кількістю КУОф та відсотком еритробластів (rs = – 0,52) і моноцитів (rs = – 0,41) в кістковому мозку, що вказує на вплив фібробластів на еритроїдно–макрофагальний комплекс гемопоезу в умовах злоякісного процесу.

4. Екскреція дигідрофосфатів тетрагідратів,у хворих була вищою в дебюті ГЛ порівняно зі здоровими дітьми (p <0,05). У хворих на ГМЛ екскреція гідрофосфатів та дигідрофосфатів тетрагідратів кальцію була вищою, ніж у дітей з ГЛЛ p <0,05). Знижений рівень ініціального кортизолу у дітей супроводжувався підвищеною екскрецією в сечі пірофосфатів кальцію (p <0,05), що свідчить про зміни в стані мінеральної складової кісткової тканини за наявності гіпокортизолемії. При несприятливому перебігу ГЛ рівень дигідрофосфатів тетрагідратів кальцію становив 1,21±0,02 ум.од. (p <0,05) і щільність кісткової тканини була нижчою за <65 ум.од.
5. Активність лужної фосфатази в сироватці крові у третини хворих на ГЛ до початку ХТ була нижчою за 200 Од/л. На етапі ХТ активність ферменту підвищувалась в 2 рази порівняно з ініціальною і свідчила про наявність метаболічних змін в кістковій тканині. Остеокальцин в сироватці крові хворих був знижений і становив 29,8±2,3 нг/мл проти 58,3±3,9 нг/мл у дітей групи порівняння, що може вказувати на пригнічення процесів остеоутворення.
6. У 25,0% з ГЛЛ рівень в ініціальний період ГЛ був нижчий за нормативний на 25–30%, що супроводжувалось більш короткою виживаність хворих. Визначений прямий кореляційний зв'язок між рівнем кортизолу у хворих та показником КУОф (rs =0,65) та виживаністю хворих на ГМЛ (rs = 0,79); зворотний кореляційний зв'язок між вмістом кортизолу та вірогідністю розвитку рецидиву ГЛЛ (rs = – 0,67, що дає підставу віднести кортизол до критерію прогнозу перебігу ГЛ у дітей.

Перспективи подальших досліджень. В подальшому планується проводити моніторинг за станом системи кровотворення у дітей, які зазнають несприятливих чинників довкілля, та розробляти інформативні критерії групи підвищеного ризику з онкогематологічної патології і вивчати взаємодію генетичних факторів, кістковомозкового мікрооточення, гемопоезу та їх ендокринної регуляції, що є підґрунтям для подальших наукових досліджень.

References

1. Serdyuk AM, Polka NS, Savina RV, Chernychenko IO. Kontseptsiya rozvytku naukovykh doslidzhen v haluzi okhorony hromadskoho zdorov'ya DU «Instytut hromadskoho zdorov'ya im. OM Marzyeyeva NAMN Ukrainy» na 2018–2022 [The concept of research development in the field of public health of the State Institution «Institute of Public Health. OM Marzeyev of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine for 2018–2022]. *Dovkillya ta zdorov'ya*. 2019; 1(90): 74–7. [Ukrainian]
2. Antypkyn YuG. Pedyatryya v Ukrayne – strategycheskye napravlenyya segodnya y zavtra. Naukova diyalnist 04.07.2019. Available from: http://amnu.gov.ua/pedyatryya–v–ukrayne–strategycheskye–napravlenyya–segodnya–y–zavtra/ [Russian]
3. Dinleyici M, Dağlı FŞ. Evaluation of quality of life of healthy siblings of children with chronic disease. *Turk Pediatri Ars*. 2018 Dec; 53(4): 205–13. PMID: 30872922. PMCID: PMC6408193. DOI:10.5152/TurkPediatriArs.2018.6778
4. Wakeford R. Chernobyl and Fukushima – where are we now? *J Radiol Prot*. 2016 Jun; 36(2): E1–5. PMID: 26948041. DOI: 10.1088/0952–4746/36/2/E1
5. Bebeshko VG, Bruslova KM, Tsvyetkova NM, Lyashenko LO, Pushkarova TI, Gonchar LO, ta insh. Vplyv deyakykh nespryyatlyvykh chynnykiv dovkillya na vyzhyvanist ditey z gostrymy leykemiyamy u viddalenyy period pislya avariyi na ChAES [Impact of some adverse environmental factors for the survival of children with acute leukemia in the remote period after the Chernobyl disaster]. *Probl Radiac Med Radiobiol*. 2018; 23: 253–61. [Ukrainian]
6. *Radiobiofizychni ta medyko–gigiyenichni naslidky Chornobylskoyi katastrofy: shlyakhy piznannya ta podolannya: Praktychnyy posibnyk simeynogo likarya* [Radiobiophysical and Medico–Hygienic Consequences of the Chornobyl Catastrophe: Ways to Know and Overcome: A Family Doctor's Practical Guide]. Ed by VG Bebeshko, BS Prister, MI Omelyanets. Uzhgorod: Patent; 2017. 504 p. Bibliogr: 289– 99. [Ukrainian]
7. Bebeshko VG, Bruslova KM, Pushkarova TI, Tsvyetkova NM, Lyashenko LO, Yatsemyrskyy SM, ta insh. Riven kortyzolu yak faktor ryzyku rozvytku zloyakisnoyi gematologichnoyi patologiyi u ditey, yaki zaznaly vplyvu ionizuyuchogo vyprominyuvannya vnaslidok avariyi na ChAES [Cortisol levels as a risk factor for malignant hematologic pathology in children exposed to ionizing radiation due to the Chernobyl accident]. *Probl Radiac Med Radiobiol*. 2017; 22: 306–15. [Ukrainian]
8. Doron B, Handu M, Kurre P. Concise Review: Adaptation of the Bone Marrow Stroma in Hematopoietic Malignancies: Current Concepts and Models. *Stem Cells.* 2018 Mar; 36(3): 304–12. PMID: 29235199. DOI: 10.1002/stem.2761
9. Zhao M, Tao F, Venkatraman A, Li Z, Smith SE, Unruh J, et al. N–Cadherin–Expressing Bone and Marrow Stromal Progenitor Cells Maintain Reserve Hematopoietic Stem Cells. *Cell Rep*. 2019 Jan 15; 26(3): 652–69. PMID: 30650358. DOI: 10.1016/j.celrep.2018.12.093

10. Asada N. Regulation of Malignant Hematopoiesis by Bone Marrow Microenvironment. *Front Oncol.* 2018; 8: 119. PMID: 29740536. PMCID: PMC5924781. DOI: 10.3389/fonc.2018.00119
11. Garcia M, Chen CC. The bone marrow microenvironment—driver of leukemia evolution? *Stem Cell Investig*. 2017; 4: 11. PMID: 28275641. PMCID: PMC5334561. DOI: 10.21037/sci.2017.02.03
12. Lee G, Jeong S, Lee H, Oh Il–H. Age–related differences in the bone marrow stem cell niche generate specialized microenvironments for the distinct regulation of normal hematopoietic and leukemia stem cells. *Sci Rep*. 2019; 9: 1007.
13. Valkenburg K, Groot A, Pienta K. Targeting the tumour stroma to improve cancer therapy. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018 Jun; 15(6): 366–81. PMID: 29651130. PMCID: PMC5960434. DOI:10.1038/s41571–018–0007–1
14. Menon H, Ramapriyan R, Cushman T, Verma V, Kim H, Schoenhals J, et al. Role of Radiation Therapy in Modulation of the Tumor Stroma and Microenvironment. *Front Immunol.* 2019; 10: 193. PMID: 30828330. PMCID: PMC6384252. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00193
15. Liu F. Tam K, Pishesha N, Poon Z, Van Vliet K. Improving hematopoietic recovery through modeling and modulation of the mesenchymal stromal cell secretome. *Stem Cell Res Ther*. 2018 Oct 24; 9(1): 268. PMID: 30352620. PMCID: PMC6199758. DOI: 10.1186/s13287–018–0982–2

УДК 616.155.392.2: 616–053.2.036. 053

ВЛИЯНИЕ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА СОСТОЯНИЕ ГЕМОПОЭЗА, РАЗВИТИЕ И ТЕЧЕНИЕ ОСТРЫХ ЛЕЙКЕМИЙ У ДЕТЕЙ ПОСЛЕ АВАРИИ НА ЧАЭС

Бебешко В. Г., Бруслова Е. М., Цветкова Н. М., Пушкарева Т. И., Дмитренко И. В.

Резюме. *Цель исследования:* разработка критериев формирования группы риска по онкогематологической патологии среди детского населения, подвергающегося действию неблагоприятных факторов окружающей среды, на основании данных генеалогии, клинико–гематологических характеристик, структурных изменений костной ткани и особенностей течения острых лейкемии.

Обследовано 145 больных острыми лейкемиями. Оценивали генеалогию детей, гематологические показатели, варианты и прогноз течения лейкемий. Изучали уровень кортизола, тиреотропного гормона гипофиза, остеокальцина и ферритина в сыворотке крови, число колониеобразующих единиц стромальных фибробластов костного мозга, экскрецию аминокислот и фосфатов кальция с мочой, щелочную фосфатазу, плотность костной ткани. Влияние негативных факторов окружающей среды оценивали по степени интегрального загрязнения территорий (умеренная, загрязненная, очень и чрезвычайно загрязненная территория).

Установлены возрастные периоды інтенсивного роста (до 6 лет и старше 12 лет), характерные для заболевания детей острыми лейкемиями. Определено влияние болезней в родословной на особенности течения заболевания. В острый период острых лейкемий в 55,2% диагностировали нормохромно–нормоцитарные анемии. Число лейкоцитов выше 100,0 Г/л было в 6,9%. Пролиферативная активность колониеобразующих единиц стромальных фибробластов костного мозга выше 70,0 и ниже 11,0 на 10^5 ядросодержащих клеток совпадала с более короткой выживаемостью больных. С учетом содержания аминокислот, входящих в состав коллагена, в организме преобладали катаболические процессы над анаболическими. Уровень щелочной фосфатазы ниже 200 Ед/л в сыворотке крови совпадал с низким содержанием колониеобразующих единиц стромальных фибробластов костного мозга (rs = 0,48). Короткая выживаемость больных коррелировала с показателем денситометрии ниже 65 у.е. Установлена обратная корреляционная связь между показателем денситометрии и щелочной фосфатазы (rs = –0,44). Остеокальцин у детей с острыми лейкемиями был во все периоды снижен. В 25,0% больных с острыми лимфобластными лейкемиями уровень кортизола в инициальном периоде был на 25–30% ниже нормативного, что совпадало с более короткой выживаемостью и вероятностью развития рецидива. У жителей очень и сверхзагрязненных территорий отмечалось неблагоприятное течение острых лейкемий по сравнению с жителями умеренно и загрязненных территорий.

Сформированы критерии группы повышенного риска по онкогематологической патологии среди детей, которые находятся под давлением факторов окружающей среды, и предоставлена иерархическая структура показателей, влияющих на изменения в костной ткани и костномозговом микроокружении, и играют роль в механизмах лейкозогенеза, что является основой для дальнейших научных разработок.

Ключевые слова: лейкемии, структура костей, прогноз, окружающая среда, группы риска.

UDC 616.155.392.2: 616–053.2.036. 053

The Influence of the Environmental Environment on the State of Hemopoesis and the Development and Course of Acute Leukemia in Children after the Chernobil Catastrophe

Bebeshko V. G., Bruslova K. M., Tsvetkova N. M., Pushkaryeva T. I., Dmytrenko I. V.

Abstract. *The purpose of the study* was to develop criteria for the formation of risk group for oncohematological pathology in a pediatric population exposed to adverse environmental factors, based on genealogy, clinical–hematological characteristics, structural changes in bone tissue and features of acute leukemia.

Material and methods. 145 patients with acute leukemia (104 with acute lymphoblastic leukemia, 41 with acute myeloblastic leukemia) and 83 individuals in comparison group were examined. The genealogy, clinical–hematological characteristics, variants and prognosis of leukemia were evaluated. We studied the levels of cortisol, thyroid–stimulating pituitary hormone, osteocalcin and ferritin in serum, the number of colony–forming units of bone marrow stromal fibroblasts in vitro, the excretion of amino acids and calcium phosphate in the urine, alkaline phosphatase, and bone density. The impact of negative environmental factors was assessed by the degree of integral pollution of the territories (moderate, contaminated, very and extremely soiled).

Results and discussion. We established age periods, intense growth, and characteristicы of the disease in children with acute leukemia. 73.1% of patients had a "common" type of acute lymphoblastic leukemia, more often in children under 6 years. T–acute lymphoblastic leukemia and acute myeloblastic leukemia were more commonly diagnosed in children older than 6 years. Oncological diseases in relatives of patients with acute leukemia were recorded in 19.3% (in the comparison group 9.7%). In the acute period of acute leukemia, 55.2% were diagnosed with normochromic–normocytic anemia. The leukocyte count above 100.0 G/l was 6.9%. The colony–forming units of bone marrow stromal fibroblasts proliferative activity above 70.0 and below 11.0 for 10^5 nucleated cells coincided with the shorter survival of patients. The content of amino acids that were part of collagen, prevailed catabolic processes over anabolic. The level of alkaline phosphatase below 200 U/l in serum coincided with the low colony–forming units of bone marrow stromal fibroblasts (rs = 0.48). Short patient survival was correlated with densitometry below 65 conv.un. The correlation between densitometry and alkaline phosphatase was established (rs = –0.44). Osteocalcin in children with acute leukemia was reduced at all times. In 25.0% of patients with acute lymphoblastic leukemia, the level of cortisol in the initial period was 25–30% lower, than the normative, that coincided with the shorter survival and the likelihood of relapse. We also determined the dependence of the course of acute leukemia and the age of patients at the time of diagnosis, depending on the type of pathology in the pedigree. Residents of very and extremely polluted territories had unfavorable course of acute leukemia compared to inhabitants of moderately and contaminated territories.

Conclusions. The obtained results helped us to formulate criteria for a risk group for oncohematologic pathology and provided a hierarchical structure of indicators influencing changes in bone tissue and bone marrow microenvironment, and playing a role in the mechanisms of leukogenesis: stromal fibroblasts → collagen structure for amino acid content → mineral bone component → bone density → endocrine regulation, which is the basis for further scientific research.

Keywords: leukemia, bone structure, prognosis, environment, risk groups.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 07.08.2019 р.
Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування