აკ. გრ. მუხაძის სახ. ჰემატოლოგიისა და ტრანსფუზიოლოგიის

ს/კ ინსტიტუტი

შორენა გივის ასული ძველაია

ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის როლი მწვავე ლეიკემიების მიმდინარეობასა და პროგნოზში

მედიცინის მეცნიერებათა კანდიდატის სამეცნიერო

ხარისხის მოსაპოვებლად წარმოდგენილი

დ ი ს ე რ ტ ა ც ი ა

14.00.29 - ,, ჰემატოლოგია და სისხლის გადასხმა «

სამეცნიერო ხელმძღვანელები: მედიცინის მეცნიერებათა

დოქტორი, ც. ჩინჩალაძე,

მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი,

პროფესორი დ. ღირდალაძე.

2006

ს ა რ ჩ ე ვ ი

შემოკლებათა სია.

შესავალი.

I თავი. ლიტერატურის მიმოხილვა.

1.1 უჯრედული ციკლი და მისი რეგულაცია.

1.2 ჰემოპოეზური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობა და კინეტიკური პარამეტრები.

1.3 ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობა მწვავე ლეიკემიების დროს.

II თავი. მასალა და კვლევის მეთოდები.

III თავი. საკუთარი კვლევის შედეგები.

3.1 მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების კლინიკურ_ჰემატოლოგიური, ციტომორფოლოგიური და იმუნოლოგიური დახასიათება.

3.2 ძვლის ტვინის მიტოზური რეჟიმი მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების დროს.

3.3 ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობა მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების დროს ანტიგენ Ki 67-ის ექსპრესიის მიხედვით.

3.4 მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების კლინიკურ_ჰემატოლოგიური, ციტომორფოლოგიური და იმუნოლოგიური დახასიათება.

3.5 ძვლის ტვინის უჯრედების მიტოზური რეჟიმი მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების დროს.

3.6 ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობა მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების დროს ანტიგენ Ki 67-ის ექსპრესიის მიხედვით.

3.7 ანტიგენ Ki 67-ის ექსპრესიის როლი მწვავე ლეიკემიების მიმდინარეობასა და პროგნოზში.

IV თავი. მიღებული შედეგების განსჯა.

დასკვნები.

პრაქტიკული რეკომენდაციები.

გამოყენებული ლიტერატურის სია.

შემოკლებათა სია

ALL _ მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემია

ANLL _ მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემია

ATL _ მწვავე T-უჯრედული ლეიკემია

BrdU (Bromodeoxyuridine) _ ბრომოდეოქსიურიდინი

Cdk _ ციკლინდამოკიდებული კინაზები

CKI-CKIs _ ციკლინდამოკიდებული კინაზების ინჰიბიტორები

Ki 67 _ უჯრედულ პროლიფერაციასთან ასოცირებული ანტიგენი

LI (Labeling index) _ მონიშვნის ინდექსი

LSAB (Labeled StreptAvidin-Biotin methods) _ მონიშნული სტრეპტავიდინ-ბიოტინური მეთოდი

M0 _ მწვავე არადიფერენცირებული ლეიკემია

M1 _ მწვავე მიელობლასტური ლეიკემია მომწიფების გარეშე

M2 _ მწვავე მიელობლასტური ლეიკემია ბლასტების მომწიფებით

M3 _ მწვავე პრომიელოციტური ლეიკემია

M4 _ მწვავე მიელო-მონობლასტური ლეიკემია.

$M4_{Eo}$ _ მწვავე მიელო-მონობლასტური ლეიკემია ეოზინოფილიით

M5 _ მწვავე მონობლასტური (მონოციტური) ლეიკემია

M6 _ მწვავე ერითრომიელოზი

M7 _ მწვავე მეგაკარიობლასტური ლეიკემია

NBM _ ნორმალური ძვლის ტვინი

PCNA _ პროლიფერაციული უჯრედების ბირთვული ანტიგენი

PCR _ პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია

pRb _ რეტინობლასტომის გენი

RA _ რეფრაქტერული ანემია.

RA EB _ რეფრაქტერული ანემია ბლასტების სიჭარბით

RARS _ რეფრაქტერული ანემია სიდერობლასტებით

შ ე ს ა ვ ა ლ ი

მწვავე ლეიკემიების უჯრედული პოპულაციების პროლიფერაციული აქტივობის თავისებურებების დადგენა წარმოადგენს ერთ-ერთ აქტუალურ საკითხს ლეიკემოგენეზის პროცესის შესწავლაში. ცნობილია, რომ სიმსივნური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის მაჩვენებლებს დიდი მნიშვნელობა ენიჭებათ ჰემატოლოგიური და ონკოლოგიური დაავადებების როგორც დიაგნოსტიკასა და პროგნოზირებაში, ასევე რემისიის ხანგრძლივობის, ჩატარებული თერაპიის ეფექტურობის განსაზღვრასა და მკურნალობის ოპტიმალური მეთოდების შერჩევაში [81,108,25,26,14,103].

უჯრედების კინეტიკის შესაფასებლად ადამიანის ნორმალურ და ნეოპლაზიურ ქსოვილში გამოიყენება რამოდენიმე მეთოდი: იმუნოციტოქიმია, გამდინარე ციტომეტრია, დნმ-ის პრეკურსორების ინკორპორაცია, ტრითიუმიანი თიმიდინი, ბირთვაკ-მაორგანიზებელი რეგიონების აღმოჩენა ვერცხლით შეღებვის მეთოდით [133,89,144,66]. ამათგან პრაქტიკული თვალსაზრისით ყველაზე მოსახერხებელი და ინფორმაციულია იმუნოციტოქიმიური მეთოდი.

სადღეისოდ განსაკუთრებული ყურადღება ეთმობა უჯრედთა ზრდის ციკლის განმსაზღვრელი ანტიგენების იმუნოდეტექციას. მოწოდებულია უჯრედულ პროლიფერაციასთან დაკავშირებული ანტიგენების საწინააღმდეგო მონოკლონური ანტისხეულების მრავალი სახეობა: უჯრედულ პროლიფერაციასთან ასოცირებული ანტიგენი _ Ki 67, პროლიფერაციული უჯრედების ბირთვული ანტიგენი _ PCNA, ანტი-ნუმატრინი, ანტი-რიბონუკლეოტიდ რედუქტაზა, ანტი-დნმ-პოლიმერაზა α, ანტი-დნმ-მეთილტრანსფერაზა, K-112, C_5F_{10}, არამოპროლიფერაციე უჯრედების ბირთვული ანტიგენი _ სტატინი, ციკლინები: A,B,D1-D3 [77,85,73,72,187,150,38,158,123,2]. ჩამოთვლილთაგან ყველაზე უფრო ინფორმატიულად და ხელმისაწვდომად ითვლება Ki 67 ანტიგენის განსაზღვრა. იგი უჯრედული პროლიფერაციის ერთ-ერთი პოპულარული მარკერია ადამიანის როგორც ნორმალურ, ასევე ნეოპლაზიურ ქსოვილებში და მთლიანად დაკავშირებულია უჯრედულ ციკლთან [141,77,87,25].

უკანასკნელი წლების ლიტერატურაში გამოჩნდა შრომები, რომლებშიც მითითებულია Ki 67 ანტიგენის გამოყენებით სიმსივნური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის განსაზღვრის მნიშვნელობაზე დაავადების მიმდინარეობასა და პროგნოზირებაში. [108,81,25,146,34].

ლეიკემიების მიმართ ანალოგიური შრომები შედარებით მცირეა და ისიც ურთიერთსაწინააღმდეგო [151,34]. ამასთან, არ შეიძლება არ აღვნიშნოთ, რომ ლეიკემიური უჯრედები სხვა სიმსივნურ მასალასთან შედარებით ადვილად ხელმისაწვდომია გამოკვლევებისათვის და ყოველთვის წარმოადგენდა მოსახერხებელ მოდელს სიმსივნური ზრდის კანონზომიერებათა დასადგენად. ეჭვს არ იწვევს ის ფაქტიც, რომ ბლასტური უჯრედების კინეტიკური პარამეტრების დადგენა და მათი როლის განსაზღვრა მწვავე ლეიკემიების მიმდინარეობასა და პროგნოზში თანამედროვე ონკო _ ჰემატოლოგიის ერთ – ერთ აქტუალურ პრობლემას წარმოადგენს.

კვლევის მიზანი და ამოცანები:

კვლევის მიზანს წარმოადგენს: ბლასტური უჯრედების პოლიფერაციული აქტივობის კომპლექსური შესწავლა მწვავე ლეიკემიების სხვადასხვა ვარიანტების დროს დინამიკაში და კინეტიკური პარამეტრების როლის დადგენა დაავადების მიმდინარეობასა და პროგნოზში.

აღნიშნული მიზნის მისაღწევად დასახულ იქნა შემდეგი ამოცანები:

1. ძვლის ტვინის უჯრედების მიტოზური რეჟიმის შესწავლა და მიტოგრამების გამოთვლა (მიტოზური ინდექსი 1000 უჯრედზე) მწვავე ლეიკემიების სხვადასხვა ვარიანტების დროს
2. ბლასტური უჯრედების მიტოზების მორფოლოგიის შესწავლა მწვავე ლეიკემიების სხვადასხვა ვარიანტების დროს.
3. ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის განსაზღვრა Ki 67 ანტიგენის მიხედვით.
4. ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის მაჩვენებლების შედარებითი ანალიზი მწვავე ლეიკემიების სხვადასხვა ვარიანტების დროს.

5. კორელაციური კავშირის დადგენა ბლასტური უჯრედების კინეტიკურ მაჩვენებლებს, დაავადების მიმდინარეობასა და პროგნოზს შორის.

კვლევის მეცნიერული სიახლე:

- პირველად იქნა ჩატარებული ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის კომპლექსური გამოკვლევა მწვავე ლეიკემიების დროს ანტიგენ Ki 67-ის ექპრესიის, ძვლის ტვინის უჯრედების მიტოზური რეჟიმის, მიტოგრამებისა და მიტოზების მორფოლოგიის შესწავლის საფუძველზე.
- Ki 67 ანტიგენით პირველად იქნა განსაზღვრული ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობა მწვავე ლეიკემიების სხვადასხვა ვარიანტებისა და ქვევარიანტების დროს და დადგენილ იქნა თითოეული ვარიანტისათვის დამახასიათებელი კინეტიკური პარამეტრები.
- მიღებული შედეგების ანალიზის საფუძველზე დადგენილ იქნა მწვავე ლეიკემიების დროს Ki 67 ანტიგენის, როგორც უნივერსალური პროლიფერაციული მარკერის განსაზღვრის უპირატესობა.
- დადგენილ იქნა კორელაციური კავშირი Ki 67 ანტიგენის ექპრესიასა და მწვავე ლეიკემიების მიმდინარეობას შორის, რაც საშუალებას იძლევა გამოვიყენოთ ეს პარამეტრი დაავადების პროგნოზირებასა და ქიმიოპრეპარატების მიმართ ავადმყოფის მგრძნობელობის განსაზღვრაში.

პრაქტიკული ღირებულება:

- პროლიფერაციული აქტივობის მაჩვენებლის Ki 67 ანტიგენის ექსპრესიის შეფასება მწვავე ლეიკემიების დროს საშუალებას იძლევა მკურნალობის დაწყებამდე გამოვლინდეს სტანდარტული პროგრამებისადმი რეზისტენტული ავადმყოფები (ავადმყოფთა მაღალი და დაბალი რისკ ჯგუფები).
- თერაპიული საშუალებებისადმი განსხვავებული მგრძნობელობის გათვალისწინებით შესაძლებელია დაავადების ინიციალურ ეტაპზევე მკურნალობის ოპტიმალური რეჟიმების შერჩევა და შესაბამისად ავადმყოფთა სიცოცხლის ხანგრძლივობისა და გადარჩენადობის გაზრდა.

დაცვაზე გამოტანილი ძირითადი დებულებები:

1. მწვავე ლეიკემიების დროს ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის მაჩვენებლების განსაზღვრას ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი როლი განეკუთვნება ვარიანტების ზუსტ იდენტიფიცირებაში, დაავადების პროგნოზირებაში, რემისიის ხანგრძლივობისა და ჩატარებული მკურნალობის ეფექტურობის განსაზღვრაში.
2. ბლასტური უჯრედების კინეტიკური პარამეტრების შესწავლის მეთოდებიდან უპირატესობა ენიჭება Ki 67 ანტიგენის განსაზღვრის იმუნოციტოქიმიურ მეთოდს, რომელიც პრაქტიკული თვალსაზრისით ერთ – ერთი ყველაზე მოსახერხებელი და ხელმისაწვდომია, ხოლო ანტიგენი Ki 67 წარმოადგენს უნივერსალურ პროლიფერაციულ მარკერს.
3. ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის საფუძველზე გამოყოფილ სტანდარტული თერაპიისადმი რეზისტენტულ ავადმყოფებში მკურნალობის ინიციალურ ეტაპზე ინტენსიფიცირებული რეჟიმების გამოყენება მნიშვნელოვნად ზრდის როგორც საერთო გადარჩენადობასა და გადარჩენადობის მედიანას, ასევე ავადმყოფთა სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობას.

პრაქტიკაში დანერგვა და პუბლიკაციები:

მწვავე ლეიკემიების დროს პროლიფერაციული აქტივობის მაჩვენებლების საფუძველზე სტანდარტული ქიმიოთერაპიული პროგრამებისადმი რეზისტენტობის პროგნოზირება და ინდივიდუალიზებული ტაქტიკის შემუშავება პრაქტიკაში დაინერგა აკ. გრ. მუხაძის სახ. ჰემატოლოგიისა და ტრანსფუზიოლოგიის სამეცნიერო – კვლევით ინსტიტუტსა და ამავე ინსტიტუტის ბაზაზე არსებულ თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის ჰემატოლოგიის კათედრის კლინიკაში.

დისერტაციის მასალების მიხედვით გამოქვეყნებულია 3 სამეცნიერო სტატია.

ნაშრომის აპრობაცია:

დისერტაციის მასალები მოხსენებული და განხილული იყო აკ. გრ. მუხაძის სახ. ჰემატოლოგიისა და ტრანსფუზიოლოგიის სამეცნიერო-კვლევით ინსტიტუტის სამეცნიერო საბჭოს სხდომაზე. (2006 წლის 18 მაისი, ოქმი №4).

დისერტაციის მოცულობა და სტრუქტურა:

დისერტაცია წარმოდგენილია კომპიუტერული წესით ნაბეჭდი ტექსტით 124 გვერდზე და შედგება ოთხი თავისაგან, მიღებული შედეგების განსჯის, დასკვნებისა და პრაქტიკული რეკომენდაციებისაგან. დისერტაცია ილუსტრირებულია 29 ცხრილით, 15 სურათით, 6 გრაფიკით, და 6 დიაგრამით. ბიბლიოგრაფია მოიცავს 200 წყაროს.

თავი I

ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1 უჯრედული ციკლი და მისი რეგულაცია

უჯრედის სასიცოცხლო ციკლი მოიცავს შემდეგ ეტაპებს: პროლიფერაცია, დიფერენციაცია მომწიფება, უჯრედების გადასვლა სისხლმბადი ორგანოებიდან მოცირკულირე სისხლში, უჯრედების დაშლა სისხლსა ან ქსოვილებში. უჯრედული კინეტიკა გულისხმობს უჯრედების წარმოქმნის სიჩქარეს, თითოეული უჯრედული სტადიის ხანგრძლივობას, ერთი უჯრედული გენერაციის მეორეში გადასვლას.

როგორც ცნობილია, უჯრედის სასიციცხლო ციკლში გამოყოფენ ორ ძირითად ეტაპს: მოსვენების ფაზა (ინტერფაზა) და გაყოფა (მიტოზი). ინტერფაზისა და მიტოზის მონაცვლეობას უჯრედულ ციკლს უწოდებენ. ინტერფაზა სამ პერიოდად იყოფა: პირველი პერიოდს _ G_1 ან პრესინთეზურ პერიოდს უწოდებენ. მეორე პერიოდი სინთეზური _ S პერიოდია, მესამე პერიოდი _ G_2 ან პოსტსინთეზური პერიოდი. G_2 პერიოდის შემდეგ იწყება მიტოზის სტადია. მიტოზი დროში განუწყვეტლივ მიმდინარე პროცესია. იგი პირობითად იყოფა რამდენიმე ფაზად: პროფაზა, მეტაფაზა, ანაფაზა და ტელოფაზა.

უჯრედული პოპულაციების უმეტესობა მუდმივ განახლებას განიცდის ერთი მხრივ, უჯრედების განუწყვეტელი გამრავლების (პროლიფერაციის), ხოლო მეორე მხრივ, მათი განუწყვეტელი სიკვდილის გამო. გამონაკლისს წარმოადგენს ნერვული და კუნთოვანი უჯრედები. უნდა აღინიშნოს, რომ პროლიფერაციულ და კვდომის პროცესებს შორის არსებობს მკაცრი კორელაცია. რაც უფრო მაღალია უჯრედის

დიფერენციაციის (მომწიფების) ხარისხი, მით უფრო დაბალია მისი პროლიფერაციული აქტივობა და პირიქით. დიფერენცირებული უჯრედები უსასრულოდ გახანგრძლივებულ G_1 პერიოდში იმყოფებიან. ასეთ შემთხვევაში ინტერფაზის G_1 პერიოდს G_0 უწოდებენ. G_0 - ში მყოფი უჯრედების უმეტესობა მიტოზურ ციკლს არ აგრძელებს და გარკვეული დროის შემდეგ კვდება. აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ ზოგიერთი სახის უჯრედებს (მაგ: ლიმფოციტებს) გარკვეულ პირობებში G_0 ფაზიდან მიტოზურ ციკლში დაბრუნების და, შესაბამისად, გამრავლების უნარი აქვთ. ამ მოვლენას ბლასტტრანსფორმაცია ეწოდება. რესტრიქციის წერტილიდან G_1 ფაზაში გადასვლა პროლიფერაციულ ციკლს იწვევს. ასეთი გადასვლის არარსებობისას უჯრედი G_0 ფაზაში შედის, ეს არის პროლიფერაციული ფაზა, რომლის დროსაც ხდება ზრდა, დიფერენციაცია და აპოპტოზი. სიმსივნური უჯრედების მნიშვნელოვანი ნაწილი იმყოფება G_0 ფაზაში, რომელიც წარმოადგენს ერთგვარ თავშესაფარს ანტისიმსივნური პრეპარატების ზემოქმედებისაგან.

უჯრედების პროლიფერაციასთან ერთად, არანაკლები მნიშვნელობა ენიჭება უჯრედების კვდომას. არჩევენ კვდომის ორ სახეს: უჯრედების პროგრამირებულ კვდომას _ აპოპტოზს და ნეკროზს [1,6].

უჯრედული ციკლის რეგულაცია საკმაოდ რთულია და ინტენსიური კვლევის ქვეშ იმყოფება [14]. მიტოზური ციკლის რეგულაციაში წამყვან როლს ასრულებენ სასიგნალო მოლეკულები:

1. ციკლინდამოკიდებული კინაზები (Cdk) და ციკლინები _ ცილები, რომლებიც ციკლინდამოკიდებულ კინაზებთან წარმოქმნიან აქტიურ კომპლექსებს,
2. რეტინობლასტომის გენის ცილოვანი პროდუქტი (pRb),
3. ციკლინდამოკიდებული კინაზების ინჰიბიტორები (CKIs).

უჯრედულ გაყოფას აკონტროლებს ჰომოლოგიური სერინ-ტრეონინკინაზას (ანუ ციკლინდამოკიდებული კინაზების) ჯაჭვის შეთანხმებული მოქმედება (Cdk). აღწერილია 9Cdk(Cdk1-Cdk9) და ციკლინების (A-დან T-მდე) 15 სხვადასხვა ტიპი, რომლებიც ციკლინდამოკიდებულ კინაზებთან წარმოქმნიან აქტიურ კომპლექსებს [128,137,171]. მიტოზური ციკლის ყოველი ფაზისათვის დამახასიათებელია განსაზღვრული ტიპის Cdk/ციკლინის აქტივობა. სასიგნალო მოლეკულების

ურთიერთქმედება აკონტროლებს მიტოზური ციკლის მიმდინარეობას. G_1-დან S-ფაზაში უჯრედების გადასვლაში გადამწყვეტი როლი ენიჭება ციკლინ D, E და მასთან დაკავშირებულ Cdk's. თავდაპირველად G_1 ფაზაში აქტივდება ციკლინ D1,2,3 და მათთან დაკავშირებული Cdk4/Cdk6 [192]. ამ ციკლინების აქტივაცია მოითხოვს ზრდის ფაქტორების გამუდმებულ ზემოქმედებას, რაც საშუალებას იძლევა D ციკლინები მივაკუთვნოთ გარეგანი სიგნალების სენსორებს, რომლებიც არეგულირებენ უჯრედულ ციკლს [91]. ამ ციკლინების ინჰიბიტორებს ზოგიერთ უჯრედულ სისტემაში (მაგ: მიელოიდურ უჯრედებში) წარმოადგენს სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორი β (TNF-β) [93]. ციკლინი E აკუმულირდება G_1 ფაზაში, მოგვიანებით Cdk2-თან წარმოქმნის სპეციფიურ კომპლექსს. უჯრედის S-ფაზაში შესვლის შემდეგ ციკლინ E რაოდენობა და E/Cdk2 კინაზური კომპლექსის კინაზური აქტივობა თანდათანობით მცირდება. ციკლინ A/Cdk2კომპლექსი გროვდება S-ფაზაში, მისი აქტივაცია G_2-ფაზაში გადასვლას იწვევს, ეს ფაზა კი ციკლინ B/Cdk2-ის დაგროვებით, დნმ-ის რეპლიკაციის ინჰიბაციით, უჯრედის ზრდით და ახალი ცილის სინთეზით ხასიათდება. მიტოზის დაწყებას ციკლინ B/Cdk2-ის-MPF (mitosis promoting factor-მიტოზის მასტიმულირებელი ფაქტორი) აქტივობის გაზრდა განაპირობებს. მიტოზის პირველ ფაზაში ნებისმიერი სახის დარღვევა იწვევს უჯრედის შეჩერებას მეტაფაზის სტადიაში.

რეტინობლასტომის გენი (Rb-გენი) ასრულებს წამყვან როლს მიტოზური ციკლის რეგულაციაში, ამავე დროს ის წარმოადგენს სიმსივნური ზრდის სუპრესორ გენს. უჯრედული ციკლის კვანძოვან ეტაპს წარმოადგენს G_1 ფაზიდან S ფაზაში გადასვლა და დნმ-ის სინთეზის დაწყება. ამ გადასვლის მექანიზმი დაკავშირებულია ცილა pRb-ს ფოსფორილირება _ დეფოსფორილირებასთან [93,90]. pRb-ს ფოსფორილირება მიმდინარეობს G_1-ფაზაში ციკლინების D/Cdk4(Cdk6)-ის ზემოქმედებით. ამის შედეგად გამოთავისუფლდება pRb-ს არაფოსფორილირებულ ფორმასთან დაკავშირებული ტრანსკრიფციული ფაქტორი E2F. ეს ფაქტორი ააქტივებს ციკლინ E/Cdk2 კომპლექსს, რაც უზრუნველყოფს G_1 ფაზიდან S-ფაზაში გადასვლას [125]. პროლიფერაციაზე პასუხისმგებელი ბევრი გენი თავის პრომოტორში შეიცავს E2F-ის შეკავშირების საიტს [63].

pRb-ს პროაპოპტოზური ფუნქცია ხორციელდება მისი არაფოსფორილირებული ფორმის მეშვეობით, რომელიც წარმოქმნის კომპლექსს E2F-თან. ფოსფორილირების დროს pRb კარგავს ტრანსკრიფციულ ფაქტორს და გარდაიქმნება აპოპტოზის ინდუქტორიდან სუპრესორად და ასეთი სახით არსებობს მიტოზის ფაზამდე, სადაც ანაფაზაში ხდება სწრაფი დეფოსფორილირება და ცილა იბრუნებს თავის პროაპოპტოზურ ფუნქციას. [91].

Rb-გენის ექსპრესიის არსებობა აღწერილია ბევრი სოლიდური სიმსივნის დროს, რაც გარკვეულწილად განსაზღვრავს მათ უკონტროლო ზრდას და რეზისტენტობას ქიმიოთერაპიისადმი. მარეგულირებელი ცილების _ pRb და E2F1 როლი მწვავე ლეიკემიების დროს ნაკლებადაა შესწავლილი [174,128]. Владимирская Е.Б (2002) აღნიშნავს, რომ pRb ექსპრესიას, რომელიც განსაზღვრავს სიმსივნური უჯრედის კინეტიკურ სტატუსს, აქვს განსაზღვრული კლინიკური მნიშვნელობა ბავშვთა მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების დროს. რეტინობლასტომის გენის არსებობას ლეიკემიურ უჯრედებში თან ახლავს ტრანსკრიფციული ფაქტორის E2F1-ის უფრო მაღალი შემცველობა, რომელიც განსაზღვრავს სიმსივნური უჯრედების პროლიფერაციულ პოტენციალს და მათი ზრდის აგრესიულობას [13].

სიმსივნურ უჯრედში მიმდინარე მეტაბოლური დარღვევები ზემოქმედებას ახდენს მიტოზური ციკლის რეგულაციის მექანიზმებზეც და მიმართულია პროლიფერაციული აქტივობის მატებისაკენ. სიმსივნურ უჯრედებში ხშირად აღინიშნება გენების დონეზე მიმდინარე ციკლინების აქტივობის გაძლიერება, რომლებიც არეგულირებენ მიტოზურ ციკლს.

ციკლინდამოკიდებული კინაზების (CKIs) ინჰიბიტორები წარმოადგენენ ცილებს, რომლებიც აკონტროლებენ უჯრედების მიტოზური ციკლის მიმდინარეობას და ამიტომ, მათ თვლიან სიმსივნური ზრდის პოტენციურ ინჰიბიტორებად (ონკოსუპრესორები). ძუძუმწოვრებში CKIs იყოფა 2 ჯგუფად: Kip/Cip და INK4-ის ოჯახი [86].

Kip/Cip - ის ოჯახს მიეკუთვნება 3 ჰომოლოგიური ცილა: p21, p27, p57. ცილა p21-ის წარმოქმნის ინდუცირება ხდება p53 გენის ველური ტიპით. p21 წარმოადგენს ციკლინ _ კინაზების ინჰიბიტორს, რომელსაც უჯრედები გადაჰყავს G_1-დან S-ფაზაში.

ცილა p21-ს აქვს უნარი შეაჩეროს უჯრედები G_1-ფაზაში. მაგალითად, დასხივება ახდენს p53 გენის აქტივობის ინდუცირებას [200], რის შედეგადაც ძლიერდება p21-ის ტრანსკრიფცია; CKI-ის დონის მომატება აფერხებს E/Cdk2-კინაზას აქტივობას და იწვევს დასხივებული უჯრედების შეჩერებას მიტოზური ციკლის G_1-ფაზაში [192]. გენის ინაქტივაცია, რომლის ტრანსკრიპტსაც წარმოადგენს p21, ძალიან იშვიათად აღინიშნება ონკოლოგიური დაავადებების დროს [173,174]. სავარაუდოა, რომ ასეთი სახის დაზიანება უჯრედისათვის ფატალურია [160].Aცილა p27 არ არის დამოკიდებული p53-ზე და ის განაპირობებს უჯრედების გამოსვლას მიტოზური ციკლიდან. p27, უერთდება რა ციკლინს და Cdk, აბლოკირებს უჯრედის შესვლას S-ფაზაში. მისი რაოდენობა რეგულირდება გარეგანი სიგნალებით. მაგალითად, მოსვენებული T-ლიმფოციტები იწყებენ ციკლინებისა და ციკლინდამოკიდებული კინაზების სინთეზს T-უჯრედული რეცეპტორის საპასუხოდ, თუმცა მიტოზურ ციკლში შესასვლელად მათ ესაჭიროებათ მეორე მიტოგენური სიგნალი _ IL-2, რომელიც ამცირებს p27-ის აქტივობას [73]. ამ გენის დაზიანება სიმსივნეების დროს ასევე იშვიათია, აღინიშნება მხოლოდ T-უჯრედული მწვავე ლეიკემიებისა და ლიმფომების დროს, რაც მიუთითებს სიმსივნური ზრდის მაღალ აგრესიულობასა და ცუდ პროგნოზზე [125].

P53 ცილის ძირითადი ფუნქციაა გენომის მთლიანობის კონტროლი.დნმ-ის სტრუქტურის უმნიშვნელო დაზიანებისას ეს ცილა აბლოკირებს უჯრედის შესვლას მიტოზურ ციკლში, ხოლო დნმ-ის შეუქცევადი დაზიანებისას ახდენს აპოპტოზის ინიცირებას. ამ გენის ფუნქციის დარღვევა იწვევს დაზიანებული დნმ-ის მქონე უჯრედების გადარჩენას და გენეტიკური არასტაბილურობის წარმოქმნას, რაც საფუძვლად უდევს ავთვისებიან ტრანსფორმაციას და განსაზღვრავს სიმსივნურ პროგრესიას. ფიქრობენ, რომ ამ ცილის დისფუნქცია წარმოადგენს სიმსივნური უჯრედების რეზისტენტობის საფუძველს ქიმიო და სხივური თერაპიის მიმართ [28].

P57-ის ექსპრესია ასევე არ არის დამოკიდებული p53-ზე. მისი დაგროვება აღინიშნება დიფერენცირებულ უჯრედებში, რითაც აიხსნება მათი გამოსვლა მიტოზური ციკლიდან [130]. P57 სიმსივნურ ტრანსფორმაციაში არსებით როლს არ ასრულებს.

ციტოკინდამოკიდებული კინაზების ინჰიბიტორების INK4 ოჯახს მიეკუთვნებიან: p14, p15, p16, p18, p19. ისინი ქმნიან კომპლექსებს_მხოლოდ Cdk4 და Cdk6-თან და ახდენენ მათ ინჰიბირებას. ჰიპერმეთილირება, ე.ი. ამ გენების ინაქტივაცია აღინიშნება T-ALL-ის 80%-ში და პრე-B-ALL-ის 15%-ში, ლიმფომების ზოგიერთი ფორმისა და ასევე მიელოპოეზური დისპლაზიის ბლასტურ სტადიად ტრანსფორმაციამდე [90,160,174,129]. ბავშვთა მწვავე ლეიკემიების დროს დაბალი პროლიფერაციული აქტივობა შეესაბამება INK4A-ს მაღალ ექსპრესიას, რეზისტენტობას ქიმიოპრეპარატების მიმართ და ცუდ კლინიკურ მიმდინარეობას [103,132,146].

აქედან გამომდინარე, მიტოზური ციკლის კონტროლის მექანიზმების დარღვევა, განსაკუთრებით ციკლინდამოკიდებული კინაზების ინჰიბიტორების ინაქტივაცია წარმოადგენს არსებით ეტაპს სიმსივნური ზრდის ფორმირებაში. Cdk-ის აქტივაცია იწვევს Rb-გენის ნორმალური მარეგულირებელი ფუნქციის შეცვლას, რაც აღინიშნება ყველა სიმსივნის ~90%-ში (ონკოჰემატოლოგიური დაავადებების ჩათვლით). Cdk-ის მედიკამენტოზური დათრგუნვა იწვევს უჯრედების პროლიფერაციის, ასევე სიმსივნური ზრდის შეჩერებასა და აპოპტოზს. ყოველივე ეს წარმოადგენს რეზერვს ანტისიმსივნური თერაპიისათვის [14].

ამრიგად, უჯრედული ციკლის მრავალრიცხოვანი რეგულატორების კოორდინირებული მოქმედების დარღვევა იწვევს მიტოზის პათოლოგიას, ასევე უჯრედის პროლიფერაციული პოტენციალის კონტროლის დარღვევას. ტრანსფორმირებული ანუ მალიგნიზებული კლონი წარმოიქმნება იმ გენების მუტაციიის შედეგად, რომლებიც აკოდირებენ უჯრედული ციკლის რეგულატორების სტრუქტურას, რაც საბოლოო ჯამში არის უჯრედის უკონტროლო პროლიფერაციის ანუ სიმსივნური ზრდის მიზეზი.

1.2ჰემოპოეზური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობა და კინეტიკური პარამეტრები.

ცნობილია, რომ მწვავე ლეიკემიები ხასიათდება ძვლის ტვინის უჯრედების პროლიფერაციისა და დიფერენციაციის მნიშვნელოვანი დარღვევებით. მთელი რიგი

ავტორების მიერ გამოთქმულია მოსაზრება, რომ ამ პროცესების დარღვევის ხარისხი განაპირობებს დაავადების მიმდინარეობას და ავადმყოფის მგრძნობელობას მკურნალობის სხვადასხვა მეთოდის მიმართ [190,13].

ლეიკემიური პოპულაციების კინეტიკასა და პროლიფერაციულ აქტივობაზე ადრე არსებულმა წარმოდგენებმა განიცადეს არსებითი ცვლილებები. რ. ვირხოვის მიერ ლეიკემიის პირველი შემთხვევის აღწერიდან (1845წ), საუკუნეზე მეტი ხნის მანძილზე მწვავე ლეიკემიებს განიხილავდნენ, როგორც სისხლის უმწიფარი უჯრედების აჩქარებული, შეუკავებელი და უკონტროლო პროლიფერაციით გამოწვეულ პათოლოგიურ პროცესს. ე.ი. ითვლებოდა, რომ ლეიკემიების დროს ადგილი აქვს ლეიკემიური პოპულაციის მაღალ პროლიფერაციულ აქტივობას.

პირველი ავტორები, რომლებმაც წამოაყენეს კონცეფცია ლეიკემიური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის მკვეთრ დაქვეითებაზე იყვნენ Astaldi და Mauri [39,40], რომლებმაც შემოგვთავაზეს სტატმოკინეტიკური ტესტი კოლხიცინთან. მათ დაადგინეს, რომ მწვავე ლეიკემიის დროს ადგილი აქვს პარადოქსულ მოვლენას _ უჯრედული პოპულაციის სწრაფ ზრდას, უჯრედების თვითგანახლების დაბალი სიჩქარის არსებობისას. ეს მოსაზრება დადასტურებულ იქნა შემდგომი კვლევებითაც.

პროლიფერაციული აქტივობის განსაზღვრის ობიექტური მეთოდების გამოყენებამ, რომელიც შემუშავებულ იქნა XXს-ის 60-70-იან წლებში, ისეთები როგორიცაა ავტორადიოგრაფია, მიტოზური და სტატმოკინეტიკური ინდექსები, შეცვალა ადრე არსებული შეხედულებები [7,10]. ლეიკემიური პოპულაციის ავტორადიოგრაფიულმა გამოკვლევებმა უჩვენა დნმ-ის მასინთეზებელი უჯრედების პროცენტული რაოდენობის მნიშვნელოვანი შემცირება გრანულოციტების ნორმალურ წინამორბედ პოპულაციასთან შედარებით. ლეიკემიური პოპულაციის სიცოცხლის საერთო ხანგრძლივობა აღმოჩნდა უფრო დიდი, ვიდრე სისხლწარმოქმნის ნორმალური უჯრედებისა. ლეიკემიური უჯრედების საშუალო მიტოზური აქტივობის ინდექსების დაბალი მაჩვენებლები თითქოსდა მიუთითებდა ლეიკემიური უჯრედების დაბალ პროლიფერაციულ აქტივობაზე. ამის საფუძველზე ფორმულირებულ იქნა კონცეფცია, რომელიც სიმსივნურ ჰიპერპლაზიას ხსნიდა მხოლოდ სისხლის არადიფერენციული უჯრედების დაგროვებით [14], მაგრამ ეს წარმოდგენებიც მალევე იქნა შეცვლილი. ჯერ

კიდევ 70-იან წლებში მიღებულ იქნა მონაცემები ლეიკემიური პოპულაციის კინეტიკურ არაერთგვაროვნებაზე [131,20]. გამოითქვა მოსაზრება, რომ მიტოზურ ციკლში მყოფი უჯრედების მცირე ნაწილი იცვლება სიმსივნის ზრდის დინამიკის შესაბამისად, რასაც მოგვიანებით “ზრდის ფრაქცია” უწოდეს. დანარჩენი სიმსივნური უჯრედები დროებით რჩებიან მიტოზური ციკლის გარეთ, G_0 ფაზაში. ამიტომ პროლიფერაციის მაჩვენებლები უნდა მივაკუთვნოთ არა მთლიან ლეიკემიურ პოპულაციას, არამედ მხოლოდ მის “ზრდის ფრაქციას”. ამ მიმართულებით ჩატარებულმა გამოკვლევებმა აჩვენა, რომ ლეიკემიური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობა არ განსხვავდება ნორმალური სისხლწარმომქმნელი ანალოგებისაგან; პროცესის აგრესიულობა და ჩატარებულ თერაპიაზე რეაქცია მნიშვნელოვნად დამოკიდებულია “ზრდის ფრაქციის” დონეზე [51,14].

უჯრედების კინეტიკის შესაფასებლად ადამიანის ნორმალურ და ნეოპლაზიურ ქსოვილებში გამოიყენება რამოდენიმე მეთოდი: იმუნოციტოქიმია და გამდინარე ციტომეტრია [134], დნმ-ის პრეკურსორების ინკორპორაცია [89], ტრითიუმიანი თიმიდინი [144], ბირთვაკ _ მაორგანიზებელი რეგიონების აღმოჩენა ვერცხლით შეღებვის მეთოდით [66]. ამათგან პრაქტიკული თვალსაზრისით ყველაზე მოსახერხებელია იმუნოციტოქიმიური; კერძოდ, მონიშნული სტრეპტავიდინ _ ბიოტინური მეთოდი LSAB (Labeled StreptAvidin-Biotin methods).

უკანასკნელ წლებში განსაკუთრებული ყურადღება ეთმობა უჯრედთა ზრდის ციკლის განმსაზღვრელი ანტიგენების იმუნოდეტექციას. მოწოდებულია უჯრედულ პროლიფერაციასთან დაკავშირებული ანტიგენების საწინააღმდეგო მონოკლონური ანტისხეულების მრავალი სახეობა: უჯრედულ პროლიფერაციასთან ასოცირებული ანტიგენი Ki 67 [77], პროლიფერაციული უჯრედების ბირთვული ანტიგენი (ანტი PCNA) [85], ანტი-ნუმატრინი [73], ანტი-რიბონუკლეოტიდ რედუქტაზა [72], ანტი-დნმ-პოლიმერაზა α [187], ანტი-დნმ-მეთილტრანსფერაზა [149], ანტიპროლიფერაციასთან ასოცირებული ანტიგენი [70], არამოპროლიფერაციე უჯრედების ბირთვული ანტიგენი _ სტატინი [38], K-112 [158], C_5F_{10} [123], ციკლინები: A,B,D1-D3, F (ციკლინ B-G_2/M ფაზა, ციკლინები D1-D3-G_1 ფაზა, ციკლინი E-G_1/S ფაზა.) [2].Uუჯრედული კინეტიკის შესწავლის მიზნით გამოიყენება უჯრედების in vitro

ბრომოდეოქსიურიდინით მონიშვნის მეთოდი (BrdUrd) გამდინარე ციტომეტრის გამოყენებით, რომელიც გამოიყენება უჯრედული ციკლის S-ფაზაში მყოფი უჯრედების გამოსავლენად [186]. ჩამოთვლილი მარკერების უმეტესობის გამოყენება კომერციულად ხელსაყრელი არ არის, ამიტომ ისინი ციტოლოგიური კვლევებისათვის იშვიათად გამოიყენება.

1983 წელს Gerdes-ის მიერ აღწერილ იქნა მონოკლონური ანტისხეული Ki 67, რომელიც შერჩევითად რეაგირებს ადამიანის ქსოვილოვანი ნიმუშების პროლიფერაციული უჯრედების ბირთვთან. ცნობილია მისი ორი იზოფორმა მოლეკულური წონით 345 და 395 kDa. მონოკლონური ანტისხეული Ki 67 უჯრედული პროლიფერაციის პოპულარული მარკერია ადამიანის როგორც ნორმალურ, ასევე ნეოპლაზიურ ქსოვილებში. იგი მთლიანად დაკავშირებულია უჯრედულ ციკლთან [141,77]. უჯრედული ციკლის დეტალური ანალიზით აღმოჩენილ იქნა, რომ პროლიფერაციასთან ასოცირებული ანტიგენი - Ki67 ექსპრესირდება უჯრედული ციკლის ყველა აქტიურ ფაზაში (G_1, S, G_2, M) და არ ვლინდება მოსვენების ფაზაში (G_0) მყოფ უჯრედებში [182,53,77]. ანტიგენი Ki 67 მიეკუთვნება რეგულატორულ ცილას, რადგანაც მისი არსებობა უჯრედში აღინიშნება მიტოზური ციკლის დასაწყისში, ხოლო მისი რაოდენობა იცვლება ფაზების შესაბამისად. ცილა Ki 67 ბირთვში ჩნდება G_1-ფაზის შუაში, მისი რაოდენობა იზრდება G_1-დან S, G_2 - ფაზამდე და აღწევს პიკს M-ფაზაში. მიტოზური ციკლის დასრულებისთანავე ცილა სწრაფად კატაბოლიზდება და აღარ ვლინდება [29,169,111]. Ki 67 ანტიგენის ფუნქცია უჯრედული გაყოფის რეგულაციაში ბოლომდე შესწავლილი არ არის. ნაჩვენებია, რომ მისი მაკოდირებელი გენის ცენტრალური უბნის ბლოკირება იწვევს პროლიფერაციის დათრგუნვას. Ki 67 ანტიგენის არსებობა მიტოზური ციკლის ყველა სტადიაზე საშუალებას იძლევა გამოვიყენოთ ის, როგორც უნივერსალური პროლიფერაციული მარკერი. [154,25].

ზოგი ავტორი აღნიშნავს Ki 67 ანტიგენის სხვადასხვა ლოკალიზაციას უჯრედული ციკლის სხვადასხვა ფაზაში [46,69]. ანტიგენი Ki 67 G_1-ფაზაში ლოკალიზდება უპირატესად პერინუკლეურ არეში, უჯრედული ციკლის გვიან ფაზებში ზოგჯერ ვლინდება მთლიანად ბირთვში და უპირატესად ლოკალიზდება ბირთვის მატრიქსში [188]. მიტოზის ფაზაში ანტიგენი Ki 67 ვლინდება ყველა

ქრომოსომაში [79,78] და ჩნდება მეტაფაზური ქრომოსომების გარშემო არსებულ რეტიკულურ სტრუქტურაში [189]. Ki 67 ანტიგენის იმუნოშეღებვა სწრაფად მცირდება ანაფაზიდან ტელოფაზამდე. უჯრედულ ციკლთან ასოცირებული ბევრი სხვა ანტიგენისაგან განსხვავებით, Ki 67 ანტიგენი არ არის მოსვენების ფაზაში მყოფ უჯრედებში და არ ვლინდება დნმ-ის რეპარაციის პროცესში [86]. ამგვარად, Ki 67 ანტიგენის არსებობა ზუსტად ასოცირდება უჯრედულ ციკლთან და მას დიდი მნიშვნელობა აქვს უჯრედული ციკლის რეგულაციაში [168]. ის შესაძლოა გამოყენებულ იქნას, როგორც „ზრდის ფრაქციის" მარკერი. Ki 67 ანტიგენით „ზრდის ფრაქციის" მონიშვნის ინდექსით შეიძლება განისაზღვროს მიტოზის სტადიები [170]. „ზრდის ფრაქციის" განსაზღვრა ფართოდ გამოიყენება ჰისტოპათოლოგიაში [51,67], ამასთანავე არსებობს კვლევები, რომლებიც შეეხება უჯრედული პროლიფერაციის შეფასების პროგნოზულ ღირებულებას კლინიკაში, ადამიანის ნეოპლაზიების დროს. [52,50,126,44,163,113,124]. ამ შრომებში აღნიშნულია, რომ Ki 67-ით მონიშვნის ინდექსი წარმოადგენს დამოუკიდებელ პროგნოზულ ფაქტორს და იგი შეიძლება გამოყენებულ იქნას დაავადების მიმდინარეობის შესაფასებლად. რიგი ავტორების მიერ აღწერილია ანტიგენ Ki 67-ის განსაზღვრის მნიშვნელობა სისხლის სისტემური დაავადებების დროს [34]. არაჰოჯკინის ლიმფომების შემთხვევებში აღინიშნება პროლიფერაციული აქტივობის მკვეთრი მომატება, რაც შეესაბამება დაავადების მძიმე მიმდინარეობასა და ცუდ პროგნოზს [107,25].

პროლიფერაციული უჯრედების ბირთვული ანტიგენი _ PCNA აღმოჩენილია მაღალი პროლიფერაციული აქტივობის მქონე როგორც ნორმალურ, ასევე ტრანსფორმირებულ უჯრედებში [57,91]. PCNA წარმოადგენს 36-kd წონის ბირთვულ Pპროტეინს, რომელიც აუცილებელია დნმ-ის სინთეზისათვის, როგორც დამხმარე ცილა დნმ-პოლიმერაზა-α -სათვის [47,48,140,157,185]. PCNA იმუნოჰისტოქიმიური დეტექცია იზრდება გვიან G_1-ფაზაში, აღწევს პიკს S-ფაზაში და მცირდება რა G_2-ფაზის განმავლობაში, აღწევს არადეტექტირებად დონეს M-ფაზასა და მოსვენების ფაზაში [58,48,140]. PCNA იმუნორეაქტიულობა გამოვლენილ იქნა ადამიანის ნორმალურ და მალიგნიზებულ უჯრედთა ხაზებსა [117,147,61] და ქსოვილებში [75,42, 114,54,183,156], სარძევე ჯირკვლის სიმსივნეებში [190,120,143]. ავთვისებიან ლიმფომებში [104,196],

ქრონიკული მიელოლეიკემიის ბლასტური კრიზის დროს [178]. Wilkins B და Harris S-ის მიერ 1992 წელს ძვლის ტვინის ბიოფსიურ მასალაზე შესწავლილ იქნა უჯრედების პროლიფერაცია PCNA-ის იმუნორეაქტიულობის შეფასებით [193]. ლიტერატურაში არსებობს საკმაოდ მრავალრიცხოვანი მონაცემები Ki67 მონოკლონური ანტისხეულის გამოყენებაზე ციტოლოგიურ ნიმუშებში [52,115,88,80], ხოლო მონაცემები PCNA-ის გამოყენების შესახებ ციტოლოგიურ პრეპარატებში შედარებით მცირეა [105,41, 154,65,190]. ზოგი ავტორი აღნიშნავს Ki 67 ანტიგენის გამოყენების უპირატესობას PCNA-თან შედარებით ჰისტოლოგიურ და ციტოლოგიურ პრეპარატებში [154,93].

უკანასკნელი წლების ლიტერატურაში გამოჩნდა შრომები, რომლებშიც მითითებულია ამ მონაცემების გამოყენების შესაძლებლობებზე ლეიკემიების მკურნალობის ოპტიმიზაციის საქმეში. [65,14,146,87,151,108]. ამასთან, არ შეიძლება არ აღვნიშნოთ, რომ, სწორედ ლეიკემიების შემთხვევაში განსაკუთრებული მნიშვნელობა აქვს ბლასტური უჯრედების კინეტიკური პარამეტრების დადგენას და მათი როლის განსაზღვრას დაავადებების მიმდინარეობაში, მით უმეტეს, რომ ლეიკემიური ბლასტური უჯრედები, რომლებიც სხვა სიმსივნურ მასალასთან შედარებით ადვილად ხელმისაწვდომია სხვადასხვა სახის გამოკვლევებისათვის, ყოველთვის წარმოადგენდა მოსახერხებელ მოდელს სიმსივნური ზრდის კანონზომიერების დასადგენად.

კლინიკურ პრაქტიკაში გამდინარე ციტომეტრიის მეთოდის დანერგვით შესაძლებელი გახდა სიმსივნური ზრდის აგრესიულობის ნიშნების გამოვლენა, როგორებიცაა პოლი- და ანეუპლოიდიის ხარისხი, S-ფაზაში უჯრედების რაოდენობის განსაზღვრა. ეს მონაცემები კლინიკურ და მორფოლოგიურ მახასიათებლებთან ერთად საშუალებას გვაძლევს განვსაზღვროთ სიმსივნური პროცესის პროგნოზი. გამდინარე ციტომეტრიით გამოვლენილ იქნა კორელაცია S-ფაზაში მყოფი უჯრედების რიცხვსა და არაჰოჯკინის ლიმფომის ჰისტოლოგიურ ვარიანტს შორის. S-ფაზაში მყოფი უჯრედების დიდი რაოდენობა დამახასიათებელია მაღალი ავთვისებიანობის მქონე ლიმფომებისათვის [49]. S-ფაზაში მყოფი უჯრედების რაოდენობის მიხედვით არაჰოჯკინის ლიმფომებს ყოფენ სუბტიპებად: დაბალი, საშუალო და მაღალი ავთვისებიანობის მქონე ლიმფომებად [Working Formulation-კლასიფიკაცია]. აღნიშნულია, რომ რაც უფრო მეტია S-ფაზაში უჯრედების რიცხვი, მით ცუდია

დაავადების პროგნოზი და პაციენტების სიცოცხლის ხანგრძლივობაც ხანმოკლეა [26]. უჯრედული ციკლის პარამეტრების ცვლილებების მიხედვით შესაძლებელია მკურნალობის ეფექტურობის შეფასება ონკოჰემატოლოგიურ ავადმყოფებში, რომლებიც იტარებენ ქიმიო და სხივურ თერაპიას [9,116].

ზემოთქმულიდან გამომდინარე, სრულიად დასაშვებია, რომ სიმსივნური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის მაჩვენებლებს გადამწყვეტი მნიშვნელობა ჰქონდეთ ჰემატოლოგიური და ონკოლოგიური დაავადებების დიაგნოსტიკასა და პროგნოზირებაში, რემისიის ხანგრძლივობისა და ჩატარებული თერაპიის ეფექტურობის შეფასებაში, ასევე მკურნალობის მეთოდის შერჩევაში. [9,22,51,149,99, 190,119,155,80,86,151,108,25].

ზოგიერთი ჰემატოლოგიური დაავადების დროს (განსაკუთრებით მწვავე ლეიკემიების გაშლილი სტადიისას, პერნიციოზული და აპლასტიური ანემიების დროს) ხშირად აღინიშნება $S/(G_2 +M)$ ფაზების თანაფარდობის მომატება. ვარაუდობენ, რომ ეს დაკავშირებულია უჯრედებში დნმ-ის სინთეზის დარღვევასთან და S-ფაზის მიმდინარეობის შეჩერებასთან მასზე ენდოგენური (ვიტამინ B_{12} და ფოლიუმის მჟავას დეფიციტი, პროლიფერაციის ინჰიბიტორების ზემოქმედება) და ეგზოგენური (ციტოსტატიკური აგენტები) ფაქტორების ზემოქმედების გამო. Aამ ფაქტორების ზემოქმედება ორგანიზმზე იწვევს ნორმალური ჰემოპოეზის დარღვევას. Aამიტომ ზემოთ აღწერილი ციტომეტრიული პარამეტრი _ $S/(G_2+M)$ ფაზების თანაფარდობა, რომელიც ახასიათებს მიტოზურ ციკლს, შესაძლოა განხილულ იქნას, როგორც ერთ_ერთი ტესტი, რომელიც გამოავლენს არაეფექტურ ჰემოპოეზს [31].

1.3. ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობა მწვავე ლეიკემიების დროს

მწვავე ლეიკემიები წარმოადგენს სისხლის სისტემის სიმსივნური დაავადებების ჰეტეროგენულ ჯგუფს, რომელიც ხასიათდება ძვლის ტვინის პირველადი დაზიანებით მორფოლოგიურად უმწიფარი სისხლმბადი (ბლასტური) უჯრედებით, რის შედეგადაც ნორმალური ელემენტების ადგილს იკავებს ბლასტური უჯრედები.

მწვავე ლეიკემია კლონური დაავადებაა ე.ი. წარმოიქმნება ერთი მუტირებული სისხლმბადი უჯრედიდან, რომელიც შეიძლება იყოს როგორც ძალიან ადრეული, ღეროვანი უჯრედების დონეზე, ასევე კომიტირებული განსაზღვრული ხაზის წინამორბედი უჯრედების მიმართულებით [17]. ბლასტური უჯრედების ხაზობრივი სპეციფიურობა, მათი დიფერენციაციის ხარისხი განაპირობებს მწვავე ლეიკემიების მიმდინარეობას, მკურნალობის ეფექტურობას და შესაბამისად დაავადების პროგნოზს [15].

ლეიკემიების კლონური ბუნების დამადასტურებელია ლეიკემიურ – სიმსივნური უჯრედების უმეტეს ნაწილში ერთი და იგივე ქრომოსომული აბერაციის [28,18,19] და გლუკოზო-6-ფოსფატ-დეჰიდროგენაზას ერთი სახის იზოფერმენტის აღმოჩენა. მწვავე ლეიკემიების დიაგნოსტიკაში მნიშვნელოვანი მიღწევაა ქრომოსომული ცვლილებების გამოვლენის სპეციფიური და მაღალმგრძნობიარე მეთოდის დანერგვა, როგორიცაა პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია (PCR) შექცევადი ტრანსკრიფციით, რომელიც საშუალებას იძლევა აღმოჩენილ იქნას ერთი სიმსივნური უჯრედი 10^6 ნორმალურ უჯრედებს შორის. ამიტომ PCR გამოიყენება არა მხოლოდ დიაგნოსტიკაში, არამედ მინიმალური რეზიდუალური დაავადების მონიტორინგში [148,177,142].

მწვავე ლიმფობლასტური ლეიკემიების სიმსივნური უჯრედების კლონური ბუნების დამადასტურებელია ლიმფოციტების ნორმალური სადიფერენციაციო მარკერების, როგორებიცაა იმუნოგლობულინების (Ig) და T-უჯრედული რეცეპტორის (TCR)-ის გამოვლენა PCR მეთოდით. ნორმაში მწიფე ლიმფიციტების ჰეტეროგენული პოპულაცია ხასიათდება „პოლიკლონურობით“. სიმსივნური ტრანსფორმაციის დროს ლიმფოიდური უჯრედების ერთი სახის პოპულაცია ხასიათდება „მონოკლონურობით“, რომლისთვისაც დამახასიათებელია ერთი კლონის უჯრედების დომინირება TCR-ის Ig-ის V(D) J გენური სეგმენტის გაერთიანების გამო [24]. ლეიკემიური უჯრედების ძირითადი თვისებაა დიფერენციაციის უნარის არ არსებობა, პროლიფერაციის უნარის მატება და ძვლის ტვინში ბლასტური უჯრედების დიდი რაოდენობით დაგროვება.

ცნობილია რომ, საწყისი სისხლმბადი უჯრედის მუტაცია ხდება სხვადასხვა ეგზოგენური და ენდოგენური ზემოქმედების შედეგად, რომელიც აზიანებს უჯრედის

გენეტიკურ აპარატს-დნმ-ს. დიდი როლი ენიჭება ასევე ქრომოსომულ ანომალიებსა და ვირუსულ ინფექციებს (რეტროვირუსი HTLV T-ლიმფომის დროს და ეპშტეინ-ბარის ვირუსი ბერკიტის ლიმფომის დროს), რომლებიც ცვლიან უჯრედული ონკოგენების სტრუქტურასა და რეგულაციას, რის შედეგადაც ჰემოპოეზური უჯრედი იძენს ჰიპერპროლიფერაციის უნარს და კარგავს დიფერენციაციის თვისებას.

Воробьёв А.И (2003) მონაცემებით ლეიკემიები გადიან განვითარების ორ ეტაპს: პირველი ეტაპი _ კეთილთვისებიანი მონოკლონური სიმსივნის წარმოქმნა; მეორე _ ავთვისებიანი სიმსივნის წარმოქმნა, რომელსაც აქვს პოლიკლონური ტრანსფორმაციის ნიშნები. ლეიკემიის ფორმირების პირველი ეტაპი იწყება საწყისი (ღეროვანი) სისხლმბადი უჯრედის მუტაციით, რომელიც იძენს ინტენსიური პროლიფერაციის უნარს და იძლევა მუტირებულ უჯრედულ შთამომავლობას_კლონს. ამ ეტაპზე სიმსივნე შედგება უჯრედებისაგან, რომელთაც არა აქვთ პოლიმორფიზმისა და ატიპიზმის ნიშნები. ამ უჯრედებს ჯერ კიდევ შენარჩუნებული აქვთ დიფერენციაციის უნარი და არ იძლევიან მეტასტაზებს ორგანოებსა და ქსოვილებში (კეთილთვისებიანი სიმსივნური ზრდა). პირველადი ლეიკოზური კლონი გარკვეული დროის მანძილზე არსებობს ნორმალურ კლონთან ერთად, თუმცა აქვს უპირატესი ზრდის თვისება და ამიტომ იწყებს თანდათანობით ნორმალური კლონის გამოდევნას. მუტირებული უჯრედის შთამომავლობა ხასიათდება განმეორებითი მუტაციის დიდი წინასწარგანწყობით, რაც დაკავშირებულია უჯრედული გენომის არასტაბილურობით. ამიტომ ლეიკემიური კლონის განვითარების მეორე ეტაპზე განმეორებითი მუტაციების შედეგად წარმოიქმნება ახალი სუბკლონები, რომლებიც ხასიათდებიან მუტაციის ძალიან მაღალი უნარით. უჯრედები ხდებიან პოლიკლონური და იძენენ ავთვისებიანობის ნიშნებს. სიმსივნური უჯრედები, ძველებურად ინტენსიურად პროლიფერირებენ, მაგრამ კარგავენ დიფერენციაციის უნარს [17]. შემდგომ სიმსივნური კლონი ვითარდება სიმსივნური პროგრესიის კანონების მიხედვით, რაც გამოიხატება შემდეგი პროცესებით:

- ძვლის ტვინის ნორმალური უჯრედების დათრგუნვა.

- სიმსივნურ მასაში დიფერენცირებული უჯრედების შეცვლა ბლასტური უჯრედებით, რომლებიც კარგავენ დიფერენციაციის უნარს და ხდებიან მორფოლოგიურად და ციტიქიმიურად არადიფერენცირებულნი.
- ლეიკემიური უჯრედები იძენენ ზრდისა და გამრავლების უნარს არაჰემოპოეზურ ორგანოებში (ლეიკემიური მეტაპლაზია).
- ლეიკემიური უჯრედების გამოსვლა ციტოსტატიკური თერაპიის კონტროლიდან.

სიმსივნური პროგრესიის შედეგად ყალიბდება ლეიკემიის კლინიკური სურათი [17].

ლეიკემიის პათოგენეზში დიდ როლს ასრულებს აპოპტოზის დარღვევა. აპოპტოზი წარმოადგენს გენეტიკურად დაპროგრამებულ უჯრედის სიკვდილს. „მრავალუჯრედიანი ორგანიზმების ყველა უჯრედს და ზოგიერთ ერთუჯრედიან ორგანიზმს აქვს გენეტიკურად დეტერმინირებული თვითმკვლელობის პროგრამა" [102,45].

უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობასა და კვდომას შორის არსებული ბალანსი მნიშვნელოვან როლს თამაშობს ქსოვილოვანი ჰომეოსტაზის შენარჩუნებაში. უჯრედების პროგრამირებული კვდომის (აპოპტოზის) კონტროლის დარღვევა კი შესაბამისად ხელს უწყობს ტუმოროგენეზის პროცესს და ქიმიოპრეპარატების მიმართ რეზისტენტობის ჩამოყალიბებას [62,176,184,179].

ტერმინი „აპოპტოზი" შემოთვაზებულ იქნა Kerr-ის მიერ, ჯერ კიდევ 1972 წელს. აპოპტოზის ფუნქციაა ძველი, ან ჭარბი უჯრედების, ასევე დარღვეული დიფერენციაციისა და დაზიანებული გენეტიკური მასალის მქონე უჯრედების მოცილება [12].

ევოლუციურად დეტერმინირებული დაცვის მრავალსაფეხურიანი პროცესი რეგულირდება ცილებით, რომლებიც იწვევენ აპოპტოზური უჯრედების კვდომის დაჩქარებას ან ინჰიბირებას [184]. უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის გახანგრძლივება აპოპტოზის ინჰიბაციის გზით თავდაპირველად შესწავლილ იქნა პროტეინ Bcl-2-ზე [36]. დღეისათვის აღწერილია აპოპტოზის ცილების ინჰიბიტორების (IAPs) 6 სახეობა: NAIP, CIAP1, CIAP2, XIAP, SURVIVIN და appolon [32,55,57, 66,146,154].

ცნობილია გენები, რომლებიც არეგულირებენ აპოპტოზს, კერძოდ Bcl-2 (ნორმაში განაპირობებს აპოპტოზისადმი უჯრედთა მდგრადობას) და C-FES-გენები

აფერხებენ აპოპტოზს [112], ხოლო BAX, BAK, DAD, P-53, C-MYK, CD95/APO-1/FAS _ ასტიმულირებენ მას. p53 გენის ველური ტიპი (ანუ ნორმალური p53) ახდენს აპოპტოზის ინდუცირებას, ხოლო პროტოონკოგენები Bcl-2 და Bcl-X აპოპტოზის ბლოკირებას. p53 გენის ველური ტიპის მუტაციის შედეგად წარმოიქმნება მუტირებული p53 გენი (p-53 მუტანტი) და უჯრედი კარგავს აპოპტოზის უნარს. p53 გენის ველური ტიპი ახდენს არა მხოლოდ აპოპტოზის ინდუცირებას, არამედ იწვევს უჯრედული ციკლის ბლოკირებას MYK გენთან ერთად G_1 ან G_1-დან S-ფაზაში გადასვლის მაკონტროლებელი ცენტრის ბლოკირებით. C-MYK ცილის ექსპრესია დაკავშირებულია უჯრედის პროლიფერაციასა და დიფერენციაციასთან, აპოპტოზის დაწყება მის ნორმალურ ფუნქციად შეიძლება ჩაითვალოს. C-MYK-ის ანტაგონისტებია ზრდის ფაქტორები.

CD95/APO-1/FAS ანტიგენის ექსპრესია ვლინდება, მწვავე ლეიკემიების სხვადასხვა ვარიანტების ლეიკემიურ უჯრედებში. CD95 ანტიგენის დადებითი (>20%-ზე) ექსპრესია მწვავე მიელობლასტური [118,135] და ლიმფობლასტური ლეიკემიის, ასევე არაჰოჯკინის ლიმფომების დროს კეთილსაიმედო კლინიკური მიმდინარეობის მაჩვენებელია, ხოლო მისი დაბალი ექსპრესია ქრონიკული ლიმფოიდური ლეიკემიის დროს არაკეთილსაიმედო პროგნოზული ფაქტორია [3,23,37]. Bcl-2-ის ექსპრესია აღინიშნება ქრონიკული ლიმფოლეიკემიის მწიფე B-უჯრედებში [4], ხოლო ადრეულ B-უჯრედებში, რომელთა სიმსივნური ანალოგებია მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიის ბლასტური უჯრედები, ასევე მიელომის პლაზმური უჯრედები, ამ ცილის ექსპრესია არ ვლინდება. Bcl-2-ის მაღალი ექსპრესია და Bcl-2/Bax მაღალი თანაფარდობა აღინიშნა ქრონიკული ლიმფოლეიკემიის მკურნალობის მიმართ რეზისტენტულ ავადმყოფებში (რაც გამოიხატა მაღალი ლეიკოციტოზით) [23].

Bax _ ექსპრესირდება როგორც ადრეულ, ასევე მწიფე B-უჯრედებში, მაგრამ მწიფე უჯრედებში მისი ექსპრესია უფრო მაღალია. აპოპტოზის რაგულაციაში მონაწილეობენ ასევე სხვა ფაქტორები, CD-40 ლიგანდის ექსტრაცელულური მატრიქსი, ნეიტრალური ამინომჟავები, თუთია, ესტროგენები, ანდროგენები. დადგენილია, რომ უჯრედის აპოპტოზის რეგულაციაში განსაკუთრებით დიდ როლს ასრულებენ ზრდის ფაქტორები (ციტოკინები), რომლებიც დაკავშირებულია ნორმალურ

სისხლწარმოქმნასთან. დღეისათვის დადგენილია, რომ უჯრედის აპოპტოზის შეფერხება მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს მწვავე ლეიკემიის ზოგიერთი ფორმის, ასევე ქრონიკული მიელოლეიკემიის ქიმერული abl/bcr-გენის, ფოლიკულური ლიმფომის, სარძევე ჯირკვლის, წინამდებარე ჯირკვლის და საკვერცხის კიბოს, ასევე აუტოიმუნური დაავადების (სისტემური წითელი მგლურა, გლომერულონეფრიტი), და ჰერპესული ინფექციის განვითარებაში [168,56,164]. აპოპტოზის დათრგუნვა საფუძვლად უდევს სიმსივნური კლონის წარმოქმნას და სიმსივნის მეტასტაზირებას. აპოპტოზის დათრგუნვის მექანიზმებიდან ყველაზე კარგადაა შესწავლილი:

- სიმსივნურ უჯრედებში ონკოგენების აქტივაცია და ამის შედეგად უჯრედის მიერ ზრდის ფაქტორებისა და მათი რეცეპტორების აუტო და პარაკრინული ექსკრეციის აქტივაცია [11].
- გენების მუტაცია, რომლებიც აკონტროლებენ აპოპტოზს, პირველ რიგში გენი p-53, რაც გარდაქმნის აპოპტოზის ინდუქტორს ინჰიბიტორად.

დადგენილია ასევე, რომ აპოპტოზის დათრგუნვა განაპირობებს ანტისიმსივნური იმუნიტეტის დარღვევას [175].

მაღალი პროლიფერაციული აქტივობის მქონე ლეიკემიური კლონი მკვეთრად ამცირებს ერითროიდულ და მეგაკარიოციტულ რიგებს, რაც იწვევს ლეიკემიის უმათავრესი სინდრომების - ანემიისა და თრომბოციტოპენიის განვითარებას. [14]. სიმსივნური ზრდის შეფასების მნიშვნელოვან პარამეტრს წარმოადგენს უჯრედთა პროლიფერაციული აქტივობის განსაზღვრა. რისთვისაც იყენებენ შემდეგ მარკერებს: Ki 67, PCNA-პროლიფერაციული უჯრედების ბირთვული ანტიგენი, ციკლინები A, B, D1-D3, F.

ანტიგენი Ki 67-ვლინდება უჯრედული ციკლის G_1/M-ფაზებში მყოფ უჯრედებში. PCNA-ის იმუნოციტოქიმიური დეტექცია იზრდება გვიან G_1-ფაზაში, აღწევს პიკს S-ფაზაში, მცირდება G2-ფაზის განმავლობაში და აღწევს არადეტექტირებად დონეს მოსვენებულ უჯრედებში. BrdU (ბრომოდეოქსიურიდინი)-გამოიყენება უჯრედული ციკლის S-ფაზაში მყოფი უჯრედების გამოსავლენად. ციკლინ B ვლინდება G2/M-ფაზებში, ციკლინები D1-D3-G1-ფაზაში, ციკლინ E-G1-იდან S-ფაზაში გადასვლისას [2].

Ki 67 ანტიგენით უჯრედთა პროლიფერაციული აქტივობის განსაზღვრა ზედმიწევნით ინფორმატიულია პერიფერიული სისხლის პროლიფერაციული აქტივობის დასადგენად, სადაც ნორმაში პროლიფერაციული აქტივობა არ აღემატება 0,3%-ს, ხოლო გაყოფის უნარის მქონე ერითროკარიოციტები პერიფერიულ სისხლში, როგორც ცნობილია, არ არის. პერიფერიული სისხლის საერთო მიტოზური ინდექსი ნორმასა და ლეიკემიების დროს არ აღემატება 0,2%-ს [16].

მწვავე ლეიკემიების დროს პროლიფერაციული აქტივობა Ki 67 ანტიგენის მიხედვით 12%-ია, ხოლო PCNA-10% [97]. პროლიფერაციული დონის მატება 10-20%-მდე T და B უჯრედებისათვის, მათი მწიფე ფენოტიპის არსებობის შემთხვევაშიც კი, მიუთითებს მწვავე ლეიკემიაზე, ხოლო პროლიფერაციული აქტივობის 1%-ზე დაბალი მაჩვენებელი აღინიშნება ქრონიკული T და B ლეიკემიების დროს [16].

ძვლის ტვინის უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობა ანტიგენ Ki 67 და PCNA-ის მიხედვით პერიფერიულ სისხლთან შედარებით მაღალია და შეადგენს 15%-ს [97]. ძვლის ტვინის უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობა Parker-ის მიხედვით მოზრდილებში ნორმაში შეადგენს 26.1% (9.5 - 47.8%), რომელიც დადგენილ იქნა 30 დონორის ძვლის ტვინის ნიმუშებზე [158], ხოლო ბავშვებში პროლიფერაციული აქტივობა 6.6%-ია (1.7% _ 25%) [41]. ბავშვთა მწვავე ლიმფობლასტური ლეიკემიის დროს (ALL) აღინიშნება Ki 67 და PCNA ანტიგენით გამოვლენილი მოპროლიფერაციე უჯრედების სხვადასხვა თანაფარდობა. კერძოდ, აღინიშნება დისოციაცია PCNA-სა და Ki 67-ის ექსპესიას შორის მწვავე ლიმფობლასტური ლეიკემიის ბლასტურ უჯრედებში. PCNA-ის მონიშვნის ინდექსი ALL-ით ავადმყოფებში მომატებულია (საშუალო 44%, მერყეობა 24 _ 77), ნორმალური ძვლის ტვინის უჯრედებთან შედარებით (საშუალო 13.8%, მერყეობა 4 _ 26). Ki 67-ის ექსპრესია უფრო ნაკლებადაა მომატებული ALL-ის უჯრედებში (საშუალო 14.8, მერყეობა 1.2 _ 35) ნორმასთან შედარებით. PCNAdasa/Ki 67-ის თანაფარდობა ALL-ის დროს შეადგენს (საშუალო 7%, მერყეობა 1.1 _ 35), რაც ნორმაზე მეტია (საშუალო 2.7%, მერყეობა 1.04 _ 6.5) [38].

ბლასტური უჯრედების Ki 67 ანტიგენით მონიშვნის ინდექსი ბავშვთა მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების დროს მეტია მწვავე არალიმფოიდურ ლეიკემიებთან (ANLL) შედარებით და შეადგენს: 23.6%_ALL (მერყეობა 0.0 _ 49.2%) და 5.6% _ ANLL-ის

დროს. ბლასტური უჯრედების Ki 67-ით მონიშვნის ინდექსი (LI) ბავშვთა მწვავე ლეიკემიების დროს მერყეობს 0.4%-იდან 42.2%-მდე, საშუალო 18.8% [99].

Ki 67 LI ALL-ის დროს S-ფაზის პროპორციულია, რომელიც განსაზღვრულ იქნა DNA-გამდინარე (flow) ციტომეტრიით (FCM), ხოლო ANLL drდროს Ki 67 LI-სა S-ფაზის ფრაქციას შორის აღინიშნება სხვაობა. Ki 67 LI-ის მაღალი დონე ALL-ის დროს შეესაბამებოდა ცუდ პროგნოზს და ეს მაჩვენებელი შესაძლოა გამოყენებულ იქნას ციკლოსპეციფიური პრეპარატებით მკურნალობის შემთხვევაში [99,146].

პროლიფერაციული უჯრედების ბირთვული ანტიგენის (PCNA)-ის მონიშვნის ინდექსი ვარირებს 57.2%-იდან 100%-მდე, საშუალო 90.3% და მისი რაოდენობა ყოველთვის უფრო მაღალია, ვიდრე Ki 67-ისა. არსებობს ერთეული შრომები, რომლებშიც აღნიშნულია, რომ Ki 67 LI შესაძლოა ჰქონდეს პროგნოზული მნიშვნელობა ALL-ის მიმდინარეობის განსაზღვრაში [101]. ასევე PCNA-ის მაღალი დონე ასოცირდება ინდუქციური თერაპიის მიმართ ცუდი მგრძნობელობით [191].

ადამიანის ლეიკემიური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის შესწავლის მიზნით გამოიყენება უჯრედული ციკლის ფაზების შესწავლა მონოკლონური ანტისხეულებით: Ki 67, PCNA, სტატინი. PCNA-დადებითი უჯრედების პროცენტული რაოდენობა ყოველთვის აჭარბებს Ki 67 დადებით უჯრედებს. PCNA-ის დონე მკვეთრად იზრდება G_1-იდან და ადრეულ S-ფაზაში, სტაბილურია S და G_2-ფაზაში. PCNA-ის მონიშვნის ინდექსი შეესაბამება უჯრედული ციკლის $S+G_2M$ ფაზაში მყოფი უჯრედების რაოდენობას. Ki 67-ის დონე იზრდება უჯრედული ციკლის მიმდინარეობასთან ერთად, აღწევს მაქსიმუმს გვიან S და G_2-ფაზაში. პაციენტთა უმეტესობაში Ki 67 ნეგატიური უჯრედების აღმოჩენა შესაძლებელია მხოლოდ G_1-ფაზაში [186]. Ki 67 anანტიგენის ექსპრესია აღწევს პიკს M-ფაზაში. მიტოზური ციკლის დასრულებისთანავე ცილა სწრაფად კატაბოლიზდება და არ ვლინდება [25,154]

უჯრედული კინეტიკის მარკერს მიეკუთვნება სტატინი, რომელიც წარმოადგენს არამოპროლიფერაციე უჯრედების ბირთვულ ანტიგენს. სტატინი უმთავრესად ექსპრესირდება in vitro უჯრედული ციკლის G_0-ფაზაში მყოფი უჯრედების მიერ [193] სტატინის ექსპრესია მცირდება მაშინ, როდესაც უჯრედები კვლავ შედიან G_1-ფაზაში [194]. ე.ი სტატინი არის მოსვენებული უჯრედების მარკერი

[38]. PCNA დადებითი უჯრედების სიხშირე S-ფაზის პროპორციულია, ხოლო სტატინის - G_0-ფაზის.

Vizani G. Ottoviani E.-ის მიერ (1997) შესწავლილ იქნა მწვავე მიელოიდური ლეიკემიების ქიმიოთერაპიის მიმართ რეზისტენტული ფორმების დროს ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობა სტატინის, PCNA-ისა და ლეიკემიური უჯრედების გაორმაგების დროის შესწავლით მწვავე მიელოიდური ლეიკემიების სხვადასხვა ქვევარიანტების დროს მკურნალობის მიმართ რეზისტენტული ფორმების მაგალითზე. მათ მიერ ნაჩვენები იქნა, რომ PCNA-დადებითი უჯრედები S-ფაზის პროპორციულია და მისი მაღალი ექსპრესია შეესაბამება ავადმყოფების სიცოცხლის უფრო ხანგრძლივ პერიოდს. პროლიფერაციული აქტივობის დაბალი მაჩვენებლისას აღინიშნებოდა არამოპროლიფერაციე უჯრედების ბირთვული ანტიგენის _ სტატინის მაღალი შემცველობა, რაც შეესაბამებოდა ლეიკემიური უჯრედების გაორმაგების სწრაფ დროს, სრულ რეზისტენტობას თერაპიაზე, ძალზე მოკლე სიცოცხლის ხანგრძლივობასა და (≤4 თვე) დაბალ გადარჩენადობას, ხოლო სტატინის საშუალო შემცველობისას ლეიკემიური უჯრედების გაორმაგების დრო იყო დაბალი, რაც შეესაბამებოდა ქიმიოთერაპიაზე ნაწილობრივ მგრძნობელობას, სიცოცხლის მეტ ხანგრძლივობასა (1 წელზე მეტი) და გადარჩენადობას. ამ ორივე ჯგუფს შორის სხვაობა სტატისტიკურად სარწმუნოა ($p=0.003$) [190]. Ki-67 ანტიგენის იმუნორეაქტიულობა მაღალია ANLL-ის $M4_{Eo}$ და M6 ქვევარიანტების დროს სხვა ქვევარიანტებთან შედარებით ($P = 0.000$), ხოლო აპოპტოზი ANLL-ის სხვა ქვევარიანტების მსგავსია ($P=0.724$) [197].

უჯრედული ციკლის კინეტიკის შესაფასებლად გამოიყენება in vitro ბლასტური უჯრედების ბრომოდეოქსიურიდინით (Brd Urd/DNA და Ki 67/DNA) მონიშვნის მეთოდი გამდინარე ციტომეტრის მეშვეობით. ბრომოდეოქსიურიდინი გამოიყენება უჯრედული ციკლის S-ფაზაში მყოფი უჯრედების გამოსავლენად. ლეიკემიური უჯრედების S-ფაზის ხანგრძლივობა (Ts) მერყეობს 6.1-დან 34.3სთ-მდე (მედიანა 14,3სთ), ხოლო უჯრედების გაორმაგების პოტენციური დრო (DTpot)-1.1 დღიდან-20,7 დღემდე (მედიანა 43.2სთ). აღმოჩენილია კორელაცია მწვავე ლეიკემიების სხვადასხვა ქვევარიანტების დროს (Pre-BALL, T/B-ALL და ANLL) ბრომოდეოქსიურიდინით მონიშვნის ინდექსს (Brd Urd-LI), უჯრედების გაორმაგების

დროს (DTpot), Ki 67-GF/-ით მონიშნული ზრდის ფრაქციასა და უჯრედული ციკლის ხანგრძლივობის (Tc) მაჩვენებლებს შორის [187]. ბრომოდეოქსიურიდინით S-ფაზის მონიშვნის ინდექსის (Brd Urd-LI) და ზრდის ფრაქციის (GF) მედიანა ბევრად დაბალია მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების დროს, მწვავე ლიმფოიდურ ლეიკემიებთან შედარებით. დაბალი პროლიფერაციული აქტივობა მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების დროს არ შეესაბამება უჯრედული ციკლის დროის გახანგრძლივებას. უჯრედული ციკლის ყველაზე უფრო ხანგრძლივი დრო Tc (მედიანა) იქნა აღნიშნული ადრეული (პრე) BALL-ის დროს (75,2სთ), ხოლო არალიმფოიდური ლეიკემიების შემთხვევაში ეს დრო შეადგენს 36.7 სთ, T/B-ALL-ის დროს _ 34სთ. აქედან გამომდინარე S-ფაზის ხანგრძლივობა (Ts) დამოკიდებულია დაავადების სუბტიპზე [187].

ბევრი ავტორი თვლის, რომ არაეფექტურ ერითროპოეზს რეფრაქტერული ანემიის, რეფრაქტერული ანემია სიდერობლასტებით და რეფრაქტერული ანემია ბლასტების სიჭარბით სტადიის დროს საფუძვლად უდევს ინტრამედულური აპოპტოზის მომატება. [134,28, 14,130]. Parker JE, Mufti GJ et al (2000)-ის მიერ შესწავლილ იქნა CD-34(+) ძვლის ტვინის ბლასტური უჯრედების აპოპტოზი (annexin V-ით), პროლიფერაცია (Ki 67) და Bcl-2-თან დაკავშირებული პროტეინის ექსპრესია მიელოდისპლაზიისა (MDS) და მიელოდისპლაზიის შემდგომი (MDS-AML) მწვავე მიელოიდური ლეიკემიების დროს გამდინარე ციტომეტრის გამოყენებით. მათი მონაცემებით CD-34(+)-უჯრედების აპოპტოზი იმატებს MDS-ის რეფრაქტერული ანემიის (RA), რეფრაქტერული ანემია სიდერობლასტებით (RARS) (56.9% [20.4% _ 93.6%]) და რეფრაქტერული ანემია ბლასტების სიჭარბით სტადიის დროს (RAEB) (51.2% [25.2% _ 76.6%]) ნორმალურ ძვლის ტვინთან შედარებით (NBM) (16.7% [3.4 _ 35.3%]). RA და RARS სტადიის დროს, აპოპტოზი ყოველთვის აჭარბებს პროლიფერაციას (Ki 67 დადებითია 26.1% [9.5% _ 47.8%]). აპოპტოზი/პროლიფერაციის ფარდობა ტოლია 1.14 [0.93 _ 2.08]. ორივე შემთხვევაში მომატებულია პროლიფერაცია_Ki 67LI _ 40.4% [22% _ 69.5%]. RAEB _ პროგრესიის დროს და მისი ტრანსფორმაციისას (RAEB-t)/MDS-AML მწვავე მიელოიდურ ლეიკემიად, ხდება აპოპტოზის რედუქცია Bcl-2 _ 22.3% [2.1 _ 53.2%] და პროლიფერაციის შემცირებაც Ki 67LI _ 16.8% [1.9 _ 75.8]); აპოპტოზი/პროლიფერაციის ფარდობაა _ 1.69 [0.16 _ 12.21].

ავთვისებიანი სიმსივნეების განვითარებაში, პროგრესიასა და პროგნოზირებაში მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ანტიაპოპტოზური სიგნალები. მისი განმსაზღვრელი ახლადაღმოჩენილი პროტეინებია: Survivin და Aven. Survivin წარმოადგენს ბიფუნქციურ პროტეინს, რომელიც ახდენს აპოპტოზის სუპრესიას და არეგულირებს უჯრედების გაყოფას რის გამოც იგი მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ონკოგენეზში [35,55].

აპოპტოზის სუპრესიის ინდუქცია ხდება FAS, BAX, CASPASE და ანტისიმსივნური პრეპარატებით [179]. Survivin არა მხოლოდ აკონტროლებს აპოპტოზს, არამედ მონაწილეობს უჯრედული ციკლის პროგრესიაში. Survivin-ი ხელს უშლის აპოპტოზს Caspase-ს აქტივობის ბლოკირებით და ექსპრესირდება უჯრედული ციკლის G_2/M-ფაზაში [121]. Caspase-ს აქტივობა აღინიშნება უჯრედული ციკლის ყველა ფაზაში. მის აქტივობას აბლოკირებს Survivin-ი [84,59]. Survivin-ის ექსპრესია შესაძლოა იყოს სიმსივნეების მთავარი თავისებურება; ის დამოუკიდებლად ან სხვა ანტიაპოპტოზურ გენებთან ერთად, როგორებიცაა Bcl-2, შესაძლოა იყოს ტრანსფორმირებულ უჯრედებშიც. არსებობს მოსაზრება, რომ იგი უნდა არეგულირებდეს აპოპტოზზე დამყარებულ თერაპიაზე მგრძნობელობასა და რეზისტენტობას [36].

Survivin-ი რე-ექსპრესირდება ადამიანის სხვადასხვა სახის სიმსივნეების უმეტეს ნაწილში. მაგ. ფილტვების, შარდ _ სასქესო, მალიგნიზებულ მელანომებში. ნეირობლასტომებში, ჰეპატოცელულური სიმსივნეების, პანკრეასის, კუჭის, ნაწლავების, სარძევე ჯირკვლის და რბილი ქსოვილების სარკომების დროს [110,164,83,180,98,100,165,166, 196,197,199]. Survivin-ის პროგნოზული მნიშვნელობა ჰემოპოეზური ნეოპლაზიების დროს კარგად შესწავლილი არ არის, ისევე როგორც სოლიდური სიმსივნეების დროს. თუმცა არსებობს მონაცემები Survivin-ის მაჩვენებლის დონის პროგნოზულ მნიშვნელობაზე ჰემოპოეზური ნეოპლაზიების, კერძოდ ლეიკემიების [75,137,105,81,145,140] და მაღალი ხარისხის ავთვისებიანი ლიმფომების დროს [139,32,136,171,37]. სოლიდურ სიმსივნეებში და მწვავე ლეიკემიების დროს გამოვლენილია კორელაცია Survivin-ის ექსპრესიასა და დაავადების ცუდ კლინიკურ მიმდინარეობას შორის, ე.ი მისი ექსპრესია არის ცუდი პროგნოზის მაჩვენებელი [110,32,33]. Survivin-ის ექსპრესია მაღალია ან დაბალია მოზრდილთა T-უჯრედული

მწვავე ლეიკემიების (ATL) დროს და უფრო დაბალი ქრონიკული T-უჯრედული ლეიკემიების დროს. Survivin-ის მაღალი ექსპრესია შეესაბამება სიმსივნის აგრესიულობის ხარისხს მოზრდილთა ATL-ის დროს [106,138], ასევე აღმოჩენილია Survivin-ის მაკონტროლებელი ზემოქმედება B-უჯრედული ქრონიკული ლიმფოლეიკემიის მოპროლიფერაციე უჯრედებზე. ის მოქმედებს, როგორც აპოპტოზის ხელშემშლელი და მისი ექსპრესია შესაძლოა იყოს მიკროგარემოს გაღიზიანების მედიატორი [82]. Survivin ექსპრესირდება მწვავე მიელოიდური ლეიკემიის ყველა უჯრედულ ხაზში და ლეიკემიური უჯრედების უმეტეს ნაწილში. ის არ გვხვდება ნორმალური პერიფერიული სისხლის მონონუკლეურ უჯრედებში და ძვლის ტვინის უჯრედებში [76,138,106,139,136,171].

Aven-ი წარმოადგენს ახლადაღმოჩენილ ანტიაპოპტოზურ პროტეინს, რომელიც უკავშირდება Bcl-xL და caspase-ს რეგულატორს-Apaf-1. ის ახდენს აპოპტოზის სუპრესიას Apaf-1 და caspase-ს დათრგუნვით. Aven-ი ისევე, როგორც Survivin-ი წარმოადგენს მნიშვნელოვან ანტიაპოპტოზურ სიგნალს მწვავე ლეიკემიების დროს. მათი ექსპრესია კი არის ცუდი პროგნოზული მაჩვენებელი [14,152].

ამგვარად, ჩვენს მიერ გაანალიზებული ლიტერატურის მონაცემების საფუძველზე შეიძლება დავასკვნათ, რომ უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის შესწავლას დიდი მნიშვნელობა აქვს დაავადების მიმდინარეობის, პროგნოზისა და ავადმყოფის მგრძნობელობის განსაზღვრაში ქიმიოთერაპიის მიმართ. სისხლმბადი უჯრედების პროლიფერაციისა და დიფერენციაციის შესწავლით შესაძლებელია უფრო ღრმად ჩავწვდეთ ლეიკემოგენეზის პროცესს. ამასთან, ნათელია რომ სწორედ ლეიკემიების შემთხვევაში განსაკუთრებული მნიშვნელობა აქვს ბლასტური უჯრედების კინეტიკური პარამეტრების დადგენას და მათი როლის განსაზღვრას დაავადებების მიმდინარეობაში, მით უმეტეს, რომ ლეიკემიური ბლასტური უჯრედები, რომლებიც სხვა სიმსივნურ მასალასთან შედარებით ადვილად ხელმისაწვდომია გამოკვლევებისათვის, ყოველთვის წარმოადგენდა მოსახერხებელ მოდელს სიმსივნური ზრდის კანონზომიერებათა დასადგენად.

ლიტერატურაში დაგროვილი მონაცემების ანალიზი ადასტურებს აგრეთვე ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის მკვეთრ ცვლილებას მწვავე

ლეიკემიების შემთხვევაში. ამ ცვლილებების არსი მდგომარეობს მწვავე ლეიკემიებით დაავადებულების ორგანიზმში პათოლოგიური უჯრედების პოპულაციის წარმოქმნით, რომლებიც მორფოლოგიური და ფუნქციური თვალსაზრისით არაერთგვაროვანია.

ზემოთქმულიდან გამომდინარე თანამედროვე ლეიკოზოლოგიის მნიშვნელოვან და აქტუალურ პრობლემას წარმოადგენს ლეიკემიური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის კომპლექსური შესწავლა მწვავე ლეიკემიების სხვადასვა ვარიანტების დროს დაავადების დინამიკაში და კინეტიკური პარამეტრების როლის დადგენა დაავადების მიმდინარეობაში, პროგნოზსა და თერაპიისადმი რეზისტენტობის დადგენაში, რაც წინამდებარე შრომის ძირითად მიზანს წარმოადეგენს.

II თავი.

კვლევის მასალა და მეთოდები

ჩვენი დაკვირვების ქვეშ იმყოფებოდა მწვავე ლეიკემიით დაავადებული 50 ავადმყოფი (მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიით _ 30, მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიით _ 20), რომლებიც მკურნალობდნენ აკად. გრ. მუხაძის სახ. ჰემატოლოგიისა და ტრანსფუზიოლოგიის სამეცნიერო-კვლევით ინსტიტუტში 2003 _ 2006 წლებში.

ძვლის ტვინის ბლასტური უჯრედების იმუნოფენოტიპირება და პროლიფერაციული აქტივობის განსაზღვრა ხდებოდა სამკურნალო - სამეცნიერო კვლევითი ცენტრის ლაბორატორიაში (ქ. თბილისის №1 კლინიკური საავადმყოფო).

გამოსაკვლევ მასალას წარმოადგანდა ძვლის ტვინის ასპირატი. ვინაიდან ძვლის ტვინის უჯრედების მორფოლოგიური და ფუნქციური მდგომარეობა იცვლება მათზე თერაპიული ზემოქმედების შედეგად, გამოკვლევები ჩატარებული იყო დაავადების დასაწყისში, მკურნალობამდე.

მწვავე ლეიკემიების ვარიანტები FAB კლასიფიკაციის მიხედვით დადგენილ იქნა ძვლის ტვინის უჯრედების ციტომორფოლოგიური, ციტოქიმიური, იმუნოციტოქიმიური და ციტოგენეტიკური ანალიზების საფუძველზე.

ჰემატოლოგიურ კვლევებს ვატარებდით ჰემატოლოგიურ კლინიკებში მიღებული მეთოდებით: სისხლის საერთო ანალიზი (დინამიკაში), ძვლის ტვინის

პუნქტატის მრავალჯერადი შესწავლა (ციტოლოგიური), ძვლის ტვინის მიტოზური აქტივობის, მიტოგრამების შესწავლა და ბლასტური უჯრედების იმუნოფენოტიპირება (ინიციალურ ეტაპზე). პერიფერიული სისხლის ანალიზში ითვლებოდა 200 უჯრედი, ძვლის ტვინში _ 400 უჯრედი, ხოლო ძვლის ტვინის მიტოზური ინდექსების გამოსათვლელად _ 1000 უჯრედი.

მოცემულ შრომაში გამოყენებული იყო კვლევის შემდეგი მეთოდები:

1. ავადმყოფთა საერთო კლინიკურ _ ჰემატოლოგიური გამოკვლევა ანამნეზის, ფიზიკალური და ლაბორატორიული მონაცემების დეტალური შესწავლის საფუძველზე.

2. უჯრედების მორფოლოგიური შესწავლა ჩვეულებრივ სინათლის მიკროსკოპში, პაპენჰეიმ _ კრიუკოვის მეთოდით შეღებილ პრეპარატებში.

3. ცოტოქიმიური კვლევა შემდეგი მეთოდებით: რეაქცია პეროქსიდაზაზე _ გრაჰამკნოლის (ბენზიდინის სინჯი), გლიკოგენზე _ შაბადაშის, არასპეციფიურ ესთერაზაზე _ ჰეიჰოს მეთოდით. ციტოქიმიური რეაქციების ინტენსივობა ფასდებოდა ვიზუალურად 4 _ ბალიანი სისტემით (0, +, ++, +++).

4. ძვლის ტვინის უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის შესწავლა ხდებოდა შემდეგი ტესტებით:

   - მიტოზური ინდექსები (მ.ი) _ გაყოფადი უჯრედების რაოდენობა 1000 მიტოზის უნარის მქონე უჯრედთან მიმართებაში.
   - მიტოგრამები _ მიტოზის ცალკეული ფაზების პროცენტული ფარდობა.
   - მიტოზების მორფოლოგიისა და პათოლოგიური მიტოზების ფორმების დადგენა.
   - ძვლის ტვინის ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის განსაზღვრისათვის და იმუნოფენოტიპირებისათვის ვიყენებდით იმუნოციტოქიმიურ _ მონიშნულ სტრეპტავიდინ-ბიოტინის მეთოდს LSAB (Labeled StreptAvidin-Biotin), რომელშიც გამოყენებულია ანტიგენ _ ანტისხეულის სპეციფიური კავშირი და ავიდინ _ ბიოტინის სპეციფიური კავშირი. რაც სხვა იმუნოპეროქსიდაზულ მეთოდებთან შედარებით LSAB მეთოდს უფრო

მგრძნობიარეს ხდის (X-ანტიგენი → პირველადი ანტისხეული → ბიოტინირებული მეორადი ანტისხეული → პეროქსიდაზით მონიშნული სტრეპტავიდინი → დიამინობენზიდინი).

მონოკლონურ ანტისხეულად გამოყენებულ იქნა Ki 67 (DAKO-PC, Proliferating cells).

იმუნოციტოქიმიური კვლევები ტარდებოდა შემდეგ ეტაპებად:

1. *ძვლის ტვინის ასპირაციულ მასალიდან ბლასტების გამოყოფა*: ძვლის ტვინის ასპირაციულ მასალას აღებისთანავე ვათავსებთ EDTA-ან სინჯარაში. ვამატებთ 2მლ ფიკოლ-ვეროგრაფინს და ვაცენტრიფუგებთ 10წთ-ის განმავლობაში (1500 ბრ.წთ-ში). რის შედაგადაც გამოიყოფა 4 შრე შემდეგი თანამიმდევრობით:

- ზედა-სუპერნატანტი
- ბლასტების შრე - „ძირითადი ნალექი“
- ფიკოლი
- ერითრიციტები

ბლასტების შრეს ანუ „ძირითად ნალექს“ ვრეცხავთ 3-ჯერადად HENKS-ის ხსნარით (HENKS' BALANCE SALT solystio - DAKO), ყოველი გარეცხვის შემდეგ ვაცენტრიფუგირებთ 5წთ-ის განმავლობაში. შემდგომ 3მლ HENKS-ის ხსნარს ვამატებთ 20მკლ „ძირითად ნალექს“, მიღებულ ნალექს ეწოდება „სამუშაო ხსნარი“. შემდგომ ვაკეთებთ აპროქსიმაციის სინჯს (აპროქსიმაცია ანუ უხეში შეფასება). ე.ი ნარევის ერთი წვეთს ანუ 25მკლ-ს ვათავსებთ სასაგნე მინაზე, ვაფარებთ საფარ მინას და ვათვალიერებთ მიკროსკოპში ჯერ ×10 გადიდებაზე, შემდგომ ×40-ზე. ერთ წვეთში უნდა იყოს ბლასტების ის რაოდენობა, რომ მივიღოთ უჯრედების მონოშრე.

2. *პრეპარატების მომზადება*: ადჰეზივით დაფარულ სასაგნე მინებზე ციტოსპინის მეშვეობით ვამზადებთ პრეპარატებს, რისთვისაც 1 წვეთ ანუ 25მკლ 10%-იან ხარის შრატის ალბუმინს ვამატებთ 4 წვეთ ანუ 100მკლ „სამუშაო ხსნარს“, ვაბრუნებთ ციტოსპინზე 4წთ-ის განმავლობაში (~700 ბრუნი წთ-ში). შემდგომ პრეპარატებს ვათავსებთ თერმოსტატში 37^{0}C-ზე 1სთ-ით. შემდგომ, ოთახის t-ზე ~5წთ-ით. ვაფიქსირებთ ცივ აცეტონში 10წთ-ით. ფიქსაციის შემდეგ პრეპარატებს ვაშრობთ

ჰაერზე. ამის შემდგომ პრეპარატებს ვფუთავთ ჰერმეტულად და ვდებთ მაცივარში 1სთ-ით (t-2^0-დან 8^0-C-მდე) ან მეორე დღემდე.

3. *ანტიგენის აღდგენა:* პრეპარატებს ვაჩერებთ ოთახის t-ზე, შემდგომ ვაწყობთ 5წთ-ით ბუფერში, გადაგვაქვს აბაზანაში, სადაც ჩასხმულია ციტრატული ბუფერი [PH-6,0 (2,1გ ლიმონმჟავა+2MNaOH-ის ხსნარი 50მლ-იან ნიშნულამდე)] და ვდებთ საინკუბაციოდ მიკროტალღოვან ღუმელში საშუალო t-ზე, ისე რომ ხსნარი 7წთ-ში იწყებს დუღილს, შემდეგ გამოგვაქვს, კვლავ ვამატებთ ხსნარს ნიშნულამდე და ვათავსებთ ისევ 7წთ-ით.

4. *ენდოგენური პეროქსიდაზას ბლოკირება:* ამ ეტაპზე ითრგუნება ენდოგენური პეროქსიდაზას აქტივობა.

- ნაცხებს შემოვხაზავთ DAKO PEN-ის საიზოლაციო ფანქრით, შემდგომ ნაცხებს ვდებთ
- Tris NaCl-ის ბუფერში 3-5წთ-ით.
- დავამატებთ 1წვეთ Peroxidaza Block-Dako და ვაჩერებთ 10წთ-ით ოთახის t-ზე.
- ვრეცხავთ გამოხდილ წყალში (Aq.dest) ან Tris NaCl-ის ბუფერში.
- ვაჩერებთ 2წთ-ით Aq.dest-ში.
- ვაწყობთ Tris NaCl-ის ბუფერში 10წთ-ით. შემდგომ გადავდივართ პროტეინის ბლოკზე.

5. *პროტეინის ბლოკი:* ამ ეტაპზე ითრგუნება პროტეინების აქტივობა.

პრეპარატებზე ვათავსებთ:

- Protein Block-Dako, serum Free-რეაქტივს და ვდებთ სველ კამერაში 10წთ-ით.

6. *პირველადი ანტისხეულის მიღება:* Ki 67 მონოკლონურ ანტისხეულს (DAKO-PC, Proliferating cells) შემდეგი განზავებით: 1მკლ 1%-იანი ხარის შრატის ალბუმინი / 50მკლ Ki 67 და ვტოვებთ საინკუბაციოდ სველ კამერაში 30წთ-ით. მიიღება პირველადი ანტისხეული.

7. *მეორადი ანტისხეულის მიღება:* ვრეცხავთ ბუფერით და ვამატებთ StreptAvidin/HRP (DAKO) (სტრეპტავიდინ/პირშუშხას პეროქსიდაზა). ბიოტინი უკავშირდება სტრეპტავიდინს (30წთ). მიიღება ბიოტინირებული მეორადი ანტისხეული.

- ნაცხებს ვავლებთ ბუფერში და დავაწვეთებთ ქრომოგენს-დიამინობენზიდინს, რაც ახდენს სტრეპტავიდინით მონიშნული ფერმენტის ვიზუალიზაციას. ნაცხებს ვდებთ Aq.dest-ში და ვათავსებთ
- ჰარის-ის (Harris) ჰემატოქსილინში 30წმ-ით, ვდებთ გამდინარე წყალში,
- ვატარებთ 96^0-იან I და II სპირტებში 2-2წთ-ით,
- ვდებთ ქსილოლში 2წთ-ით და ვაფარებთ საფარ მინას სპეციალური წებოს (მაუნთინგის) მეშვეობით.

- Ki 67 ანტიგენის მონიშვნის ინდექსი (LI) შაფასებული იყო სინათლის მიკროსკოპით, გადიდება ×400. ფასდებოდა მინიმუმ 500 უჯრედი. ბლასტური უჯრედები ითვლებოდა იმუნურად შეღებილად ანუ დადებითად მათი შეღებვის ინტენსივობის ხარისხის მიუხედავად. ანტიგენ Ki 67-ით მონიშვნის ინდექსი ფასდებოდა 500 უჯრედზე და გამოითვლებოდა პროცენტები.

მიღებული შედეგები ანუ ანტიგენ Ki 67-ის ექსპრესია შედარებულ იქნა ისეთ მაჩვენებლებთან, როგორიცაა ასაკი, სქესი, ლეიკოციტების ინიციალური რაოდენობა, სიცოცხლის ხანგრძლივობა, რემისიის სიხშირე და გადარჩენადობა. მიღებული შედეგების მიხედვით მოხდა ავადმყოფთა დაყოფა 4 ჯგუფად:

1. Ki 67 < 25%;
2. Ki 67 > 25%.
3. ლეიკოციტები > 30×10^9/ლ;
4. ლეიკოციტები < 30×10^9/ლ;

მიკროფოტოგრაფიისათვის გამოვიყენეთ ფირი KODAK _ 400.

statistikuri analizi: სტატისტიკური ანალიზი ჩატარებულ იქნა – თანამედროვე, აქტუალური მეთოდით: SPSS for Windows v.11.5. პროგრამული პაკეტის გამოყენებით.

მწვავე ლეიკემიებით დაავადებულებში ინიციალურ ეტაპზე არაკეთილსაიმედო პროგნოზული ფაქტორების გამოსავლენად შესწავლილ იქნა შემდეგი მაჩვენებლები: ასაკი, სქესი, ლეიკოციტების ინიციალური რაოდენობა, Ki 67 ანტიგენის ექსპრესია დასიცოცხლის ხანგრძლივობა (ST) - დროის ინტერვალი დაავადების მორფოლოგიური ვერიფიკაციიდან ავადმყოფთან საბოლოო კონტაქტამდე ან სიკვდილამდე Rank-Sum Test (Mann-Whitney U) და ANOVA (Kruskal-Wallis) ტესტით, როგორც ANLL-სა და ALL-ს, ასევე მათ ქვევერიანტებს შორის. გამოთვლილ იქნა

საშუალო მაჩვენებელი, სტანდარტული გადახრა (S, ანუ SD) და სარწმუნოების კოეფიციენტი (P). სხვაობას ვთვლიდით სარწმუნოდ, როდესაც $P \leq 0{,}05$. სტანდარტული გადახრა S ანუ SD _ გამოითვლებოდა შემდეგი ფორმულით:

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

სადაც n _ დაკვირვებათა რიცხვია, ხოლო $\frac{\sum (x - \bar{x})}{n}$ _საშუალო გადახრა:

სპირმენის არაპარამეტრული რანგული კორელაციის ტესტი Spearman's rho (r_s) _ გამოვიყენეთ ორ სხვადასხვა ჯგუფს შორის - ANLL და ALL კორელაციის საზომად, კერძოდ Ki 67 ანტიგენის რაოდენობასა და ავადმყოფის გადარჩენადობას შორის კავშირის დასადგენად, რომელიც გამოთვლილ იქნა შემდეგი ფორმულით:

$$r_s = \frac{\sum (R_x - \bar{R}_x)(R_y - \bar{R}_y)}{\sqrt{\sum (R_x - \bar{R}_x)^2 \sum (R_y - \bar{R}_y)^2}}$$

სადაც R_x – x ვარიაციების რანგია, R_y – y ვარიაციების რანგი, $\bar{R}_x$ და $\bar{R}_y$ _ შესაბამისად x და y ცვლადის საშუალო რანგი. ხოლო ჯგუფებს შიგნით ნიშნებს შორის რაოდენობრივი განსხვავების სტატისტიკური მნიშვნელობა ფასდებოდა (F) ვარიაციების ანალიზით.

გადარჩენადობის - Survival ანალიზი წარმოებულ იქნა Kaplan-Meier-ის მეთოდით. გადარჩენადობის მრუდებს შორის სხვაობის სარწმუნოება ითვლებოდა Log-Rank ტესტით. გამოთვლილ იქნა საშუალო, მედიანა და ნდობის ინტერვალები (95%-იანი ნდობის ინტერვალი გამოიყენებოდა ყველა კორელაციური ტესტისათვის). აიგო მრუდები, რომლებშიც ასახულია კავშირი Ki 67 ანტიგენის ექსპრესიასა და გადარჩენადობას შორის მწვავე არალიმფოიდური და მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების დროს, ასევე ლეიკოციტების რაოდენობასა და გადარჩენადობას შორის. კავშირი დადგინდა ფიშერის ზუსტი ტესტით. გამოყოფილ იქნა რისკ ფაქტორები ორივე ვარიანტისათვის: ლეიკოციტები > 30×10^9/ლ და Ki 67 > 25%. გამოთვლილ იქნა ფარდობითი რისკი _ RR (Relative Risk _ Risk Ratio).

III თავი

3.1 მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების კლინიკურ - ჰემატოლოგიური, ციტომორფოლოგიური და იმუნოლოგიური დახასიათება

ჩვენი დაკვირვების ქვეშ იმყოფებოდა მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიით _ ANLL (M1, M2, M3, M4, M5, M6 ქვევარიანტები _ FAB კლასიფიკაცია) დაავადებული 30 პაციენტი. ჩვენს შემთხვევებში ANLL -ის M0 და M7 ქვევარიანტები არ დაფიქსირდა. დაკვირვების ქვეშ მყოფ პაციენტთა 47% (n=14) იყო ქალი, ხოლო მამაკაცი _ 53% (n=16). გამოკვლეულთა მინიმალური ასაკი შეადგენდა 24 წელს, ხოლო მაქსიმალური _ 69 წელს. მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიის საშუალო ასაკი შეადგენს M=48,72±2,52 წელს. ავადმყოფთა განაწილება ასაკისა და სქესის მიხედვით წარმოდგენილია ცხრილში ¹1.

ავადმყოფთა განაწილება ასაკისა და სქესის მიხედვით ANLL-ის დროს.

ცხრილი №1.

სქესი	ავადმყოფთა რაოდენობა	ასაკი ≤35წ	ასაკი >35წ
ქალი	14 - 47%	4	10
კაცი	16 - 53%	2	14
სულ	30	6	24

ჩვენს მასალაზე აღინიშნა ANLL-ის მეტი სიხშირე 35 წლის შემდგომ ასაკში. სხვაობა სქესის მიხედვით უმნიშვნელოა.

დაავადების დასაწყისი უმეტეს შემთხვევაში ვლინდება ლეიკემიურ ინფილტრაციასთან დაკავშირებული კლინიკური სიმპტომებითა და ინტოქსიკაციით. 30 ავადმყოფიდან მწვავე ლეიკემიის პირველადი სიმპტომები 17 ავადმყოფს გამოუვლინდა მწვავედ: მაღალი ტემპერატურით, ჰემორაგიული სინდრომით _ 10 ავადმყოფს, (უპირატესად მწვავე პრომიელოციტური ლეიკემიის _ M3 ვარიანტის

დროს), ოსალგია _ 6 ავადმყოფს, ანემია _ 19 ავადმყოფს. დანარჩენ ავადმყოფებს კლინიკური ნიშნები განუვითარდათ თანდათანობით.

ლეიკემიური უჯრედების არაბვლისტვინოვანი ზრდის კლინიკური სიმპტომები: ადენომეგალია, ჰეპატო _ სპლენომეგალია, ოსალგიები აღინიშნებოდა სხვადასხვა ხარისხით და ხშირად მიუთითებდა დაავადების გაშლილ სტადიაზე. ჰემორაგიული სინდრომი, რომელიც წარმოადგენს მწვავე მიელოიდური ლეიკემიის წამყვან სიმპტომს, აღენიშნებოდა ავადმყოფთა ნახევარზე მეტს. დაავადების პირველადი სიმპტომების გაჩენიდან დიაგნოზის დადასტურებამდე პერიოდი საშუალოდ შეადგენდა 39 დღეს.

მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების დროს სისხლის საერთო ანალიზში ავადმყოფებს აღენიშნებოდათ შემდეგი ცვლილებები: ჰემოგლობინის საშუალო რაოდენობა შეადგენდა 80,48 ± 21,68 (40,0-122,0გ/ლ-მდე). ერითროციტების _ 2,54 ± 0,67 (1,2 _ 3,8 × 10^{12}გ/ლ), ლეიკოციტების _ 8,51 ± 4,21 (0,6 _ 89,0 × 10^9/ლ), თრომბოციტების _ 48,76 ± 61,14 (0,0 _ 160,0 × 10^9/ლ). ლეიკოგრამაში ბლასტური უჯრედების რაოდენობა შეადგენდა 41,01 ± 27,9 (4,0 _ 89,5%) (ცხრილი №2).

პერიფერიული სისხლის მაჩვენებლები მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების დროს კლინიკაში შემოსვლისას.

ცხრილი №2.

პ/სისხლის მაჩვენებლები	საშუალო მაჩვენებლები M ± SD	მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიები - ANLL
ჰემოგლობინი HB გ/ლ-ში	M ± SD მერყეობა	80,48 ± 21,68 40,0 _ 122,0
ერითროციტების რაოდენობა 10^{12}/ლ	M ± SD მერყეობა	2,54 ± 0,67 1,2 _ 3,8
ლეიკოციტების რაოდენობა 10^9/ლ	M ± SD მერყეობა	18,51 ± 4,21 0,6 – 89,0
თრომბოციტების რაოდენობა 10^9/ლ	M ± SD მერყეობა	48,76 ± 61,14 ერთ. პრეპარ.-160,0
ბლასტები პ/ს-ში %	M ± SD მერყეობა	41,01 ± 27,9 4 _ 89,5

ჰემოგრამაში ლეიკოციტების რაოდენობის შეფასებით გამოვლინდა განსხვავებები ANLL-ის სხვადასხვა ქვევარიანტებში (ცხრილი ¹3).

ლეიკოციტების საშუალო მაჩვენებლები მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების ქვევარიანტების დროს.

ცხრილი №3.

	FAB	საშუალო M	სტანდარტული გადახრა SD
ლეიკოციტები	M1	9,25	5,36
	M2	11,08	6,38
	M3	5,63	1,86
	M4	37,85	11,79
	M5	36,00	12,49
	M6	7,58	2,89

როგორც ცხრილიდან №3 ჩანს, ANLL-ის დროს უმეტესად აღინიშნება ზომიერი ლეიკოციტოზი. ლეიკოციტების რაოდენობა მერყეობდა 0,6-დან $89,0\times10^9$/ლ-მდე ($M=18,51\pm4,21$). ავადმყოფთა 23%-ში აღინიშნებოდა ლეიკოპენია (0,6 _ $3,4\times10^9$/ლ), 43%-ში _ ლეიკოციტოზი (12,5 _ $60,0\times10^9$/ლ). M3 და M6 ვარიანტი ხასიათდება ლეიკოციტების უფრო დაბალი მაჩვენებლით მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების სხვა ქვევარიანტებთან შედარებით. M3 ქვევარიანტის დროს ლეიკოციტების საშუალო მაჩვენებელი ($M=5,63\pm4,55$) დაბალია, M4 ($M=37,85\pm31,18$; $P=0.03$) და M5-თან ($M=36,00\pm21,63$, $P=0.01$) შედარებით, ასევე ლეიკოციტების საშუალო მაჩვენებელი დაბალია M6 ($M=7,57\pm5,77$) ვარიანტის დროსაც M5-თან შედარებით _ $M=36,00\pm21,63$ ($P=0.01$). ე.ი მაღალი ლეიკოციტოზით ხასიათდება M4 და M5 ქვევარიანტები. ავადმყოფთა 75% აღენიშნებოდა თრომბოციტოპენია _ ($48,76\pm61,14$) (0,00 _ $160,0\times10^9$/ლ). ზოგიერთ შემთხვევაში კი მათი სრული არარსებობა, განსაკუთრებით M3 ვარიანტის დროს.

მწვავე ლეიკემიის დიაგნოსტიკაში არსებითი მნიშვნელობა აქვს ლეიკოგრამის დათვლას, მათში ბლასტური უჯრედების აღმოჩენას, რაც წარმოადგენს მწვავე ლეიკემიის პათოგნომურ ნიშანს (გარდა მწვავე ლეიკემიის ალეიკემიური ვარიანტისა). ჩვენი მასალის მიხედვით ჰემოგრამაში ბლასტური უჯრედების საშუალო რაოდენობა

ANLL-ის დროს შეადგენდა 41,01±27,91%, (4-დან 89,5%-მდე). ამგვარად, მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების დროს აღინიშნებოდა ანემია, ზომიერი (20%-ში) ან მაღალი (23,3%-ში) ლეიკოციტოზი ან ლეიკოპენია (23%-ში). 33,7%-ში ლეიკოციტების რაოდენობა იყო ნორმის ფარგლებში, 75%-ში ადგილი ჰქონდა თრომბოციტოპენიას. ლეიკოგრამაში _ ბლასტური უჯრედების მაღალ პროცენტს (შემთხვევათა 50%-ში).

მწვავე ლეიკემიის დიაგნოზის დასადგენად გადამწყვეტი მნიშვნელობა ენიჭება მედულოგრამის შესწავლას, სადაც აღინიშნება დაბალდიფერენცირებული უჯრედების რაოდენობის მატება და ნორმალური სისხლწარმოქმნის დათრგუნვა.

მედულოგრამებში აღინიშნებოდა გრანულოციტური რიგის დიფერენციაციის უნარის მქონე და მწიფე უჯრედების სიმცირე, ერითროიდული და მეგაკარიოციტული რიგი იყო მკვეთრად რედუცირებული (ცხრილი ¹4).

ძვლის ტვინის შემადგენლობის მაჩვენებლები (%-ში) მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების დროს კლინიკაში შემოსვლისას.

ცხრილი №4.

ძვლის ტვინის მაჩვენებლები %		საშუალო მაჩვენებლები M
ბლასტები		60,20 ± 23,65%
ნეიტროფილები	უმწიფარი	6,86%
	მწიფე	6,46%
ლიმფოციტები		2,17%
ერითრობლასტები		7,8% - M1,M2,M3,M4,M5 52% - M6
მეგაკარიოციტები		0,11% _ M1,M2,M3,M4,M5 0,5% _ M6

როგორც ცხრილიდან ჩანს მედულოგრამა ხასიათდება ბლასტური უჯრედების მაღალი შემცველობით 60,20±23,65 (30,0 _ 93,5%). ნეიტროფილების უმწიფარი ფორმების საშუალო მაჩვენებელი შეადგენს 6,86%, ხოლო მწიფე _ 6,46%. ლიმფოციტების რაოდენობა - 2,17%. რედუცირებულია ერითროიდული რიგი, რომლის საშუალო მაჩვენებელი შეადგენს 7,8% _ M1,M2,M3,M4,M5 - ქვევარიანტების დროს,

გამონაკლისს წარმოადგენს M6-ქვევარიანტი, რომლის დროსაც აღინიშნება წითელი რიგის მკვეთრი ჰიპერპლაზია _ 52%-ზე მეტი. რედუცირებულია მეგაკარიოციტული შტო 0,11% _ M1,M2,M3,M4,M5- ქვევარიანტების დროს, ხოლო M6 _ ქვევარიანტის დროს მეგაკარიოციტული შტო იყო შენახული _ 0,5%.

მწვავე ლეიკემიის სხვადასხვა ვარიანტების დეტალურ ციტომორფოლოგიურ დახასიათებაზე ჩვენ არ შევჩერდებით, რადგანაც ის ემთხვევა სხვა მკვლევარების მონაცემებს. ჩვენ გავაანალიზეთ ქვევარიანტების დროს ძვლის ტვინის ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციულ აქტივობას და ამ პარამეტრების Gგანსაზღვრის მნიშვნელობას მწვავე ლეიკემიების მიმდინარეობასა და პროგნოზში.

M1 მწვავე მიელობლასტური ლეიკემია მომწიფების გარეშე _ ხასიათდება ძვლის ტვინში ბლასტური უჯრედების მაღალი შემცველობით _ M=63,8 ± 17,0 (35,25 _ 85,0%).

ციტოქიმიური რეაქციებიდან: სპეციფიურია რეაქცია პეროქსიდაზაზე, რომელიც დადებითია 3%-ზე მეტ ბლასტებში, გლიკოგენი განლაგებულია დიფუზურად. არასპეციფიური ესთერაზა ვლინდება მცირე რაოდენობით. ბლასტებში აღინიშნება ტიპიური იმუნოფენოტიპური მარკერების CD13, CD33, CD34 ექსპრესია.

ჩვენს მასალაზე M1 ქვევარიანტი აღინიშნება ANLL-ის დაახლოებით 11,1%-ში. ავადმყოფების საშუალო ასაკი შეადგენს 51,50 წელს (M=51,50 ± 6,5). დაავადებულთა 66,6% იყო კაცი და 33,4% _ ქალი. მწვავე ლეიკემიის ეს ქვევარიანტი ხასიათდება ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის მარკერის Ki 67-ის დაბალი ექსპრესიით M=13,20 ± 4,62 (6,0% _ 21,8%).

M2 მწვავე მიელობლასტური ლეიკემია მომწიფებით -ძვლის ტვინში ბლასტური უჯრედების საშუალო მაჩვენებელი შეადგენს _ 41,69 ± 26,31 (30,25 _ 68,0%), ბლასტები შეიცავენ გრანულებს და აუერის ჩანართებს.

ციტოქიმიური რეაქციებიდან: რეაქცია პეროქსიდაზაზე დადებითია ბლასტების უმეტეს ნაწილში (>50%), რეაქცია გლიკოგენზე დადებითია დიფუზური განლაგებით. ბლასტებში აღინიშნება ტიპიური იმუნოფენოტიპური მარკერების CD13, CD33 და HLA-DR-ის ექსპრესია. M2 ქვევარიანტი აღინიშნა ANLL-ის დაახლოებით 13,0%-ში. ავადმყოფების საშუალო ასაკი შეადგენდა 53,75 წელს (M=53,75 ± 7,49). ჩვენი

მასალის მიხედვით დაავადებულთა 100% ქალია. მწვავე ლეიკემიის ეს ქვევარიანტი უპირატესად ხასიათდება ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის მარკერის _ Ki 67 ანტიგენის დაბალი ექსპრესიით _ M=11,60 ± 6,63% (1,2% _ 30,2%)

M3 მწვავე პრომიელოციტური ლეიკემია _ ძვლის ტვინში ბლასტური უჯრედების რაოდენობა შეადგენს 75,84 ± 6,73%. (63,25 _ 84,0%), ბლასტური უჯრედები შეიცავენ დიდი რაიდენობით გრანულებს და აუერის ჩანართებს. ციტოქიმიური რეაქციებიდან: სპეციფიურია რეაქცია პეროქსიდაზაზე, რომელიც მკვეთრად დადებითია, გლიკოგენი _ დიფუზური განლაგებით, არასპეციფიური ესთერაზა ვლინდება მცირე რაოდენიბით. ბლასტებში აღინიშნება მიელოიდური ანტიგენების CD13, CD33-ის ექსპრესია, ასევე CD117 და პრომიელოციტური ლეიკემიის მარკერის _ PML-ის ექსპრესია. ციტოგენეტიკური კვლევით თითქმის ყველა შემთხვევაში აღინიშნებოდა ტრანსლოკაცია t (15;17), გარდა ერთი შემთხვევისა, როდესაც ტრანსლოკაცია t (15;17) არ იქნა ნანახი. ბლასტური უჯრედები მორფოლოგიურად იყო ჰიპერგრანულური ტიპის, რეაქცია პეროქსიდაზაზე იყო მკვეთრად დადებითი («პეროქსიდაზული ხანძარი»). ავადმყოფის მდგომარეობა კლინიკურად იყო ძალზე მძიმე და გარდაიცვალა კლინიკაში შემოსვლიდან ოთხ დღეში სუბარაქნოიდული სისხლჩაქცევით. ლიტერატურაში აღწერილია ANLL-ის M3 ქვევარიანტის ასეთი ფორმა (ტრანსლოკაციის გარეშე) და მითითებულია მისი მძიმე მიმდინარეობა და ცუდი პროგნოზი.

M3 ქვევარიანტი ჩვენს შემთხვევებში აღინიშნება ANLL-ის დაახლოებით 27,0%-ში. ANLL-ის M3 ქვევარიანტის საშუალო ასაკი შეადგენს 32,71 წელს (M=32,71 ± 3,62) (P<0,02). დაავადებულთა 50,0% იყო კაცი და 50,0 % ქალი. მწვავე ლეიკემიის ეს ქვევარიანტი ხასიათდება ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის მარკერის _

Ki 67 ანტიგენის დაბალი ექსპრესიით 12,04 ± 4,09 (2,0% _ 35,0%) (ცხრილი №5).

კავშირი ასაკს, ლეიკოციტების რაოდენობასა და ანტიგენ Ki 67-ის ექსპრესიას შორის ANLL-ის M3 ქვევარიანტისა სხვა ქვევარიანტებთან.

ცხრილი №5.

	საშუალო მაჩვენებელი M ± SD	სარწმუნოების კოეფიციენტი P
ასაკი	M3 – 32,71 ± 3,62 M2 – 53,75 ± 7,49	P=0,018
ასაკი	M3 _ 32,71 ± 3,62 M4 – 57,00 ± 2,88	P=0,000
ასაკი	M3 _ 32,71 ± 3,62 M5 – 52,67 ± 7,89	P=0,027
ლეიკოციტები	M3 _ 5,63 ± 1,86 M4 – 37,86 ± 11,79	P=0,03
Ki 67	M3 _ 12,04 ± 4,09 M6 _ 27,08 ± 3,8	P=0,038
Ki 67	M3 _ 12,04 ± 4,09 M4 – 21,89 ± 5,80	P=0,04

M4 – მწვავე მიელომონობლასტური ლეიკემია _ ხასიათდება ძვლის ტვინში ბლასტური უჯრედების მაღალი შემცველობით _ M=77,38 ± 13,83 (59,0 _ 93,5%), ციტოქიმიური რეაქციებიდან: რეაქცია პეროქსიდაზაზე ბლასტურ უჯრედებში დადებითია, რეაქცია არასპეციფიურ ესთერაზაზე ინტენსიურია, გლიკოგენი დადებითია დიფუზურ _ წვრილმარცვლოვანი სახით, ბლასტებში აღინიშნება აუერის ჩანართები, ასევე ტიპიური იმუნოფენოტიპური მარკერების CD13, CD33, CD15, CD11b, CD14 და HLA-DR-ის ექსპრესია.

M4 ქვევარიანტი ჩვენს შემთხვევებში აღინიშნა ANLL-ის დაახლოებით 23,0%-ში. ANLL-ის M4 ქვევარიანტის საშუალო ასაკი შეადგენს _ 57,00 ± 2,88 წელს, დაავადებულთა 57,0% იყო კაცი და 43,0% ქალი. მწვავე ლეიკემიის ეს ვარიანტი ხასიათდება Ki 67 ანტიგენის მაღალი ექსპრესიით _ საშუალო 21,89 ± 5,80 (2,5% _ 41,6%).

M4 ქვევარიანტის დროს პროლიფერაციული აქტივობა მაღალია M1, M2 და M3 ქვევარიანტებთან შედარებით, ასევე აღინიშნება სხვაობა ავადმყოფთა ასაკს შორის M3 და M4-დროს, კერძოდ M4 ფორმით დაავადებულთა საშუალო ასაკი შეადგენს M4 _ 57,00 ± 2,88 (მერყეობა 45 წ-დან 67 წ-მდე), ხოლო M3-ის _ 32,71 ± 3,62 (24 წ-დან _ 50წ-მდე). აღინიშნება სხვაობა M4 და M6 ქვევარიანტების სიცოცხლის ხანგრძლივობებს შორის: M4-ის დროს ის შეადგენს 2,19 ± 0,54 თვეს, ხოლო M6-ის დროს 7,00 ± 2,04 _ თვეს (P=0,017) (ცხრილი 16).

კავშირი ასაკს, ანტიგენ Ki 67-ის ექსპრესიასა და სიცოცხლის ხანგრძლივობას შორის ANLL-ის M4 ქვევარიანტისა სხვა ქვევარიანტებთან.

ცხრილი №6.

	საშუალო მაჩვენებელი M ± SD	სარწმუნოების კოეფიციენტი P
ასაკი	**M4 – 57,00 ± 2,88** **M3 –32,71 ± 3,62**	**M4 > M3** **P** =0,000
Ki 67	**M4 – 21,89 ± 5,80** **M1 –** 13,20 ± 4,61	**M4 > M1** **P** =0,03
Ki 67	**M4 – 21,89 ± 5,80** **M4 –** 11,6 ± 6,63	**M4 > M2** **P** =0,04
Ki 67	**M4 – 21,89 ± 5,80** **M3 –** 12,04 ± **4,09**	**M4 > M3** **P** =0,04
სიცოცხლის ხანგრძლივობა	**M4 – 2,19 ± 0,54** **M6 – 7,00 ± 2,04**	**M4 < M6** **P** =0,017

M5 _ მწვავე მონობლასტური (მონოციტური) ლეიკემია _ ხასიათდება ძვლის ტვინში ბლასტური უჯრედების მაღალი შემცველობით _ 60,53 ± 4,20% (56,0 _ 66,25%), ციტოქიმიური რეაქციებიდან: რეაქცია პეროქსიდაზაზე ბლასტურ უჯრედებში დადებითია, მკვეთრად დადებითია რეაქცია არასპეციფიურ ესთერაზაზე, გლიკოგენი დადებითია დიფუზურ _ წვრილმარცვლოვანი ან მსხვილმარცვლოვანი განაწილებით. ბლასტებში აღინიშნება ტიპიური იმუნოფენოტიპური მარკერების CD13, CD33, CD15, CD11b, HLA-DR-ის, ასევე მონოციტური რიგის მარკერის CD14 ექსპრესია ბლასტების 85_86%-ში. ციტოგენეტიკური კვლევით მეტაფაზების რაოდენობა იყო ცოტა, სხვადასხვა შემთხვევებში ნანახი იყო 48 და 47 ქრომოსომიანი კლონები, ასევე პოლიპლოიდური უჯრედები და სტრუქტურული დარღვევები.

M5 ქვევარიანტი ჩვენს შემთხვევებში აღინიშნა ANLL-ის დაახლოებით 10,0%-ში. ANLL-ის M5 ვარიანტის საშუალო ასაკი შეადგენს M _ 52,67 ± 7,88 წელს, დაავადებულთა 66,6% იყო კაცი და 33,4% ქალი. მწვავე ლეიკემიის ეს ქვევარიანტი ხასიათდება Ki 67 ანტიგენის დაბალი ექსპრესიით _ 15,27 ± 2,71 (10,0% _ 19,0%) (ცხრილი №7).

კავშირი ასაკსა და ლეიკოციტების რაოდენობას შორის ANLL-ის M5 და M3 ქვევარიანტების დროს.

ცხრილი №7.

	საშუალო მაჩვენებელი M ± შD	სარწმუნოების კოეფიციენტი P
ასაკი	M5 – 52,67 ± 7,88 M3 – 32,71 ± 3,6	P=0,027
ლეიკოციტი	M5 - 36,00 ± 12,49 M3 - 5,36 ± 1,85	P=0,01

როგორც ცხრილიდან №7 ჩანს, M5 ქვევარიანტისათვის დამახასიათებელია მაღალი ლეიკოციტოზი საშუალო _ 36,00 ± 12,49 (მერყეობა 18,0 × 10⁹/ლ-დან 60,0 × 10⁹/ლ-მდე), M5 და M3 ქვევარიანტებს შორის სტატისტიკურად სარწმუნო სხვაობა გამოვლინდა ლეიკოციტების რაოდენობასა (P=0,01) და ასაკს შორის (P=0,027). სხვა მაჩვენებლებთან კორელაცია არ დადგინდა.

M6 მწვავე ერითრომიელოზი (ერითროლეიკემია) _ ამ ქვევარიანტს ჩვენ მივაკუთვნეთ მწვავე მიელოიდური ლეიკემიის ის შემთხვევები, როდესაც ტიპიურ ლეიკემიურ მიელობლასტებთან ერთად ძვლის ტვინში აღინიშნებოდა ერითროიდული რიგის უჯრედების სიჭარბე >50%-ზე და წითელი რიგის უჯრედების პათოლოგია. ლეიკემიურ მიელობლასტებში აღინიშნებოდა აუერის ჩანართები. მედულოგრამაში ბლასტური უჯრედების საშუალო რაოდენობა შეადგენდა 21,9%-ს, ხოლო ერითროიდული რიგი _ 52%-ს. ციტოქიმიური რეაქციებიდან: რეაქცია პეროქსიდაზაზე ბლასტურ უჯრედებში დადებითია, ხოლო გლიკოგენზე დადებითია ერითრობლასტებში. ბლასტებში აღინიშნება მიელოიდური ანტიგენების CD13, CD33 ექსპრესია, ხოლო ერითრობლასტებზე ერითროიდული რიგის მარკერის გლიკოფორინ _ A-ს ექსპრესია 62,8% (40,2 _ 80,0%).

ციტოგენეტიკური კვლევით აღინიშნებოდა მიტოზების დიდი რაოდენობა, ქრომოსომების სტრუქტურული (მარკერები, რგოლისებრი ქრომოსომა, აცენტრული ფრაგმენტები) და რიცხობრივი დარღვევები, ჰიპერდიპლოიდური კლონები.

M6 ქვევარიანტი ჩვენს მასალაზე აღინიშნა ANLL-ის დაახლოებით 13,3%-ში. ANLL-ის M6 ქვევარიანტის საშუალო ასაკი შეადგენსM51,5 ± 4,37წელს, დაავადებულთა 75,0% იყო კაცი და 25,0% ქალი. მწვავე ლეიკემიის ეს ქვევარიანტი ხასიათდება Ki 67

ანტიგენის მაღალი ექსპრესიით (წითელი რიგის) _ 27,08±3,83 (17,8% _ 34,7%), ხოლო თეთრი რიგის უჯრედების პროლიფერაციულმა აქტივობამ შეადგინა 1,1%. M6 ქვევარიანტის დროს ასაკი, სქესი, ლეიკოციტების რაოდენობა, სიცოცხლის ხანგრძლივობა და Ki 67 ანტიგენის ექსპრესია შედარებულ იქნა ANLL-ის სხვა ქვევარიანტების შესაბამის მაჩვენებლებთან, რის შედეგადაც დადგინდა შემდეგი კორელაციები: იხ. ცხრილი №8.

კავშირი სქესს, ასაკს, ლეიკოციტების რაოდენობას, ანტიგენ Ki 67-ის ექსპრესიასა და სიცოცხლის ხანგრძლივობას შორის ANLL-ის M6 ქვევარიანტისა სხვა ქვევარიანტებთან.

ცხრილი №8.

	საშუალო მაჩვენებელი M ± შD	სარწმუნოების კოეფიციენტი P
სქესი	M6 _ 1,25 ± 0,25 M2 _ 2,0 ± 0,00	M6 < M2 P =0,024
ასაკი	M6 _ 51,5 ± 4,37 M3 _ 32,71 ± 3,62	M6 > M3 P =0,01
ლეიკოციტები	M6 _ 7,58 ± 2,89 M5 _ 36,00 ± 12,49	M6 < M5 P =0,049
KI 67	M6 _ 27,08 ± 3,83 M1 _ 13,2 ± 4,61	M6 > M1 P =0,047
KI 67	M6 _ 27,08 ± 3,83 M5 _ 15,27 ± 2,71	M6 > M5 P =0,04
KI 67	M6 _ 27,08 ± 3,83 M3 _ 12,04 ± 4,09	M6 > M3 P =0,038
სიცოცხლის ხანგრძლივიბა	M6 _7,00 ± 2,04 M4 _ 2,19 ± 0,54	M6 > M4 P =0,017

3.2. ძვლის ტვინის უჯრედების მიტოზური რეჟიმი მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების დროს.

ძვლის ტვინის უჯრედების მიტოზური აქტივობა შესწავლილ იქნა ANLL-ით დაავადებულ 30 ავადმყოფში (14 _ ქალი, 16 კაცი). საკონტროლო ჯგუფად გამოყენებულ იქნა რ. აბდუშელიშვილის მონაცემები (1985წ) შესწავლილი 80 დონორის ძვლის ტვინის უჯრედებზე. მასალის აღება ხდებოდა სპეციფიური მკურნალობის დაწყებამდე.

მიტოზური ინდექსები: ძვლის ტვინის უჯრედების მიტოზური აქტივობის შესასწავლად გამოთვლილ იქნა საერთო მიტოზური ინდექსები (ს.მ.ი), ასევე გრანულოციტური (თეთრი) (თ.რ.მ.ი) და ერითროიდული (წითელი) რიგის (წ.რ.მ.ი) შეფარდებითი მიტოზური ინდექსები (ცხრილი №9).

ძვლის ტვინის უჯრედების მიტოზური აქტივობის ზოგიერთი მაჩვენებელი მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების დროს

ცხრილი ¹9.

ძვლის ტვინის უჯრედების მაჩვენებლები	ნორმა	P	ANLL
საერთო მიტოზური ინდექსები (⁰/₀₀)	22,5 ± 0,89	P < 0,001	10,76 ± 9,96
თეთრი რიგის უჯრედების მიტოზები (⁰/₀₀)	6,70 ± 0,41	P > 0,5	6,19 ± 0,94
წითელი რიგის მიტოზები (⁰/₀₀)	15,8 ± 0,59	P < 0,001	3,10 ± 0,94

როგორც ცხრილიდან ჩანს, ს.მ.ი რომელიც ნორმაში შეადგენს (მოზრდილებში) 22,5±0,89H ANLL-ის დროს შემცირებიულია და საშუალოდ შეადგენს 10,76±9,96⁰/₀₀ (0 _ 29,5 hhgf⁰/₀₀), გარდა M6 ქვევარიანტისა (19,90±1,30⁰/₀₀). რაც შეეხება თეთრი და წითელი რიგის შეფარდებით მიტოზურ ინდექსებს, აღინიშნება ერითროიდული რიგის უჯრედების მიტოზური ინდექსების მკვეთრი დაქვეითება _ 4,16±0,94⁰/₀₀ (0 - 11⁰/₀₀) ან არარსებობა, გარდა ANLL-ის M6 ქვევარიანტისა, რომლის დროსაც აღინიშნება წითელი რიგის შეფარდებითი მიტოზური ინდექსების მომატება (14,20±1,00⁰/₀₀), შემცირებულია თ.რ.მ.ი (5,70±1,19 H). თეთრი რიგის უჯრედების მიტოზები ANLL-ის დროს არ განსხვავდება ნორმისაგან და საშუალოდ შეადგენდა 6,19±0,94⁰/₀₀ (0 _ 23,5⁰/₀₀), ნორმაში _ 6,7±0,41⁰/₀₀. ს.მ.ი. მაჩვენებლები მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების სხვადასხვა ქვევარიანტის დროს განსხვავებულია: M1-

M2 _ 3,40 ± 1,40; M3 _ 4,67 ± 4,50; M4 _ 13,57 ± 7,00; M5 _ 7,00 ± 11,00; M6 _ 27,00 ± 13,00 (ცხრილი №10).

ძვლის ტვინის უჯრედების მიტოზური აქტივობის ზოგიერთი მაჩვენებელი ANLL-ის ქვევარიანტების მიხედვით.

ცხრილი №10.

მიტოზური აქტივობის მაჩვენებლები	M1 - M2	M3	M4	M5	M6
საერთო მიტოზური ინდექსები (0/00)	3,40 ± 1,40	4,67 ± 4,50	13,57 ± 7,00	7,00 ± 11.00	27,00 ± 13,00

ამგვარად, მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების ხასიათდება ძვლის ტვინის მიტოზური ინდექსების შემცირებით, თუმცა ეს მაჩვენებლები აღინიშნება მოზრდილთა 76,95%-ში, ხოლო 10,3%-ში ნორმის ფარგლებშია და მხოლოდ 12,8%-შია მომატებული. უნდა აღინიშნოს, რომ ეს შემცირება განპირობებულია ძირითადად წითელი რიგის უჯრედების მიტოზების შემცირებით და ხშირ შემთხვევაში მათი სრული არარსებობით და იშვიათად თეთრი რიგის მიტოზების შემცირებით (97,4%-ში წ.ს.მ.ი დაბალია ნორმაზე, ხოლო თ.ს.მ.ი _46,2%).

მიტოგრამები: უჯრედის გაყოფის პროცესების დეტალურმა შესწავლამ გვიჩვენა, რომ მიტოზური ინდექსები მხოლოდ ნაწილობრივ ახასიათებს მიტოზის ჭეშმარიტ სურათს, მასში არ აისახება მიტოზის ცალკეული ფაზების თანაფარდობა. მიტოზის ხარისხობრივი თავისებურებების შესასწავლად ჩვენ ვითვლიდით მიტოგრამებს, მიტოგრამების დათვლის პრინციპით 1000 მიტოზის უნარის მქონე უჯრედზე გადაანგარიშებით. მწვავე ლეიკემიების დროს წითელი რიგი იმდენად არის რედუცირებული, რომ ერითროიდული მიტოგრამების გამოთვლა უმეტეს შემთხვევებში შეუძლებელია.

ცნობილია, რომ საკონტროლო მასალაზე ანუ ნორმაში ძვლის ტვინის უჯრედებში მიტოზის ფაზებიდან პროფაზა და მეტაფაზა გვხვდება თითქმის ერთნაირი

სიხშირით (პროფაზა _ 41,8%, მეტაფაზა _ 45,3%), ანაფაზა მკვეთრად აჭარბებს ტელოფაზას (ანაფაზა _ 10,4%, ტელოფაზა _ 2,5%).

მიელოიდური რიგის მიტოზის ცალკეული ფაზების თანაფარდობის შესწავლამ მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების დროს გვიჩვენა, რომ ძირითადად მიტოზების რაოდენობის შემცირება ხდება პროფაზის, ანაფაზისა და ტელოფაზის რაოდენობის შემცირებისა და მეტაფაზური ფიგურების მომატების ხარჯზე. პროფაზა _ 15,89 ± 12,55; მეტაფაზა _ 59,28 ± 17,59; ანაფაზა _ 16,39 ± 10,71; ტელოფაზა _ 8,94 ± 2,81 (ცხრილი №11).

მიტოზის ცალკეული ფაზების თანაფარდობა მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების ქვევარიანტების მიხედვით მოცემულია ცხრილში №12.

ძვლის ტვინის უჯრედების მიტოგრამები ANLL-ის დროს.

ცხრილი №11.

მიტოგრამების მაჩვენებლები %	ნორმა	ANLL
პროფაზა	41,8 ± 8,19	15,89 ± 12,55
P ნორმასთან	P < 0,01	
მეტაფაზა	45,3 ± 7,8	59,28 ± 17,59
P ნორმასთან	P < 0,01	
ანაფაზა	10,4 ± 1,08	16,39 ± 10,71
P ნორმასთან	P > 0,5	
ტელოფაზა	2,5 ± 0,9	8,94 ± 2,81
	P > 0,5	

ძვლის ტვინის უჯრედების მიტოგრამა ANLL-ის ქვევარიანტების მიხედვით.

ცხრილი №12.

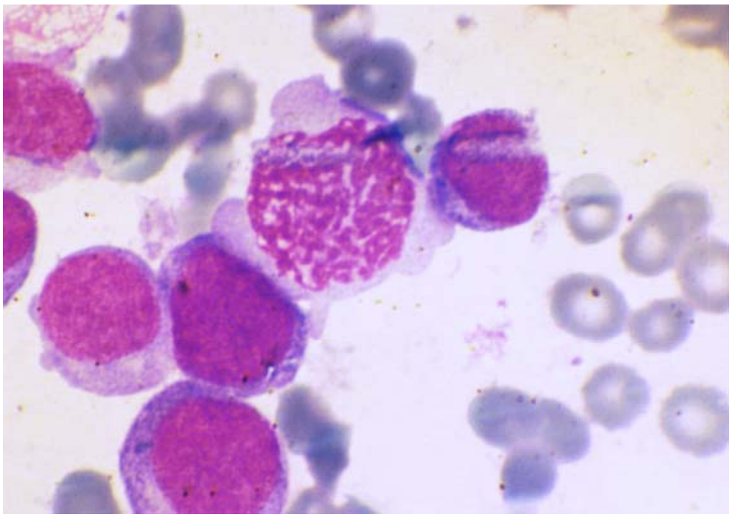
მიტოზის ფაზები %	ქვევარიანტები					
	ნორმა	M1 – M2	M3	M4	M5	M6
პროფაზა	41,8 ± 8,19	10,5 ± 5,6	15,7 ± 4,6	17,2 ± 8,4	20,0 ± 13,3	9,0 ± 7,8

მეტაფაზა	45,3 ± 7,8	57,3 ± 29,8	64,7 ± 8,3	57,2 ± 16,6	55,0 ± 4,2	69,00 ± 13,1
ანაფაზა	10,4 ± 1,08	21,8 ± 14,8	18,0 ± 6,3	18,5 ± 6,5	14,0 ± 9,8	5,00 ± 5,6
ტელოფაზა	2,5 ± 0,9	10,5 ± 5,6	1,7 ± 2,9	7,2 ± 7,5	11,0 ± 0,0	17,0 ± 8,0

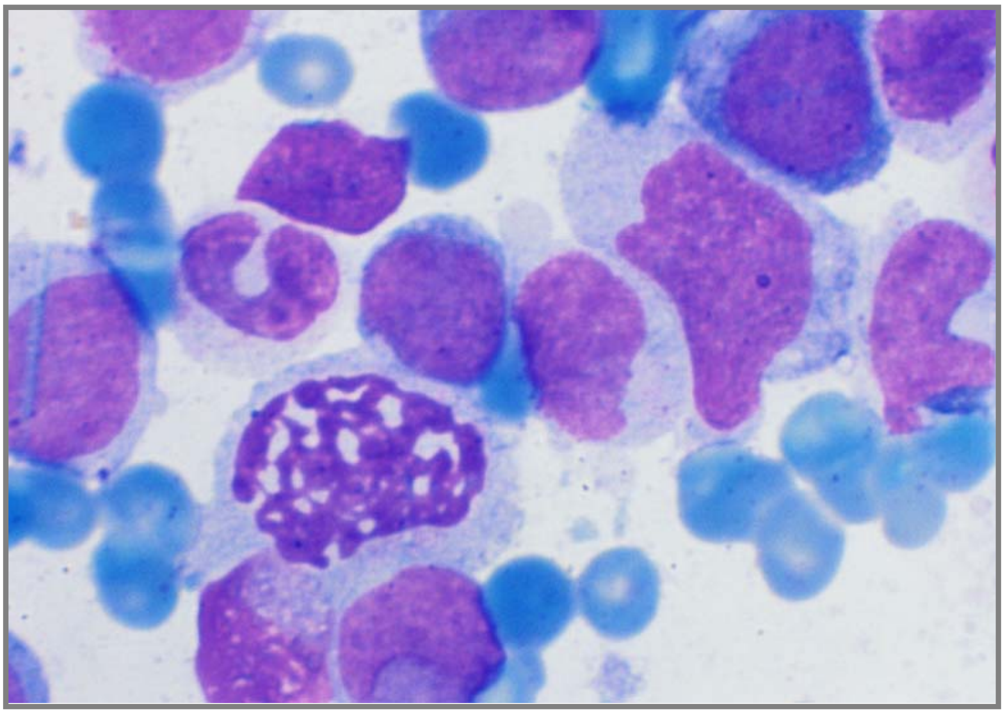
წარმოდგენილი მონაცემების საფუძველზე შეიძლება დავასკვნათ, რომ მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიები ხასიათდებიან მიტოზების შეფერხებით მეტაფაზის სტადიაზე, რაც ცნობილია «მეტაფაზური დაყოვნების" სახელწოდებით. გარდა მეტაფაზური დაყოვნებისა, ლეიკემიების დროს გვხვდება მიტოზების პათოლოგიის სხვა ფორმები. ყველაზე ხშირად პათოლოგიური მიტოზები აღინიშნება M6 ქვევარიანტის დროს.

მიტოზების პათოლოგია მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების დროს:

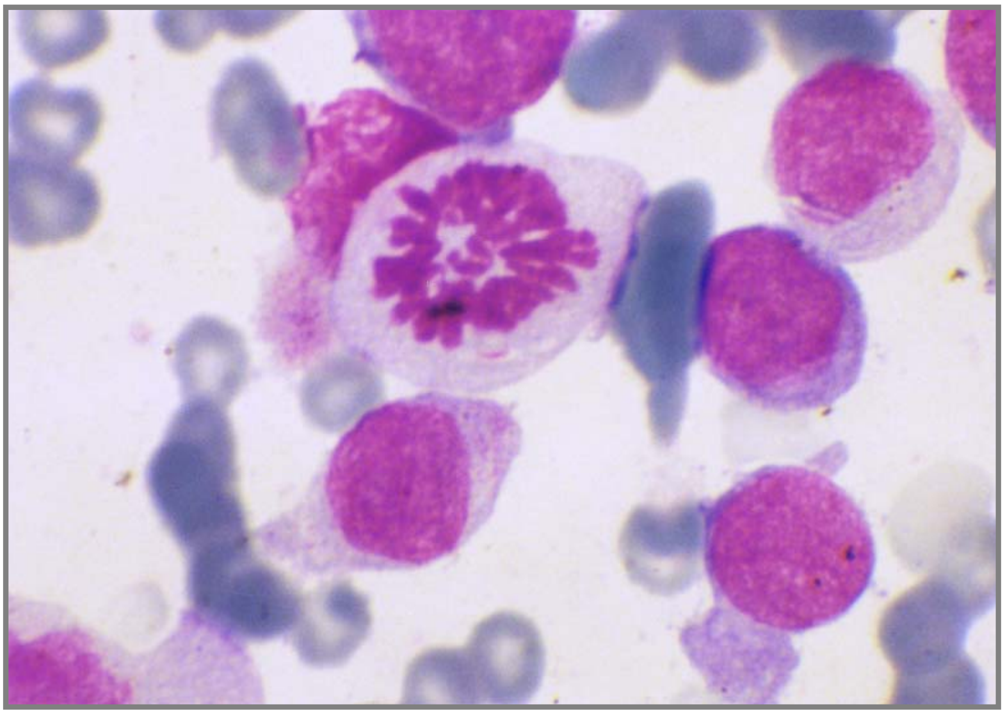
გარდა მიტოზური ინდექსებისა ჩვენ შევისწავლეთ მიტოზების მორფოლოგია და გამოვყავით პათოლოგიური ფორმები. მიტოზების პათოლოგიური ფორმებიდან ძირითადად გვხვდებოდა: ქრომოსომებისა და მიტოზური აპარატის დაზიანებასთან დაკავშირებული მიტოზების სახეები. ქრომოსომების დაზიანებასთან დაკავშირებული მიტოზებიდან ჩვენს მიერ აღმოჩენილ იქნა შემდეგი ფორმები: მიტოზის დაყოვნება პროფაზაში, ქრომოსომების ფრაგმენტაცია, ქრომოსომული ხიდები, შეწებება, ასევე შევისწავლეთ მიტოზური აპარატის დაზიანებასთან დაკავშირებული პათოლოგიური მიტოზების სახეები: მიტოზის დაყოვნება მეტაფაზაში, ქრომოსომების ჩამორჩენა, ქრომოსომების ფრაგმენტაცია, მრავალპოლუსიანი მიტოზი, მონოცენტრული მიტოზი, ასიმეტრიული მიტოზი, სამ და მრავალპოლუსიანი მიტოზი, ღრუ მეტაფაზა (სურათი №1-10).



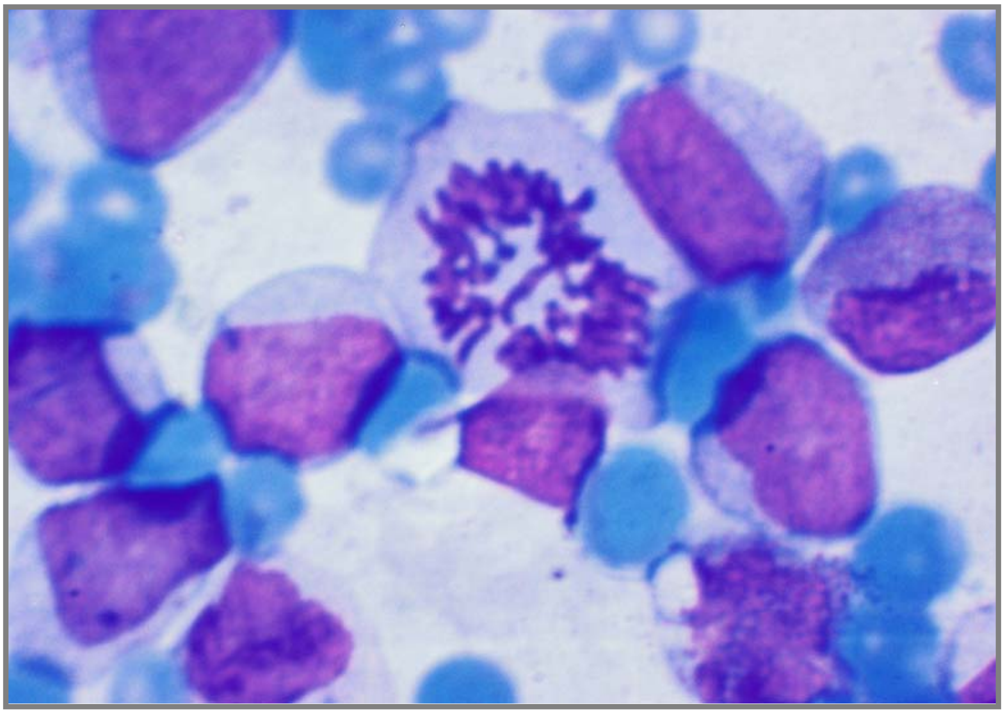
სურ. №1. *პროფაზა.* AML _ M4. (აზურ-ეოზინი, ×1000).



სურ. №2. მეტაფაზა _ *ქრომოსომების შეწებება.* AML _ M4.
(აზურ-ეოზინი, ×1000).

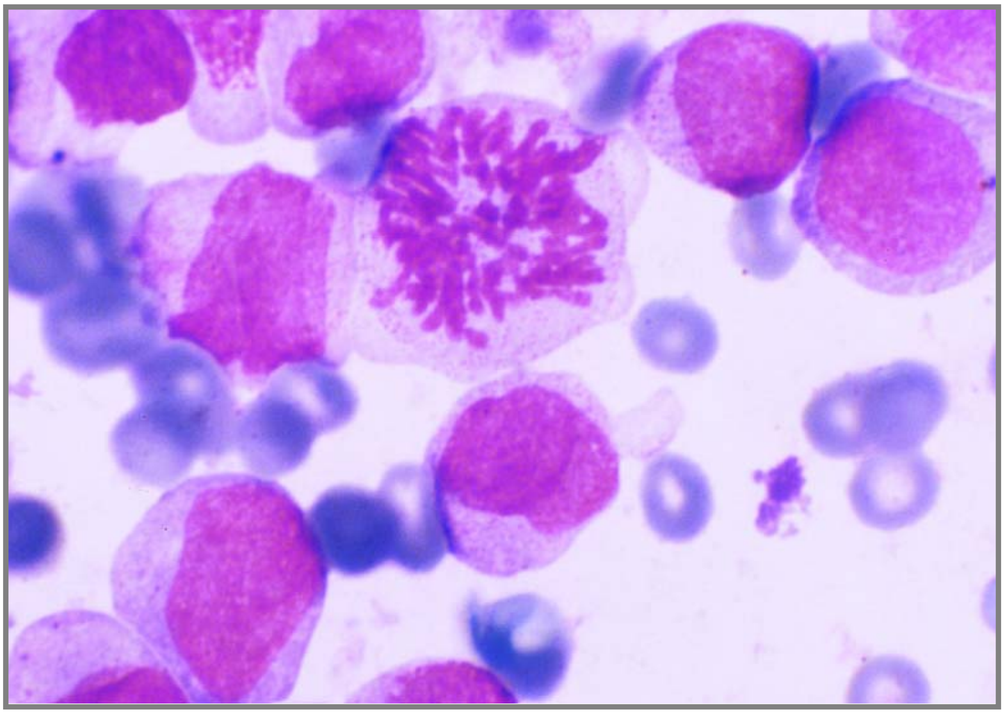


სურ. №3. მეტაფაზა _ *ქრომოსომების ჩამორჩენა.* AML _ M4. (აზურ-ეოზინი, ×1000).

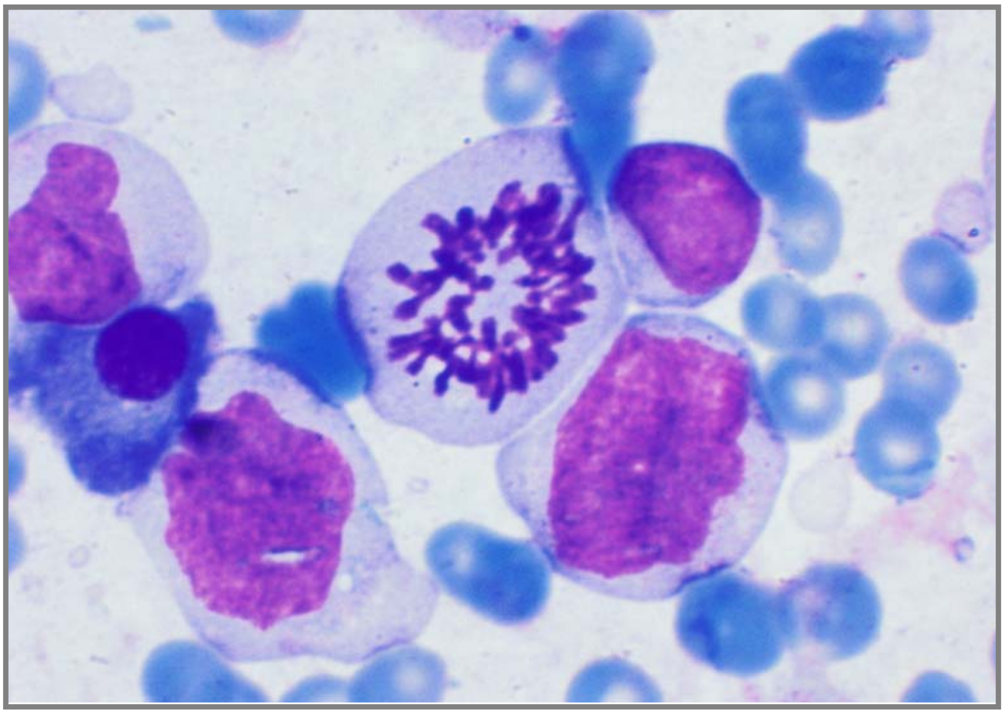


სურ. №4. მეტაფაზა _ *ქრომოსომების ჩამორჩენა.* AML _ M4.

(აზურ -ეოზინი, ×1000).

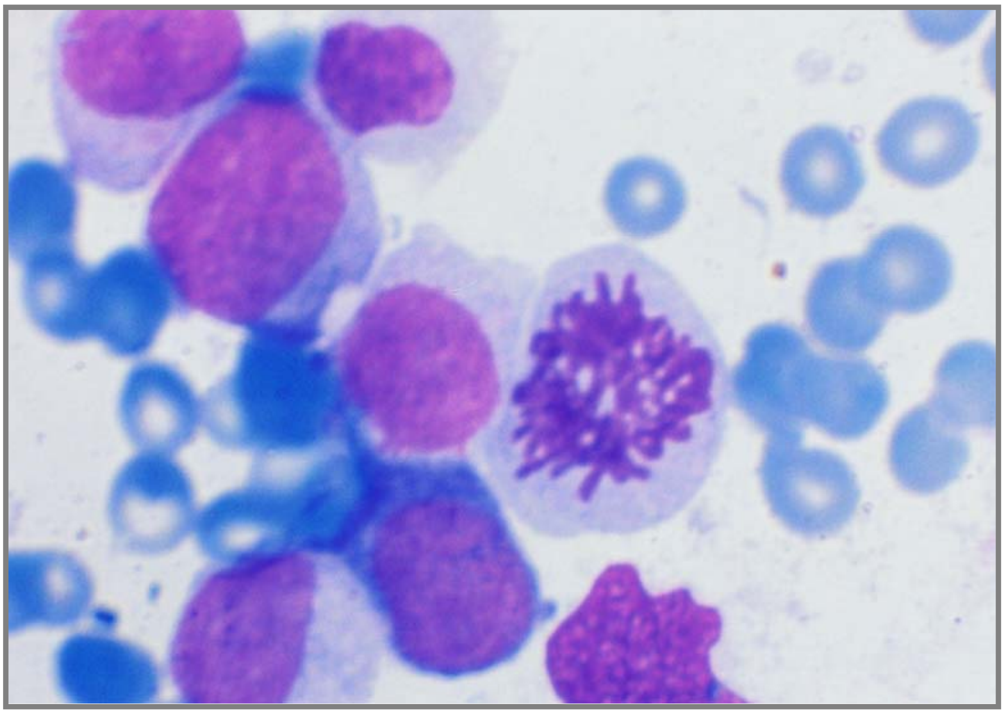


სურ. №5. მეტაფაზა _ *ქრომოსომების გაფანტვა.* AML _ M4. (აზურ-ეოზინი, ×1000).



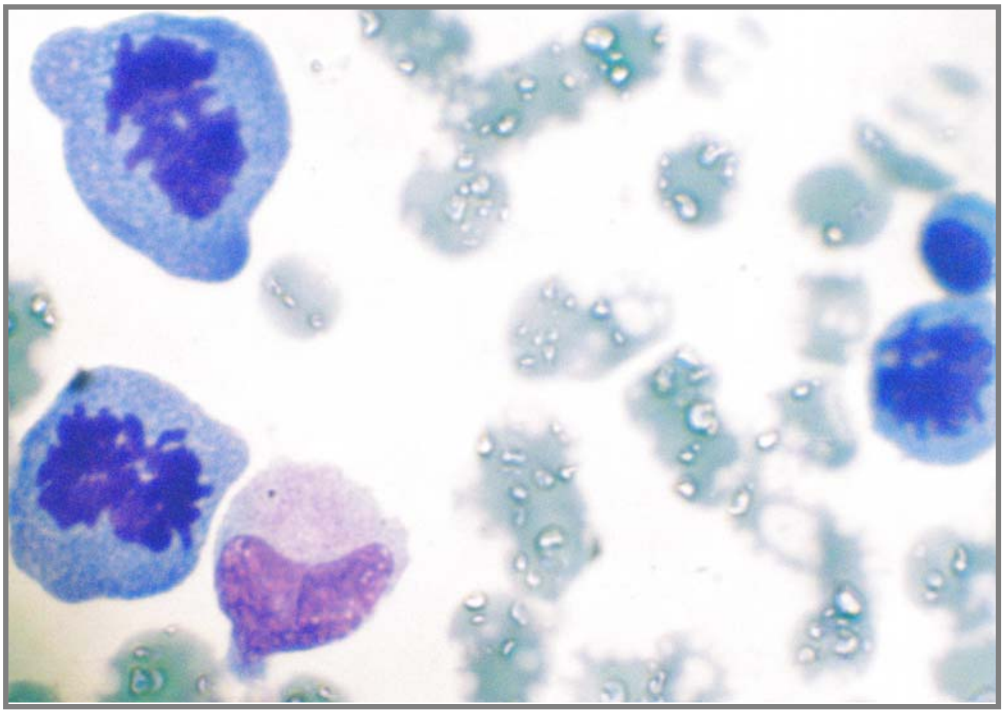
სურ. №*6. ღრუ მეტაფაზა.* AML _ M4.

(აზურ-ეოზინი, ×1000).

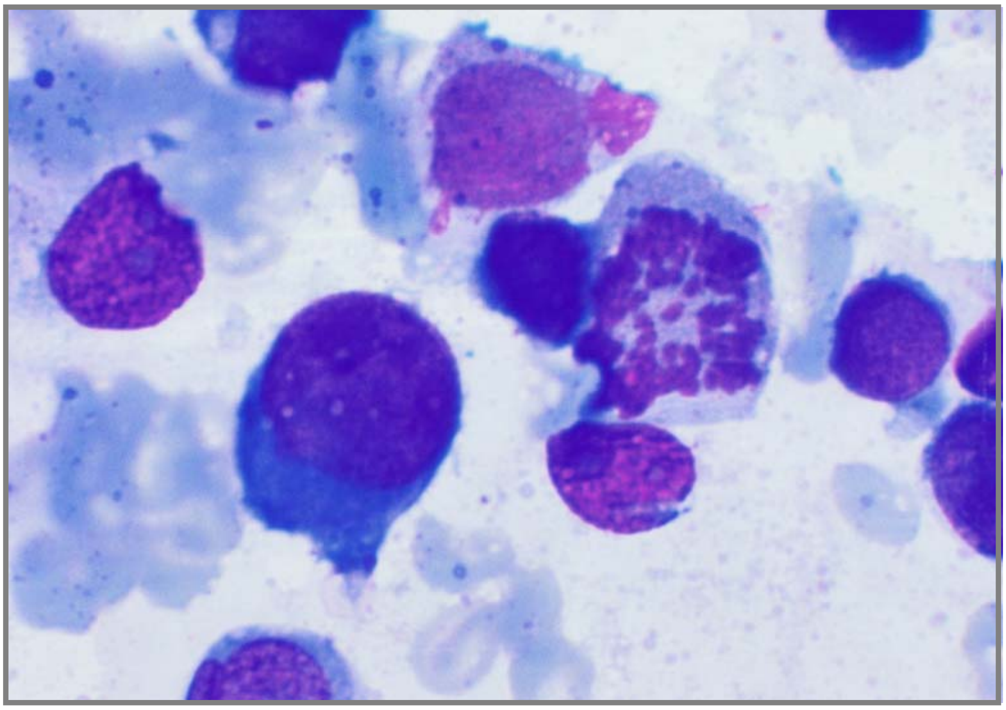


სურ. №7. მეტაფაზა _ *სამპოლუსიანი.* AML _ M4.

(აზურ-ეოზინი, ×1000).

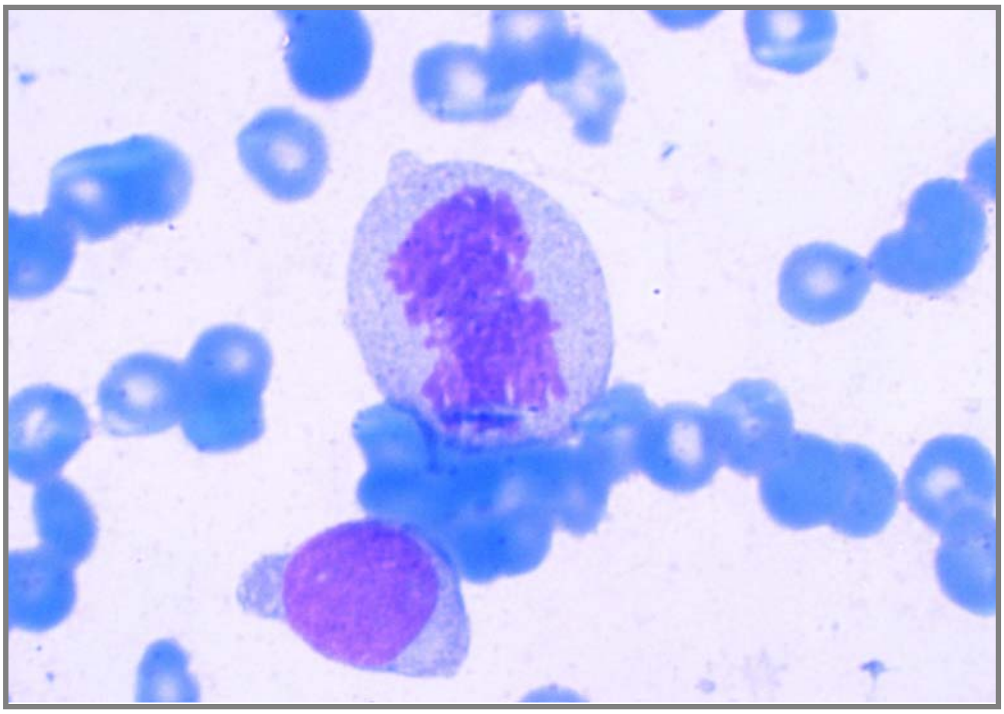


სურ. №8. მეტაფაზა _ *ა)ხიდები და Gბ) ორპოლუსიანი.* AML _ M6. (აზურ-ეოზინი, ×1000).



სურ. №9. მეტაფაზა _ *ქრომოსომების ჩამორჩენა.* AML _ M6. (აზურ-ეოზინი,

×1000).



სურ. №10. ანაფაზა – *შეწებებული.* AML _ M4.

(აზურ-ეოზინი, ×1000).

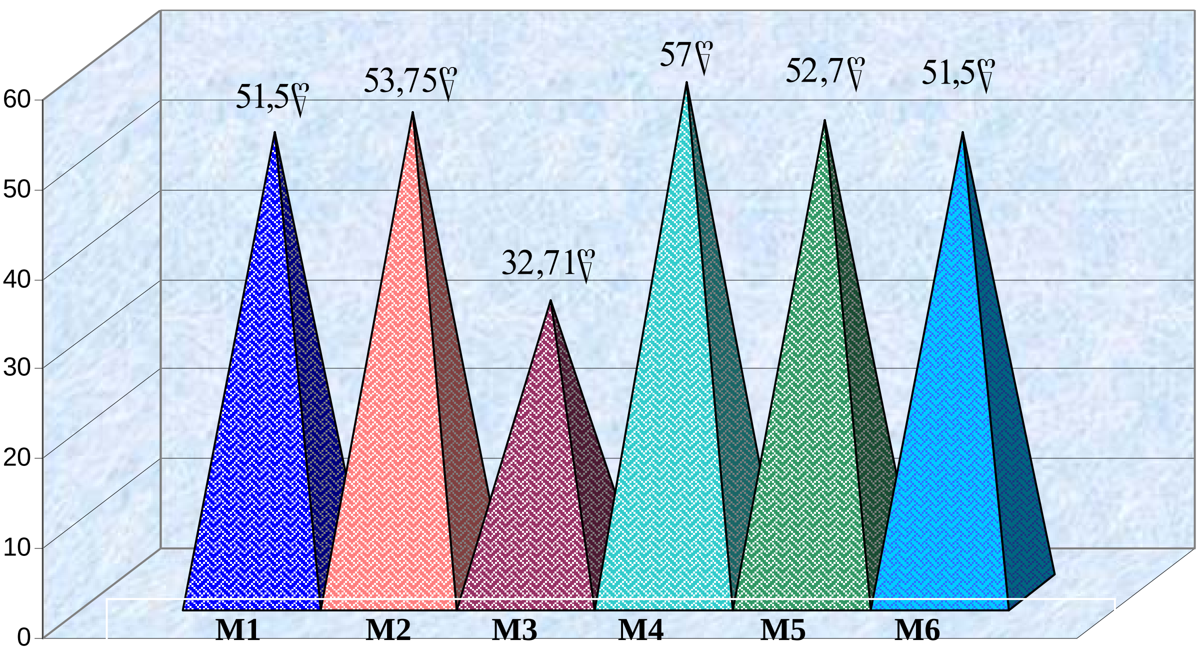
3.3. ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობა მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების დროს ანტიგენ Ki 67-ის ექსპრესიის მიხედვით.

ავადმყოფებს კლინიკურ _ ჰემატოლოგიურ, იმუნოლოგიურ და ციტოგენეტიკურ გამოკვლევებთან ერთად უტარდებოდათ Ki 67 ანტიგენის ექსპრესიის შეფასება.

მწვავე ლეიკემიებით დაავადებულებში არაკეთილსაიმედო პროგნოზული ფაქტორების გამოსავლენად მოვახდინეთ მათი დაყოფა ასაკის, სქესის, ლეიკოციტების, (<30×10⁹/ლ და >30×10⁹/ლ), Ki 67 ანტიგენის (Ki 67 <25 % და Ki 67 >25 %) რაოდენობისა და სიცოცხლის ხანგრძლივობის მიხედვით და შევადარეთ აღნიშნული მონაცემები Ki 67 ანტიგენის ექსპრესიას (დიაგრამა №1, ცხრილი №13).

ავადმყოფთა განაწილება ასაკის მიხედვით ANLL-ის ქვევარიანტების დროს.

დიაგრამა №1.



ასაკის, სქესის, ლეიკოციტების რაოდენობისა და სიცოცხლის ხანგრძლივობის ასოციაცია Ki 67 ანტიგენის ექსპრესიასთან მიმართებაში არაერთგვაროვანია. ანალიზის შედეგად აღმოჩნდა, რომ ANLL-ის M3 ქვევარიანტი აღინიშნება აღინიშნება 40 წლამდე ასაკში _ საშუალო ასაკი შეადგენს M=32,71±9,587 წელს P<0,02, ხოლო ANLL-ის სხვა ქვევარიანტები _ 51 წლის ზემოთ, (p>0,05). მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიით კაცებისა და ქალების ავადობას შორის აღინიშნა სხვაობა მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიის M1 და M2 (P=0.024), ასევე M2 და M6 ქვევარიანტებს შორის (P=0.04). ჩვენს შემთხვევებში აღინიშნა M2 _ ქვევარიანტის მეტი სიხშირე ქალებში M1-თან (p=0,024) და M6-თან შედარებით (p=0,04). მაღალი ლეიკოციტოზი დაფიქსირდა ANLL-ის M4 და M5 ქვევარიანტების დროს. ხანმოკლე სიცოცხლის დროით ხასიათდება M4 ქვევარიანტი სხვა ვარიანტებთან შედარებით. პროლიფერაციული აქტივობის მარკერის _ Ki 67 ანტიგენის მაღალი ინდექსი ახასიათებს M4 და M6 ქვევარიანტებს (p<0,005) (ცხრილი №13).

ავადმყოფთა განაწილება ასაკის, სქესის, ლეიკოციტების, Ki 67 ანტიგენის რაოდენობისა და სიცოცხლის ხანგრძლივობის მიხედვით ANLL-ის ქვევარიანტების დროს.

ცხრილი №13.

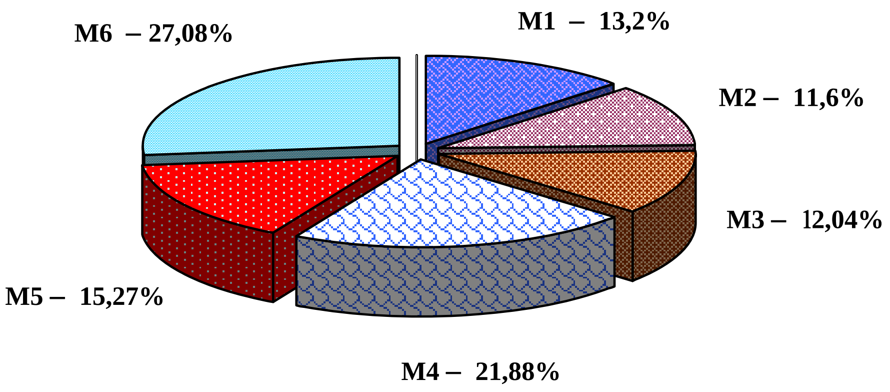
FAB	ასაკი	სქესი	Ki 67	ლეიკოციტები	სიცოცხლის ხანგრძლივობა

M1	51,50 ± 6,50	1,25 ± 0,25	13,20 ± 4,61	9,25 ± 5,36	23,33 ± 8,69
M2	53,75 ± 7,49	2,0 ± 0,00	11,6 ± 6,63	11,08 ± 6,38	3,50 ± 3,11
M3	32,71 ± 3,62	1,57 ± 0,20	12,04 ± 4,09	5,63 ± 1,85	6,56 ± 3,54
M4	57,00 ± 2,80	1,43 ± 0,20	21,88 ± 5,80	37,85 ± 11,79	2,19 ± 0,54
M5	52,67 ± 7,88	1,33 ± 0,58	15,27 ± 2,71	36,00 ± 12,49	2,37 ± 1,15
M6	51,5 ± 4,37	1,25 ± 0,25	27,08 ± 3,80	7,58 ± 2,89	7,00 ± 2,04
P jgufebs Soris	M3 da M1,M2,M4, M5, M6 Soris P<0,02	M1-M2 p=0,024 M2-M6 p=0,04	M4-M1 p=0,03 M4-M2 p=0,04 M4-M3 p=0,04 M2-M6 p=0,04 M1-M6 P=0,05	M3-M5 p=0,01 M3-M4 p=0,03	M1-M2 p=0,046 M1-M4 p=0,004

ცხრილიდან ჩანს, რომ პროლიფერაციული აქტივობა დაბალია M1, M2 და M3 ქვევარიანტების დროს M4 და M6-თან შედარებით. Ki 67 ანტიგენის იმუნორეაქტიულობა მაღალია M4 ქვევარიანტის დროს ANLL-ის სხვა ქვეტიპებთან შედარებით (P<0,05), გარდა M6 ქვევარიანტისა. ANLL-ის სხვადასხვა ქვევარიანტების დროს Ki 67 ანტიგენის საშუალო მაჩვენებლები შეადგენს: M1_13,0% (6.0% _ 21,8%), M2 _ 11,6% (1,2% _ 30,2%), M3 _ 12,04 (3,1 % _ 35%), M4 _ 21,88% (2,5% _ 41,6%), M5 _ 15,27% (10,0% _ 16,8%), M6 _ 27,075% (17,8%_ 34,7%) (დიაგრამა №2).

ავადმყოფთა განაწილება Ki 67ანტიგენის ექსპრესიის მიხედვით ANLL-ის ქვევარიანტების დროს.

დიაგრამა №2.



როგორც დიაგრამიდან ჩანს, ძვლის ტვინის პროლიფერაციული აქტივობის მაჩვენებლები ANLL-ის სხვადასხვა ქვევარიანტის დროს განსხვავებულია, რაც გარკვეულწილად განსაზღვრავს დაავადების კლინიკურ გამოვლინებას, ქიმიოთერაპიის ეფექტურობას და პროგნოზს.

ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობა ჩვენს მიერ შესწავლილ იქნა ანტიგენ Ki 67-ის განსაზღვრით ANLL-ის სხვადასხვა ქვევარიანტების დროს. Ki 67 ანტიგენის ექსპრესიასა და სიცოცხლის ხანგრძლივობას შორის გამოვლინდა კორელაცია მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიის ქვევარიანტებში.

Ki 67 ანტიგენის მინიმალური ექსპრესია _ 1,2% დაფიქსირდა მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიის M2 ქვევარიანტის, ხოლო მაქსიმალური _ 41,6% _ M4 ქვევარიანტის დროს. პროლიფერაციული აქტივობა დაბალია < 25%-ზე, M1, M2 და M3 ქვევარიანტების დროს M4 და M6-თან შედარებით. M1-სა M4-ის დროს Ki 67 ანტიგენის საშუალო მაჩვენებელი ტოლია M1 _ 13,00 ± 7,99; M4 _ 21,88 ± 15,36 (P=0.03); M6-ის დროს 27,08 ± 7,66; სხვაობა სტატისტიკურად სარწმუნოა (P=0.047). M2 ქვევარიანტის დროს Ki 67 ანტიგენის საშუალო მაჩვენებელი (M=11,60 ± 13,3) დაბალია M4-თან (M=21,88 ± 15,36) (P=0.04) და M6-თან შედარებით (M=27,08 ± 7,66) (P=0.04). M3 (M=12,04 ± 10,82) ქვევარიანტის დროს Ki 67-ის ექსპრესია დაბალია M4 (M=21,88 ± 15,36 P=0.04) და M6-თან (M=27,07 ± 7,66) (P=0.038) შედარებით (ცხრილი №14).

Ki 67 ანტიგენის ექსპრესიის საშუალო მაჩვენებლები ANLL-ის ქვევარიანტების დროს

ცხრილი №14.

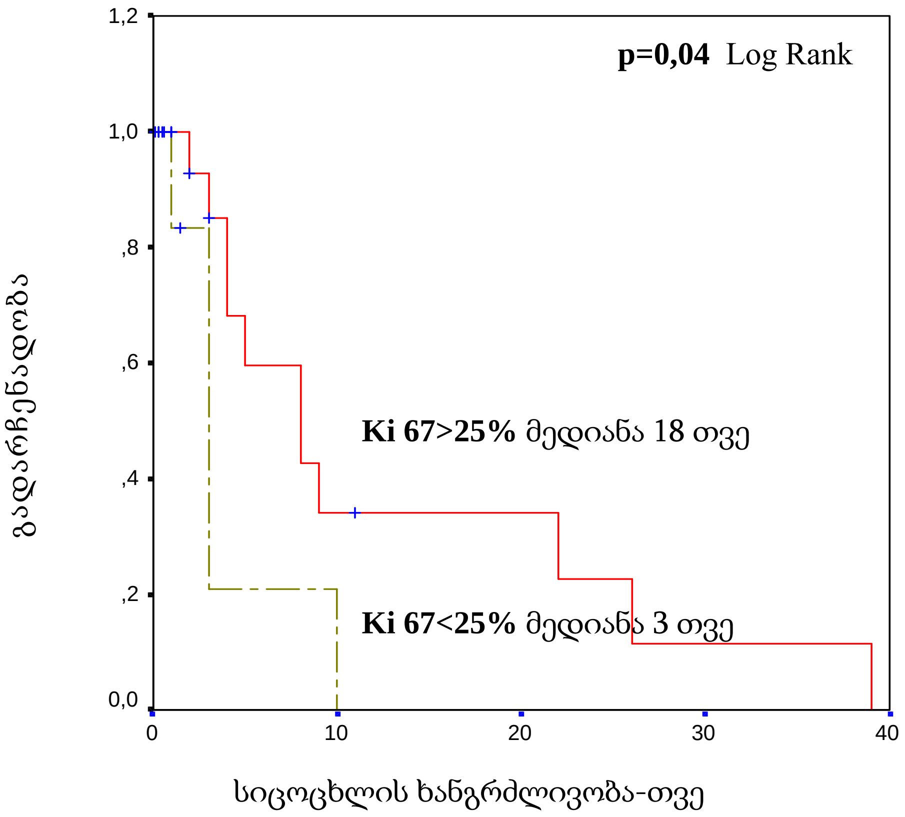
	FAB	საშუალო	სტანდარტული გადახრა	Rank-sum Test		
				t	df	p
KI 67	**M1**	**13,20**	**4,61**	**-2,906**	**8**	**0,03**
	M4	**21,88**	**5,80**			
KI 67	**M1**	**13,2**	**4,61**	**-2,431**	**5**	**0,047**
	M6	**27,0750**	**3,82914**			
KI 67	**M2**	**11,6**	**6,63476**	**-2,717**	**9**	**0,04**
	M4	**21,8857**	**5,80412**			

KI 67	M2	11,6	6,63476	-2.72	6	0.04
	M6	27,075	3,82914			
KI 67	M3	12,0429	4,09249	-2.586	12	0.04
	M4	21,8857	5,80412			
KI 67	M3	12,0429	4,09249	-2.426	9	0.038
	M6	27,075	3,82914			

ლეიკემიური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის შედარებამ დაავადების კლინიკურ მიმდინარეობასა და პროგნოზთან გვიჩვენა, რომ როგორც რემისიების რაოდენობა და ხანგრძლივობა, ასევე სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობა ANLL-ის დროს უფრო დაბალი იყო ავადმყოფების იმ ჯგუფში, რომელთაც აღნიშნებოდათ Ki 67 ანტიგენის შედარებით მაღალი ექსპრესია _ Ki 67 > 25% (p=0,05). ამ შემთხვევაში სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობა შეადგენდა 4,13±1,55 თვეს, გადარჩენადობის მედიანა _ 3,00±0,59 თვეს (95% ნდობის ინტერვალი 1,84 _ 4,16), საპირისპირო შედეგები იქნა მიღებული Ki 67 ანტიგენის დაბალი ექსპრესიის დროს _ Ki 67 < 25%, როდესაც სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობამ შეადგინა 13,48±3,74 თვე, გადარჩენადობის მედიანამ _ 8,00±2,52 თვე (95% ნდობის ინტერვალი 3,06 _ 12,94) (p=0.05) (ნახ. № 1).

ავადმყოფთა საერთო გადარჩენადობა Ki 67ანტიგენის ექსპრესიის მიხედვით ANLL-ის დროს.

ნახ. №1.



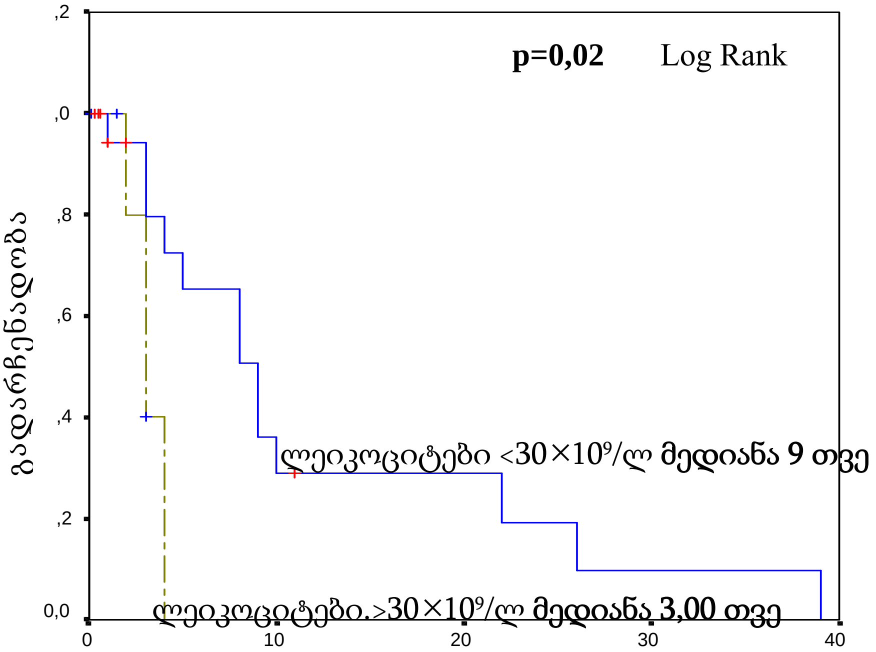
მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების დროს Ki 67 ანტიგენის სხვადასხვა რაოდენობის შემთხვევაში სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობა შეადგენდა _ 10,77 თვეს, გადარჩენადობის მედიანა _ 8,00 თვეს (95% ნდობის ინტერვალი 2,74 _ 13,26). იმუნოციტოქიმიური ანალიზის შედეგებმა გვიჩვენა, რომ Ki 67 ანტიგენის დაბალი აქტივობისას პროცესი ხასიათდებოდა უფრო კეთილსაიმედო პროგნოზით, რაც გამოიხატა დაავადებულების მგრძნობელობით ქიმიოპრეპარატების მიმართ, სრული რემისიისა და სიცოცხლის უფრო მეტი ხანგრძლივობით, Ki 67-ის მაღალი აქტივობა კი, შეესაბამებოდა დაავადების მძიმე და ავთვისებიან მიმდინარეობას.

მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების გადარჩენადობის ანალიზისას ჩვენ აგრეთვე გავითვალისწინეთ ერთ-ერთი არაკეთილსაიმედო პროგნოზული ფაქტორის _ ლეიკოციტების ინიციალური რაოდენობა (<30×10^9/ლ და >30×10^9/ლ). ჩვენს მასალაზეც დადასტურდა ლეიკოციტების ინიციალური რაოდენობის კავშირი როგორც ანტიგენ Ki

67-ის ექსპრესიასთან, ასევე დაავადების მიმდინარეობასა და პროგნოზთან. მაღალი ლეიკოციტოზი ($>30\times10^9$/ლ) ასოცირდებოდა ავადმყოფთა სიცოცხლის დაბალ ხანგრძლივობასა და გადარჩენადობასთან. ამ შემთხვევაში სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობა იყო დაბალი _ $3{,}2\pm0{,}39$ თვე, ხოლო გადარჩენადობის მედიანა $3{,}00\pm0{,}55$ თვე (95% ნდობის ინტერვალი 1,93 _ 4,07), (p=0,02). იმ შემთხვევებში, როდესაც ლეიკოციტების რაოდენობა $< 30\times10^9$/ლ-ზე, სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობა შეადგენდა _ $12{,}73\pm3{,}23$ თვეს, გადარჩენადობის მედიანა $9{,}00\pm1{,}78$ თვეს (95% ნდობის ინტერვალი 5,51 _ 12,49) (ნახ. №2).

*ავადმყოფთა საერთო გადარჩენადობა ლეიკოციტების რაოდენობ
ის მიხედვით
ANLL-ის დროს.*

ნახ.№2.



სიცოცხლის ხანგრძლივობა _ თვე

ამგვარად, ჩვენს მიერ დადგენილ იქნა კავშირი Ki 67 ანტიგენის რაოდენობასა და დაავადების მიმდინარეობას შორის მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების

სხვადასხვა ქვევარიანტების დროს. კვლევის შედეგები გვიჩვენებს, რომ ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის შესწავლას ANLL-ის დროს გარკვეული მნიშვნელობა აქვს დაავადების მიმდინარეობის, პროგნოზის და ავადმყოფის მგრძნობელობის განსაზღვრაში ქიმიოპრეპარატების მიმართ. კვლევისას გამოიკვეთა, რომ რომ Ki 67 ანტიგენის დაბალი აქტივობისას პროცესი ხასიათდებოდა უფრო კეთილსაიმედო პროგნოზით, ხოლო Ki 67 ანტიგენის მაღალი ექსპრესია და მაღალი ლეიკოციტოზი ANLL-ის დროს შეიძლება შეფასდეს, როგორც არაკეთილსაიმედო პროგნოზული ნიშანი. ე.ი. აღნიშნული ფუნქციური პარამეტრის განსაზღვრით შესაძლოა ვივარაუდოთ მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების კლინიკური მიმდინარეობა დიაგნოზის დასმის მომენტშივე.

3.4. მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების კლინიკურ _ ჰემატოლოგიური, ციტომორფოლოგიური და იმუნოლოგიური დახასიათება

ჩვენი დაკვირვების ქვეშ იმყოფებოდა მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიით _ ALL (Pro-BALL, Pre-pre BALL(common), Pre-BALL, BALL _ მწიფე უჯრედული და T-ALL ვარიანტები _ FAB კლასიფიკაცია). დაავადებული 20 პაციენტი. დაკვირვების ქვეშ მყოფ პაციენტთა 55 % (n=11) იყო ქალი და 45% (n=9) _ მამაკაცი. გამოკვლეულთა მინიმალური ასაკი იყო 17 წელი, ხოლო მაქსიმალური _ 69 წელი. საშუალო ასაკი შეადგენს M=44,41±3,79 წელს. ავადმყოფთა განაწილება ასაკისა და სქესის მიხედვით წარმოდგენილია **ცხრილში №15.**

ავადმყოფთა განაწილება ასაკისა და სქესის მიხედვით ALL-ის დროს.

ცხრილი №15.

სქესი	ავადმყოფთა რაოდენობა	ასაკი ≤ 35წ	ასაკი > 35წ
ქალი	11 - 55%	1	10
კაცი	9 - 45%	5	4

სულ	20	6	14

დაავადების დასაწყისი უმეტეს შემთხვევაში იყო უსიმპტომო და ვლინდებოდა მხოლოდ საერთო სისუსტით, კანისა და ლორწოვანის სიფერმკრთალით (7 ავადმყოფს), ჰემორაგიული სინდრომით (6 ავადმყოფს). ALL _ ის გამოვლინება ძირითადად დაკავშირებული იყო ლიმფური კვანძების გადიდებით (13 ავადმყოფს). გადიდებული ლიმფური კვანძების ლოკალიზაციის შესაბამისად იცვლებოდა კლინიკური სიმპტომატიკა. შუასაყარის ლიმფური კვანძების გადიდების დროს ALL-ის პირველი სიმპტომი იყო ხველა, ქოშინი. მეზენტერული ლიმფური კვანძების გადიდება კი იწვევდა ტკივილს მუცლის არეში. რაც შეეხება ლეიკემიური უჯრედების არაძვლისტვინოვანი ზრდის ნიშნებს (ჰეპატო _ სპლენომეგალია, ოსალგიები) ისინი გამოხატული იყო სხვადასხვა ხარისხით და ხშირად მიუთითებდა დაავადების გაშლილ სტადიაზე. ზოგჯერ ავადმყოფებს არ აღენიშნებოდათ არავითარი სიმპტომები და ALL _ ის დიაგნოზი ისმებოდა შემთხვევით. სწორედ ამის გამო ავადმყოფები ხშირად შემოდიოდნენ კლინიკაში დაავადების გაშლილ სტადიაზე. პერიოდი დაავადების პირველადი სიმპტომების გაჩენიდან დიაგნოზის დადასტურებამდე საშუალოდ შეადგენდა 57 დღეს.

მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების დროს სისხლის საერთო ანალიზში ავადმყოფებს აღენიშნებოდათ შემდეგი ცვლილებები: ჰემოგლობინის საშუალო რაოდენობა შეადგენდა 50.17±16.40 (17,0 _ 116,0გ/ლ-მდე). ერითროციტების _ 2,62±0,73 (1,6 _ 3,9×10^{12}/ლ) ლეიკოციტების _ 45,43±19,59 (0,9 _ 274×10^{9}/ლ), თრომბოციტების _ 93.31±60.99 (0,0 _ 150,0×10^{9}/ლ), ბლასტური უჯრედების _ 38.00±25.35 (1,0 _ 83,0%) (ცხრილი №16).

პერიფერიული სისხლის მაჩვენებლები მწვავე ლიმფოიდური (ALL) ლეიკემიების დროს კლინიკაში შემოსვლისას.

ცხრილი №16.

პ/სისხლის მაჩვენებლები	საშუალო მაჩვენებლები M±შD	მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიები _ ALL
ჰემოგლობინი HB გ/ლ-ში	M±შD მერყეობა	50,17±16,40 17,0 _ 116,0

ერითროციტების რაოდენობა 10^{12}/ლ	M ± შD მერყეობა	2,62 ± 0,73 1,6 _ 3,9
ლეიკოციტების რაოდენობა 10^9/ლ	M ± შD მერყეობა	45,43 ±19,59 0,9 – 274,0
თრომბოციტების რაოდენობა 10^9/ლ	M ± შD მერყეობა	93,31 ± 60,99 0,0 _ 150,0
ბლასტები პ/ს-ში %	M ± შD მერყეობა	38,00 ± 25.35 1,0 – 83,0

ჰემოგრამაში ლეიკოციტების რაოდენობის მიხედვით გამოვლინდა განსხვავებები ALL-ის სხვადასხვა ქვევარიანტებს შორის. მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების დროს პერიფერიულ სისხლში ხშირად აღინიშნებოდა მაღალი ლეიკოციტოზი. ლეიკოციტების რაოდენობა მერყეობდა 0,9 _ 274,0×10^9/ლ-მდე (M=45,4267 ± 19,60). ავადმყოფთა 26,6%-ს აღენიშნებოდა ლეიკოპენია (0,9 _ 3,5×10^9/ლ), 46,6%-ს ლეიკოციტოზი (26,0 _ 274,0×10^9/ლ). ALL-ის Pre-preB(common) ქვევარიანტი ხასიათდება ლეიკოციტების უფრო მაღალი მაჩვენებლით (M=88,81 ± 44,48) მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების სხვა ქვევარიანტებთან შედარებით. T-ALL-ის დროს ლეიკოციტების საშუალო მაჩვენებელი შედარებით დაბალია (M=5,1 ± 0,00)
(ცხრილი №17).

ლეიკოციტების საშუალო მაჩვენებლები მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების ქვევარიანტების დროს

ცხრილი №17.

	FAB	საშუალო M	სტანდარტული გადახრა SD
ლეიკოციტები	**Pro-B**	11,166	7,418
	Pre-pre B (common)	88,81	44,48
	Pre-B	30,60	14,20
	B-ALL მწიფე უჯრედული	9,5	0,00
	T-ALL	5,1	0,00

ავადმყოფთა 77%-ს აღენიშნებოდა თრომბოციტოპენია; თრომბოციტების საშუალო მაჩვენებელი იყო დაბალი 93,32 ± 65,28 (0,00-150,0×10^9/ლ). ზოგიერთ შემთხვევაში აღინიშნებოდა მათი სრული არარსებობა.

მწვავე ლეიკემიის დიაგნოსტიკაში არსებითი მნიშვნელობა აქვს ლეიკოგრამის დათვლას, მათში ბლასტური უჯრედების აღმოჩენას, რაც წარმოადგენს მწვავე ლეიკემიის პათოგნომურ ნიშანს (გარდა მწვავე ლეიკემიის ალეიკემიური ვარიანტისა). ჩვენი მასალის მიხედვით ჰემოგრამაში ბლასტური უჯრედების საშუალო რაოდენობა შეადგენდა 38.00±25.35% (1,0%-დან 83,0%-მდე), ე.ი მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების დროს აღინიშნებოდა ანემია, ზომიერი (20%-ში) ან მაღალი (30%-ში) ლეიკოციტოზი ან ლეიკოპენია (25%-ში), ხოლო 25%-ში ლეიკოციტების რაოდენობა შეადგენდა ნორმას, ადგილი ჰქონდა თრომბოციტოპენიას, ლეიკოგრამაში ბლასტური უჯრედების მაღალ პროცენტს.

მწვავე ლეიკემიის დიაგნოზის დასადგენად გადამწყვეტი მნიშვნელობა ენიჭება მედულოგრამის შესწავლას, სადაც აღინიშნება დაბალდიფერენცირებული უჯრედების რაოდენობის მატება და ნორმალური სისხლწარმოქმნის დათრგუნვა. მედულოგრამაში აღინიშნებოდა გრანულოციტური რიგის დიფერენციაციის უნარის მქონე და მწიფე უჯრედების სიმცირე, აგრეთვე ერითროიდული და მეგაკარიოციტული რიგის მკვეთრი შემცირება (ცხრილი №18).

ძვლის ტვინის შემადგენლობის მაჩვენებლები (%)-ში მწვავე ლიმფოიდური (ALL) ლეიკემიების დროს კლინიკაში შემოსვლისას.

ცხრილი №18.

ძვლის ტვინის მაჩვენებლები %-ში		საშუალო მაჩვენებლები M±SD	მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიები _ ALL
ბლასტები		M±SD მერყეობა	70.90±19.69% 36 - 94%
ნეიტროფილები	უმწიფარი	M±SD მერყეობა	3,45±1,92% 0-15,5
	მწიფე	M±SD მერყეობა	4,26±2,81% 0,25 – 10,0
ლიმფოციტები		M±SD მერყეობა	9,46±2,60% 0 - 41,4
ერითრობლასტები		M±SD მერყეობა	6,71±4,10% 0,25 – 19,25
მეგაკარიოციტები		M±SD მერყეობა	0,014% 0 - 0,25

როგორც ცხრილიდან ჩანს, მედულოგრამა ხასიათდება ბლასტური უჯრედების მაღალი შემცველობით 70,90±19,69 (36,0 _ 94,0%). ნეიტროფილების უმწიფარი

ფორმების საშუალო მაჩვენებელი შეადგენს 3,45%, ხოლო მწიფე _ 4,26%, ლიმფოციტების რაოდენობა – 9,46%. რედუცირებულია ერითროიდული (6,71%) და მეგაკარიოციტული (0,11%) რიგი.

მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიის სხვადასხვა ვარიანტების დეტალურ ციტომორფოლოგიურ დახასიათებაზე ჩვენ არ შევჩერდებით, რადგანაც ის ემთხვევა სხვა მკვლევარების მონაცემებს. ჩვენ გავაანალიზებთ სუბვარიანტების დროს ძვლის ტვინის ბლასტური **უჯრედების პროლიფერაციულ აქტივობას და ამ პარამეტრების განსაზღვრის მნიშვნელობას მწვავე ლეიკემიების მიმდინარეობასა და პროგნოზში.**

Pro-B ALL პრო-B ლიმფობლასტური ლეიკემია: B-ALL-ის ეს ქვევარიანტი აღინიშნა შემთხვევებათა ~ 18%-ში. ავადმყოფების საშუალო ასაკი შეადგენდა 45,33 წელს (M=45,33±11,68). დაავადებულთა 67,0% იყო კაცი და 33,0% _ ქალი. Pro-B-ALL ხასიათდება ძვლის ტვინში მაღალი ბლასტოზით M=64,53±16,36% (53,25 _ 83,25%), ციტოქიმიური რეაქციებიდან: სპეციფიურია რეაქცია გლიკოგენზე, რომელიც დადებითია მარცვლების სახით. ბლასტების იმუნოფენოტიპირებით გამოვლინდა B ლიმფოიდური ანტიგენების CD19, CD22, CD79a ექსპრესია.

მწვავე ლეიკემიის ეს ქვევარიანტი ხასიათდება ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის მარკერის_ანტიგენ Ki 67-ის მაღალი ექსპრესიით M=52,33±30,24 (19,0 _ 78,0%).

Pre-pre B-ALL (common) ადრეული B ლიმფობლასტური ლეიკემია (საერთო): ჩვენს მასალაზე ეს ქვევარიანტი აღინიშნა BALL-ის ~ 43%-ში. ავადმყოფების საშუალო ასაკი შეადგენდა 38,75 წელს (M=38,75±6,04). დაავადებულთა 37% იყო კაცი და 63,0% _ ქალი. მწვავე ლიმფობლასტური ლეიკემიის აღნიშნული ქვევარიანტის დროს ძვლის ტვინში აღინიშნებოდა მაღალი ბლასტოზი _ M=78,11±20,72 (36,0_94,0%), ციტოქიმიური რეაქციებიდან სპეციფიურია რეაქცია გლიკოგენზე, რომელიც დადებითია მარცვლების სახით. ბლასტებში აღინიშნება HLA-DR, ასევე B ლიმფოიდური ანტიგენების CD19, CD22, CD79a, CD10 (საერთო-»common”) ანტიგენისა და TdT-ს ექსპრესია. ციტოგენეტიკური კვლევით აღინიშნა მიტოზების დიდი რაოდენობა და დიპლოიდური მეტაფაზები.

მწვავე ლეიკემიის ეს ქვევარიანტი ხასიათდება ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის მარკერის _ ანტიგენ Ki 67-ის მაღალი ექსპრესიით M=27,75±4,53 (11,0 _ 44,6%).

Pre-BALL _ მწვავე ლიმფობლასტური ლეიკემია (პრე_B): ჩვენს შემთხვევებში BALL-ის ეს ქვევარიანტი აღინიშნა ~ 24%-ში. ავადმყოფების საშუალო ასაკი შეადგენდა 42,33 წელს (M=42,33±8,74). დაავადებულთა 50% იყო კაცი და 50% _ ქალი. მწვავე ლიმფობლასტური ლეიკემიის აღნიშნული ქვევარიანტის დროს ძვლის ტვინში აღინიშნებოდა მაღალი ბლასტოზი _ M=68.19±16,90% (53,5 _ 91,0%), ციტოქიმიური რეაქციებიდან სპეციფიურია რეაქცია გლიკოგენზე, რომელიც დადებითია მსხვილი გრანულების სახით. ბლასტებში აღინიშნება HLA-DR და B ლიმფოიდური ანტიგენების CD19, CD22, CD79a, ასევე TdT-ს და Ig M მძიმე ჯაჭვის ექსპრესია.

ციტოგენეტიკური კვლევით აღინიშნა მცირე რაოდენობით მიტოზები და ერთ შემთხვევაში Ph ქრომოსომა.

მწვავე ლეიკემიის ამ ქვევარიანტის დროს აღინიშნება ანტიგენ Ki 67-ის მაღალი ექსპრესია M=25,73±10,24 (11,8 _ 45,70%).

BALL _ მწიფე უჯრედული B მწვავე ლეიკემია: ჩვენს მასალაზე ეს ქვევარიანტი აღინიშნა ALL-ის ~ 10%-ში. ავადმყოფების საშუალო ასაკი შეადგენდა 67წელს (M=65,00±3,50). ძვლის ტვინში ბლასტური უჯრედები შეადგენს _ M=33,0±7,00%, ციტოქიმიური რეაქციებიდან სპეციფიურია რეაქცია გლიკოგენზე, რომელიც დადებითია მსხვილი გრანულების სახით. ბლასტებში ვლინდება B ლიმფოიდური ანტიგენების CD19, CD22, CD79a, TdT და Ig M (სრული მოლეკულის) ექსპრესია. მწვავე ლეიკემიის ამ ქვევარიანტის დროს აღინიშნება ანტიგენ Ki 67-ის მაღალი ექსპრესია M=42,40±1,00 (41,00 _ 43,70%).

Pre-TALL (ადრეული T _ ლიმფობლასტური მწვავე ლეიკემია) (მიელოიდური ანტიგენების თანაექსპრესიით): ჩვენს მასალაზე TALL-ის ეს ქვევარიანტი აღენიშნა ერთ ავადმყოფს (~ 5%). ავადმყოფის ასაკი შეადგენდა 53 წელს. დაავადებულ იყო მამაკაცი. მწვავე ლიმფობლასტური ლეიკემიის აღნიშნული ვარიანტის დროს ძვლის ტვინში აღინიშნებოდა მაღალი ბლასტოზი _ 84,25%, ციტოქიმიური რეაქციებიდან რეაქცია

გლიკოგენზე იყო სუსტად დადებითი (დიფუზურად და დიფუზურ - მარცვლოვანი განაწილებით), ბლასტების მცირე ნაწილში რეაქცია პეროქსიდაზაზე იყო სუსტად დადებითია. სუსტად დადებითი იყო რეაქცია მჟავე ფოსფატაზაზეც. ბლასტების იმუფენოტიპირებით აღინიშნა T ლიმფოიდური ანტიგენების CD3, CD2, CD7, TdT-ს ექსპრესია და მიელოიდური ანტიგენების (CD13 და CD117) თანაექსპრესია. მწვავე ლეიკემიის ამ ქვევარიანტის დროს აღინიშნა ანტიგენ Ki 67-ის მაღალი ექსპრესია 64,0%.

3.5. ძვლის ტვინის უჯრედების მიტოზური რეჟიმი მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების დროს.

ძვლის ტვინის უჯრედების მიტოზური აქტივობა შესწავლილ იქნა ALL-ით დაავადებულ 20 ავადმყოფში, (11 _ ქალი, 9 _ კაცი). საკონტროლო ჯგუფად გამოყენებულ იქნა რ. აბდუშელიშვილის მონაცემები (1985წ) შესწავლილი 80 დონორის ძვლის ტვინის უჯრედებზე. მასალის აღება ხდებოდა სპეციფიური მკურნალობის დაწყებამდე.

მიტოზური ინდექსები: ძვლის ტვინის უჯრედების მიტოზური აქტივობის შესასწავლად გამოთვლილ იქნა საერთო მიტოზური ინდექსები (ს.მ.ი), ასევე გრანულოციტური (თეთრი) და ერითროიდული (წითელი) რიგის (წ.რ.მ.ი) შეფარდებითი მიტოზური ინდექსები (თ.რ.მ.ი). ჩატარებულმა კვლევამ გვიჩვნა, რომ ALL ხასიათდება მიტოზური აქტივობის არაერთგვაროვნებით (ცხრილი №19).

ძვლის ტვინის უჯრედების მიტოზური აქტივობის ზოგიერთი მაჩვენებელი მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების დროს

ცხრილი №19.

ძვლის ტვინის უჯრედების მაჩვენებლები	ნორმა	P	ALL
საერთო მიტოზური ინდექსები (‰)	22,5 ± 0,89	P > 0,5	5,40 ± 6,44
თეთრი რიგის უჯრედების მიტოზები (‰)	6,70 ± 0,41	P > 0,5	4,67 ± 0,74

წითელი რიგის მიტოზები (⁰/₀₀)	15,8 ± 0,59	P > 0,5	0,55 ± 0,10

როგორც ცხრილიდან №19 ჩანს, ს.მ.ი რომელიც ნორმაში შეადგენს (მოზრდილებში) 22,5 ± 0,89 H ALL-ის დროს შემცირებიულია და საშუალოდ შეადგენს 5,40 ± 6,44H (0,2 _ 21,0Hhhgfg,-მდე), რაც ~2-ჯერ ნაკლებია ANLL - თან შედარებით. რაც შეეხება თეთრი და წითელი რიგის შეფარდებით მიტოზურ ინდექსებს, აღინიშნება ერითროიდული რიგის უჯრედების მიტოზური ინდექსების მკვეთრი დაქვეითება – 0,55 ± 0,10 ⁰/₀₀ ან არარსებობა. თეთრი რიგის უჯრედების მიტოზები ALL-ის დროს განსხვავდება ნორმისაგან. თეთრი რიგის მიტოზური ინდექსი საშუალოდ შეადგენდა 4,67 ± 0,74 ⁰/₀₀ (0,2 – 11,5%) ნორმაში – 6,7 ± 0,41⁰/₀₀. ს.მ.ი. მაჩვენებლები მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების სხვადასხვა ქვევარიანტის დროს განსხვავებულია: Pro-BALL _ 5,50 ± 2,12; Pre-pre-BALL(common) _ 5,20 ± 5,20; Pre-BALL _ 9,00 ± 0,00; B-ALL-მწიფე
უჯრედული 4,10 ± 0,00; Pre-T-ALL _ 27,00 ± 13,00 (ცხრილი №20).

ძვლის ტვინის უჯრედების საერთო მიტოზური ინდექსების მაჩვენებლები ALL-ის ქვევარიანტების მიხედვით.

ცხრილი №20.

მიტოზური აქტივობის მაჩვენებლები	Pro-BALL	Pre-pre-BALL (common)	Pre-BALL	B-ALL-მწიფე უჯრედული	Pre - T-ALL
საერთო მიტოზური ინდექსები (⁰/₀₀)	5,50 ± 2,12	5,20 ± 5,20	9,00 ± 0,00	4,10 ± 0,00	27,00 ± 13,00

ამგვარად, მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიები ხასიათდება ძვლის ტვინის მიტოზური ინდექსების შემცირებით, თუმცა ეს მაჩვენებლები აღინიშნება მოზრდილთა 92,3%-ში. უნდა აღინიშნოს, რომ ეს შემცირება განპირობებულია ძირითადად წითელი

რიგის უჯრედების მიტოზების შემცირებით და ხშირ შემთხვევაში მათი სრული არარსებობით და იშვიათად თეთრი რიგის მიტოზების შემცირებით.

მიტოგრამები: მიტოზის ხარისხობრივი თავისებურებების შესასწავლად ჩვენ ვითვლიდით მიტოგრამებს. მწვავე ლეიკემიების დროს წითელი რიგი იმდენად არის რედუცირებული, რომ ერითროიდული მიტოგრამების გამოთვლა უმეტეს შემთხვევებში შეუძლებელია.

როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, საკონტროლო მასალაზე ანუ ნორმაში ძვლის ტვინის უჯრედებში მიტოზის ფაზებიდან პროფაზა და მეტაფაზა გვხვდება თითქმის ერთნაირი სიხშირით (პროფაზა _ 41,8%, მეტაფაზა _ 45,3%), ანაფაზა მკვეთრად აჭარბებს ტელოფაზას (ანაფაზა _ 10,4%, ტელოფაზა _ 2,5%). კვლევის პროცესში გამოვლინდა მიტოზის ნორმალური მიმდინარეობის დარღვევა ALL-ის დროს: მიტოზის ცალკეული ფაზების თანაფარდობის დარღვევა, კერძოდ მეტაფაზური ფიგურების მკვეთრი სიჭარბით.

ლიმფოიდური რიგის მიტოზის ცალკეული ფაზების თანაფარდობის შესწავლამ მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების დროს გვიჩვენა, რომ ძირითადად მიტოზების რაოდენობის სიხშირე იზრდება მეტაფაზური ფიგურების მომატების ხარჯზე (ნორმაში _ 5,3%, ALL _ 67,25 ± 30,20%). ანაფაზისა და ტელოფაზის სიხშირე უახლოვდება ნორმას (ცხრილი №21).

ძვლის ტვინის უჯრედების მიტოგრამები ALL-ის დროს.

ცხრილი №21.

მიტოგრამების მაჩვენებლები %	norma	ALL
პროფაზა	41,8 ± 8,19	5,50 ± 6,12
P ნორმასთან	P < 0,01	
მეტაფაზა	45,3 ± 7,8	76,25 ± 30,20
P ნორმასთან	P < 0,01	
ანაფაზა	10,4 ± 1,08	16,25 ± 13,42
P ნორმასთან	P > 0,5	
ტელოფაზა	2,5 ± 0,90	2,0 ± 0,00
	P > 0,5	

ALL-ის ქვევარიანტების დროს აღინიშნება მეტაფაზური ფიგურების სიჭარბე (მიტოზის დაყოვნება მეტაფაზის სტადიაზე) სხვა ფაზებთან შედარებით. გარდა მეტაფაზური დაყოვნებისა მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების დროს გვხვდება მიტოზის პათოლოგიის სხვა ფორმები. შედარებით იშვიათად აღინიშნება მიტოზის დაყოვნება პროფაზის ან სხვა სტადიებზე. ამრიგად, მიტოზის ცალკეული ფაზების შესწავლით ALL-ის დროს გამოვლინდა, რომ მიტოზის რაოდენობის შემცირება ძირითადად პროფაზის ხარჯზე ხდება (ცხრილი №22).

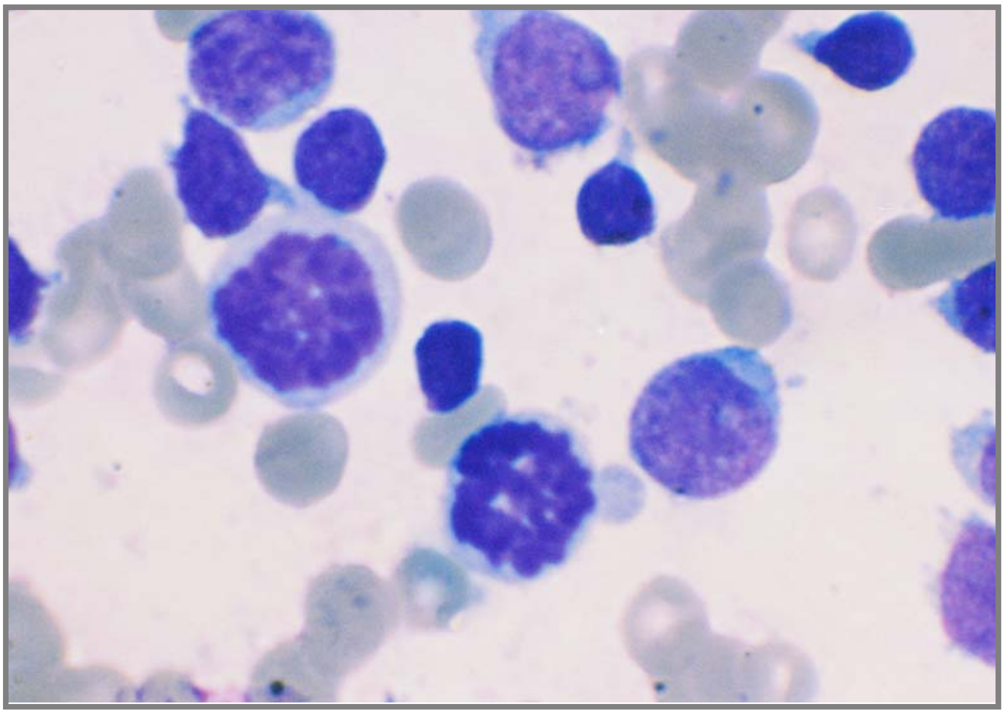
ძვლის ტვინის უჯრედების მიტოგრამა ALL-ის ქვევარიანტების მიხედვით.

ცხრილი №22.

მიტოზის ფაზები %	ქვევარიანტები					
	ნორმა	Pro-BALL	Pre-pre-BALL (Common)	Pre-BALL	B-ALL-mwife ujreduli	Pre-T-ALL
პროფაზა	41,8 ± 8,19	7,0 ± 9,89	3,25 ± 6,50	6,00 ± 0,0	10,4 ± 6,52	5,00
მეტაფაზა	45,3 ± 7,80	66,0 ± 12,72	72,00 ± 3,0	80,50 ± 9,2	74,1 ± 3,51	90,00
ანაფაზა	10,4 ± 1,08	27,0 ± 2,82	23,6 ± 9,40	9,7 ± 5,2	12,50 ± 5,0	5,00
ტელოფაზა	2,5 ± 0,90	0,00	1,15	2,9	3,00	0,00

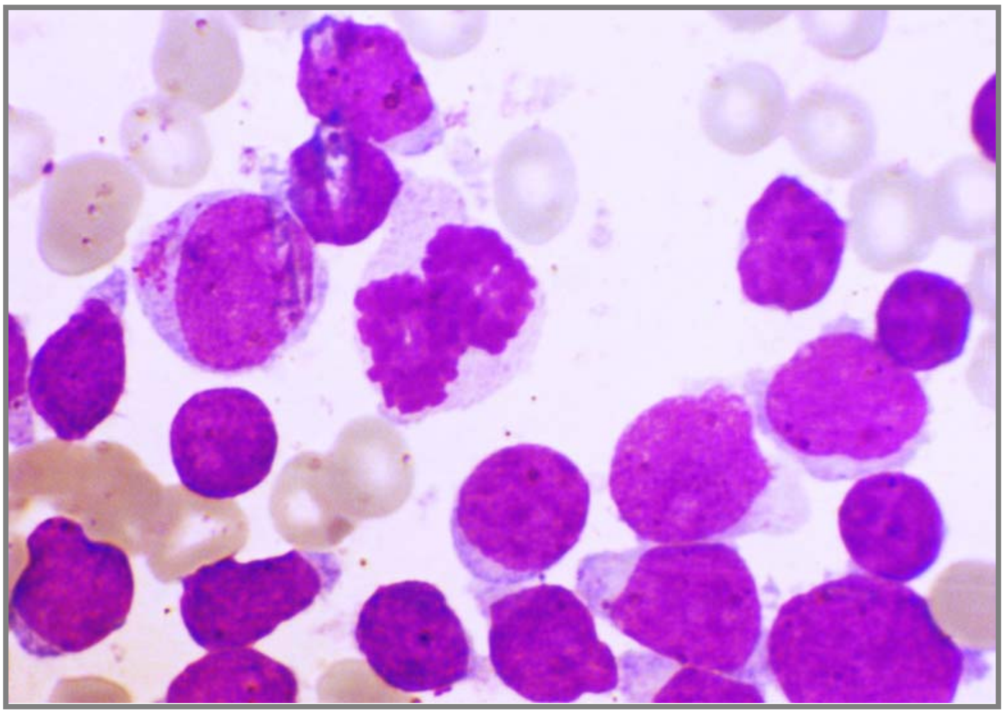
მიტოზების პათოლოგია მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების დროს:

გარდა მიტოზური ინდექსებისა ჩვენ შევისწავლეთ მიტოზების მორფოლოგია და გამოვყავით პათოლოგიური ფორმები. გარდა მეტაფაზური დაყოვნებისა, მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების დროს გვხვდება მიტოზის პათოლოგიის სხვადასხვა ფორმები: 1)ქრომოსომების ან მათი ფრაგმენტების გაფანტვა მეტაფაზაში, 2)ღრუ მეტაფაზა, 3)კოლხიცინური მიტოზი (K_მიტოზი). შედარებით იშვიათად აღინიშნება მიტოზის დაყოვნება პროფაზის, ანაფაზისა და ტელოფაზის სტადიებზე. (სურათი №11-13).



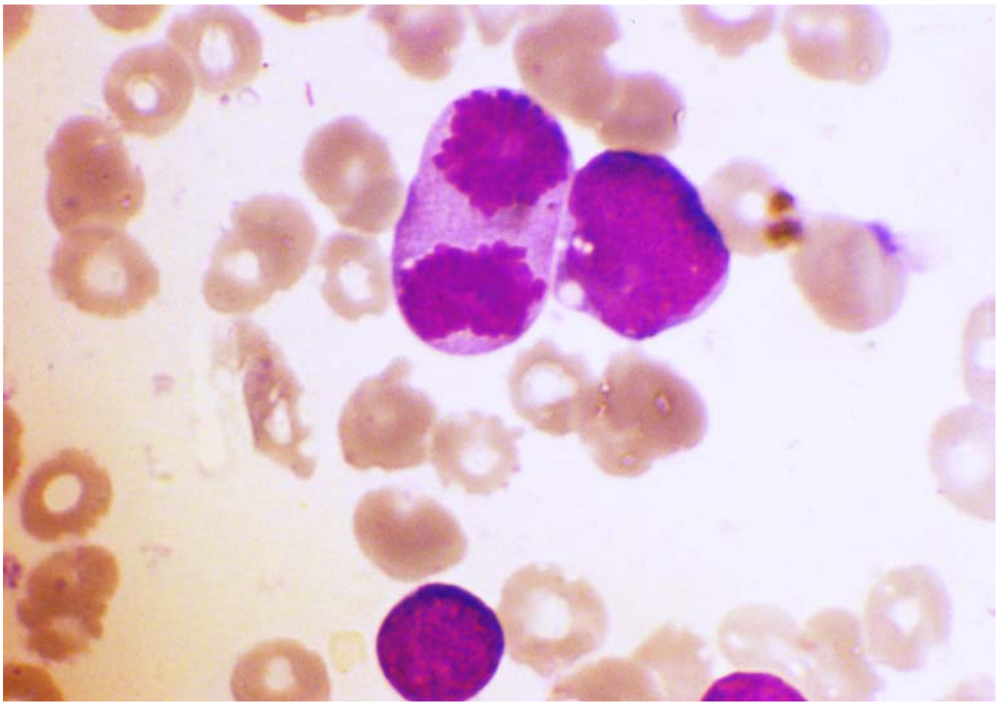
სურ. №11. მეტაფაზა – ა) *შეწებებული და ბ) K-მიტოზი.* T-ALL.

(აზურ-ეოზინი, ×1000).



სურ. №12. ანაფაზა _ *შეწებებული.* T – ALL.

(აზურ-ეოზინი, ×1000).



სურ. №13. გვიანი ანაფაზა _ შეწებებული. Pro-B-ALL.
(აზურ-ეოზინი, ×1000).

3.6. ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობა მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების დროს ანტიგენ Ki 67-ის ექსპრესიის მიხედვით.

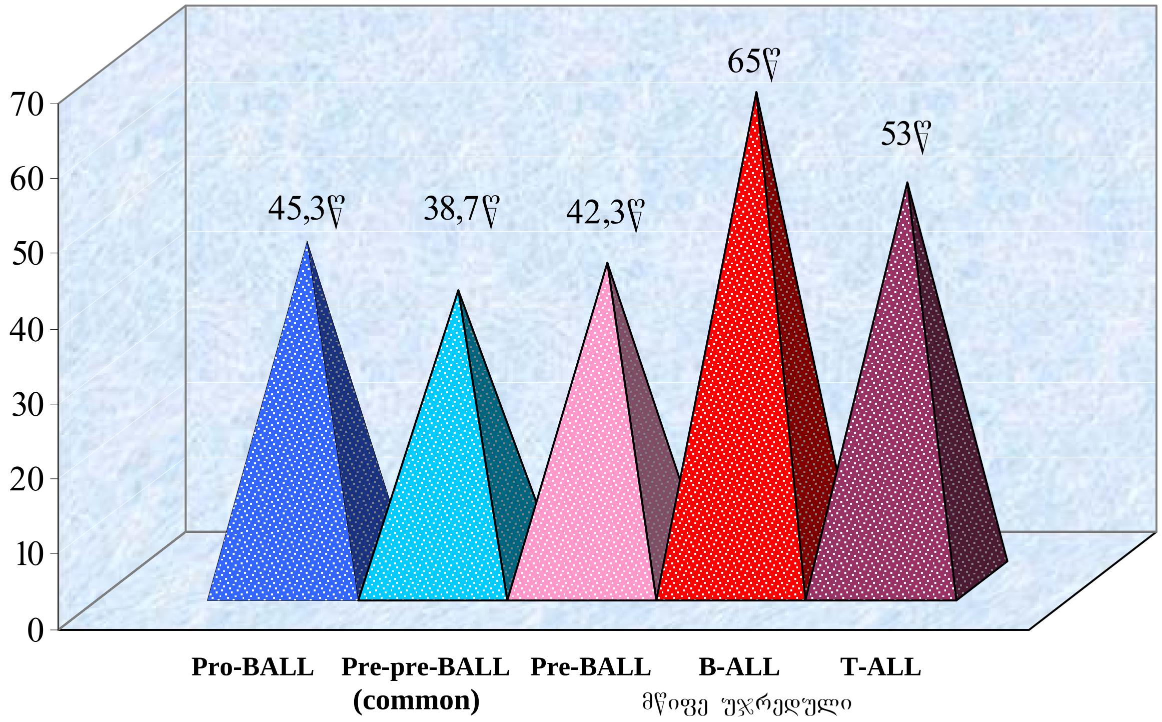
ავადმყოფებს კლინიკურ _ ჰემატოლოგიურ, იმუნოლოგიურ და ციტოგენეტიკურ გამოკვლევებთან ერთად უტარდებოდათ Ki 67 ანტიგენის ექსპრესიის შეფასება.

ჰემატოლოგიური მონაცემების - ჰემოგლობინის, ერითროციტების, ლეიკოციტების, თრომბოციტების, ედს-ის მაჩვენებლების, ასევე ჰემოგრამაში და მიელოგრამაში ბლასტური უჯრედების რაოდენობასა და Ki 67 ანტიგენის ექსპრესიასთან ასოციაცია არაერთგვაროვანია. ანალიზის შედეგად აღმოჩნდა, რომ ALL-ის დროს მაღალი ლეიკოციტოზის ყველა შემთხვევა ასოცირდება Ki 67 ანტიგენის მაღალ ექსპრესიასთან, ხოლო სხვა მაჩვენებლებთან კორელაცია არ გამოვლინდა. მწვავე

ლიმფოიდური ლეიკემიებით დაავადებულებში არაკეთილსაიმედო პროგნოზული ფაქტორების გამოსავლენად მოვახდინეთ მათი დაყოფა ასაკის, სქესის, ლეიკოციტების, Ki 67 ანტიგენის რაოდენობისა და სიცოცხლის ხანგრძლივობის მიხედვით და შევადარეთ აღნიშნული მონაცემები Ki 67 ანტიგენის ექსპრესიას (დიაგრამა №3, ცხრილი [1]23).

ავადმყოფთა განაწილება ასაკის მიხედვით ALL-ის ქვევარიანტების დროს.

დიაგრამა №3.



ასაკის, სქესის, ლეიკოციტების რაოდენობისა და სიცოცხლის ხანგრძლივობის ასოციაცია Ki 67 ანტიგენის ექსპრესიასთან მიმართებაში არაერთგვაროვანია. ანალიზის შედეგად აღმოჩნდა, რომ ALL-ის Pre-pre B(common) ქვევარიანტის მეტი სიხშირე აღინიშნება 40 წლამდე, საშუალო ასაკი შეადგენს 38,75 ± 6,04 წელს, ხოლო ALL-ის სხვა ვარიანტების _ 42 წელს ზემოთ (ცხრილი №23).

ავადმყოფთა განაწილება ასაკის, სქესის, ლეიკოციტების, Ki 67-ის რაოდენობისა *და სიცოცხლის ხანგრძლივობის მიხედვით ALL-ის დროს.*

ცხრილი №23.

FAB	ასაკი	სქესი	ლეიკოციტები	Ki 67	სიცოცხლის ხანგრძლივობა

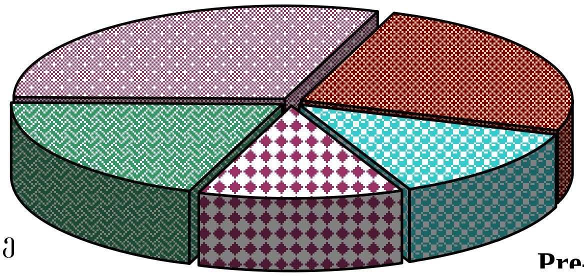
Pro-BALL	45,33 ± 6,71	1,67 ± 0,33	11,17 ± 7,41	52,33 ± 17,46	1,00 ± 0,00
Pre-pre-BALL (common)	38,75 ± 6,04	1,63 ± 0,18	88,81 ± 44,48	27,75 ± 4,53	12,60 ± 4,37
Pre-BALL	42,33 ± 8,74	1,33 ± 0,33	30,60 ± 14,21	25,73 ± 10,24	4,67 ± 2,73
B-ALL მწიფე უჯრედული.	65,00 ± 0,00	1,00 ± 0,20	9,50 ± 0,50	42,40 ± 1,00	5,00 ± 2,00
T-ALL	53,00	1,00	5,10	64,00	2,00

მწვავე B ლიმფოიდური ლეიკემიების ქვევარიანტებს შორის ყველაზე ხშირი იყო Pre-pre B (Common). ეს ქვევარიანტი ხასიათდებოდა შედარებით კარგი მიმდინარეობით (სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობა _ 12,6 ± 4,37თვე), რაც ემთხვევა Волкова А.И. (2001) და Воробьёв А.И. (2002) მონაცემებსაც. Ki 67 ანტიგენის მაღალი ექსპრესია აღინიშნა Pro-BALL – 78% და T-ALL _ 64% დროს, რაც შეესაბამებოდა დაავადების რეზისტენტულ ფორმებს, როდესაც ვერ იქნა მიღებული რემისია და სიცოცხლის ხანგრძლივობაც ხანმოკლე აღმოჩნდა (შესაბამისად 10 დღე და 4თვე), ხოლო Ki 67 ანტიგენის შედარებით დაბალი ინდექსი შეესაბამებოდა ხანგრძლივ რემისიას (1 წელი და მეტი) და კეთილსაიმედო პროგნოზს. ALL-ის დროს Ki 67 ანტიგენის საშუალო მაჩვენებლებს, ასევე სქესსა და ასაკს შორის სხვადასხვა ქვევარიანტების დროს სტატისტიკურად სარწმუნო კორელაცია არ გამოვლინდა. ALL-ის ქვევარიანტების დროს აღინიშნა სხვაობა ლეიკოციტების რაოდენობას შორის: Pro-BALL (11,17 ± 7,41) და Pre-Pre-BALL(common) (88,81 ± 44,48) (p=0,02), ისევე როგორც სიცოცხლის ხანგრძლივობის მიხედვითაც: Pro-BALL _ 1,00 ± 0,00 თვე; Pre-Pre-BALL _ 12,60 ± 4,37 თვე.

ALL-ის ყველა ქვევარიანტის დროს პროლიფერაციული აქტივობა მაღალია _ საშუალო მაჩვენებელი > 25%-ზე; ანტიგენ Ki 67-ის მინიმალური ექსპრესია შეადგენდა 11%, ხოლო მაქსიმალური 78%. Pro-BALL _ 52,33% (19 _ 78%), Pre-Pre-BALL (common) _ 27,75%(11 _ 44,6%), Pre-BALL _ 25,73% (11,8-45,7%), BALL-მწიფე უჯრედული _ 42,40%, TALL _ 64% (დიაგრამა №4).

ავადმყოფთა განაწილება Ki 67ანტიგენის ექსპრესიის მიხედვით ALL-ის დროს.

დიაგრამა №4.

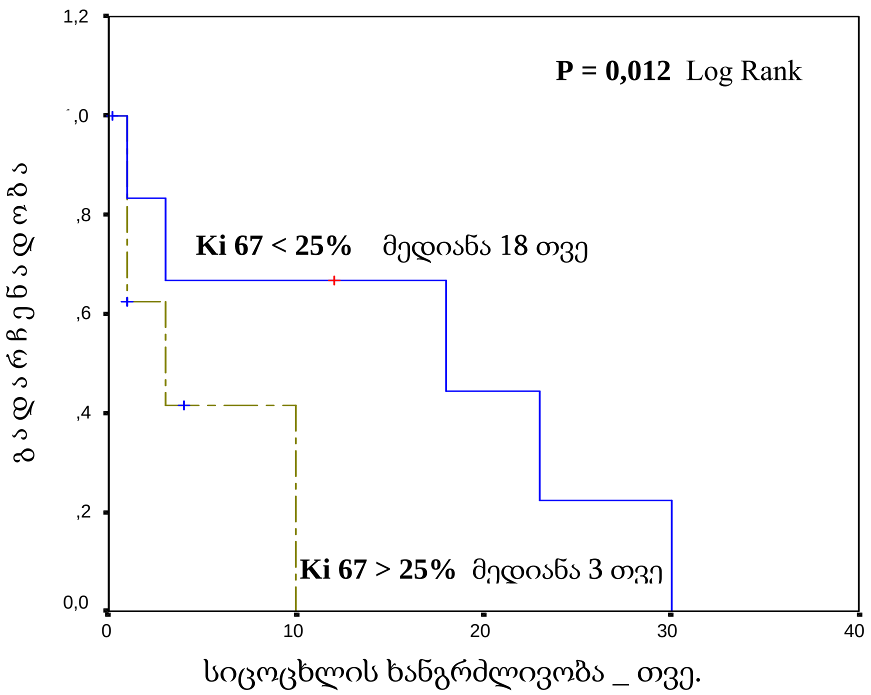


მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების სხვადასხვა ქვევარიანტის დროს აღინიშნება ძვლის ტვინის მიტოზური აქტივობის მომატება, რაც გარკვეულწილად განსაზღვრავს დაავადების კლინიკურ გამოვლინებას, ქიმიოთერაპიის ეფექტურობას და პროგნოზს.

ლეიკემიური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის შედარებამ დაავადების კლინიკურ მიმდინარეობასა და პროგნოზთან გვიჩვენა, რომ როგორც რემისიების რაოდენობა და ხანგრძლივობა, ასევე სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობა უფრო მეტი იყო ავადმყოფების იმ ჯგუფში, რომელთაც აღნიშნებოდათ Ki 67 ანტიგენის დაბალი ექსპრესია _ Ki 67 < 25%. ამ შემთხვევაში სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობა შეადგენდა 16,44±5,13 თვეს, გადარჩენადობის მედიანა 18,00±15,00 თვეს (95% ნდობის ინტერვალი 0,00 _ 47,40). საპირისპირო შედეგები იქნა მიღებული Ki 67 ანტიგენის მაღალი ექსპრესიის დროს (Ki 67> 25%), როდესაც სიცოცხლის ხანგრძლივობა შეადგენდა _ 5,17±1,84 თვეს, გადარჩენადობის მედიანა 3,00±1,97 თვეს (95% ნდობის ინტერვალი 0,00 _ 6,85) p=(0.003) (ნახ. №3).

ავადმყოფთა საერთო გადარჩენადობა Ki 67ანტიგენის ექსპრესიის მიხედვით ALL-ის დროს.

ნახ. №3.



მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების მნიშვნელოვან რისკ ფაქტორს მიეკუთვნება ლეიკოციტების რაოდენობა დაავადების დებიუტში (>30×10^9/ლ). ავადმყოფთა გადარჩენადობის განსაზღვრისას ლეიკოციტების რაოდენობის მიხედვით (<30×10^9/ლ და >30×10^9/ლ) დავადგინეთ მისი კავშირი დაავადების მიმდინარეობასა და პროგნოზთან. იმ შემთხვევებში, როდესაც ლეიკოციტების რაოდენობა >30×10^9/ლ-ზე, სიცოცხლის ხანგრძლივობა შეადგენდა _ $8{,}81\pm4{,}47$თვეს, გადარჩენადობის მედიანა $3{,}00\pm1{,}14$თვე (95% ნდობის ინტერვალი 0,77 _ 5,23), ლეიკოციტების დაბალი რაოდენობის დროს <30×10^9/ლ, სიცოცხლის ხანგრძლივობა შეადგენდა $13{,}40\pm5{,}64$თვეს, გადარჩენადობის მედიანა $10{,}00\pm6{,}67$თვე (95% ნდობის ინტერვალი 0,00 - 23,08) (p=0,59). არსებობს უკუპროპორციული დამოკიდებულება ჰემოგრამაში ლეიკოციტების საწყის რაოდენობასა და რემისიის ხანგრძლივობას შორის. ავადმყოფთა მკურნალობის შედეგები ლეიკოციტების საწყისი რაოდენობის $\geq100\times10^9$/ლ დროს პესიმისტურია, რაზედაც მიუთითებს აგრეთვე Воробьёв А.И (2002). ჩვენს შემთხვევაში 2 ავადმყოფს აღენიშნებოდა პერიფერიულ სისხლში მაღალი ლეიკოციტოზი: $165{,}3\times10^9$/ლ და $274{,}0\times10^9$/ლ, რომელიც ასოცირდებოდა ხანმოკლე ($0{,}615\pm0{,}385$ თვე) სიცოცხლესთან (შესაბამისად 7 დღე და 1 თვე) (p=0,03).

ამგვარად, ჩვენს მიერ დადგენილ იქნა კავშირი Ki 67 ანტიგენის ექსპრესიასა და დაავადების მიმდინარეობას შორის მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების სხვადასხვა ქვევარიანტების დროს. კვლევის შედეგები გვიჩვენებს, რომ ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის შესწავლას ALL-ის დროს გარკვეული მნიშვნელობა აქვს დაავადების მიმდინარეობის, პროგნოზის და ავადმყოფის მგრძნობელობის განსაზღვრაში ქიმიოპრეპარატების მიმართ. კვლევისას გამოიკვეთა, რომ მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების დროს Ki 67 ანტიგენის ექსპრესია ძირითადად მაღალია (>25%). შედარებით დაბალი აქტივობისას პროცესი ხასიათდებოდა უფრო კეთილსაიმედო პროგნოზით, ხოლო Ki 67 ანტიგენის ძალიან მაღალი ექსპრესია და მაღალი ლეიკოციტოზი ALL-ის დროს შეიძლება შეფასდეს, როგორც არაკეთილსაიმედო პროგნოზული ნიშანი. ე.ი. აღნიშნული ფუნქციური პარამეტრის განსაზღვრით შესაძლოა ვივარაუდოთ მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების კლინიკური მიმდინარეობა დიაგნოზის დასმის მომენტშივე.

3.7 ანტიგენ Ki 67-ის ექსპრესიის როლი მწვავე ლეიკემიების მიმდინარეობასა და პროგნოზში.

როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, გამოკვლეული 50 პაციენტიდან 30 იყო მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიით დაავადებული, ხოლო 20 _ მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიით. აქედან მამაკაცი იყო 26 (52%), ქალი _ 24 (48%). მათი ასაკი მერყეობდა 17-დან 69წლამდე. გამოკვლეულ ავადმყოფთა საერთო დახასიათება მოცემულია ცხრილში №24

ავადმყოფთა განაწილება ასაკისა და სქესის მიხედვით.

ცხრილი №24.

FAB	გამოკვლეუთა რაოდენობა N	სქესი Qქ / ვ	ასაკი M	ასაკობრივი მერყეობა
ANLL	30	14 / 16	48,72	25-67 w

ALL	20	10 / 10	44,41	17-65 w

მონაცემები Ki 67 ანტიგენის ექსპრესიასა და ჰემოგლობინის, ედს-ის, ლეიკოციტების, თრომბოციტების, ასევე ჰემოგრამაში და მიელოგრამაში ბლასტების რაოდენობას შორის არაერთგვაროვანია.

მწვავე ლეიკემიების ქვევარიანტების გამოყოფის აუცილებლობა, რომელიც დამყარებულია უჯრედის მორფო _ ფუნქციურ მახასიათებლებზე, აისახება კლინიკურ გამოვლინებებშიც – ქიმიოპრეპერატების მიმართ მგრძნობელობაში, რემისიების სიხშირესა და სიცოცხლის ხანგრძლივობაზე. უფრო ხანგრძლივად ცოცხლობენ ავადმყოფები M1 (23,33 ± 8,69თვე), Pre-Pre B-ALL (common) (12,60 ± 4,37თვე) და შედარებით ნაკლები სიცოცხლის ხანგრძლივობით ხასიათდებიან M6 (7,00 ± 2,04თვე), M3 (6,56 ± 3,54თვე), B-ALL-მწიფე უჯრედული (5,00 ± 0,00თვე), Pre-BALL (4,67 ± 2,73თვე) და M2 (3,5 ± 3,11თვე) ქვევარიანტებით დაავადებულები და მალე იღუპებიან M4 (2,19 ± 0,54თვე), M5 (2,37 ± 1,15თვე), Pro-BALL (1,00 ± 0,00თვე) და TALL (მიელოიდური ანტიგენების თანაექსპრესიით) (2,00 ± 0,00თვე) დროს.

ამგვარად, ჩვენს მიერ გამოვლენილი იქნა გარკვეული დამოკიდებულება მწვავე არალიმფოიდური და ლიმფოიდური ლეიკემიების ციტოლოგიურ და იმუნოლოგიურ ქვევარიანტებსა და ავადმყოფთა სიცოცხლის ხანგრძლივობას შორის, რაც მიუთითებს მწვავე ლეიკემიების დროს აღნიშნული ქვევარიანტების გამოყოფის აუცილებლობაზე დაავადების მიმდინარეობის პროგნოზირების მიზნით.

გარდა ციტოლოგიური და იმუნოლოგიური არაერთგვაროვნებისა, მწვავე ლეიკემიები ხასიათდება ძვლის ტვინის უჯრედების პროლიფერაციისა და დიფერენციაციის მნიშვნელოვანი დარღვევებით. მწვავე ლეიკემიების დროს შემცირებულია ძვლის ტვინის მიტოზური აქტივობა, ამასთანავე, ANLL - ის დროსაც ს.მ.ი ~2-ჯერ მეტია ALL _ თან შედარებით, მაგრამ მნიშვნელოვნად დაბალია ნორმაზე (ნორმა 22,5 ± 0,89⁰/₀₀). ს.მ.ი-ის შემცირება ძირითადად განპირობებულია წითელი რიგის მიტოზების შემცირებით ან არარსებობით (ნორმა 15,8 ± 0,59⁰/₀₀). თუმცა ALL-ის დროს წ.ს.მ.ი ~5-ჯერ ნაკლებია ANLL -თან შედარებით. მიტოგრამების ანალიზის შედეგად

მწვავე ლეიკემიების ვარიანტებს შორის არ გამოვლინდა სარწმუნო განსხვავება. თუმცა ორივე ვარიანტის დროს აღინიშნება პროფაზების რაოდენობის შემცირება, ხოლო მეტაფაზები სარწმუნოდ მაღალია ნორმასთან შედარებით (ნორმა _ 45,3% P<0,05) და შეადგენს მიტოზის ყველა ფაზის 70-80%-ს, რაც ფასდება, როგორც მიტოზის დაყოვნება მეტაფაზის სტადიაზე.

ძვლის ტვინის უჯრედების მიტოგრამები ნორმაში, ANLL და ALL-ის დროს.

ცხრილი №25.

მიტოგრამების მაჩვენებლები %	ნორმა	ANLL	ALL
პროფაზა	41,8 ± 8,19	15,9 ± 12,5	4,0 ± 6,2
მეტაფაზა	45,3 ± 7,8	59,3 ± 17.6	67,3 ± 3,02
ანაფაზა	10,4 ± 1,08	16,4 ± 10,7	16,3 ± 13,4
ტელოფაზა	2,5 ± 0,9	8,9 ± 2,8	0,0 ± 0,0
ს.მ.ი.	22,5 ± 0,89‰	16,3 ± 10,0	8,38 ± 6,2
Ki 67	26,1%	17,06 ± 2,27	35,45 ± 4,74

მწვავე ლეიკემიების დროს გარდა მიტოზების რაოდენობრივი ცვლილებებისა, აღინიშნება მათი ხარისხობრივი ცვლილებებიც, რაც ვლინდება პათოლოგიური მიტოზების სხვადასხვა ფორმებით. ANLL-ის დროს გარდა მეტაფაზური დაყოვნებისა აღინიშნება 1)ქრომოსომების ან მათი ფრაგმენტების ჩამორჩენა მეტაფაზაში, 2)ქრომოსომების ან მათი ფრაგმენტების გაფანტვა, 3)ხიდები, 4)სამჯგუფიანი მეტაფაზა 5)მრავალპოლუსიანი მიტოზი 6)მონოცენტრული მიტოზი, 7)ღრუ მეტაფაზა, 8)ასიმეტრიული მიტოზი. ALL-ის დროს პათოლოგიური მიტოზი გვხვდება უფრო იშვიათად და ის არ გამოირჩევა მრავალფეროვნებით. აღინიშნება მხოლოდ 1)მეტაფაზური დაყოვნება, 2)ქრომოსომების ან მათი ფრაგმენტების გაფანტვა მეტაფაზაში, 3)ღრუ მეტაფაზა, 4)კოლხიცინური მიტოზი (K-მიტოზი).

მწვავე ლეიკემიების დროს განსაზღვრული ადგილი უჭირავს უჯრედთა ამიტოზურ გაყოფასაც, განსაკუთრებით მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების შემთხვევებში. ჩვენი მონაცემები ძირითადად ემთხვევა პათოლოგიური მიტოზების

სახეებს, რომელიც აღწერილია რ. აბდუშელიშვილის მიერ (1983) მწვავე ლეიკემიების დროს, ასევე ი.ა. ალოვისა (1972) და ი.ა. კაზანცევას მიერ (1981) _ სიმსივნეების დროს.

მწვავე ლეიკემიებით დაავადებულებში არაკეთილსაიმედო პროგნოზული ფაქტორების გამოსავლენად მოვახდინეთ მათი დაყოფა ასაკის, სქესის, ლეიკოციტების (<30×10⁹/ლ და >30×10⁹/ლ), Ki 67 ანტიგენის (Ki 67<25% და Ki67>25%) რაოდენობისა და სიცოცხლის ხანგრძლივობის მიხედვით (ცხრილი №26).

ANLL-ის და ALL-ის ზოგადი ჯგუფების შედარება.

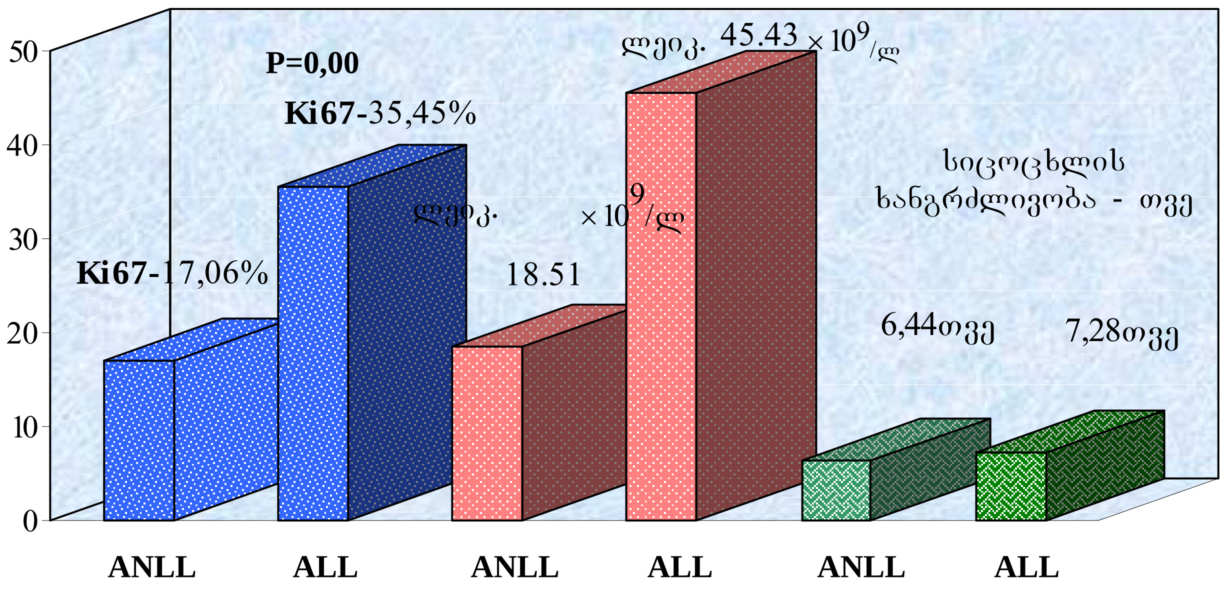
ცხრილი №26.

	N	FAB	საშუალო	სტანდარტული გადახრა	Rank-sum Test	
					t	p
ასაკი	30	ANLL	48,72	2,52	0.982	0.331
	20	ALL	44,41	3,79		
სქესი	30	ANLL	1,48	0,09	-0.299	0.766
	20	ALL	1,53	0,13		
Ki-67	30	ANLL	17,06	2,27	-3.919	0.000
	20	ALL	35,45	4,74		
ლიკოციტების რაოდენობა	30	ANLL	18,51	4,21	-1.756	0.087
	20	ALL	45,43	19,60		
სიცოცხლის ხანგრძლივობა	30	ANLL	6,44	1,69	-0.289	0.774
	20	ALL	7,28	2,43		

როგორც ცხრილიდან ჩანს ასაკის, სქესის, ლეიკოციტების რაოდენობისა და სიცოცხლის ხანგრძლივობის ასოციაცია Ki 67 ანტიგენის ექსპრესიასთან მიმართებაში არაერთგვაროვანია. Ki 67 ანტიგენის ექსრპესია ALL-ის დროს (35,45±4,74) ˜2-ჯერ მეტია ANLL-თან შედარებით (17,06±2,27), სხვაობა სტატისტიკურად სარწმუნოა (P=0,00). კავშირი Ki 67 ანტიგენის ექსპრესიას, ლეიკოციტების ინიციალურ რაოდენობასა და ავადმყოფთა სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობას შორის ANLL და ALL-ის დროს Aასახულია დიაგრამაზე №5.

კავშირი Ki 67 ანტიგენის ექსპრესიას, ლეიკოციტების ინიციალურ რაოდენობასა და ავადმყოფთა სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობას შორის ANLL და ALL-ის დროს.

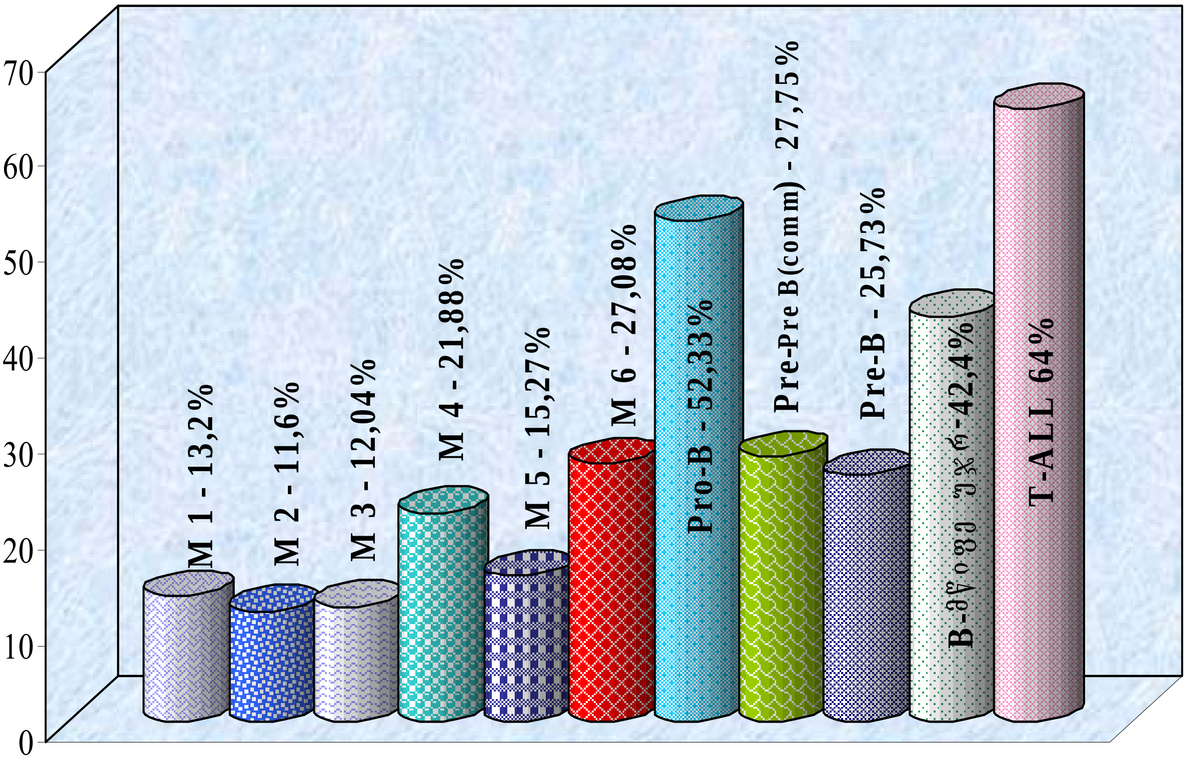
დიაგრამა №5.



მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების M1, M2, M3, M5 ქვევარიანტების დროს Ki 67 ანტიგენის ექსპრესია დაბალია და შეადგენს: M1-13,0%, M2 _ 11,6%, M3 _ 12,04, M5 _ 15,27%. Ki 67 ანტიგენის შედარებით მაღალი მონიშვნის ინდექსი აღინიშნა M4 _ 21,88% და M6 _ 27,08% ქვევარიანტების დროს. Ki 67 ანტიგენის ექსპრესია მინიმალური იყო M2 _ 2,0% და მაქსიმალური – Pro-BALL _ 78% და TALL – 64% ქვევარიანტების დროს. მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების სხვადასხვა ქვევარიანტების დროს Ki 67-ის ექსპრესიის საშუალო მაჩვენებლები მაღალია და შეადგენს: Pro-BALL _ 52,33%, Pre-Pre-BALL _ 27,75%, Pre-BALL _ 25,73%, BALL-მწიფე უჯრედული _ 42,40%, TALL _ 64,0% (დიაგრამა №6).

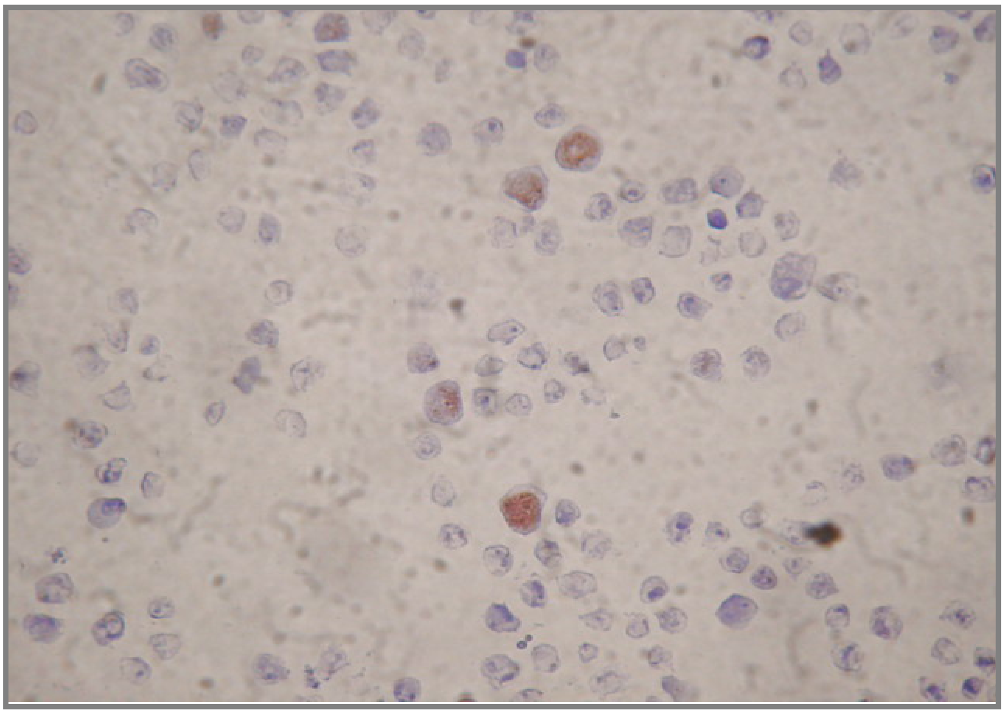
ავადმყოფთა განაწილება Ki 67 ანტიგენის ექსპრესიის მიხედვით ANLL-ის და ALL-ის ქვევარიანტების დროს.

დიაგრამა №6.

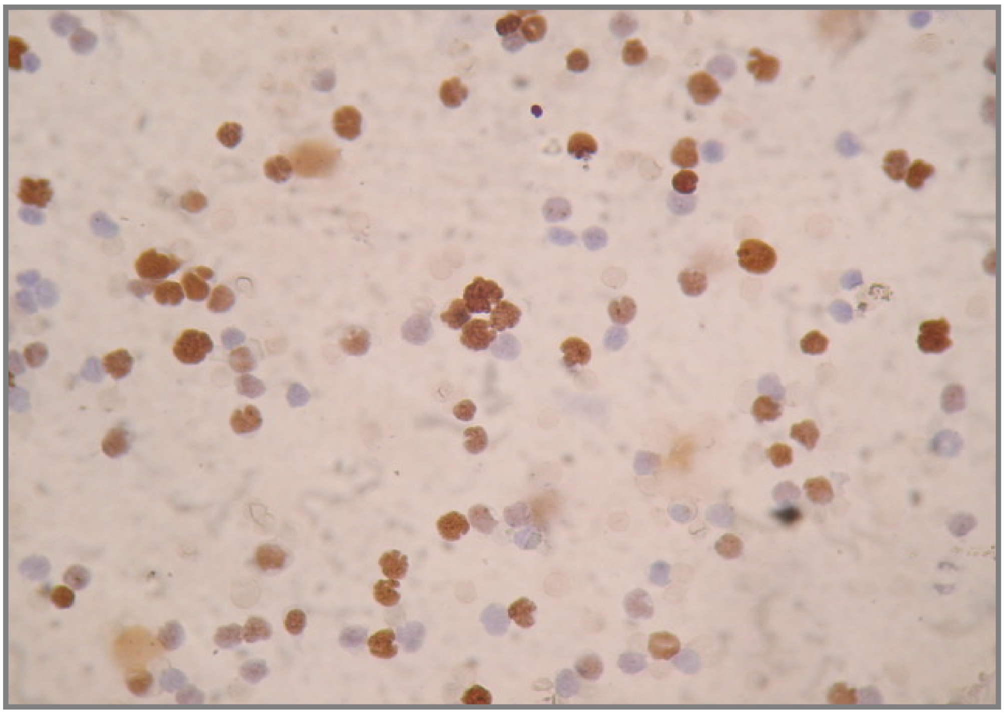


Ki 67 ანტიგენის მაღალი ექსპრესია ყველა შემთხვევაში შეესაბამებოდა დაავადების რეზისტენტულ ფორმებს და ხანმოკლე სიცოცხლეს.

Ki 67 ანტიგენის დაბალი და მაღალი ექსპრესია ასახულია სურ. №14-15.



სურ. №14. ANLL – M3.
(ყავისფერად გამოვლენილია Ki 67 ანტიგენის ექსპრესია ~5%; LSAB-მეთოდი,×400).



სურ. №15. Pro-B ALL
(ყავისფერად გამოვლენილია Ki 67 ანტიგენის ექსპრესია ~60%; LSAB-მეთოდი,×400).

ამრიგად, ჩატარებული შრომის საფუძველზე ნათელი გახდა, რომ ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის შესწავლა ანტიგენ Ki 67-ის ექსპრესიის მიხედვით ბევრად უფრო ინფორმატიულია მიტოზური რეჟიმების სხვა პარამეტრებთან შედარებით, რაც შეიძლება აიხსნას იმით, რომ მიტოზური ინდექსები ასახავს მხოლოდ უჯრედის გაყოფის პერიოდს, ხოლო ანტიგენ Ki 67-ის ექსპრესია მთელ უჯრედულ ციკლს.

ლეიკემიური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის შედარებამ კლინიკურ მიმდინარეობასა და პროგნოზთან გვიჩვენა, რომ როგორც რემისიების რაოდენობა და ხანგრძლივობა, ასევე სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობა უფრო მაღალი იყო (ANLL-ის დროს 7,84±2,37 თვე; ALL-ის დროს _ 14,50±4,64თვე) ავადმყოფების იმ ჯგუფში, რომელთაც აღენიშნებოდათ Ki 67 ანტიგენის შედარებით დაბალი ექსპრესია (Ki 67 < 25%), ხოლო Ki 67-ის მაღალი აქტივობისას (Ki 67 >25%), სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობა იყო დაბალი (ANLL _ 2,79±1,11თვე, ALL _

2,47 ± 1,02თვე). კავშირი სტატისტიკურად სარწმუნოა (ANLL: r_s=-0,456 P=0,052; ALL: r_s=-0,619 P=0,014). სხვა მაჩვენებლებს შორის კორელაცია არ გამოვლინდა (ცხრილი №27).

კავშირი Ki 67-სა და სიცოცხლის ხანგრძლივობას შორის.

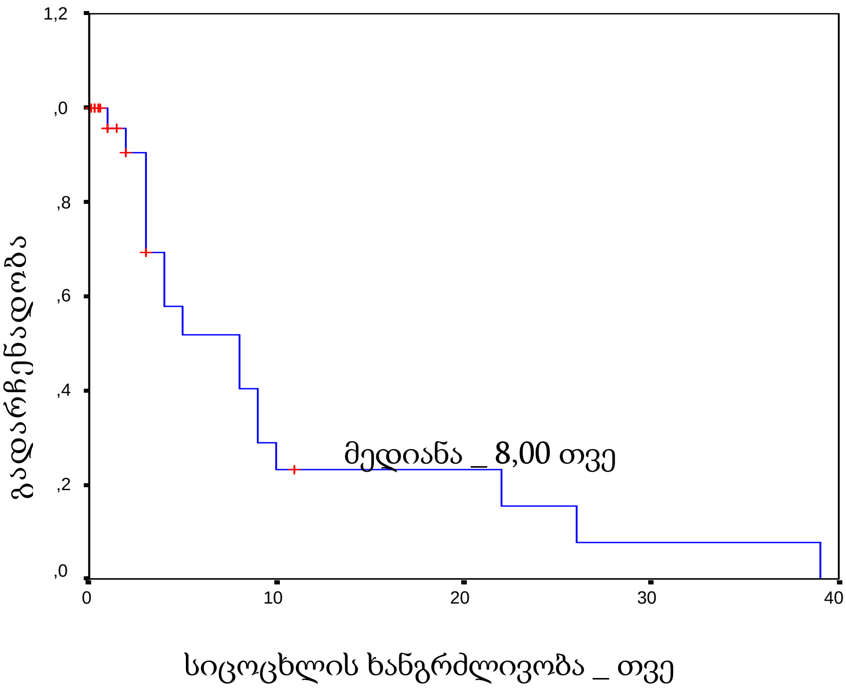
ცხრილი №27

სიცოცხლის ხანგრძლივობა	KI 67 %	საშუალო	სტანდარტული გადახრა	ANOVA F	p
ANLL	>= 25,00	2,7875	1,10541	4.032	0.05
	< 25,00	7,8437	2,37403		
ALL	>= 25,00	2,4700	1,02161	13,192	0,003
	< 25,00	14,5000	4,63861		

მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიების დროს Ki 67 ანტიგენის სხვადასხვა რაოდენობის შემთხვევაში სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობა შეადგენდა _ 10,77 თვეს, გადარჩენადობის მედიანა _ 8,00 თვეს (95%- ნდობის ინტერვალი 2,74 _ 13,26) (ნახ №4).

ავადმყოფთა საერთო გადარჩენადობა ANLL-ის დროს.

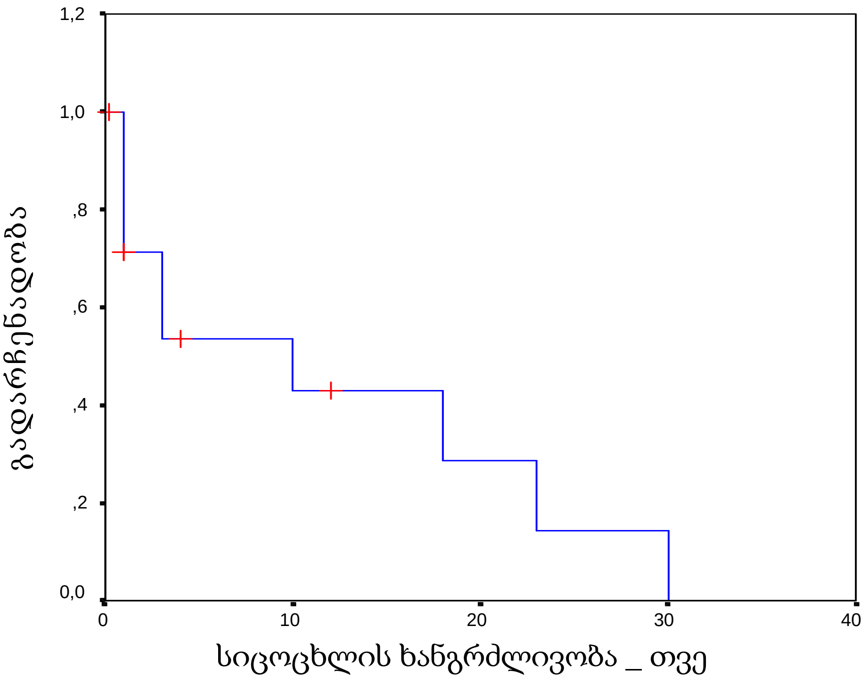
ნახ.№4.



მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების დროს Ki 67 ანტიგენის სხვადასხვა რაოდენობის შემთხვევაში სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობა შეადგენდა _ 12,04 თვეს, გადარჩენადობის მედიანა _ 10,00 თვეს (95%- ნდობის ინტერვალი 0,82 _ 19,18) (ნახ №5).

ავადმყოფთა საერთო გადარჩენადობა ALL-ის დროს

ნახ. №5.



ჩვენს მასალაზე დადასტურებულ იქნა მწვავე ლეიკემიების მნიშვნელოვანი რისკ ფაქტორის – ლეიკოციტების ინიციალური რაოდენობის მნიშვნელობა დაავადების მიმდინარეობაში. ავადმყოფთა გადარჩენადობის ანალიზის შესწავლისას ლეიკოციტების რაოდენობის მიხედვით ($<30\times10^9$/ლ და $>30\times10^9$/ლ) აღმოჩნდა, რომ იმ შემთხვევებში, როდესაც ლეიკოციტების რაოდენობა $<30\times10^9$/ლ-ზე, ANLL – ის დროს სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობა შეადგენს $12{,}73\pm3{,}23$ თვეს, გადარჩენადობის მედიანა $9{,}00\pm1{,}78$ თვე (95% ნდობის ინტერვალი 5,51 _ 12,49), ხოლო ALL-ის დროს სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობა შეადგენს $13{,}40\pm5{,}64$ თვეს, გადარჩენადობის მედიანა _ $10{,}00\pm6{,}67$ თვე (95% ნდობის ინტერვალი 0,00 _ 23,08) (P=0,024). ლეიკოციტების მაღალი რაოდენობის დროს ($>30\times10^9$/ლ), სიცოცხლის საშუალო

ხანგრძლივობა შეადგენს ANLL-ის დროს 3,20±0,39 თვეს, გადარჩენადობის მედიანა _ 3,00±0,55 თვეს (95% ნდობის ინტერვალი 1,93 _ 4,07), ხოლო ALL-ის დროს სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობა _ 8,81±4,47 თვეა, გადარჩენადობის მედიანა 3,00±1,14თვე (95% ნდობის ინტერვალი 0,77 _ 5,23).

ამგვარად, ჩვენს მიერ დადასტურებულ იქნა ლეიკოციტების ინიციალური რაოდენობის კავშირი ავადმყოფთა სიცოცხლის ხანგრძლივობასა და გადარჩენადობასთან. მაღალი ლეიკოციტოზი (>30,0×10^9/ლ) მწვავე არალიმფოიდური და მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების დროს ასოცირდებოდა სიცოცხლის დაბალ ხანგრძლივობასა და გადარჩენადობის დაბალ მედიანასთან. ლეიკოციტების ინიციალურ რაოდენობასა და სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობას შორის კავშირი დადასტურდა ფიშერის ზუსტი ტესტითაც (ცხრილი №28).

კავშირი ლეიკოციტების რაოდენობასა და სიცოცხლის ხანგრძლივობას შორის ANLL-ის და ALL-ის დროს.

ცხრილი №28

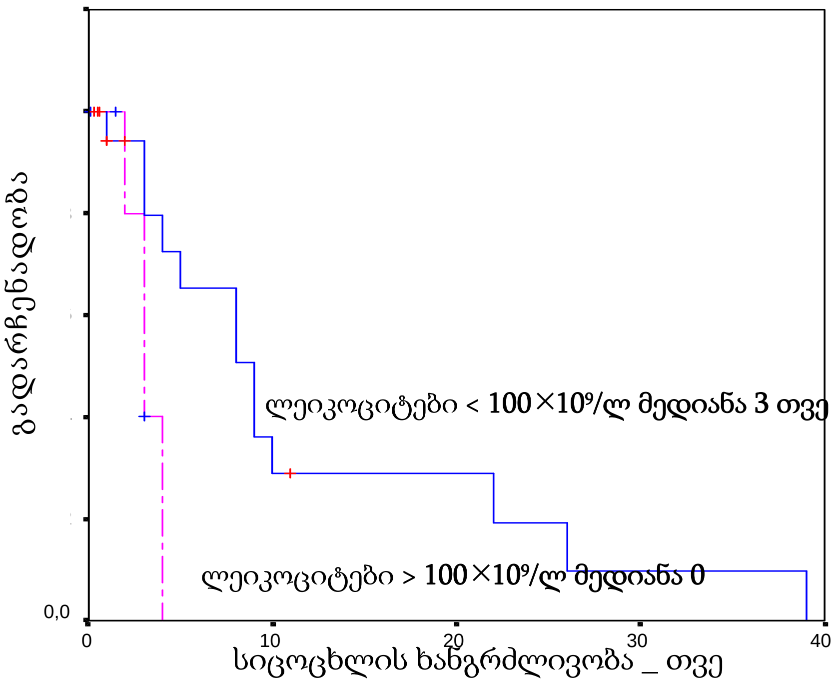
სიცოცხლის ხანგრძლივობა	ლეიკოციტები	საშუალო	სტანდარტული გადახრა	ANOVA F	P
ANLL	>= 30,00	2,3757	1,27533	4,57	0,04
	< 30,00	8,1700	10,06223		
ALL	>= 100,00	0,6150	0,38500	4,899	0,03
	< 100,00	8,0000	2,91807		

მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიები უფრო ხშირად მიმდინარეობს ლეიკოციტოზის ფონზე (45,43×10^9/ლ), ხოლო ANLL-ის დროს ლეიკოციტების საშუალო მაჩვენებელი უფრო დაბალია (18,51×10^9/ლ). იმ შემთხვევებში, როდესაც ლეიკოციტების რაოდენობა <100×10^9/ლ, სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობამ შეადგინა 8,00±2,92 თვე, გადარჩენადობის მედიანამ 3,00±4,35. არსებობს უკუპროპორციული დამოკიდებულება ჰემოგრამაში ლეიკოციტების საწყის რაოდენობასა და რემისიის ხანგრძლივობას შორის. ლეიკოციტების საწყისი რაოდენობა ≥100×10^9/ლ, წარმოადგენს ცუდ პროგნოზულ ფაქტორს მწვავე

ლიმფოიდური ლეიკემიების მიმდინარეობაში. ჩვენს შემთხვევაში ის ასოცირდებოდა ხანმოკლე სიცოცხლესთან – 0,615 ± 0,385 თვე, ხოლო (p=0,03) (ნახ. №6).

ავადმყოფთა საერთო გადარჩენადობა ლეიკოციტების რაოდენობის მიხედვით ALL-ის დროს.

ნახ. №6.



ავადმყოფთა პროგნოზულ ჯგუფებად დაყოფის შემდეგ, მოვახდინეთ რისკ ჯგუფში ავადმყოფთა განაწილება რისკ _ ფაქტორების: Ki 67 ანტიგენის ექსპრესიისა და ლეიკოციტების რაოდენობის მიხედვით ცალკე ANLL-ის და ცალკე ALL-ის ქვევარიანტებისათვის. გამოყოფილ იქნა ორი ქვეჯგუფი:

- ლეიკოციტები > 30 × 10^9/ლ
- Ki 67 > 25%

გამოვთვალეთ ფარდობითი რისკი. გამოთვლის შედეგად დადგინდა, რომ ANLL დროს, იმ შემთხვევაში როდესაც Ki 67 > 25%-ზე, ფარდობითი რისკი 1,56-ჯერ მეტია (95%-იანი ნდობის ინტერვალი 0,306 _ 46,17), ვიდრე Ki 67 < 25% შემთხვევაში. ხოლო ლეიკოციტების მაღალი რაოდენობის დროს > 30,0 × 10^9/ლ, ფარდობითი რისკი შეადგენს 2-ს (95% ნდობის ინტერვალი 0,306 _ 46,17). ALL-ის დროს, როდესაც Ki 67 >

25%-ზე, ფარდობითი რისკი 1,22-ჯერ მეტია (95%-იანი ნდობის ინტერვალი 0,27-3,32), ხოლო როდესაც ლეიკოციტები >30,0× 10^9/ლ-ზე, ფარდობითი რისკი შეადგენს ძალიან მაღალ მაჩვენებელს _ 4 (95% ნდობის ინტერვალი 0,44 _ 97,12) (ცხრილი №29).

ფარდობითი რისკი ანტიგენ Ki 67-ის ექსპრესიისა და ლეიკოციტების რაოდენობის მიხედვით ANLL და ALL-ის დროს.

ცხრილი №29.

ჯგუფი	ფაქტორი	ფარდობითი რისკი	95 % ნდობის ინტერვალი.
ANLL	Ki 67 > 25 %	1,56	0,51 _ 6,69
	LEU > 30,0× 10^9/l	2	0,306 _ 46,17
ALL	Ki 67 > 25 %	1,22	0,27 _ 3,32
	LEU > 30,0× 10^9/l	4	0,44 _ 91,12

ამრიგად, ჩატარებული შრომის საფუძველზე ნათელი გახდა, რომ ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის მარკერის - Ki 67 ანტიგენის ექსპრესია შეიძლება ჩაითვალოს მწვავე ლეიკემიების მიმდინარეობის განმსაზღვრელ მნიშვნელოვან კრიტერიუმად, როგორც დამოუკიდებელი, ასევე დამატებითი პროგნოზული ფაქტორის სახით სხვა რისკ _ ფაქტორებთან ასოციაციაში.

მიღებული შედეგების განსჯა

უკანასკნელ წლებში იმუნოლოგიასა და მოლეკულურ ბიოლოგიაში მიღწეულმა წარმატებებმა შესაძლებელი გახადა უჯრედული პროლიფერაციისა და უჯრედული ციკლის რეგულაციის მექანიზმების დეტალური შესწავლა.

ჯერ კიდევ არსებობს აზრთა სხვადასხვაობა სიმსივნეებისა და განსაკუთრებით ონკო – ჰემატოლოგიური დაავადებების დროს უჯრედთა პროლიფერაციული ქცევის თავისებურებებზე, მაგრამ არსებობს ერთიანი მოსაზრება იმის შესახებ, რომ სიმსივნური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის მაჩვენებლებს დიდი მნიშვნელობა ენიჭებათ ჰემატოლოგიური და ონკოლოგიური დაავადებების დიაგნოსტიკასა და პროგნოზირებაში, რემისიის ხანგრძლივობისა და ჩატარებული თერაპიის ეფექტურობის განსაზღვრაში, ასევე მკურნალობის მეთოდის შერჩევაში [22,26,14].

ლეიკემიური პოპულაციების კინეტიკასა და პროლიფერაციულ აქტივობაზე ადრე არსებულმა წარმოდგენებმა განიცადეს არსებითი ცვლილებები. რ. ვირხოვის მიერ ლეიკემიის პირველი შემთხვევის აღწერიდან (1845წ), საუკუნეზე მეტი ხნის მანძილზე მწვავე ლეიკემიებს განიხილავდნენ, როგორც სისხლის უმწიფარი უჯრედების აჩქარებული, შეუკავებელი და უკონტროლო პროლიფერაციით გამოწვეულ პათოლოგიურ პროცესს. ე.ი. ითვლებოდა, რომ ლეიკემიების დროს ადგილი აქვს ლეიკემიური პოპულაციის მაღალ პროლიფერაციულ აქტივობას.

პირველი ავტორები, რომლებმაც წამოაყენეს კონცეფცია ლეიკემიური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის მკვეთრ დაქვეითებაზე იყვნენ Astaldi და Mauri [39,40], რომლებმაც შემოგვთავაზეს სტატმოკინეტიკური ტესტი კოლხიცინთან.

მათ დაადგინეს, რომ მწვავე ლეიკემიის დროს ადგილი აქვს პარადოქსულ მოვლენას _ უჯრედული პოპულაციის სწრაფ ზრდას, უჯრედების თვითგანახლების დაბალი სიჩქარის არსებობისას. ეს მოსაზრება დადასტურებულ იქნა შემდგომი კვლევებითაც.

პროლიფერაციული აქტივობის განსაზღვრის ობიექტური მეთოდების გამოყენებამ, რომელიც შემუშავებულ იქნა XXს-ის 60-70-იან წლებში, ისეთები როგორიცაა ავტორადიოგრაფია, მიტოზური და სტატმოკინეტიკური ინდექსები, შეცვალა ადრე არსებული შეხედულებები [7,10]. ლეიკემიური პოპულაციის ავტორადიოგრაფიულმა გამოკვლევებმა უჩვენა დნმ-ის მასინთეზებელი უჯრედების პროცენტული რაოდენობის მნიშვნელოვანი შემცირება გრანულოციტების ნორმალურ წინამორბედ პოპულაციასთან შედარებით. ლეიკემიური პოპულაციის სიცოცხლის საერთო ხანგრძლივობა აღმოჩნდა უფრო დიდი, ვიდრე სისხლწარმოქმნის ნორმალური უჯრედებისა. ლეიკემიური უჯრედების საშუალო მიტოზური აქტივობის ინდექსების დაბალი მაჩვენებლები თითქოსდა მიუთითებდა ლეიკემიური უჯრედების დაბალ პროლიფერაციულ აქტივობაზე. ამის საფუძველზე ფორმულირებულ იქნა კონცეფცია, რომელიც სიმსივნურ ჰიპერპლაზიას ხსნიდა მხოლოდ სისხლის არადიფერენციული უჯრედების დაგროვებით [14], მაგრამ ეს წარმოდგენებიც მალევე იქნა შეცვლილი. ჯერ კიდევ 70-იან წლებში მიღებულ იქნა მონაცემები ლეიკემიური პოპულაციის კინეტიკურ არაერთგვაროვნებაზე [20,131]. გამოითქვა მოსაზრება, რომ მიტოზურ ციკლში მყოფი უჯრედების მცირე ნაწილი იცვლება სიმსივნის ზრდის დინამიკის შესაბამისად, რასაც მოგვიანებით “ზრდის ფრაქცია” უწოდეს. დანარჩენი სიმსივნური უჯრედები დროებით რჩებიან მიტოზური ციკლის გარეთ, G_0 ფაზაში. ამიტომ პროლიფერაციის მაჩვენებლები უნდა მივაკუთვნოთ არა მთლიან ლეიკემიურ პოპულაციას, არამედ მხოლოდ მის “ზრდის ფრაქციას”. ამ მიმართულებით ჩატარებულმა გამოკვლევებმა აჩვენა, რომ ლეიკემიური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობა არ განსხვავდება ნორმალური სისხლწარმომქმნელი ანალოგებისაგან; პროცესის აგრესიულობა და ჩატარებულ თერაპიაზე რეაქცია მნიშვნელოვნად დამოკიდებულია “ზრდის ფრაქციის” დონეზე [14,51].

უჯრედული კინეტიკის შესწავლის ერთ-ერთი ცნობილი მეთოდია მიტოზური ინდექსების დინამიური გამოთვლა. მიტოზური ინდექსები მხოლოდ

ნაწილობრივ ასახავს მიტოზის ჭეშმარიტ სურათს და მასში არ აისახება მიტოზის მორფოლოგიური თავისებურებები, მისი ცალკეული ფაზები და თანაფარდობა. ამის გამო ზოგიერთი ავტორი მიუთითებს მიტოზურ ინდექსებთან ერთად მიტოგრამების (მიტოზის ცალკეული ფაზების პროცენტული თანაფარდობა) გამოთვლის აუცილებლობაზე [21,7]. მიტოზური ინდექსების გამოთვლის გარდა, აუცილებელია უჯრედული ციკლის საერთო ხანგრძლივობის ანუ გენერაციული დროის გამოთვლა, რომელიც წარმოადგენს პროლიფერაციული აქტივობის ძირითად პარამეტრს [186].

მიტოზის სხვადასხვა ფაზების ხანგრძლივობა განსხვავებულია, ვარაუდობენ რომ პრო და ტელოფაზა უფრო ხანგრძლივია, ვიდრე მეტა და ანაფაზა. მიტოზი წარმოადგენს უჯრედული ციკლის მხოლოდ მცირე მონაკვეთს, უმეტეს ნაწილს კი შეადგენს ინტერფაზა [8,21,7]. არსებობს მოსაზრება, რომ სიმსივნურ უჯრედებში მეტაფაზის ხანგრძლივობა ნორმასთან შედარებით მომატებულია. ეს განაპირობებს „მეტაფაზურ დაყოვნებას" ავთვისებიანი სიმსივნეების უჯრედებში. მიტოზების უმეტესი წილი სიმსივნეების დროს ეკუთვნის მეტაფაზის სტადიას.

ძვლის ტვინის უჯრედული პოპულაციების კინეტიკის სრული დახასიათება არ არსებობს, მისი უჯრედული შემადგენლობის მრავალფეროვნებისა და გამოკვლევების სირთულეების გამო [14]. აღმოჩნდა, რომ ზემოთჩამოთვლილ ყველა მეთოდს აქვს გარკვეული ნაკლი. ამ პრობლემის გადაჭრა შესაძლებელი გახდა მას შემდეგ, რაც დაინერგა კვლევის ახალი _ იმუნოციტოქიმიური მეთოდი და აღმოჩენილ იქნა უჯრედულ პროლიფერაციასთან ასოცირებული ანტიგენები, რომლებიც სრულად ასახავენ უჯრედულ ციკლს.

ადამიანის სიმსივნეებში ზრდის ფრაქციის განსაზღვრის ზუსტ და შედარებით მარტივ მეთოდად ითვლება მონოკლონური ანტისხეულის Ki 67-ის განსაზღვრა იმუნოციტოქიმიური მეთოდით. რადგანაც ზრდის ფრაქცია ეს არის ერთ-ერთი ფაქტორი, რომელიც მოქმედებს სიმსივნის მიმდინარეობაზე, ამ პარამეტრის დადგენას დიდი მნიშვნელობა აქვს ყველა სახის სიმსივნის და მათ შორის მწვავე ლეიკემიების მიმდინარეობის პროგნოზირებაში. Ki 67 ანტიგენის შეფასებით შესაძლოა განისაზღვროს მწვავე ლეიკემიის მკურნალობის ეფექტურობაც [51,9,146,14].

მონოკლონური ანტისხეული Ki 67 უჯრედული პროლიფერაციის პოპულარული მარკერია ადამიანის როგორც ნორმალურ, ასევე ნეოპლაზიურ ქსოვილებში. იგი მთლიანად დაკავშირებულია უჯრედულ ციკლთან [138,74]. ანტიგენი Ki 67 მიეკუთვნება რეგულატორულ ცილას, რადგანაც მისი არსებობა უჯრედში აღინიშნება მიტოზური ციკლის დასაწყისში, ხოლო მისი რაოდენობა იცვლება ფაზების შესაბამისად. ცილა Ki 67 ბირთვში ჩნდება G_1-ფაზის შუაში, მისი რაოდენობა იზრდება G_1-დან S, G_2 -ფაზამდე და აღწევს პიკს M-ფაზაში. მიტოზური ციკლის დასრულებისთანავე ცილა სწრაფად კატაბოლიზდება და აღარ ვლინდება [26,166,108]. Ki 67 ანტიგენის ფუნქცია უჯრედული გაყოფის რეგულაციაში ბოლომდე შესწავლილი არ არის. ნაჩვენებია, რომ მისი მაკოდირებელი გენის ცენტრალური უბნის ბლოკირება იწვევს პროლიფერაციის დათრგუნვას. Ki 67 ანტიგენის არსებობა მიტოზური ციკლის ყველა სტადიაზე საშუალებას იძლევა გამოვიყენოთ ის, როგორც უნივერსალური პროლიფერაციული მარკერი [25,154].

უჯრედული სისტემების პროლიფერაციული აქტივობის მაჩვენებლებს შესაძლოა გადამწყვეტი მნიშვნელობა ჰქონდეთ ჰემატოლოგიური დაავადებების პროგნოზირებაში, რემისიის ხანგრძლივობის, მკურნალობის მეთოდის შერჩევასა და მისი ეფექტურობის შეფასებაში. დღითიდღე იზრდება ინტერესი პროლიფერაციული აქტივობის მარკერების (Ki 67, PCNA_ მოპროლიფერაციე უჯრედების ბირთვული ანტიგენის, ციკლინები D1,D2,D3 და ა.შ.) გამოყენების მიმართ მთელ რიგ ნოზოლოგიურ ერთეულთა მიმდინარეობის პროგნოზირების მიზნით. ამას მოწმობს ზემოთაღნიშნული პრობლემისადმი მიძღვნილი შრომების სიმრავლე [125,44,163,114,124], რომელთა მიხედვითაც დადგენილია, რომ უჯრედთა პროლიფერაციული აქტივობა განსაზღვრავს მთელ რიგ დაავადებათა პათოგენეზს. ამავე დროს მედიკამენტების სამკურნალო ეფექტი სწორედ უჯრედთა პროლიფერაციის მოდულაციაზეა დამყარებული, რაც დადასტურებულია მთელი რიგი ავტორების მიერ [1,22,98,148].

არსებობს კვლევები, რომლებიც შეეხება უჯრედული პროლიფერაციის შეფასების პროგნოზულ ღირებულებას კლინიკაში, ადამიანის ნეოპლაზიების დროს [44,50,52,113,124,126,163], კერძოდ, სარძევე ჯირკვლის [81,120,124,5], ფილტვის [50],

პროსტატის [44], საკვერცხის [113], თავის ტვინის [124] სიმსივნეებში, ასევე ავთვისებიან ლიმფომებში [52,104]. ამ შრომებში აღნიშნულია, რომ Ki 67-ით მონიშვნის ინდექსი წარმოადგენს დამოუკიდებელ პროგნოზულ ფაქტორს და იგი შეიძლება გამოყენებულ იქნას დაავადების მიმდინარეობის შესაფასებლად. რიგი ავტორების მიერ აღწერილია ანტიგენ Ki 67-ის განსაზღვრის მნიშვნელობა სისხლის სისტემური დაავადებების დროს [182,68,97,41,186,31,108].

დღეისათვის ამ საკითხისადმი მიძღვნილი შრომები ბევრია და არაერთგვაროვანი. ამის გამო ჩვენი შრომის მიზნად დავისახეთ შეგვესწავლა ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობა მწვავე ლეიკემიების სხვადასხვა ვარიანტებისა და ქვევარიანტების დროს და შეგვედარებინა ეს პარამეტრები სხვა პროგნოზულ ფაქტორებთან. მიღებული კორელაციების საფუძველზე დაგვედასტურებინა ამ ფაქტორების მნიშვნელობა და მისი კავშირი დაავადების მიმდინარეობასა და პროგნოზთან.

ჩვენს მიერ მწვავე ლეიკემიების სხვადასხვა ვარიანტებისა და ქვევარიანტების კლინიკური მიმდინარეობის შესწავლით ნათელი გახდა, რომ მათ შორის სხვაობა გარკვეულწილად განპირობებულია ლეიკემიური უჯრედების კინეტიკური თავისებურებებით. ე.ი. სისლმბადი უჯრედები განსხვავდებიან არა მხოლოდ მორფოფუნქციური, არამედ პროლიფერაციული მახასიათებლებითაც.

ლიტერატურის მონაცემებით დადგენილია, რომ, უჯრედული ციკლის მრავალრიცხოვანი რეგულატორების კოორდინირებული მოქმედების დარღვევა იწვევს უჯრედის პროლიფერაციული პოტენციალის კონტროლის დარღვევას, ასევე მიტოზის პათოლოგიას. ტრანსფორმირებული ანუ მალიგნიზებული კლონი წარმოიქმნება იმ გენების მუტაციიის შედეგად, რომლებიც აკოდირებენ უჯრედული ციკლის რეგულატორების სტრუქტურას, რაც საბოლოო ჯამში არის უჯრედის უკონტროლო პროლიფერაციის ანუ სიმსივნური ზრდის მიზეზი [174,14].

მონაცემები, რომლებიც ეხება მიტოზების მორფოლოგიასა და უჯრედთა პროლიფერაციულ აქტივობას მოზრდილთა მწვავე ლეიკემიების სხვადასხვა ქვევარიანტების დროს მცირერიცხოვანია [190,198]; შედარებით მეტია კვლევები, რომლებიც შეეხება ბავშვთა მწვავე ლეიკემიებს [99,100,13].

მწვავე ლეიკემიების პროგნოზული ფაქტორების ცნება დამკვიდრდა არც თუ ისე დიდი ხნის წინ. მას შემდეგ, რაც შემუშავდა ადექვატური ქიმიოთერაპიის რეჟიმები. სტანდარტული ქიმიოთერაპიული რეჟიმების არაეფექტურობის დეტალური შესწავლით შესაძლებელი გახდა რისკ _ ჯგუფების გამოყოფა და შესაბამისად, ასეთი ავადმყოფების მიმართ მკურნალობის ახალი _ დიფერენცირებული მიდგომის შემუშავება. პროგნოზული ფაქტორებს (ანუ კეთილსაიმედო და არაკეთილსაიმედო) მიეკუთვნება ასაკი, სქესი, პაციენტის საწყისი სომატური სტატუსი, კლინიკური და ლეიკემიური უჯრედების მორფოლოგიური, კინეტიკური, ციტოგენეტიკური, იმუნოლოგიური მახასიათებლები [13].

უჯრედული კინეტიკის შესწავლის მიზნით ჩვენ შევისწავლეთ მწვავე ლეიკემიით დაავადებული 50 ავადმყოფი (30 _ მწვავე არალიმფოიდური და 20 _ მწვავე არალიმფოიდური ლეიკემიით), რომელთაც მკურნალობა უტარდებოდათ აკ. გრ. მუხაძის სახ. ჰემატოლოგიისა და ტრანსფუზიოლოგიის ს/კ ინსტიტუტში.

კვლევის საწყის ეტაპზე Ki 67 ანტიგენის ექსპრესიის მიხედვით ავადმყოფები დავყავით 2 ჯგუფად: Ki 67 < 25%; Ki 67 > 25%. ვეცადეთ დაგვედგინა კორელაციის არსებობა ზემოხსენებული პროლიფერაციული აქტივობის მარკერის ექსპრესიასა და სხვა მაჩვენებლებს (ასაკი, სქესი, ლეიკოციტების ინიციალური რაოდენობა, სიცოცხლის ხანგრძლივობა და სხვა) შორის. მონაცემები Ki 67 ანტიგენის ექსპრესიასა და ჰემოგლობინის, ედს-ის, ლეიკოციტების, თრომბოციტების, ასევე ჰემოგრამაში და მიელოგრამაში ბლასტების რაოდენობას შორის არაერთგვაროვანია.

ანალიზის შედეგად აღმოჩნდა, რომ ALL-ის დროს მაღალი ლეიკოციტოზის ყველა შემთხვევა ასოცირდება Ki 67 ანტიგენის მაღალ ექსპრესიასთან. Ki 67 ანტიგენის მაღალი ექსპრესია მწვავე არალიმფოიდური და მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების დროს შეესაბამებოდა ხანმოკლე სიცოცხლეს და დაბალ გადარჩენადობას.

მწვავე ლეიკემიების ქვევარიანტების გამოყოფის აუცილებლობა, რომელიც დამყარებულია უჯრედის მორფო_ ფუნქციურ მახასიათებლებზე, აისახება კლინიკურ გამოვლინებებზეც – ქიმიოპრეპერატების მიმართ მგრძნობელობაზე, რემისიების სიხშირესა და სიცოცხლის ხანგრძლივობაზე. ჩვენი დაკვირვებებით უფრო ხანგრძლივად ცოცხლობენ ავადმყოფები M1, Pre-Pre BALL(common) და შედარებით

ნაკლები სიცოცხლის ხანგრძლივობით ხასიათდებიან M6, M3, BALL-მწიფე უჯრედული, Pre-BALL და M2 ქვევარიანტებით დაავადებულები და ძალიან მალე იღუპებიან M4, M5, Pro-BALL და T-ALL (მიელოიდური ანტიგენების თანაექსპრესიით) ფორმების დროს. Pre-Pre BALL(common) ქვევარიანტი ჩვენი შედეგებით ხასიათდებოდა შედარებით კარგი მიმდინარეობით, რაც ემთხვევა Волкова А.И. (2001), Воробьёв А.И. (2002) მონაცემებს, რომლებიც Pre-Pre BALL(common) ქვევარიანტს მიაკუთვნებენ კარგ პროგნოზულ ჯგუფს. ასევე Hoelzer D, Thiel E et al., (1988) მოსაზრებით Pre-Pre BALL(common) ქვევარიანტი ბავშვთა მწვავე ლეიკემიების დროს მიეკუთვნება კარგ პროგნოზულ ჯგუფს, ხოლო მოზრდილებში _ საშუალო პროგნოზულ ჯგუფს. რაც შეეხება Pro-BALL და BALL-მწიფე უჯრედული ქვევარიანტებს, აქ ყველა ავტორის მოსაზრება ერთნაირია და ამ ქვევარიანტებს მიეკუთვნებენ მაღალი რისკის ჯგუფს [93,15,17], რაც დადასტურებულ იქნა ჩვენს მასალაზეც.

მწვავე T _ ლიმფოიდური ლეიკემიები მოზრდილებში, ბევრი ავტორის მოსაზრებით [93,15,17] ხასიათდება შედარებით კარგი მიმდინარეობით, თუმცა ჩვენს მიერ აღწერილ T-ALL-ის ერთ შემთხვევაში აღინიშნებოდა T ლიმფოიდურ ანტიგენებთან ერთად მიელოიდური ანტიგენების თანაექსპრესია, რაც წარმოადგენს ცუდ პროგნოზულ მაჩვენებელს, რასაც აღნიშნავენ სხვა ავტორებიც [43,17]. Boldt D.H, Kopecky K.J et al., (1994) მონაცემებით: ავადმყოფთა გადარჩენადობა მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების დროს მიელოიდური ანტიგენების თანაექსპრესიით ძალიან დაბალია.

ამგვარად, ჩვენს მიერ გამოვლენილ იქნა გაკვეული დამოკიდებულება მწვავე არალიმფოიდური და ლიმფოიდური ლეიკემიების ციტოლოგიურ და იმუნოლოგიურ ქვევარიანტებსა და ავადმყოფთა სიცოცხლის ხანგრძლივობას შორის, რაც მიუთითებს მწვავე ლეიკემიების დროს აღნიშნული ქვევარიანტების გამოყოფის აუცილებლობაზე დაავადების მიმდინარეობის პროგნოზირების მიზნით.

ჩვენი მასალის დამუშავების შედეგად აღმოჩნდა, რომ გარდა ციტოლოგიური და იმუნოლოგიური არაერთგვაროვნებისა, მწვავე ლეიკემიები ხასიათდება ძვლის ტვინის უჯრედების პროლიფერაციისა და დიფერენციაციის მნიშვნელოვანი დარღვევებით. მწვავე ლეიკემიების დროს შემცირებულია ძვლის ტვინის მიტოზური

აქტივობა, ამასთანავე, ANLL -ის დროს ს.მ.ი ~2-ჯერ მეტია ALL-თან შედარებით, მაგრამ მნიშვნელოვნად დაბალია ნორმაზე. ს.მ.ი-ის შემცირება ძირითადად განპირობებულია წითელი რიგის მიტოზების შემცირებით ან არარსებობით, თუმცა ALL-ის დროს წ.ს.მ.ი ~5-ჯერ ნაკლებია ANLL-თან შედარებით, რაც ემთხვევა სხვა ავტორთა მონაცემებსაც [18,7] მიტოგრამების ანალიზის შედეგად მწვავე ლეიკემიების ვარიანტებს შორის არ გამოვლინდა სარწმუნო განსხვავებები. თუმცა ორივე ვარიანტის დროს აღინიშნება პროფაზების რაოდენობის შემცირება, ხოლო მეტაფაზები სარწმუნოდ მაღალია ნორმასთან შედარებით და შეადგენს მიტოზის ყველა ფაზის 70-80%-ს, რაც ფასდება, როგორც მიტოზის დაყოვნება მეტაფაზის სტადიაზე.

მწვავე ლეიკემიების დროს გარდა მიტოზების რაოდენობრივი ცვლილებებისა აღინიშნება მათი ხარისხობრივი ცვლილებებიც, რაც ვლინდება პათოლოგიური მიტოზების სხვადასხვა ფორმების არსებობით.

ANLL-ის დროს გარდა მეტაფაზური დაყოვნებისა აღინიშნება 1)ქრომოსომების ან მათი ფრაგმენტების ჩამორჩენა მეტაფაზაში, 2)ქრომოსომების ან მათი ფრაგმენტების გაფანტვა, 3)ხიდები, 4)სამჯგუფიანი მეტაფაზა 5)მრავალპოლუსიანი მიტოზი 6)მონოცენტრული მიტოზი, 7)ღრუ მეტაფაზა, 8)ასიმეტრიული მიტოზი. ALL-ის დროს პათოლოგიური მიტოზი გვხვდება იშვიათად და ის არ გამოირჩევა დიდი მრავალფეროვნებით. აღინიშნება მხოლოდ 1)მეტაფაზური დაყოვნება, 2)ქრომოსომების ან მათი ფრაგმენტების გაფანტვა მეტაფაზაში, 3)ღრუ მეტაფაზა, 4)კოლხიცინური მიტოზი (K-მიტოზი). მწვავე ლეიკემიების დროს განსაზღვრული ადგილი უჭირავს უჯრედთა ამიტოზურ გაყოფასაც, განსაკუთრებით ANLL-ის დროს.

ჩვენი მონაცემები მიტოზის პათოლოგიური ფორმების შესახებ, ძირითადად ემთხვევა რ. აბდუშელიშვილის მიერ (1983) აღწერილ ფორმებს მწვავე ლეიკემიების დროს, ხოლო ი.ა. ალოვისა (1972) და ი.ა. კაზანცევას მიერ (1981) _ სიმსივნეების დროს.

მწვავე ლეიკემიებით დაავადებულებში არაკეთილსაიმედო პროგნოზული ფაქტორების გამოსავლენად მოვახდინეთ მათი დაყოფა ასაკის, სქესის, ლეიკოციტების ($<30\times10^9$/ლ და $>30\times10^9$/ლ), Ki67 ანტიგენის (Ki 67<25% და Ki67>25%) რაოდენობისა და სიცოცხლის ხანგრძლივობის მიხედვით. Ki 67 ანტიგენის ექსპრესია ALL-ის დროს ~2-

ჯერ მეტია ANLL-თან შედარებით, რაც ემთხვევა Ito M, Tsurusawa M, Kavai S (1995) მონაცემებს.

Ki 67 ანტიგენის ექსპრესია იყო დაბალი M1, M2, M3 და შედარებით მაღალი – M4, M6 ქვევარიანტების დროს. Visani G. Ottoviani E (1997), Xiaoping Sun, Jeffrey Medeiros (2003), აღნიშნავენ, რომ ANLL-ის M4 და M6 ქვევარიანტის დროს პროლიფერაციული აქტივობა მაღალია, რაც აღინიშნა ჩვენს მასალაზეც. Ki 67 ანტიგენის მინიმალური ექსპრესია აღინიშნა M2 _ 2,0% და მაქსიმალური – Pro-BALL _ 78% და TALL – 64% ქვევარიანტების დროს. ALL-ის ყველა ქვევარიანტის დროს უმეტესად აღინიშნება ძვლის ტვინის პროლიფერაციული აქტივობის მომატება. Ki 67 ანტიგენის მაღალი ექსპრესია შეესაბამებოდა დაავადების რეზისტენტულ ფორმებს და ხანმოკლე სიცოცხლეს.

Ki 67 ანტიგენის ექსპრესიისა და მიტოზური რეჟიმების მაჩვენებლები მწვავე არალიმფოიდური და მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების დროს ყოველთვის არ ემთხვევა ერთმანეთს და ზოგჯერ ურთიერთსაწინააღმდეგოა. მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების დროს Ki67 ანტიგენით განსაზღვრული პროლიფერაციული აქტივობა ~2-ჯერ მეტია მწვავე არალიმფოიდურ ლეიკემიებთან შედარებით, და პირიქით, საერთო მიტოზური ინდექსები მწვავე არალიმფოიდურ ლეიკემიების დროს ~2-ჯერ მეტია მწვავე ლიმფოიდურ ლეიკემიებთან შედარებით, მაგრამ მნიშვნელოვნად დაბალია ნორმაზე.

მთელი რიგი ავტორებისა აღნიშნავს, რომ Ki 67 ანტიგენის ექსპრესია S _ ფაზის პროპორციულია, ხოლო ANLL drდროს Ki 67 ანტიგენის ექსპრესიასა და S-ფაზის ფრაქციას შორის აღინიშნება სხვაობა [96,143]. ე.ი Ki 67 ანტიგენის მაღალი მაჩვენებლები ALL-ის დროს შეესაბამება S-ფაზაში მყოფი უჯრედების მაღალ რიცხვს, რის გამოც, შესაბამისად, მიტოზის ფაზაში მყოფი უჯრედები ცოტაა. ალბათ, ამით უნდა იყოს განპირობებული მიტოზური ინდექსების დაბალი მაჩვენებლები ALL-ის დროს.

ჩატარებული შრომის საფუძველზე ნათელი გახდა, რომ ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის შესწავლა ანტიგენ Ki 67-ის ექსპრესიის მიხედვით ზევრად უფრო ინფორმატიულია მიტოზური რეჟიმების სხვა პარამეტრებთან შედარებით, რაც შეიძლება აიხსნას იმით, რომ მიტოზური ინდექსები ასახავს მხოლოდ

უჯრედის გაყოფის პერიოდს, ხოლო ანტიგენ Ki 67-ის ექსპრესია მთელ უჯრედულ ციკლს.

ამრიგად, ჩატარებული შრომის საფუძველზე, შეიძლება დავასკვნათ, რომ ლეიკემიური უჯრედები ხასიათდებიან პროლიფერაციული და მიტოზური აქტივობის არაერთგვაროვნებით. რასაც აღნიშნავენ სხვა ავტორებიც [7,14,20,99]. ზოგიერთ შემთხვევაში მიტოზური და პროლიფერაციული აქტივობა მომატებულია, ზოგჯერ უახლოვდება ნორმას, ხოლო სხვა შემთხვევებში შემცირებულია. მიტოზური ინდექსების, მიტოგრამების, მიტოზის ცალკეული ფაზების ხანგრძლივობის, ასევე მთლიანად უჯრედული ციკლის პროლიფერაციული აქტივობის შესწავლით ნათელი გახდა, რომ მწვავე ლეიკემიების ზოგიერთ შემთხვევაში მიღებული მიტოზური და პროლიფერაციული აქტივობის ნორმალური რიცხობრივი მაჩვენებლები არ შეიძლება ჩაითვალოს ნორმად, რადგანაც ადგილი აქვს მიტოზის გამოხატულ ხარისხობრივ ცვლილებებს. აქედან გამომდინარე, ჩვენი აზრით, მწვავე ლეიკემიების დროს მსჯელობა ნორმალურ პროლიფერაციაზე არამართებულია.

ლეიკემიური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის შედარებამ კლინიკურ მიმდინარეობასა და პროგნოზთან გვიჩვენა, რომ როგორც რემისიების რაოდენობა და ხანგრძლივობა, ასევე სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობა უფრო მაღალი იყო ავადმყოფების იმ ჯგუფში, რომელთაც აღენიშნებოდათ Ki 67 ანტიგენის შედარებით დაბალი ექსპრესია (Ki 67<25%). Ki 67 ანტიგენის მაღალი აქტივობისას (Ki 67>25%), სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობა და გადარჩენადობის მედიანა იყო დაბალი როგორც ANLL, ასევე ALL-ის დროს.

ჩვენს მასალაზე დადასტურებულ იქნა მწვავე ლეიკემიების მნიშვნელოვანი რისკ ფაქტორის _ ლეიკოციტების ინიციალური რაოდენობის მნიშვნელობა დაავადების მიმდინარეობაში. ავადმყოფთა გადარჩენადობის ანალიზის შესწავლისას ლეიკოციტების რაოდენობის მიხედვით აღმოჩნდა, რომ იმ შემთხვევებში, როდესაც ლეიკოციტების რაოდენობა $<30\times10^9$/ლ-ზე, გადარჩენადობის მედიანა მეტია, ვიდრე $>30\times10^9$/ლ.

მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიები უფრო ხშირად მიმდინარეობს ლეიკოციტოზის Fფონზე, ხოლო ANLL-ის დროს ლეიკოციტების საშუალო მაჩვენებელი

უფრო დაბალია. არსებობს უკუპროპორციული დამოკიდებულება ჰემოგრამაში ლეიკოციტების საწყის რაოდენობასა და რემისიის ხანგრძლივობას შორის. ლეიკოციტების საწყისი რაოდენობა $\geq 100 \times 10^9$/ლ, წარმოადგენს ცუდ პროგნოზულ ფაქტორს მწვავე ლიმფოიდური ლეიკემიების მიმდინარეობაში. ჩვენს შემთხვევაში ის ასოცირდებოდა ხანმოკლე სიცოცხლესთან. ავადმყოფთა მკურნალობის შედეგები ლეიკოციტების საწყისი რაოდენობის $\geq 100 \times 10^9$/ლ დროს პესიმისტურია, რაზედაც მიუთითებს აგრეთვე Воробьёв А.И (2002).

ავადმყოფთა განაწილებით რისკ _ ფაქტორების მიხედვით შესაძლებელი გახდა გამოგვეთვალა ფარდობითი რისკი, რის შედეგადაც დადგინდა, რომ Ki 67 ანტიგენის მაღალი ექსპრესია და მაღალი ლეკოცოტოზი მწვავე ლეიკემიების სხვადასხვა ვარიანტებისა და ქვევარიანტების დროს წარმოადგენს მაღალ რისკ _ ფაქტორს.

ზემოთაღნიშნულიდან ნათელი გახდა, რომ ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის მარკერის _ Ki 67 ანტიგენის ექსპრესია შეიძლება ჩაითვალოს მწვავე ლეიკემიების მიმდინარეობის, პროგნოზისა და ავადმყოფის მგრძნობელობის განმსაზღვრელ მნიშვნელოვან კრიტერიუმად, როგორც დამოუკიდებელი, ასევე დამატებითი პროგნოზული ფაქტორის სახით სხვა რისკ _ ფაქტორებთან ასოციაციაში.

ამგვარად, მწვავე ლეიკემიების სხვადასხვა ვარიანტებისა და ქვევარიანტების კლინიკური მიმდინარეობის შესწავლით ნათელი გახდა, რომ მათ შორის სხვაობა გარკვეულწილად განპირობებულია ლეიკემიური უჯრედების კინეტიკური თავისებურებებით. მწვავე ლეიკემიების დროს გამოვლინდა ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის ღრმა დარღვევები, რაც მნიშვნელოვან ზეგავლენას ახდენს დაავადების მიმდინარეობასა და ჩატარებული ციტოსტატიკური მკურნალობის ეფექტურობაზე.

ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის კომპლექსურმა შესწავლამ გვიჩვენა, რომ მწვავე ლეიკემიების თითოეული ვარიანტისა და ქვევარიანტებისათვის დამახასიათებელია მიტოზური რეჟიმისა და Ki 67 ანტიგენის განსხვავებული მაჩვენებლები, რომლებიც ზეგავლენას ახდენენ დაავადების

მიმდინარეობასა და პროგნოზზე. ლეიკემიური უჯრედების სხვადასხვა კინეტიკური მაჩვენებლის შედარებით დავადგინეთ ანტიგენ Ki 67-ის, როგორც უნივერსალური პროლიფერაციული მარკერის განსაზღვრის უპირატესობა. მწვავე ლეიკემიების დროს ანტიგენ Ki 67-ის მაჩვენებელი წარმოადგენს დამოუკიდებელ პროგნოზულ ფაქტორს და აღნიშნული მარკერის ექსპრესიის მიხედვით შესაძლებელია დაავადების საწყის ეტაპზევე სტანდარტული თერაპიის არაეფექტურობის პროგნოზირება და ინიციალურად ოპტიმალური, ინტენსიფიცირებული რეჟიმების დროულად გამოყენება.

დ ა ს კ ვ ნ ე ბ ი :

1. მწვავე ლეიკემიების დროს გამოვლინდა ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის ღრმა დარღვევები, რაც მნიშვნელოვან ზეგავლენას ახდენს დაავადების მიმდინარეობასა და ჩატარებული ციტოსტატიკური მკურნალობის ეფექტურობაზე
2. ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის კომპლექსური შესწავლის საფუძველზე ძვლის ტვინის უჯრედების მიტოზური რეჟიმისა (მიტოზური ინდექსები, მიტოგრამები, მიტოზების მორფოლოგია) და ანტიგენ Ki 67-ის განსაზღვრის საშუალებით დადგენილია მწვავე ლეიკემიების თითოეული ვარიანტისა და ქვევარიანტებისათვის დამახასიათებელი კინეტიკური პარამეტრები.
3. ლეიკემიური უჯრედების სხვადასხვა კინეტიკური მაჩვენებლის შედარებითი ანალიზის საფუძველზე დადგენილია ანტიგენ Ki 67-ის, როგორც უნივერსალური პროლიფერაციული მარკერის განსაზღვრის უპირატესობა.
4. მწვავე ლეიკემიების დროს დაფიქსირდა კორელაციური კავშირი Ki 67 ანტიგენის ექსპრესიასა და დაავადების მიმდინარეობას შორის: ანტიგენის დაბალი ექსპრესია შეესაბამება დაავადების შედარებით კეთილსაიმედო მიმდინარეობას, ხოლო Ki 67-ის მაღალი ექსპრესია ასოცირდება დაბალ საერთო გადარჩენადობასთან, გადარჩენის მედიანასა და სიცოცხლის დაბალ ხანგრძლივობასთან – შესაბამისად წარმოადგენს არაკეთილსაიმედო პროგნოზულ ფაქტორს.

5. ანტიგენ Ki 67-ის ექსპრესიის მაჩვენებელი, როგორც წესი, თანხვდება მწვავე ლეიკემიების სხვა პროგნოზულ ფაქტორებს: ასაკი, ლეიკოციტების ინიციალური რაოდენობა, ქიმიოპრეპარატების მიმართ რეზისტენტობა.
6. მწვავე ლეიკემიების დროს ანტიგენ Ki 67-ის მაჩვენებელი წარმოადგენს დამოუკიდებელ პროგნოზულ ფაქტორს და აღნიშნული მარკერის ექსპრესიის მიხედვით შესაძლებელია დაავადების საწყის ეტაპზევე სტანდარტული თერაპიის არაეფექტურობის პროგნოზირება და ინიციალურად ოპტიმალური, ინტენსიფიცირებული რეჟიმების დროულად გამოყენება.
7. ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის მაჩვენებლების მიხედვით სხვა პროგნოზულ ფაქტორებთან ერთად მკურნალობის ტაქტიკის დროული შეცვლა დაავადებების ინიციალურ ეტაპზე წარმოადგენს ერთ-ერთ რეალურ გზას მწვავე ლეიკემიების მკურნალობის ეფექტურობის ასამაღლებლად.

პრაქტიკული რეკომენდაციები:

1. მწვავე ლეიკემიით დაავადებულ ავადმყოფებში მიზანშეწონილია ბლასტური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის შესწავლა დაავადების მიმდინარეობისა და სავარაუდო პროგნოზის დადგენის მიზნით.
2. რეკომენდებულია ანტიგენ Ki 67-ის განსაზღვრის უპირატესობა, როგორც პრაქტიკული თვალსაზრისით ერთ-ერთი მოსახერხებელი, მაღალ-ინფორმაციული და უნივერსალური პროლიფერაციული მარკერისა, რომელიც მწვავე ლეიკემიების სარწმუნო პროგნოზულ ფაქტორს წარმოადგენს.
3. ანტიგენ Ki 67-ის ექსპრესიის შეფასება საშუალებას გვაძლევს ჭეშმარიტების მაღალი ხარისხით ვიწინასწარმეტყველოთ მწვავე ლეიკემიების მიმდინარეობის სიმძიმე და პროგნოზი, რის საფუძველზეც მიზანშეწონილად მიგვაჩნია აღნიშნული მარკერის მიხედვით დაავადების საწყის ეტაპზევე განისაზღვროს მკურნალობის სწორი ტაქტიკა.

გამოყენებული ლიტერატურის სია

1. ბურკაძე გ. იმუნომორფოლოგია (ნორმა, პათოლოგია) 2001წ. გვ. 92.
2. ბურკაძე გ. ტურაშვილი გ. ზოგადი პათოლოგიის საფუძვლები (ჰისტოპატოლოგია, ციტოპათოლოგია, მოლეკულური ბიოლოგია) 2005წ. გვ. 12.
3. დათიკაშვილი_დავიდი ი. აპოპტოზის როლი ლიმფოპროლიფერაციული დაავადებათა პროგნოზსა და ქიმიოთერაპიისადმი მგრძნობელობის შეფასებაში. საკანდიდატო დისერტაცია 2006წ თბილისი.
4. კულიკოვა ნ. სპონტანური და ინდუცირებული აპოპტოზი B-ქრონიკული ლიმფოციტური ლეიკემიის უჯრედებში. საკანდიდატო დისერტაცია 2003წ თბილისი.
5. მჭედლიშვილი მ. იმუნოჰისტოქიმიური მარკერების მნიშვნელობა ძუძუს კიბოს ავთვისებიანობის განსაზღვრაში. საკანდიდატო დისერტაცია 2006წ თბილისი.
6. რუხაძე რ. ჰისტოლოგია 2003წ. გვ. 59.
7. Абдушелишвили Р.Г. Цитоморфология клеток и патология митоза при остром лейкозе и предлейкозных состояниях. 1983; 64-87.
8. Алов И. А. Цитофизиология и патология митоза. М., 1972.
9. Винделов Л., Христенсен И. Проточный цитометрический анализ ДНК и его применение в клинической и эксрериментальной онкологии//*Гематология и трансфузиология.* 1994; 6:8-12.
10. Владимирская Е.Б, В кн.: Острые лейкозы и гипоплазии кроветворения у детей. *Медицина* 1985: 112-32
11. Владимирская Е.Б, Румянцев А.Г, 1991. ციტირებულია Окороков А.Н.-ის მიერ. *Диагностика болезней внутренных органов.* 2001; 211.
12. Владимирская Е.Б, Масчан А.А, Румянцев А.Г. 1997 ციტირებულია Окороков А.Н.-ის მიერ. *Диагностика болезней внутренных органов.* 2001; 209-213.
13. Владимирская Е.Б. Астрелина Т.А. Осипова Е.Ю, Сторожаков Г.И. Румянцев С.А. Экспрессия белков PRB И E2F1 в лейкемических клетках при острых лейкозах у детей. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии.* 2002; 1: 2,85.
14. Владимирская Е.Б. Кинетическая тактика противоопухолевой терапии. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии.* Москва. 2003; 2: 3, 7-11.
15. Волкова А.И. Клиническая Онкогематология., 2001. 156-170.

16. Воробьёв А.И. Худолеева О.А Рошупкина Т.Д, Грецов Е.М. Имунофенотипирование опухолей системы крови и лимфатических опухолей. *Гематол. и трансфузиол.,* 2005; 50: 3, 8-14.
17. Воробьёв А.И. Руководство по гематологии. 2003; 1: 147-148.
18. Жаринов В.С. Наседкина Т.Б, Исаева Е.А, Мирзабеков А.Д, Карачунский А.И. Использование мультиплексной ПЦР и гибридизации на олигонуклеотидных микрочипах в генодиагностике лейкозов. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии.* 2002; 1: 2, 79.
19. Исаева Е.А, Жаринов Б.С. Наседкина Т.В, Карачунский А.И. Анализ результатов терапии в зависимости от наличия различных хромосомных оберации у детей с острым лимфобластным лейкозом. *Вопросы гематологии//онкологии и иммунопатологии в педиатрии.* 2002; 1: 2,81.
20. Казанцева И.А. Патология митоза в опухолах человека. 1981;11-22.
21. Квезерели–Копадзе М.А. Фазоконтрастная микроскопия морфологических особенностей и митотической активности бластных клеток при острых лейкозах. Дисс.канд., 1978, Тбилиси.
22. Крокер Д.Ж . Показатели клеточной пролиферации при злокачественных лимфомах с особым рассмотрением ядрышко-образующих раионов. *Гематол. и трансфузиол.* 1994; 39: 6, 12-18.
23. Лысюк Е.Ю, Полосухина Е.Р, Иншаков А.И, Бялик Т.Е, Волкова М.А и др. Экспрессия Bcl-2, Bax и CD95 на субпопуляциях В-клеток при ряде лимфопролиферативных заболевании. *Вопросы гематологии//онкологии и иммунопатологии в педиатрии.* 2002; 1: 2,76-104.
24. Малешко А.Н, Потапнев М.П, Савицкая Т.В. Выявление реаранжировки генов иммуноглобулинов т Т-клеточного рецептора в опухолевых клетках для характеристики моноклональной природы острых лимфобластных лейкозов у детей. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии.* 2002; 1: 2,85.
25. Мухина М.С, Т. А. Шацева. Течение и прогноз неходжкинских лимфом в зависимости от уровня антигена Ki 67 в лимфатических узлах. *Диагностика и лечение лимфом. Материалы Российско-Голандской конференции 13-14 сентября* 2001; 297-298.
26. Никитин В.Ю, Цыган В.И, Долгополова Е. Проточная цитометрия в диагностике лимфопролиферативных заболевании. *Диагностика и лечение лимфом.* 2001; 151-173.

27. Савва Н.Н, Савицкий В.П, Буглова С.Е. Алейникова О.В. Характеристика спонтанного апоптоза мононуклеаров костного мозга при миелодиспластических синдромах у детей. *Вопросы гематологии/ онкологии и иммуннопатологии в педиатрии* 2003; 2: 44-46
28. Сергеев А.Г, Иванов Р.А. Генодиагностика лейкозов. Екатеринбург: УГМЛ; 1998;
29. Федоров А.Б, Рыков И.В. Молекулярно-генетические маркеры в диагностике злокачественных лимфом. *Диагностика и лечение лимфом. Материалы Российско-Голандской конференции 13-14 сентября* 2001; 127-150.
30. Шацева Т.А. Калишун С.А Мухина М.С 2001 Прогностическое значение определения белка Р 53 при неходжкинских лимфомах. Диагностика и лечение лимфом. *Материалы Российско-Голандской конференции 13-14 сентября* 2001; 334-335
31. Шмаров Д.А. Кучма Ю.М., Козинец Г.И. Проточная цитометрия в определении ДНК-анеуплоидии у больных острыми лейкозами//*Терапевический Архив* 1997;7:17-2.
32. Adida C, Haioun C, Gaulard P et al. Prognostic significance of survivin expression in diffuse large B- cell lymphomas. *Blood* 2000; 96;1921-1925.
33. Adida-Adida C, Berrebi D. Paichmaur M et al. Anti-apoptosis gene survivin, and prognosis of neuroblastoma. *Lancet* 1998; 351:882-883.
34. Alexandrakis M.G, Passam E. H. Dambaki C, Pappa CA and Stathopoulos EN. the reletion between bone marrow angiogenesis and the proliferation index Ki67 in multiple myeloma. *J. Clin. Pathol.* 2004; 57:856-860.
35. Altieri DS. Marchisio PC. Survivin apoptosis: an inter-loper between cell death and cell proliferation in cancer. *Lab Invest* 1999; 79:1327-1333.
36. Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nat Med* 1997; 3:917-921.
37. Andersen MH, Pederson LO, Becker JC, Straten PT. Identification of a cytotoxic T lymphocyte response to the apoptosis inhibitor protein survivin in cancer patients. *Cancer Res* 2001; 61:869-872.
38. Ansari B, DoverR, Gillmore CP, Hall PA. Expression of the nuclear membrane protein statin in cycling cell. *J Pathol* 1993; 169:391-6.
39. Astaldi G., Mauri C. La valutazione dell' attivita proliferative delle cellule midollari studio di un „test statmocinetico“. *Hematologica.* 1949;33:5,583-626.
40. Astaldi G., Mauri C. New criteria for the evaluation of the bone marrow cells mitotic activity. *Sang.* 1950; 21: 4, 378-382.

41. Ball LM, Pope J, Howard CV, Eccles P, van Velzen D. PCNA Ki 67 dissociation in childhood acute lymphoblastic leukemia. An immunofluorescent laser confocal scaning microscopical study. *Cell Biol Int.* 1994; Sep; 18(9): 869-74.
42. Barbareschi M, Girlando S, Mauri FA et al. Tumor supressor gene products, proliferation, and differentiation markers in lung neuroendocrine neoplasms. *J Pathol.* 1992; 166: 343-350.
43. Boldt D.H., Kapecky K.J., Head D. et al. Leukemia. 1994; 8:12. 2118-2126.
44. Borre M, Bentzen SM, Nerstrom B, Overgaard J. Tumor cell proliferation and survival in patients with prostate cancer followed expectantly. *J Urol.* 1998; 159: 1609-14.
45. Bowen I.D., Bowen S.M., Jones A.H. Mitosis and apoptosis//*Matters of life and death.* London, Chapman and Hall, 1998.
46. Braun N., T. Papadopoulos, and H.K. Muller-Hermelink. Cell cycle dependent distribution of the proliferation associated Ki 67 antigen in human embryonic lung cells. *Virchows Arch. B.* 1988; 56: 25-33.
47. Bravo R, Frank R, Blundell PA, Macdonald-Bravo H. Cyclyn/PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase -δ . *Nature.* 1987; 326: 515-517.
48. Bravo R, Macdonald-Bravo H. Existence of two populations of cyclyn/proliferating cell nuclear antigen during the cell cycle; association with DNA replication sites. *J Cell Biol.* 1987; 105: 1549-1554.
49. Braylan R.G.,Diamond L.W., Powell M.L., Harty-Golder B. Percentage of cells in the S-phase of the cel.l cycle in human lymphoma determinated by flow cytometry: Correlation with labeling index and patients survival//*Cytometry*. 1980; 1: 171-174.
50. Brown D. C, Gatter K.C. Comparision of proliferation rates assesed using multiblock and conventional tissue bloks of lung carcinoma. *J. Clin. Pathol.* 1992; 45: 579-582.
51. Brown D.C., and Gatter K.C. Monoclonal antibody Ki 67: its use in histopathology. *Histopathology.* 1990; 17: 489-503.
52. Brown DC, Gatter KC, Mason DY. Proliferation in non-Hodgkin's lympoma: a comparision of Ki-67 staining on fine needle aspiration and cryostat sections. *J.Clin. Pathol.* 1990. 43: 325-328.
53. Bruno S., and Z. Danzynkiewicz. Cell cycle dependent expression and stability of the nuclear protein detected by Ki-67 antibody in HL-60 cells. *Cell Prolif.* 1992; 25: 31-40.

54. Carey FA, Fabbroni G, Lamb D. Expression of proliferating cell nuclear antigen in lung cancer: a systematic study and correlation with NDA ploidi. *Histopathology*. 1992; 20: 499-503.

55. Carter BZ, Mirella M, Altieri DC, Andersen M. Cytokine-regulated expression of survivin in myeloid leukemia. *Blood* 2001; 97: 2784-2790.

56. Ceballos E, Delgado MD, Gutierrez P et al. c-Myk antagonized the effect of p53 on apoptosis and p21WAF1 transactivation in K562 leukemia cells. *Oncogene* 2000; 19: 2194-2204.

57. Celis JE, Bravo R, Larsen PM, Fey FT. Cyclin: a nuclear protein whose level correlates directly with the proliferative state of normal as well transformed cells. *Leuk Res* 1984; 8: 143-7.

58. Celis JE, Celis A. Cell cycle-dependent variations in the distribution of the nuclear protein cyclin proliferating cell nuclear antigen in cultured cells: subdivision of S Phase. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1985; 82: 3262-3266.

59. Chau BN, Cheng EHY, Kerr DA, Hardwick JM. Aven, a novel inhibitor of caspase activation, binds Bcl-x(L) and Apaf-1. *Mol Cell* 2000; 6:31-40.

60. Chen Z, Naito M, Hori S et al. A human IAP-family gene, apollon, expressed in human brain cancer cells. *Bichem Biophys Res Commun* 1999; 264:847-854.

61. Coltrera MD, Gown AM. PCNA/cyclyn expression and BrdU uptake define different subpopulations in different cell lines. *J Histochem.* 1991; 39: 23-30.

62. Cross M, Dexter TM. Growth factors in development, transformation, and tumorogenesis. *Cell* 1991; 64:271-280.

63. Crook NE, Clem RJ, Miller LK. An apoptosis - inhibiting baculovirus gene with a zinc finger-like motif. *J virol* 1993; 67: 2168-2174.

64. DeGregori J., et al. *Genes Dev* 1995; 9: 2873-87.

65. Del Giglio A, Drach J, Kornblau SM, Panel S, Novaes M, Khetan R, Sawaya N, Dorlhiac-Llacer P, chamone Df, Andreef M et al. Quantitive expression of proliferating cell nuclear antigen by western blot (PCNA WB) in peripherial blasts correlates with remission induction in patients with acute myelogenous leukemia. *Leuk Lymphoma* 1995; Oct; 19(3-4): 235-41.

66. Derenzini M, Pession A, Farabegoli F, Badiali M, Dehan P. Ralationship between interphasic nuclear arganizer regions and growth rate in two neuroblastoma cell lines. *Am J Pathol*. 1989; 134: 925-932.

67. Donhuijsen K. Mitotic counts: reproducibility and significance in grading of malignancy. *Hum Pathol*. 1986; 17:1122-1125.

68. Drah J, Gattringer H. Classl H et al. The biological and clinical significance of the Ki 67 growth fraction in multiple myeloma. *Hematol. onkol*. 1992; 10: 125-34.
69. du Manoir S, P Guillaud, E. Camus D. Seigneurin, and G. Brugal. Ki-67 labeling in postmitotic cells defines different Ki-67 pathways within the 2c compartment. *Cytometry*. 1991; 12: 455-463.
70. Dubey DB, Staunton DE, Parekh AC, et al. Unique proliferation-assosiated marker expressed on activated and transformed human cells defined by monoclonal antibody. *J Natl Cancer Inst*. 1987; 78: 203-212.
71. Duckett CS, Nava VE, Gedrich RW et al. A conservative family of cellularvgenes related to the baculovirus IAP gene and encoding apoptosis inhibitors. *EMBO J* 1996; 15: 2685-2694.
72. Engstrom Y. Monoclonal antibodies against mammalian ribonucleotide reductase. *Acta Chem Scand*. 1982; 36: 343-344.
73. Feuerstein N, Spiegel S, Mond JJ. The nuclear matrix protein, numatrin (B23), is associated with growth factor-induced mitogenesis in Swiss 3T3 fibroblasts and with T lymphocyte proliferation stimulated by lectins and anti -T cell antigen receptor antibody. *J Cell Biol* 1988; 107: 1629-1642.
74. Firpo E., Koff A. *Mol cell Biol* 1994; 14: 4889-91.
75. Francis SE, Holt CM, Gadsdon PA, Taylor T, Angelini GD. Another cautionary note of the use of PCNA. *J Pathol*. 1992; 166:418.
76. Garter BZ, Milella M, Altieri Dc, Andreef M. Cytokine-regulated expression survivin in myeloid leukemia. *Blood* 2001; 97:2784-2790.
77. Gerdes J, Li L, Schlueter C, et al. Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki 67. *Am J Pathol*. 1991; 138: 867-873.
78. Gerdes J., Lemke H, et al., Cell cycle analysis of a cell proliferation-assiciated human nuclear antigen defined by monoclonal antibody Ki-67. *J. Immunol*. 1984 133: 1710-1715
79. Gerdes J., U. Schwab, Lemke, and H. Stein. 1983. Production of a mouse monoclonal antibody reactive a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int. J. Cancer*. 1983; 31: 13-20.
80. Goodson WH 3rd, et al. The functional relationship between in vivo bromodeoxyuridine labeling index and Ki-67 proliferation index in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1998 May;49(20):155-164.

81. Goodson WH 3rd, Moore DH 2nd, Ljung BM et al. The prognostic value of proliferation indices: a study with in vivo bromodeoxyuridine and Ki-67. *Breast Cancer. Res. Treat*. 2000 Jan; 59(2): 113-23.
82. Granziero L, Ghia P, Circosta P et al. Survivin in expressed on CD 40 stimulation and interfaces proliferation and apoptosis in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2001; 97: 2777-2783.
83. Grossman D, McNiff JM, Li F, Altieri DC. expression and targeting of the apoptosis inhibitor, survivin, in human melanoma. *J Invest Dermatol* 1999; 113:1076-1081.
84. Guo M,Bruce AH. Cell proliferation and apoptosis. *Cur Opin Cell Biol* 1999; 11:745-752.
85. Hall PA, Levison DA, Woods AL, et al. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunolocalization in paraffin section; an index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms. *J Pathol*. 1990; 162: 285-294.
86. Hall,P.A., P.H. McKee, H. du P. Menage, R. Dover, and D.P. Lone. High levels of p53 protein in UV irradiated normal human skin. *Oncogene.* 1993; 8: 203-207.
87. Han K, Kahng J, Kim M, Lim J, Kim Y, Cho B, Kim HK, Min WS, et al. Expression of functional markers in acute nonlymphoblastic leukemia. *Acta Hematol.* 2001; 104(4): 174-80.
88. Herry MJ, Stanly WM, Swenson B, Connolly JE, Bates H. Cytologic assessment of tumor cell kinetics: application of monoclonal antibody Ki 67 to fine-needle aspiration smears. *Diagn Cytopathol*. 1991; 7: 591-596.
89. Heri M, Gionni J, La lanne CM, Namer M, Courdi A. The DNA labeling index: a prognostic factor in node negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1987; 9: 207-211.
90. Herman J., Civin C., Issa J. *Cancer Res* 1997: 57: 837-41
91. Hirama T, Koeffler HP. Role of hte cyclin - dependent kinase inhibitirs in the development of cancer. *Blood* 1995; 86: 841-54.
92. Hirama T., Akashi M., Koeffler H. EHA, *Educational book* 2000; 146-51.
93. Hoelzer D., Thiel E., Loeffler H. et al. Blood 1988; 71: 123-135.
94. Holt PR, et al. Is Ki-67 a better marker in colon thet PCNA? *Cancer Epid Biomarkers Prev* 1997 feb;6(2):131-35].
95. Hu X., Zuckerman K. *Leukemia and Lymphoma* 2000; 38: 235-46.
96. Huutanen RL, Blomqvist CP, Wiklund TA, Bohling TO, Virolainen MJ, Tukiainen EJ, et al. Comparison of the Ki-67 score and S-phase fraction as prognostic variables in soft-tissue sarcoma. *Br J. Cancer* 1999; 79: 945-51.

97. Inoue T, Yamane T, Park K, Im T, Tatsumi N, Okuda K. Evaluation of proliferating cells in acute leukemia with antibodies to proliferating cell nuclear antigen and Ki 67 monoclonal antibodies. *Arch Pathol Med.* 1993 oct;117(10)
98. Islam A, Kagayama H, Takada N et al. High expression of survivin mapped to 17q25, is significantly associated with poor prognostic factors and promotes cell survival in human neuroblastoma. *Oncogene* 2000; 19:617-623.
99. Ito M, Tsurusawa M, Kavai S, Fujimoto T. Expression of a proliferation in childhood acute leukemia. *Rinsho Ketsueki*, 1995 Aug; 36(8), 713-9.
100. Ito M, Tsurusawa M, Zha Z, Kawai S, Takasaki Y, Fujimoto T. Cell proliferation in childehood acute leukemia. Comparison of Ki-67 and proliferating cell nuclear antigen immunocytochemical and DNA flow cytometric analysis. *Cancer.* 1992 Apr 15; 69(18): 2176-82.
101. Ito T, Shiraki K. Sugimoto K et al. Survivin promotes cell proliferation in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2000; 31: 1080-1085.
102. Jacobson, Burne, Roffe, 1994; ციტირებულია Окороков А.Н-ის მიერ *Диагностика болезней внутренных органов.* 2001; 210.
103. Kaaijk P, Kaspers GJ, Van Wering ER et al. Cell proliferation is related to in vitro drug resistance in childhood acute leukaemia. *Br J Cancer* 2003;88:775–781
104. Kamel OW, LeBrun DP, Davis RE, Berry GJ, Warnke RA. Growth fraction estimation of malignant lymphomas in formalin-fixed paraffin-embedded tissue using anti PCNA/cyclin 19A2: correlation with Ki 67 labeling. *Am Pathol.* 1991; 138: 1471-1477.
105. Kamerrow HN, Perchick A, Burstein DE. Immunocytochemical detection of cyclin, a proliferation-associated protein, in cytologic preparations. *Acta Cytol.* 1991; 35: 491-496.
106. Kamihira S, Yamada Y, Hirakata Y et al. Aberrant expression of caspase regulatory genes in adult T-cell leukemia: survivin is an important determinant for prognosis. *Br. J haematol* 2001; 114: 63-69.
107. Kanavaros P, Stefanaki K, Rontogianni D, Darivianaki K et al. Immunohistochemical detection of p53, mdm 2, waf1/p21, and Ki 67 proteins in bone marrow biopsies in myelodysplastic syndroms, acute myelogenous leukemias and chronic myeloproliferative disorders. *Clin Exp Pathol.* 1999; 47(5):
108. Kanavaros P, Stefanaki K, Vlachonikolis J et al. Expression of p53, p21/waf1, bcl-2, bax, rb and Ki 67 protein in Hodgkin's lymphomas. *Histol Histopathol.* 2000 Apr; 15(2):445-53.
109. Kaplan El, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observation. J *Am Stat Assoc.* 1958; 53: 457-481.

110. Kawasaki H, Altieri DC, Lu CD et al. Inhibition of apoptosis by survivin predicts shorter survival rates in colorectal cancer. *Cancer Res* 1998; 58:5071-5074.
111. Kei G, Kubbutat MH, Gerdes J. Assessment of cell proliferation by means of an enzyme-linked immunosorbent assay based on the detection of the Ki-67 protein. *J Immunol Methods* 1994;177:113-7.
112. Ko YG, Kang YS, Park H, et al. Apoptosis signal-regulating kinaze 1 controls the proapoptotic function of death-associated protein (DAXX) in the cytoplasm. *J Biol Chem* 2001; 276: 39103-39106.
113. Korkolopoulou P, Vassilopoulos I, Konstantinidou AE et al. The combined evaluation of p27Kip 1 and Ki-67 expression provides independent information on overall survival of ovarian carcinoma patients. *Gynecol. Oncol*. 2002; 85:404-414.
114. Koukoulis G, Rayner A, Tan K-C, Williams R, portman B. Immunolocalization of regenerating cells after submassive liver necrosis using PCNA staining. *J Pathol.* 1992;166: 359-368.
115. Kuenen-Buemeester V, van der Kwast TH, van Laarhoven HAJ, Henzen-logmans SC. Ki 67 staining in histological subtypes of breast carcinoma and fine needle aspiration smears. *J Clin Pathol*. 1991; 44: 208-210.
116. Lacombe F, Belloc F. Flow cytometry study of cell cycle, apoptosis and drug resistance in acute leukemia. *Hematol. Cell. Ther.* 1996; 39: 6,495-504.
117. Landberg G, Tan EM, Roos G. Flow cytometric multiparameter analysis of proliferating cell nuclear antigen/cyclin and Ki-67 antigen a new view of the cell cycle. *Exp Cell Res*. 1990; 187: 111-118.
118. Lee J.M., Bernstein A. *Proc. nat. Acad. Sci. USA.* 1993; 57:42-50
119. Leers MP, Theunissen PH, Raemaekers FC, and Schutte B. Multi-parameter flow cytometric analysis with detection of the Ki 67-Ag in paraffin embedded mammary carcinomas. *Cytometry* 1997; 27: 283-9.
120. Leonardi E, Girlando S, Serio G et al. PCNA and Ki 67 expression in breast carcinoma : correlations with clinical and biological variables. *J Clin Pathol*. 1992; 45:416-419.
121. Li F, Ambrosini G, Chu EY et al. Control of apoptosis and mitotic spindes checkpoint by survivin. *Nature* 1998; 396:580-584.
122. Liston P, Roy N, Tamai K et al. Suppression of apoptosis in mammalian cells by NAIP and a relayed family of IAP genes. *Nature* 1996; 379:349-353.

123. Lloyd RV, Wilson BS, Wilson BS, Varani J, Gaur PK, Moline S, Makari JG. Immunocytochemical characterization of a monoclonal antibody that recognized mitosing cells. *Am J Pathol*. 1985; 121:275-283.
124. Lloyd RV, Louis DN, Edgerston S, Thor AD, Hedley-White ET. proliferating cell nuclear antigen and Ki 67 immunohistochemistry in brain tumors: a comparative study. *Acta Neuropathol.(Berl*). 1991; 81: 675-679.
125. Lloyd RV., et al. *Am J Pathol* 1999; 154:313-23.
126. Locker A.P, K. Birrell, J.A bell et al., Ki-67 immunoreactivity in breast carcinoma: relationships to prognostic variables and short term survival. *Eur. J. Surgical Oncology.* 1992; 18: 224-229.
127. Luo R., Postigo A., Dean C. Cell 1998; 92: 463-73
128. MacLachlan T, et al., *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 1995; 5: 127-56
129. Markaki EA, Tsopanomichalou M, Dimitriou H et al. Mutations of retinoblastoma gene (Rb-1) as a prognostic factor in children with acute leukemia and neuroblastoma. *Pediatr Hematol Oncol* 2001;18:101–110.
130. Matsuoka S., et al. *Genes Dev* 1995; 9: 650-62.
131. Mauer A.M. *Hematologica* 1975; 60: 394-9.
132. Mekki Y, Catallo R, Bertrand Y et al. Enhanced expression of p16ink4a is associated with a poor prognosis in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 1999;13: 181–189.
133. Merchant S., Gonchoroff N., Hutchison R. Apoptotic index by Annexin V flow cytometry: adjunct to morfologic and cytogenetic diagnosis of myelodysplastic syndromes. *Cytometry* 2001; 46(1): 28-32.
134. Merkel DE, KcGuire WL. Ploidy, proliferative activity and prognosis: DNAflow cytometry of solid tumors. *Cancer*. 1990; 65: 1194-1205.
135. Min Y.H., Lee J.M. et al. *Brit. J. Haemat*. 1996; 93:928-930.
136. Morai R, Asanuma K, Kobayashi D et al. Quantitive analysis of the anti-apoptotic gene survivin expression in malignant hematopoetic cells. Anticancer Res 2001; 21: 595-600.
137. Morgan D. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1997; 13; 261-99.
138. Mori A, Wada H, Nishimura Y et al. Expression of the antiapoptosis gene survivin in human leukemia. *Int J Hematol* 2002; 75: 161-165.
139. Mori N, Yamada Y, Hata T et al. Expression of survivin in HTLV-I cell lines and primery ATL cells. *Biophys Res Commun* 2001; 282:1110-1113.
140. Morris GF, Mathews MB. Regulation of proliferating cell nuclear antigen during the cell cycle. *J Cell Biol* 1989; 264: 13856-13864.

141. Mulder AH, Hootegem JCSP, Sylvester R et al. Prognostic factors in bladder carcinoma: histologic parameters and expression of cell cycle-related nuclear antigen (Ki 67). *J Pathol.* 1992; 166: 37-43.

142. Nasedkina T, Domer P, Zharinov V et al. Identification of chromosomal translocations in leukemias using oligonucleotide microarrays. *Haematologica* 2002; 87;363-372.

143. Niewiadomska H, M. Mirowski, M. Stempien, B. Olborski, J.Z. Blonski, M. Hanausek, R. Wierzbicki pp A 65 kDa onc ofetal protein (p65), proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and Ki67 expression in breast cancer patients *NEOPLASMA* Volume 45 / No. 4 / 1998 pp 216-2

144. Nordenskjold B, Lowhagen T, Westerberg H, Zajicek J. ^{3}H- thymidine incorporation into mammary carcinoma cells obtained by needle aspiration before and during endocrine therapy. *Acta Cytol.* 1976; 20: 137-143.

145. Notarbartolo M, Cervello M, Dusoncher L et al. Resistance to diverse apoptotic triggers in multidrug resistant HL 60 cells and its possible relationship to the expression of P-glycoprotein, Fas and of the novel antiapoptosis factors IAP (Inhibitory apoptosis proteins). *Cancer lett.* 2002; 180: 91-101.

146. Nowicki M, Miskowiak B, Kaczmarek-Kanold M. Correlation between early treatment failure and Ki67 antigen expression in blast cells of children with acute lymphoblastic leukaemia before commencing treatment: a retrospective study. *Oncology* 2002;62:55–59

147. Okada N, Miyagawa S, Steinberg ML, Yoshikawa K. proliferating cell nuclear antigen/cyclin in cultured human keratinocytes. *J Dermatol.* 1990; 17: 521-525.

148. Pallisgaard N, Hokland p, Riishoj D et al., Multiplex reverse transcription-polimerase chain reaction for simultaneous screening of 29 translocation and cromosomal aberration in acute leukemia. *Blood* 1998; 92(21):574-588.

149. Papadopoulos I, Rudolph P, Weichert-Jacobsoen K et al. Prognostic indicators for response to therapy and survival in patients with metastatic renal cell cancer treated with interferon alpha-2, beta and vinblastine. *Urology* 1996; 48: 373-8.

150. Papadopoulos T, Pfeirer GP, Hoppe F, Drahovsky D, Muller-Hermelink HK. Proliferation-associated expression of DNA methyltransferase in human embryonic lung cells. *Virchows Arch B Cell Pathol.* 1989; 56: 371-375.

151. Parker JE, Mufti GJ, Rasool F, Mijovic A, Devereux S, Pagliuca A. The role of apoptosis, proliferation. and the Bcl-2-related proteins in the myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia secondery to MDS. *Blood.* 2000 Dec; 96(12): 3932-8.

152. Paydas S, Tanriverdi K, Yavuz S, Dizel U, Sahin &Burgut R. Survivin and aven: two distinct antiapoptotic signals in acute leukemias. *Annals of Oncology* 2003; 14: 1045-1050,

153. Pellicciari C, Manjiarott R, Bottone M.G, Danova M, Wang E. Identification of resting cells by dual parameter flow cytometry of statin expression and DNA content. *Cytometry* 1995; 21:329-37.

154. Pelosi G, Bresaola E, Maanfrin E, Rodella S, Schiavon I, Iannucci A. Immunocytochemical detection of cell proliferation – Related Antigens in cytologic smears of humam – malignant neoplasms using PC 10, reative with proliferating cell nuclear antigen, and Ki–67. *Arch. Pathol lab med*. 1994; 118: 510-516.

155. Pena LL, et al. Immunohistochemical detection of Ki 67 and PCNA in canine mammary tumors: ralationship to clinical and pathologic variables. *J. Vet. Diag. Invest* 1998 Jul; 10(3): 237-246.

156. Penneys NS, Bogaert M, Serfling U, Sisto M. PCNA expression in cutaneus keratinous neoplasms and verruca vulgaris. *Am J Pathol*. 1992; 141: 139-142.

157. Prelich G, Stillman B. Coondinated leading and lagging strand synthesis during SV40 DNA replication in vitro requires PCNA. *Cell*. 1988; 53: 117-126.

158. Quak JJ, van Dongen G, Koken MAE, et al. Identification of a 43-kDa nuclear antigen associated with proliferation by monoclonal antibody K112. Int J *Cancer*. 1990; 46: 50-55.

159. Quesnel B., et al. *Blood* 1998; 91: 2985-90. ციტირებულია Владимирская Е.Б. მიერ Кинетическая тактика противоопухолевой терапии. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии.* Москва. 2003; 2: 3, 7-11.

160. Roman-Gomez J, Castillejo JA, Jimenez A et al. 5' CpG island hypermethylation is associated with transcriptional silencing of the p21(CIP1/WAF1/SDI1) gene and confers poor prognosis in acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2002;99:2291–2296.[Abstract]]

161. Rothe M, Pan MG, Henzel VJ et al. The TNER2-TRAF signaling complex contains two novel proteins related to baculiviral inhibitor of apoptosis proteins. *Cell* 1995; 83:1243-1252.

162. Royuela M, Arenas MI, Bethencourt FR et al. Immunoexpressions of p21, Rb, mcl-1 and bad gene products in normal, hyperplastic and carcinomatous human prostates. *Eur Cytokine Netw* 2001; 12: 654-663.

163. Rudolph P, Lappe T, Schubert C, et al. Diagnostic assesment of two novel proliferation-specific antigens in benign and malignant melanocytic lesions. *Am. J. Pathol* 1995; 147:1615-25.

164. Saegusa M, Machida BD, Okayasu I. Possible associations among expression of p14(ARF), p16(INK4a), p21(WAF1/CIP1), p27(KIP1), andp53 accumulation and the balance of apoptosis and cell proliferation in ovarian carcinomas. *Cancer 2001*; 92: 1177-1189.
165. Saitoh Y, Yaginuma Y, Ishikawa M. Analysis of Bcl-2, Bax, and survivin genes in uterine cancer. *Int J Oncol* 1999; 15:137-141.
166. Salera AL. Macadam RC, Farmery SM et al. Expression of the antiapoptosis gene, survivin, predocts death from recurrent colorectal carcinoma. *Gut* 2000; 46:645-650.
167. Satoh K, Kaneko K, Hirota M et al. Expression of survivin in corelated with cancer cell apoptosis and is involved in the development of human pancreatic duct tumors. *Cancer* 2001; 92:271-278.
168. Schluter C, Duchrow M, Wohlenberg C, Michael H.G. et al. The cell Proliferation-associated Antigen of Antibody Ki-67: A Very large, Ubiquitous Nuclear Protein with Numerous Repeated Elements, Representing a New Kind of Cell Cycle-maintaining Proteins. *The Journal of cell biology*. 1993; v123: №3, 513-522.
169. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknoun [review]. *J cell Physiol*. 2002;182:311-22.
170. Scott R.J., P.A. Hall, J.S. Haldone, S. van Noorden, Y. Price, D.P Lane and N.A. Wright. A comparison of immunohistochemical markers of cell proliferation with experimentally determined growth fraction. 1991. *J Path*.165: 173-178.
171. Senderowicz A.M. *Lbid* 2001, 15: 1-9.
172. Shinozawa I, Inokuchi K, Wakabayashi I, Dan K. Disturbed expression of the anti-apoptosis gene, survivin, and EPR-1in hematological malignancies. *Leuk Res* 2000; 24: 965-970.
173. Shiohara M, et al. *1994*; *Blood* 1994; 84: 3781-4.
174. Stock W, Tsai T, Golden C et al. Cell cycle regulatory gene abnormalities are important determinants of leukemogenesis and disease biology in adult acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2000; 95:2364–2371[Abstract]
175. Strand, Hoffman, Hug et al 1996. ციტირებულია Окороков А.Н-ის მიერ *Диагностика болезней внутренных органов*. 2001; 211.
176. Strasser A, Harris AW, Coty S. Bcl-2 transgene inhibits T cell death and perturbs thymic self-censorship. *Cell* 1991; 67: 889-899.
177. Strehl S, Konig M, Mann G et al. Multiplex reverse transcriptase-polimerase chain reaction screening in childhood acute myeloblastic leukemia. *Lbid*.2001; 97(3):805-808,
178. Takasaki Y, Robinson WA, Tan EM. Proliferating cell nuclear antigen in blast crisis cells of patients with chronic myeloid leukemia. *J natl Cancer Inst.* 1984; 73:655-661.

179. Tamm I, Schriever F, Dorken B. Apoptosis: implications of basic research for inical oncology. *Lancet Oncol* 2001. 2: 33-42

180. Tamm I, Wang Y, Sausville E et al. IAP- family protein survivin inhibits caspase activity and apoptosis induced by Fas (CD95), Bax, caspases, and anticancer drugs. *Cancer Res* 1998; 58:5315-5320.

181. Tanaka K, Iwamoto S, Can G et al. Expression of survivin and its relationship to loss of apoptosis in breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 27-134.

182. Tazzari P.L, A. Bontadini, M. Gobbi, C. Tassi, A. Dinota, G. Visani et al., Comparison of the DNA content, bromodeoxyuridine incorporation and Ki 67 antigen expression in human acute myeloid leukemia. *Leuk.& Lymphoma*. 1990; 3: 45-51.

183. Terada T, Nakanuma Y. Cell proliferative activity in adenomatous Hyperplasia of the liver and smoll hepatocellular carcinoma: an immunohistochemical study demonstrating proliferating cell nuclear antigen. *Cancer* 1992; 70: 591-598.

184. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995; 267:1456-1462.

185. Travali S, Ku DH, Rizzo MG, Ottavio L et al., Structure of the human gene for proliferating cell nuclear antigen. *J Biol Chem*. 1989; 264: 7466-7472.

186. Tsurusava M, Aoyama M et al., Cell cycle kinetics in childhood acute leukemia studied with in vitro bromodeoxyuridine labeling, Ki 67-reactivity, and flow cytometry. *Leukemia* 1995; 9(11):1921-5.

187. Tsutsumi Y, Hori S, Onoda N. DNA polymerase α; an immunohistochemical marker for proliferating cells in normal and neoplastic human tissues. *Am J Clin Pathol.* 1990; 93: 643-650.

188. Verheyen, R., H.J.H. Kuijpers, R. O, Schlingemann, A.L.M. et al. Ki-67 detects a nuclear matrix-associated proliferation-related antigen I. Intracellular localization during interphase. *J Cell Sci*. 1989 ; 92: 123-130.

189. Verheyen, R., Kuijpers H, van Driel, et al. Ki-67 detects a nuclear matrix-associated proliferation-related antigen II. localization in mitotic cells and association with chromosomes. *J Cell Sci*. 1989 ; 92: 531-540.

190. Visani G. Ottoviani E. Danova M, Mangiarotti R, Tosi P, Tura S. The expression of proliferation and Quiescence associated antigens in acute myeloid leukemia correlates with survival duration. *Haematologica* 1997; 82; 338-340.

191. Visscher DW, Crissman JD. Breast carcinoma proliferation: a comparative study of synthesis phase fraction (SPS) derived by flow cytometry (FCM) DNA analisis and PCNA expression. *Lab Invest*. 1991; 64:15. Abstract.
192. Waga S., Walsh K. *Nature* 1994; 369: 574-8.
193. Wang E, Krueger G. Application of a unique monoclonal antibody as a marker for non-proliferating sub-populations of cells of some tissues. *J Histochem Cytochem* 1985; 33:587-93.
194. Wang E. Rapid disappearance of statin, a non-proliferating and cell-specific protein, upon reentering the process of cell cycling. *J Cell Biol* 1985; 101: 1695-701.
195. Wilkins BS, Harris S, Waseem NH, Lane DP, Jones DB. A study of cell proliferation in formalin-fixed, wax-embedded bone merrow trephine biopsies using the monoclonal antibody PC10, reactive with proliferating cell nuclear antigen (PCNA). *J Pathol*. 1992; 166: 45-52.
196. Woods AL, Hall PA, Shepherd NA, et al. The essesment of proliferating cell nuclear antigen P(PCNA) immunostaning in primary gastrointestinal lymphomas and its relationship to histological grade, S+G_2+M phase fraction (flow cytometric analisis) and prognosis. Histopathology. 1991; 19:21-27.
197. Wuri P, Kappler M, Meye A et al. Co-expression of survivin and TERT and risk of tumor-related death in patients with soft-tissue sarkoma. *Lancet* 2002; 359;943-945.
198. Xiaoping Sun, Jeffrey Medeiros, Di Lu, George Z. Rassidakis and Carlos Bueso-Ramos. Dysplasia and High Proliferation Rate Are Common in Acute Myeloid Leukemia With inv(16)(p13q22) *Am J Clin Pathol* 2003;120:236-245 [Abstract].
199. Yu J. Leung WK, Ebert MPA et al. Increased expression of survivin in gastric cancer patients and in first degree relatives. *Br J Cancer* 2002; 87:91-97.
200. Zedginidze A, Gvimradze KH, Antelava M, Shansiasvili L, Dzneladze D. akariadze N and D. Mikeladze. Correlation between acrocentric chromosome association and level of p53 in people exposed to low doses of radioactivity. Journal of biological physics and chemistry 2003; 3: 2, 50-53.