

62,7 ± 11,75 года (от 41 до 82 лет), срок наблюдения за больными от 1 до 241 мес.

Результаты и обсуждение. Чаше (68%) встречались больные с поражением правого яичка. У 66% больных была установлена I стадия заболевания, у 24 – II, у 10% – III стадия заболевания. Первым этапом лечения у всех больных была операция в объеме орхэктомии (19%) или орхифунгулэктомии (81%). Она имела как лечебное (удаления яичка с опухолью), так и диагностическое значение (получение материала для гистологического анализа). В последующем 18 больным проводили курсы полихимиотерапии (от 1 до 11, в среднем 5 ± 3,23 курса). Лучевую терапию применяли у 8 (38,1%) больных, преимущественно как завершающий этап лечения. На фоне проводимого лечения у 8 больных наступило прогрессирование заболевания в сроки от 6 до 68 мес от начала лечения, из них в настоящее время жив только 1 больной (наблюдается в течение 97 мес после прогрессирования), остальные умерли в сроки от 1 нед до 22 мес после прогрессирования заболевания. При этом

прогрессирование заболевания в головном мозге было выявлено у 2 (25% прогрессий) больных, и по 1 случаю – в забрюшинном пространстве, забрюшинных лимфатических узлах; забрюшинных лимфатических узлов, надпочечнике, почке и лимфатических узлах брюшной полости; костях; небной миндалине и лимфатических узлах шеи; паховых лимфатических узлах. Общая пятилетняя выживаемость, по нашим данным, составила 23,81%, медиана общей выживаемости – 22 мес.

Заключение. ЛЯ являются редким заболеванием, однако до настоящего времени не разработаны единые подходы к их лечению (в частности схемы полихимиотерапии и необходимое число курсов), кроме того, они склонны к частому рецидивированию и имеют низкую 5-летнюю выживаемость. Для более полного изучения этого заболевания необходимо координирование исследований на базе многих лечебных учреждений, что позволит более детально проанализировать особенности течения заболевания и разработать оптимальные подходы к лечению.

Веб-технологии сбора данных клинических и популяционных исследований

М.А. Русинов, Ю.А. Чабаяева, С.М. Куликов

ФГБУ Гематологический научный центр Минздравсоцразвития России, Москва

Введение. В связи с распространением современных облачных информационных технологий и повсеместной информатизации медицинских учреждений, парадигма сбора информации в виде бумажных форм оказывается нецелесообразна ни экономически, ни с точки зрения качества данных. Акцент все сильнее перемещается на проведение исследований и создание регистров в масштабах всей страны. В соответствии с этим, перед лабораторией биостатистики Гематологического научного центра (ГНЦ) встала задача адекватной организации сбора данных в удаленных центрах.

Материалы и методы. Современные компьютерные и сетевые технологии позволяют использовать систему электронного сбора данных (СЭСД).

Результаты и обсуждение. Общие характеристики СЭСД и преимущества перед традиционным сбором данных на бумажных носителях:

- возможность ввода данных с любого компьютера, имеющего выход в сеть Интернет, без необходимости установки специального ПО (доступ из любого веб-браузера);
- гарантия целостности данных: все данные хранятся на защищенном сервере в едином формате;
- автоматическая система проверки данных, и соблюдения требований протокола сбора данных.

В качестве основы для построения системы была выбрана СЭСД OpenClinica, разрабатываемая американской компанией AkazaResearch (<https://www.openclinica.com/>). Система

построена на основе лицензии LGPL, что допускает ее модификацию под нужды лаборатории, а так же на основе не-проприетарных стандартов, что позволяет снизить конечную стоимость эксплуатации. OpenClinica является лидирующей СЭСД в области клинических исследований (по материалам <http://7thspace.com>). В разработке и поддержке системы участвует более 500 компаний и академических центров по всему миру.

OpenClinica построена в соответствии со стандартами Американского Национального Института Здоровья, соответствует требованиям безопасности хранения и манипуляции персональными данными стандартов США.

Положительными особенностями данной системы являются:

- Возможность быстрой разработки и запуска исследований.
- Универсальный интерфейс.
- Возможность включения пациентов в различные исследования.
- Поддержка протоколов лечения и рандомизации.
- Динамическая проверка данных.
- Многоуровневая система доступа к данным.

Заключение. На данный момент на базе системы реализован сбор данных по двум клиническим исследованиям. В стадии разработки находятся еще несколько клинических рандомизированных исследований.

Лечение острых лейкозов на фоне беременности

В.Г. Савченко¹, В.В. Троицкая¹, Е.Н. Паровичникова¹, А.В. Кохно¹, М.А. Виноградова², С.А. Махиня¹, М.А. Курцер³

¹ФГБУ Гематологический научный центр Минздравсоцразвития России; ²ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова Минздравсоцразвития России; ³ Центр планирования семьи и репродукции департамента здравоохранения г.Москвы

Введение. Развитие острого лейкоза (ОЛ) в период беременности – событие довольно редкое, встречающееся менее чем в 1 случае на 75 000–100 000 беременных. Основная цель при лечении ОЛ у беременных – это спасение двух жизней. Разработкой алгоритмов терапевтической тактики при лечении ОЛ на фоне беременности Гематологический научный центр (ГНЦ) начал заниматься с 1990 г. Необходимость их создания была очевидной, так как общепринятой тактикой считалось прерывание беременности на любых сроках без каких-либо попыток лечения больных. Такой подход всегда заканчивался гибелью и плода, и беременной. В то же время первый опыт проведения химиотерапии (ХТ) в редуцированных дозах со всей очевидностью продемонстрировал следующие позиции – низкодозные программы неэффективны, необходимо проводить стандартную ХТ в полных дозах, необходим постоянный контроль и участие акушера-гинеколо-

лога, никаких последствий на плод выполнение ХТ во II и III триместрах беременности не оказывает.

Материалы и методы. С 1990 по 2012 г. в отделении ХТ гемобластозов и трансплантации костного мозга ГНЦ пролечены 35 беременных женщин в возрасте от 19 до 35 лет (медиана возраста 26 лет) с впервые выявленным ОЛ и 3 – с рецидивом на фоне беременности. У 32 (86%) из них диагноз был установлен во II–III триместре беременности. У 16 (42,1%) был диагностирован острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), у 5 (13,2%) – острый промиелоцитарный лейкоз (ОПЛ) и у 17 (44,7%) – острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ).

Результаты и обсуждение. Учитывая тератогенность цитостатических препаратов, в I триместре до начала ХТ решением консилиума рекомендуется прерывание беременности по медицинским показаниям. В нашем Центре прерывание беременности на сроке 3–14 нед (медиана 7 нед)

выполнено 7 больным. И уже через 1–5 дней (медиана 3 дня) после аборта всем им было начато проведение индукционной химиотерапии в полных дозах. Вопрос о родоразрешении до начала курса ХТ встает лишь на поздних сроках (35–40 нед). До начала ХТ родоразрешение было выполнено 7 больным (ОМЛ – 4, ОПЛ – 2, ОЛЛ – 1) на сроке 36–39 нед (медиана 38 нед). Всем им через 1–35 дней (медиана 7 дней) было начато проведение индукционной ПХТ в полных дозах. Если срок беременности составляет 12–34 нед, необходимо проводить ХТ, которая должна осуществляться по стандартным программам лечения ОМЛ, ОПЛ и ОЛЛ взрослых без снижения доз цитостатических препаратов. Лечение ОЛ (1–4 курса ХТ (медиана 1) на фоне беременности на сроках 14–34 нед (медиана 24 нед) выполнено 24 больным (у 13 – ОМЛ, у 3 – ОПЛ, у 8 – ОЛЛ). У 11 (45,8%) из 24 при проведении индукционного курса ХТ в полных дозах к моменту родоразрешения была достигнута полная ремиссия ОЛ. У 13 (54,2%) из 24 пациенток родоразрешение выполнялось вне ремиссии – либо по срочным показаниям на фоне продолжающегося индукционного курса ХТ или при резистентности лейкемии. У 2 больных на фоне ХТ была констатирована антенатальная гибель плода на сроке беременности 30 и 32 нед. У 12 больных – на сроке беременности 30–39 нед (медиана 36 нед) произошли

самостоятельные роды и 17 – было выполнено кесарево сечение. Один ребенок умер на фоне пневмонии в течение первой недели жизни, остальные дети живы (2 нед – 22 года) и здоровы. Нами замечен курьезный феномен, что у больных, страдающих ОМЛ чаще (83%) рождаются мальчики, а ОЛЛ – девочки (63%), причем эти различия статистически значимы ($p = 0,01$). При проведении ХТ в полных дозах результаты лечения беременных с ОЛ не отличаются от таковых показателей в данной возрастной группе – по данным ГНЦ частота достижения ремиссии у этой категории больных составляет 72%. В целом, частота достижения ремиссии выше при ОМЛ и ОПЛ – 81,3% и 80%, с ранней летальностью – 6,2% и 20% и резистентностью – 2% и 0%, соответственно, чем при ОЛЛ – 60%, 20% и 20% соответственно. В настоящее время живы 14 (36,8%) из 38 наших больных; период наблюдения от 4 нед до 13 лет.

Заключение. Наши данные демонстрируют, что основной целью лечения ОЛ на фоне беременности является спасение двух жизней. ХТ беременным женщинам с целью достижения ремиссии ОЛ после 1-го курса должна проводиться по стандартным программам в полных дозах. Долгосрочные результаты лечения этих больных сопоставимы с общими результатами лечения ОЛ.

Оптимизация условий культивирования В-клеток хронического лимфолейкоза

Р.А. Сарибекян, И.А. Воробьев

ФГБУ Гематологический научный центр Минздравсоцразвития России, Москва

Введение. При культивировании В-клеток хронического лимфолейкоза (В-ХЛЛ) *in vitro*, в большинстве работ наблюдается высокий уровень спонтанного апоптоза, что сильно затрудняет исследования данного заболевания в моделях *ex vivo*. Целью настоящей работы являлся поиск оптимальной среды для культивирования В-ХЛЛ.

Материалы и методы. Исследовали опухолевые клетки, выделенные у больных В-ХЛЛ. У 39 из них, клетки выделяли из образцов периферической крови, у 12 – из биоптатов селезенки или лимфатических узлов. Для получения культуры стромальных клеток использовали клетки выделенные из пункций костного мозга у 19 больных В-ХЛЛ. Периферические мононуклеары крови (ПМК) и стромальные клетки костного мозга выделяли в градиенте фиколла ("Sigma-Aldrich") и культивировали в термостате при 5% CO₂ и температуре 37°C. При культивировании стромальных клеток в качестве фидерного слоя использовали среду RPMI-1640 ("Панэко") с добавлением 10% сыворотки новорожденных телят (NBCS, "Панэко"). При этом по прошествии 24 ч все не прикрепившиеся к пластику клетки удаляли. Полученную культуру стромальных клеток выращивали в течение 2–3 нед, и затем использовали в качестве подложки. Для культивирования клеток В-ХЛЛ использовали среду Hybridoma SFM ("Invitrogen") без добавления сыворотки, и среду RPMI-1640 с добавлением 10% сыворотки NBCS. Уровень апоптоза определяли методом проточной цитофлюориметрии (прибор FACS Calibur, "BD Bioscience", США). Для маркирования апоптотических В-клеток использовали Annexin V ("BD Pharmingen") и моноклональные антитела к CD19 ("Dako Cytomation"). Анализ полученной информации производили с помощью программы CellQuest.

Результаты и обсуждение. При культивировании ПМК от больных В-ХЛЛ в среде Hybridoma SFM (без добавок)

частота апоптоза составила $32 \pm 6,3\%$ на 1-е сутки, $32,3 \pm 8,4\%$ на 2-е сутки, $27,5 \pm 6,1\%$ на 3-и сутки и $39,1 \pm 14\%$ 6-е сутки ($n = 20$). При культивировании ПМК В-ХЛЛ в среде RPMI-1640 с добавлением 10% сыворотки частота апоптоза составила $20 \pm 5,2\%$ на 1-е, $21,7 \pm 6,7\%$ на 2-е, $25,7 \pm 8,2\%$ на 3-и, и $40,1 \pm 10,9\%$ на 6-е сутки ($n = 19$). При добавлении в среду Hybridoma SFM альбумина (25 мг/мл) частота апоптоза уменьшилась и составляла $15,4 \pm 5,1\%$ на 1-е сутки, $20,2 \pm 9,5\%$ на 2-е сутки, $21 \pm 10,8\%$ на 3-и сутки ($n = 20$). Добавление IL-6 в среду Hybridoma SFM не имело существенного влияния на уровень апоптоза – доля апоптотических клеток составляла $33,7 \pm 5,7\%$ после 24 ч культивирования, $31,2 \pm 7,6\%$ после 48 ч и $31 \pm 14,6\%$ после 72 ч ($n = 20$). При культивировании суспензий лимфатических органов, которые содержали как клетки В-ХЛЛ, так и стромальные клетки, в среде Hybridoma SFM уровень апоптоза составил $10,8 \pm 4,8\%$ на 1-е сутки, $10,1 \pm 5,1\%$ на 2-е сутки, $11,1 \pm 5,5\%$ на 3-и сутки ($n = 12$). При кокультивировании ПМК от больных В-ХЛЛ с заранее подготовленной подложкой из стромальных клеток неродственного костного мозга в среде RPMI-1640 с 10% сыворотки уровень апоптоза составлял $10,5 \pm 3,9\%$ на 1-е; $10,9 \pm 4,8\%$ на 2-е; $11,5 \pm 5,3\%$ на 3-и и $10,1 \pm 3,1\%$ на 6-е сутки ($n = 19$).

Заключение. При кокультивировании со стромальными клетками уровень спонтанного апоптоза в клетках В-ХЛЛ был в 2-3 раза ниже, чем при использовании как стандартной среды RPMI-1640 с добавлением сыворотки, так и среды Hybridoma SFM. Мы полагаем, что методикой культивирования клеток В-ХЛЛ, обеспечивающей минимальный уровень спонтанного апоптоза, является их кокультивирование с клетками стромы, получаемыми из костного мозга, в среде RPMI-1640 с добавлением 10% сыворотки NBCS.

Мутации TP53 без делеции 17p могут быть связаны с рефрактерностью к терапии

Н.А. Северина, Б.В. Бидерман, Т.Н. Обухова, Е.А. Никитин, А.Б. Сударинов

ФГБУ Гематологический научный центр Минздравсоцразвития России, Москва.

Введение. В настоящее время стандартом в лечении соматически сохранных больных хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ) является режим FCR (флударабин, циклофосфан, ритуксимаб). Эффективность и хорошая переносимость этого режима продемонстрирована в нескольких клинических испытаниях. Несмотря на высокую эффективность режима, существует категория больных, у которых это лечение не эффективно. В этой группе больных прогноз крайне неблаго-

приятен. Данная работа посвящена изучению молекулярных маркеров рефрактерности к режимам химиотерапии с использованием флударабина.

Материалы и методы. В исследование включены 39 первичных больных ХЛЛ (16 женщин и 23 мужчины) в возрасте 51 – 84 лет (медиана возраста 66 лет), получавшие лечение в рамках протокола MLSG08, у которых ответ на терапию, по мнению исследователей, был неудовлетворителен. У 4 (10%)