

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 продолжающего 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 фикола (*"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 цитофлуориметрии (прибор FACScalibur, *"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 ± 6,3% на 1-е сутки, 32,3 ± 8,4% на 2-е сутки, 27,5 ± 6,1% на 3-и сутки и 39,1 ± 14% 6-е сутки ($n = 20$). При культивировании ПМК В-ХЛЛ в среде RPMI-1640 с добавлением 10% сыворотки частота апоптоза составила 20 ± 5,2% на 1-е, 21,7 ± 6,7% на 2-е, 25,7 ± 8,2% на 3-и, и 40,1 ± 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 ± 5,1% на 1-е сутки, 20,2 ± 9,5% на 2-е сутки, 21 ± 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 ± 5,7% после 24 ч культивирования, 31,2 ± 7,6% после 48 ч и 31 ± 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 ± 4,8% на 1-е сутки, 10,1 ± 5,1% на 2-е сутки, 11,1 ± 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 ± 3,9% на 1-е; 10,9 ± 4,8% на 2-е; 11,5 ± 5,3% на 3-и и 10,1 ± 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 симптоматически сохраненных 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%)