

Тамашевский А.В.¹, Гармаза Ю.М.¹, Бухвальд Н.А.², Пасюков В.В.²,
Свирновский А.И.², Слобожанина Е.И.¹

**Редокс-баланс лимфоцитов пациентов с хроническим
В-лимфоцитарным лейкозом в качестве критерия
для персонифицированного учета ответа клеток на терапию**

¹ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,
г. Минск, Беларусь

²ГУ «РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий»,
г. Минск, Беларусь

Лабораторный компонент персонализации терапии предполагает использование не только исходных структурных особенностей клеток (в частности мутаций) или выживаемости клеток после контакта с противоопухолевыми препаратами *in vitro*. Очевидно, что расширение спектра предсказательных диагностических технологий может способствовать прогнозированию ответа на терапию в организме с целью выбора адекватной стратегии лечения и ее мониторинга. Известно, что окислительный стресс играет особую роль в реализации токсического эффекта в лейкозных клетках в связи с вариабельностью содержания в них активных форм кислорода (АФК) и особенностями метаболизма противоопухолевых препаратов.

Цель работы. Определить жизнеспособность клеток пациентов с хроническим В-лимфоцитарным лейкозом (В-ХЛЛ) после воздействия лекарственных средств, применяемых при терапии лейкозов в клинике и оценить их редокс-состояние с целью выявления критерия, подходящего для персонафицированного учета ответа клеток на терапию.

Материалы и методы. В группу пациентов с В-ХЛЛ согласно критериям включения и исключения вошли 25 человек. Иммунофенотипирование на процентное содержание $CD5^+CD19^+$ клеток позволило выделить 2 устойчивые подгруппы: I подгруппа ($n=5$), процентное содержание $CD5^+CD19^+$ клеток в ней составило $3,1 \pm 2,5\%$ (стадия ремиссии) и II подгруппа ($n=20$), в которой количество $CD5^+CD19^+$ клеток составило $82,1 \pm 16,3\%$ (пациенты с диагностированным В-ХЛЛ без терапии). Уровень АФК в В-ХЛЛ лимфоцитах определяли с помощью флуоресцентного зонда 5-хлорометил-2,'7'-дихлородигидрофлуоресцеин диацетата. Оценку жизнеспособности мононуклеарных клеток пациентов с В-ХЛЛ проводили с помощью 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолиум бромид (МТТ теста). Использовали лекарственные средства (флударабел (*Flu*), винкристин (*Vincr*), иматиниб (*Imat*), дексаметазон (*Dex*)), в концентрациях близких к терапевтическим. Все измерения были выполнены на планшетном спектрофотометре и проточном цитофлуориметре FACScanto II (BD).

Результаты и обсуждение. Корреляционный анализ между процентным содержанием $CD5^+CD19^+$ клеток и их чувствительностью к исследуемым противоопухолевым средствам выявил статистически значимую сильную обратную зависимость (r_s от $-0,87$ до $-0,91$, с p от $0,0000003$ до $0,0000005$), что свидетельствует об эффективности выбранных лекарственных средств в отношении субпопуляции $CD5^+CD19^+$. Воздействие исследуемых терапевтических агентов на лимфоциты пациентов с В-ХЛЛ I подгруппы приводило к изменению в них содержания АФК по сравнению с интактными клетками (контроль). Во II подгруппе пациентов содержание АФК увеличивалось после воздействия исследуемых химиопрепаратов (кроме *Flu*). При этом проведенный статистический анализ выявил более значительные изменения редокс-баланса в клетках пациентов с В-ХЛЛ II подгруппы по сравнению с I подгруппой после воздействия на них исследуемых лекарственных средств. Оценка жизнеспособности клеток пациентов при В-ХЛЛ обеих подгрупп выявила статистически достоверное ее снижение по сравнению с контролем. Так, для I подгруппы оно составило в среднем 5-15% относительно контроля для всех исследуемых лекарственных средств. Во II подгруппе снижение жизнеспособности клеток составило в среднем 30-60% по сравнению с контролем. Этот

результат демонстрирует, что клетки пациентов с В-ХЛЛ в стадии ремиссии обладают более низкой чувствительностью к исследуемым лекарственным средствам по сравнению с лейкозными клетками в отсутствие терапии.

Таким образом, обнаружена значительная вариабельность индивидуальной чувствительности клеток пациентов с В-ХЛЛ при воздействии одинаковых концентраций лекарственных средств, близких к терапевтическим, что указывает на необходимость принимать во внимание индивидуальную чувствительность *ex vivo* клеток пациентов к химиотерапевтическим воздействиям. В качестве критерия для возможности персонализированного учета ответа клеток пациентов с В-ХЛЛ на терапию можно использовать изменение их редокс-баланса.