Клиническая онкогематология. 2018;11(2):167–74

ОНКО клиническая ГЕМАТОЛОГИЯ

ЛИМФОИДНЫЕ ОПУХОЛИ

Минимальная остаточная болезнь и мутационный статус IGHV-генов как основные предикторы ответа на терапию первой линии по схеме «бендамустин + ритуксимаб» у больных хроническим лимфолейкозом

Ю.В. Миролюбова, Е.А. Стадник, В.В. Стругов, Т.О. Андреева, Т.С. Никулина, Ю.В. Вирц, П.А. Бутылин, А.Г. Румянцев, А.Ю. Зарицкий

ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197341

РЕФЕРАТ

Актуальность. При хроническом лимфолейкозе (ХЛЛ) эрадикация минимальной остаточной болезни (МОБ) служит предиктором улучшения показателей общей (ОВ) и выживаемости без прогрессирования (ВБП). Мутационный статус IGHV-генов также имеет самостоятельное прогностическое значение.

Цель. Подвергнуть анализу влияние мутационного статуса и эрадикации МОБ у пациентов с ХЛЛ, получивших стандартный режим иммунохимиотерапии BR (бендамустин + ритуксимаб) в первой линии терапии.

Материалы и методы. В проспективное исследование включены пациенты без предшествующего противоопухолевого лечения с иммунофенотипически верифицированным диагнозом ХЛЛ. Все пациенты получили лечение комбинацией BR с 2012 по 2015 г. У 109 больных определен уровень МОБ после 3-го и 6-го курсов терапии. У 98 из них доступны данные по мутационному статусу IGHV-генов. Мутационный статус IGHV-генов оценивался в соответствии с рекомендациями ERIC. МОБ определяли стандартизованным методом 4-цветной проточной цитометрии.

Результаты. МОБ-отрицательность достигнута у 37 (34 %) из 109 пациентов. Эрадикация МОБ коррелировала с лучшей ВБП (p = 0,04). Мутационный статус IGHV-генов также статистически значимо влиял на ВБП (p = 0,02). У пациентов с МОБ-отрицательным ответом и наличием мутаций в IGHV-генах за время наблюдения не зарегистрировано ни одного неблагоприятного события. В то же время показатели ВБП у МОБ-отрицательных пациентов с отсутствием мутаций в IGHV-генах и у МОБ-положительных с их наличием были значимо хуже. Статистически значимо лучшие показатели ВБП имели место при достижении эрадикации МОБ после 3-го курса терапии в отличие от ситуаций с персистенцией МОБ независимо от уровня остаточного опухолевого клона (p = 0,01).

Заключение. При использовании схемы BR в первой линии статистически значимо лучшие показатели ВБП име-

Clinical oncohematology. 2018;11(2):167–74

ONCO clinical HEMATOLOGY

LYMPHOID TUMORS

Minimal Residual Disease and IGHV-Genes Mutational Status as the Main Predictors of Response to Bendamustine-Rituximab Therapy in Previously Untreated Chronic Lymphocytic Leukemia

YuV Mirolyubova, EA Stadnik, VV Strugov, TO Andreeva, TS Nikulina, YuV Virts, PA Butylin, AG Rumyantsev, AY Zaritskey

VA Almazov National Medical Research Center, 2 Akkuratova str., Saint Petersburg, Russian Federation, 197341

ABSTRACT

Background. In patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL) the eradication of minimal residual disease (MRD) is a prognostic factor of overall survival (OS) and progression-free survival (PFS). *IGHV* mutational status has also independent prognostic value.

Aim. To analyse the impact of mutational status and MRD eradication in CLL patients after first-line standard BR (bendamustine + rituximab) immunochemotherapy.

Materials & Methods. The prospective study included patients with immunophenotypically confirmed CLL who had not previously received anticancer therapy. All patients were treated by BR combination from 2012 to 2015. MRD level was determined in 109 patients after completing the 3rd and the 6th treatment courses. *IGHV* mutational status data were available for 98 patients. *IGHV* mutational status was evaluated in accordance with ERIC recommendations. MRD was assessed by standardized method of 4-color flow cytometry.

Results. MRD negativity was achieved in 37 (34 %) out of 109 patients. MRD eradication correlated with the best PFS (p = 0.04). *IGHV* mutational status had a statistically significant impact on PFS (p = 0.02). In patients with MRD-negative response and *IGHV* mutation no unfavorable events occurred during the period of monitoring. Conversely, PFS rates in MRD-negative patients having no *IGHV* mutation and in MRD-positive patients with mutation were significantly worse. MRD eradication resulted in statistically significant improvement of PFS rates after completing 3 treatment courses, compared with the cases with MRD persistence regardless of residual malignant clone level (p = 0.01).

Conclusion. BR therapy as first-line treatment statistically improved PFS in patients who achieved MRD-negative remission after completing the 3rd treatment course. PFS was significantly higher in MRD-negative patients with *IGHV* mutation after 6 treatment courses. MRD negativity resulting

ли пациенты, у которых достигнута МОБ-отрицательная ремиссия после 3-го курса терапии. Кроме того, ВБП была значимо лучше у пациентов с МОБ-отрицательным результатом после 6-го курса BR и наличием мутаций в генах IGHV. Достижение МОБ-отрицательного результата после 6-го курса BR у пациентов с отсутствием мутаций IGHV-генов не сопровождалось улучшением ВБП. Это свидетельствует о том, что МОБ-отрицательный статус сам по себе не является универсальным фактором прогноза.

Ключевые слова: хронический лимфолейкоз, минимальная остаточная болезнь, бендамустин, ритуксимаб, BR, IGHV, мутационный статус.

Получено: 29 декабря 2017 г.
Принято в печать: 27 февраля 2018 г.

Для переписки: Юлия Владимировна Миролюбова, ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197341; e-mail: juli9702@yandex.ru

Для цитирования: Миролюбова Ю.В., Стадник Е.А., Стругов В.В. и др. Минимальная остаточная болезнь и мутационный статус IGHV-генов как основные предикторы ответа на терапию первой линии по схеме «бендамустин + ритуксимаб» у больных хроническим лимфолейкозом. Клиническая онкогематология. 2018;11(2):167–74.

DOI: 10.21320/2500-2139-2018-11-2-167-174

from 6 BR therapies in patients having no *IGHV* mutation was not accompanied by PFS improvement. It follows that by itself MRD negativity cannot be considered to be a universal prognostic factor.

Keywords: chronic lymphocytic leukemia, minimal residual disease, bendamustine, rituximab, BR, IGHV, mutational status.

Received: December 29, 2017
Accepted: February 27, 2018

For correspondence: Yuliya Vladimirovna Mirolyubova, 2 Akkuratova str., Saint Petersburg, Russian Federation, 197341; e-mail: juli9702@yandex.ru

For citation: Mirolyubova YuV, Stadnik EA, Strugov VV, et al. Minimal Residual Disease and IGHV-Genes Mutational Status as the Main Predictors of Response to Bendamustine-Rituximab Therapy in Previously Untreated Chronic Lymphocytic Leukemia. Clinical oncohematology. 2018;11(2):167–74.

DOI: 10.21320/2500-2139-2018-11-2-167-174

ВВЕДЕНИЕ

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ), согласно определению в классификации ВОЗ 2008 г., — это зрелоклеточная неоплазия из малых лимфоцитов с характерным иммунофенотипом CD19+CD5+CD23+ [1, 2]. Это самая распространенная гематологическая злокачественная опухоль в странах Европы и Северной Америки с длительным индолентным течением. ХЛЛ страдают преимущественно лица пожилого возраста [1–3]. До недавнего времени назначаемая при ХЛЛ терапия (хлорамбуцил, преднизолон, CHOP) не влияла на общую продолжительность жизни пациентов и не имела целью достижение ремиссии. Ситуация изменилась в последние 20 лет, когда новые подходы к терапии, и в первую очередь внедрение схемы иммунохимиотерапии FCR (флударабин, циклофосфамид, ритуксимаб), позволили существенно увеличить продолжительность жизни пациентов за счет достижения полных клинико-гематологических ремиссий при ХЛЛ [4–6]. Морфологическое исследование крови и костного мозга не позволяло адекватно оценить глубину ремиссии, т. к. количество опухолевых клеток после терапии оказывалось ниже уровня определения методами микроскопии. В связи с этим стали активно развиваться новые лабораторные методы выявления минимальной остаточной болезни (МОБ) — проточная цитометрия и молекулярные методы исследования на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) [7–19].

В 2014 году Европейское медицинское агентство рекомендовало для клинических исследований проводить скрининг МОБ при ХЛЛ методом стандартизованной проточной цитометрии или аллель-специфической ПЦР в режиме реального времени в периферической крови, и в случае негативности дополнительно исследовать костный мозг [20, 21].

С 2008 г. по настоящее время был опубликован ряд работ по результатам долгосрочных наблюдений за больными, получавшими стандартные схемы противоопухолевого лечения FC, FCR и BR, в которых, в частности, анализировались данные по влиянию МОБ-отрицательности на общую (ОВ) и выживаемость без прогрессирования (ВБП).

Для общепринятых лечебных схем FC, FCR, BR было доказано, что МОБ-отрицательный статус служит предиктором лучшей ОВ и ВБП [16, 22, 23]. В результате определение МОБ-статуса стандартизованными методами проточной цитометрии или количественной ПЦР в режиме реального времени стало рассматриваться в качестве конечной точки, рекомендованной при проведении клинических исследований у больных ХЛЛ [20, 21].

В 1999 г. впервые сообщается о прогностическом значении мутационного статуса генов вариабельных областей тяжелых цепей иммуноглобулинов (IGHV) при ХЛЛ, как у первичных пациентов, так и у получающих различные виды химиотерапии [24]. Впоследствии появились данные, что стандартные схемы иммунохимиотерапии (FCR и BR) не нивелируют неблагоприятное прогностическое значение отсутствия мутаций в IGHV-генах [25–29].

Ряд авторов показали, что прогностическое значение МОБ-отрицательности зависит от мутационного статуса IGHV-генов при использовании терапии FCR. Остается неясным вопрос, влияет ли мутационный статус на частоту достижения МОБ-

отрицательности. При одновременном анализе МОБ и мутационного статуса IGHV-генов у пациентов, наблюдавшихся после терапии FCR, выявлены определенные закономерности. Выяснилось, что у больных с мутированным статусом IGVH-генов достижение МОБ-отрицательного результата улучшало выживаемость, а в группе с немутированным статусом МОБ-негативность не имела статистически значимого влияния на выживаемость [25, 27].

Таким образом, остается не до конца ясным, влияет ли мутационный статус IGHV-генов на достижение МОБ-отрицательности при терапии BR и насколько важна скорость достижения МОБ-отрицательности.

В нашей работе мы ставили задачу подвергнуть анализу влияние МОБ-статуса и мутационного статуса в совокупности на терапию BR в первой линии и попытаться на этой основе выделить прогностические группы пациентов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Характеристика пациентов

В работу включены данные пациентов с иммуноморфологически верифицированным диагнозом ХЛЛ, обследованных и получивших лечение по схеме BR в качестве первой линии в рамках проспективного наблюдательного исследования с 2012 по 2015 г. Исследование проводилось на базе 36 специализированных гематологических центров Российской Федерации.

Результаты по определению МОБ получены у 109 (53 %) из 202 пациентов.

МОБ оценивалась у пациентов, ответивших на терапию. При прогрессировании на фоне терапии оценка МОБ не проводилась. Ограничивающим фактором служила сложность доставки свежих образцов в центральную лабораторию, а также значительное разведение образца периферической кровью в ряде случаев. У 100 из 109 пациентов получены данные по мутационному статусу, у 92 — результаты цитогенетического исследования. Характеристика пациентов представлена в табл. 1.

Показания к началу лечения и оценка ответа на терапию соответствовали рекомендациям международной рабочей группы iwCLL. Ответ на терапию оценивался согласно критериям iwCLL перед началом 4-го курса BR и минимум через 2 мес. после окончания последнего (6-го) цикла. У всех пациентов оценивали ВБП и ОВ после окончания терапии. Медиана наблюдения составила 38,8 мес. (диапазон 15–68 мес.)

Определение МОБ-статуса

МОБ оценивалась методом 4-цветной проточной цитометрии по A.C. Rawstron и соавт. [10]. Исследования проводились на базе центральной клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» и лаборатории биологии ГСК ФГБУ «НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева». Использовался проточный цитометр BD FACSCalibur (программное обеспечение Cell Quest) и BD FACS Canto II (ПО FACS DIVA). В диагностическую панель входили антитела к CD45FITC, CD14PE, CD19PerCP-Cy5.5, CD5APC, CD20FITC, CD38PE, CD43FITC, CD79bPE, CD81FITC, CD22PE, CD3APC anti-κFITC/anti-λPE производства компании BD Biosciences. Кроме того, у части пациентов были дополнительно включены антитела к CD160FITC и ROR1PE. Процедура пробоподготовки по стандартному протоколу включала этап инкубации с антителами 2 млн клеток в течение 15 мин при комнатной температуре, лизис с помощью рабочего раствора BD FACS Lyse buffer с отмывкой раствором Cell Wash. Для достижения чувствительности 1:10 000 клеток (10^{-4}, или 0,01 %) собиралось как минимум 500 000 событий в гейте лейкоцитов. Для оценки клеточности образцов использовался гематологический анализатор Beckman Coulter. В качестве материала для оценки МОБ использовался костный мозг. Стратегия гейтирования соответствовала международному стандартизованному протоколу [10]. Оценка МОБ проводилась после 3-го курса и через 2 мес. поле окончания 6-го курса BR.

Таблица 1. Характеристика пациентов до начала терапии

Показатель	Число пациентов
Всего	109
Возраст > 65 лет	30 (28 %)
Медиана (Q1–Q3) возраста, лет	61 (56,0–66,5)
Женский пол	47 (43 %)
Стадия заболевания по Binet	
A	13 (12 %)
B	73 (67 %)
C	23 (21 %)
Наличие гепато- или спленомегалии	69 (63 %)
Наличие массивной лимфаденопатии	28 (26 %)
Уровень β2-микроглобулина > 3,5 мг/л	35 (32 %)
Медиана (Q1–Q3) уровня β2-микроглобулина, мг/л	4,45 (2,06–6,8)
Медиана (Q1–Q3) экспрессии CD38	13,2 (0,86–39,7)
CD38 > 20 %	31 (41 %)
Цитогенетическое исследование методом FISH	
del(17p)	6 (7 %)
del(11q) без del(17p)	27 (29 %)
del(13q) изолированная	27 (29 %)
Трисомия 12	10 (11 %)
Нормальный кариотип	22 (24 %)
Мутационный статус	
Немутированный статус IGHV-генов	64 (64 %)

Определение мутационного статуса IGHV-генов [28]

ДНК для проведения анализа выделяли из лейкоцитов периферической крови. Анализ концентрации и качества полученных образцов ДНК/РНК проводился с помощью спектрофотометра NanoDrop 1000 (ThermoScientific). Анализируемый участок амплифицировали набором из 7 праймеров (BIOMED-2) с адаптерными последовательностями pJET. Продукты ПЦР разделяли электрофорезом в 1,5% агарозном геле с этидия бромидом. Клональную полоску размером около 300 пар оснований вырезали из геля и очищали с помощью Silica Bead DNA Gel ExtractionKit (Thermo Scientific). Секвенирование проводили с использованием праймеров pJETF и pJETR. Капиллярный электрофорез выполняли на генетическом

анализаторе AppliedBiosystems 3500. Полученные последовательности анализировали на предмет отсутствия сдвигов рамок считывания и образования стоп-кодонов с использованием ExPASy Translate tool. Долю дивергенции с последовательностями герминальных (немутированных) генов иммуноглобулинов, депонированных в базе данных IMGT, вычисляли с помощью интерфейсов IMGT и IgBlast NCBI. В том случае, если различие было более 2 %, IGHV-статус определялся как мутированный, а при различии не более 2 % — как немутированный.

Цитогенетическое исследование

Цитогенетическое исследование клеток периферической крови выполнялось методом флюоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) с использованием ДНК-зонда Vysis CLL FISHProbe Kit (Vysis/Abbott Molecular Inc., США). Данный ДНК-зонд позволяет определять хромосомные аберрации в локусах 11q22.3, 17p13.1, 12p11.1-q11, 13q34, 13q13.4. Гибридизацию проводили согласно протоколам, рекомендуемым производителем ДНК-зондов. Анализ выполнялся на оборудовании компании Zeiss (микроскоп Axio Imager) с использованием программы MetaSystems Isis.

Статистический анализ

Статистический анализ выполнялся с помощью программного пакета IBM SPSS, версия 21. Для описания количественных признаков использовали медиану, 25-й и 75-й процентили (Q1–Q3). Для сравнения качественных переменных в группах использовался критерий χ^2 Пирсона. Анализ количественных переменных в независимых группах выполняли с помощью критерия Манна—Уитни. Для построения кривой ВБП использовался метод Каплана—Мейера; продолжительность жизни определялась как время от начала терапии до рецидива или смерти. Уровень значимости всех статистических тестов (p) принимался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У 37 (34 %) из 109 пациентов достигнута МОБ-отрицательность. В МОБ-отрицательной группе пациентов полные ремиссии (ПР) составили 88 % (n = 30), частичные (ЧР) — 12 % (n = 4); в МОБ-положительной группе (n = 72) — 76 % ПР (n = 55) и 19 % ЧР (n = 17) соответственно.

При анализе достижения МОБ-отрицательного результата от предшествующи терапии характеристик пациентов, не было получено достоверной зависимости от мутационного статуса. В частности, из 36 больных с мутированным статусом IGHV-генов МОБ-отрицательность на момент окончания терапии достигнута у 14 (39 %), а из 64 пациентов с немутированным статусом МОБ-отрицательными оказались 22 (34 %).

Кроме того, достижение МОБ-отрицательности не зависело от пола, возраста, стадии заболевания, уровня β2-микроглобулина, экспрессии CD38, цитогенетических данных (для сравнения качественных переменных в группах использовался критерий χ^2 Пирсона, для количественных переменных — критерий Манна—Уитни). Однако отсутствие зависимости от цитогенетических данных может быть связано с небольшим числом пациентов с del(17p).

При анализе ВБП у больных с различным МОБ-статусом и ответом на терапию BR (ПР или ЧР) подтвердились статистически значимо лучшие показатели у МОБ-отрицательных пациентов (p = 0,04) (рис. 1).

На рис. 1 представлены все пациенты с ПР и ЧР, у которых определен МОБ-статус. В группе с ЧР у 2 пациентов отмечался абсолютный лимфоцитоз, у 2 — гепатомегалия, у 14 — констатирована гематологическая ремиссия с увеличением лимфатических узлов до 2 см.

Лучшие показатели ВБП отмечалась у больных с мутированными генами вариабельных участков тяжелых цепей иммуноглобулинов (рис.2).

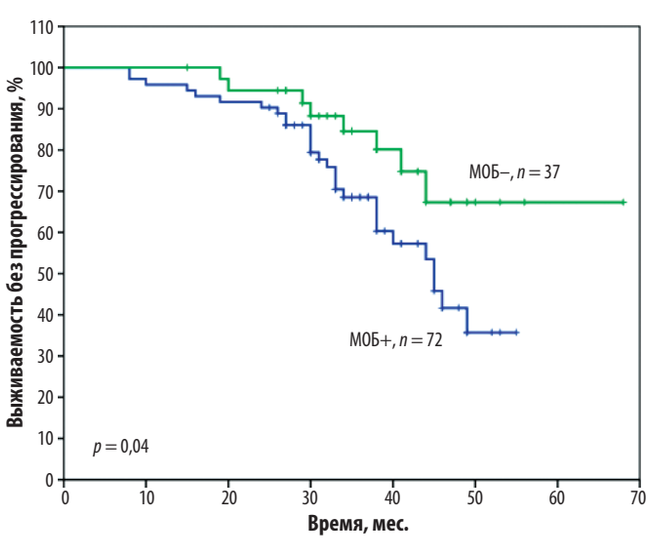

Рис. 1. Выживаемость без прогрессирования в группах больных ХЛЛ с различным МОБ-статусом и ответом на терапию BR (бендамустин + ритуксимаб)

Fig. 1. Progression-free survival of CLL patients with different MRD (МОБ) status and BR (bendamustine + rituximab) therapy response

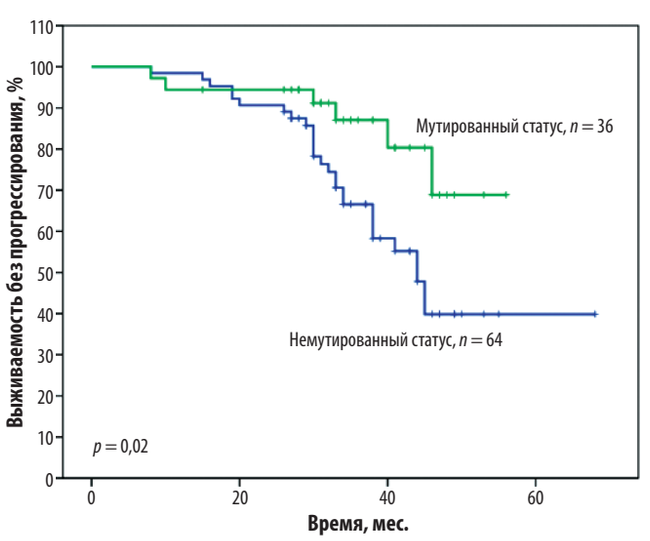

Рис. 2. Выживаемость без прогрессирования в группах больных ХЛЛ с различным мутационным статусом IGHV-генов

Fig. 2. Progression-free survival of CLL patients with different *IGHV* mutational status

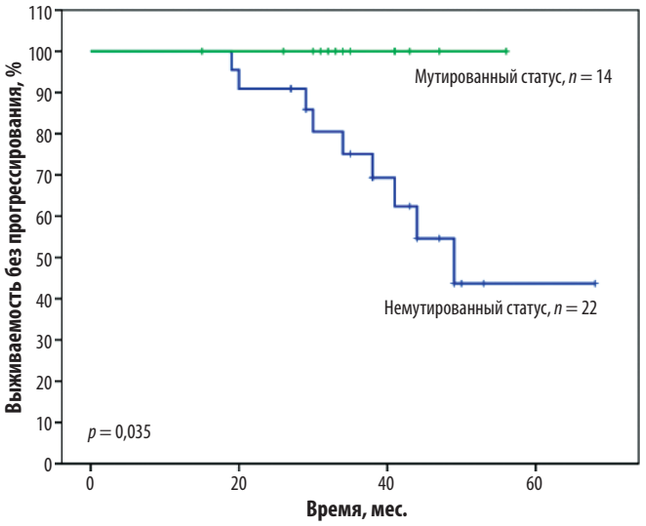

Рис. 3. Выживаемость без прогрессирования у МОБ-отрицательных больных ХЛЛ в группах с различным мутационным статусом IGHV-генов

Fig. 3. Progression-free survival of MRD-negative CLL patients with different *IGHV* mutational status

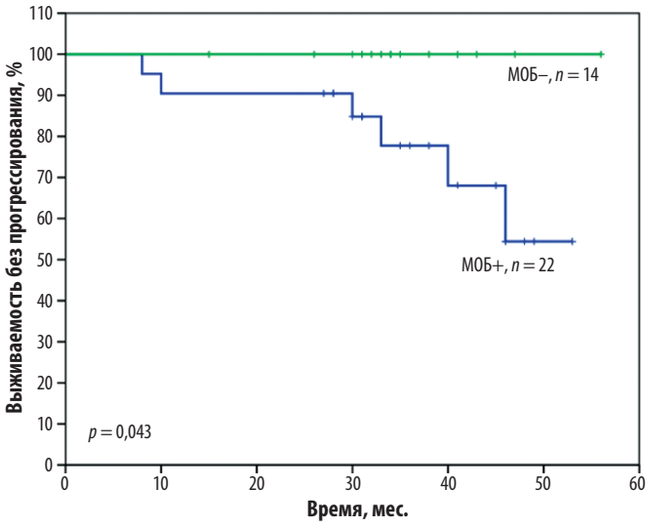

Рис. 4. Выживаемость без прогрессирования больных ХЛЛ с мутациями в IGHV-генах в группах с различным МОБ-статусом

Fig. 4. Progression-free survival of CLL patients having *IGHV* mutation and different MRD (МОБ) status

В группе с МОБ-отрицательным статусом показатели ВБП были значимо лучше у лиц с IGHV-мутированным статусом. В течение всего срока наблюдения не было зафиксировано прогрессирования заболевания ни у одного из пациентов этой группы (n = 14; 13 % от всей группы) (рис. 3).

Пациенты с немутированным статусом IGHV-генов не имели статистически значимого преимущества по показателям ВБП при достижении МОБ-отрицательного результата (p = 0,35). Однако у пациентов с мутированным статусом IGHV-генов достижение МОБ-отрицательного результата статистически значимо влияло на ВБП (рис. 4).

Таким образом, все пациенты были разделены на 4 группы:

1) МОБ-отрицательные, мутированные IGHV-гены (n = 14);
2) МОБ-отрицательные, немутированные IGHV-гены (n = 22);
3) МОБ-положительные, мутированные IGHV-гены (n = 22);
4) МОБ-положительные, немутированные IGHV-гены (n = 42).

Статистически значимое преимущество по ВБП имели МОБ-отрицательные пациенты с мутированным статусом IGHV-генов (рис. 5).

С целью установить значимость скорости эрадикации лейкозного клона анализу подвергнуты данные об уровне МОБ после 3-го и 6-го курсов BR (табл. 2), а также ВБП.

Достижение МОБ-отрицательности после 6-го курса коррелировало с уровнем остаточного опухолевого клона после 3-го курса. При анализе ВБП статистически значимо лучшие показатели были у пациентов с полной эрадикацией МОБ после 3-го курса терапии в отличие от пациентов с персистенцией МОБ независимо от уровня остаточного опухолевого клона (рис. 6).

В этой группе (n = 13) за время наблюдения не зарегистрировано ни одного случая рецидива. В МОБ-

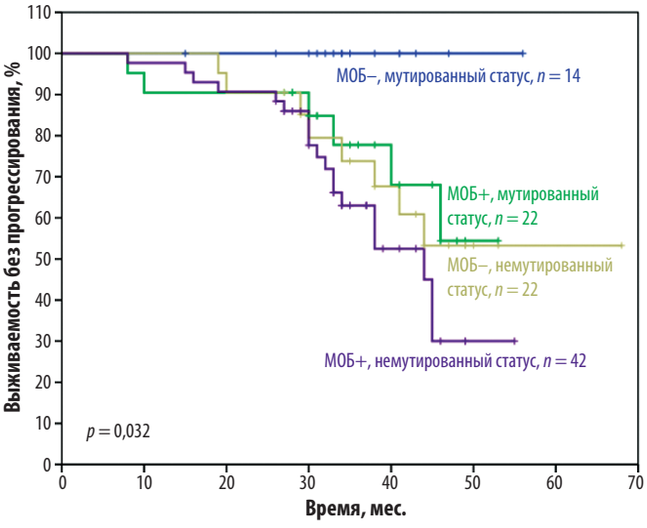

Рис. 5. Выживаемость без прогрессирования больных ХЛЛ в группах с различными сочетаниями МОБ-статуса и мутационного статуса

Fig. 5. Progression-free survival of CLL patients with different combinations of MRD (МОБ) and mutational status

Таблица 2. Достижение эрадикации МОБ в процессе лечения (динамика от 3-го к 6-му курсу BR)

	После 3-го курса BR (n = 95)	После 6-го курса BR (n = 33)	
Уровень МОБ	**абс.**	**абс.**	**%***
< 0,01 %	13	13	100
< 0,1 %	15	7	47
< 1 %	25	9	36
> 1 %	42	4	9,5

* Доля от числа пациентов после 3-го курса BR.

отрицательной группе после 3-го курса BR было 5 (39 %) пациентов с немутированным статусом IGHV-генов и 8 (61 %) — с мутированным.

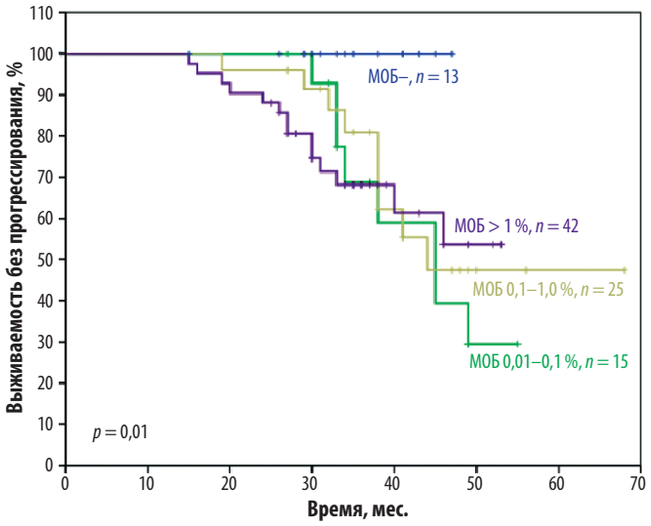

Рис. 6. Выживаемость без прогрессирования в группах больных ХЛЛ с различным уровнем МОБ после 3-го курса BR

Fig. 6. Progression-free survival in CLL patients with different MRD (МОБ) levels after 3 BR treatment courses

ОБСУЖДЕНИЕ

Учитывая потенциальное прогностическое значение эрадикации МОБ для прогноза, важно было изучить несколько разноречивые литературные данные о том, у каких пациентов вероятнее достижение МОБ-отрицательного статуса. В ряде работ проанализировано, в каких группах больных ХЛЛ чаще достигается МОБ-отрицательность на фоне терапии FCR [25–27]. Статистически значимое влияние мутационного статуса на достижение МОБ-отрицательности было показано лишь в 1 исследовании [26]. В качестве влияющих факторов в первую очередь рассматривались цитогенетические данные (del(17p) как неблагоприятный фактор и трисомия 12 — как положительный), уровень β2-микроглобулина, мутационный статус. В нашем исследовании среди пациентов с мутированным статусом IGHV-генов МОБ-отрицательность достигнута у 39 %, что превышало показатель МОБ-отрицательности среди пациентов с отсутствием мутаций в IGHV-генах (34 %). Однако статистически значимых различий в эрадикации МОБ в группах больных с наличием или отсутствием мутаций в IGHV-генах не получено (p = 0,76).

При анализе прогностического значения МОБ было подтверждено положительное влияние элиминации опухолевого клона на ВБП (см. рис. 1). Статистически значимого влияния на ОВ за время наблюдения проследить не удалось. Учитывая то, что и в МОБ-отрицательной группе у части пациентов имело место прогрессирование заболевания, анализу подвергнуто влияние мутационного статуса на ВБП МОБ-отрицательных больных. Выяснилось, что МОБ-отрицательные пациенты с мутированным статусом IGHV-генов представляют группу с наилучшими показателями ВБП (см. рис. 5). У этих пациентов за время наблюдения не было неблагоприятных событий, в т. ч. у больных как с ПР, так и с ЧР.

Достижение МОБ-отрицательности после 6-го курса BR в группе пациентов с немутированным статусом не имело положительного влияния на ВБП, так же как и мутированный статус IGHV-генов у МОБ-положительных пациентов (см. рис. 5). Это соответствует литературным данным по анализу мутационного статуса и МОБ при ХЛЛ [25–27].

Таким образом, наши наблюдения показывают, что достижение МОБ-отрицательности не зависит от мутационного статуса IGHV-генов, однако лишь в группе пациентов с мутациями обнаруживается влияние на ВБП. У пациентов без мутаций IGHV-генов, хотя и достигается МОБ-отрицательность, по-видимому, она быстрее и утрачивается. Вероятно, эти пациенты нуждаются в новых подходах с использованием таргетной терапии, так же как и пациенты, не достигшие эрадикации МОБ после 6 курсов RB. Следовательно, МОБ-отрицательность не служит универсальным фактором прогноза, хотя и является положительным параметром. Этот вывод согласуется с литературными данными, полученными преимущественно по результатам использования схемы FCR при ХЛЛ [25–27].

При анализе выживаемости больных ХЛЛ, получавших FCR, появились данные о том, что пациенты, по разным причинам, в т. ч. из-за осложнений, не прошедшие полного курса терапии, но достигшие МОБ-отрицательности, имеют такие же показатели ВБП и ОВ, как и получившие полный курс [25, 27]. Это позволяет предположить, что у пациентов с МОБ-отрицательностью и ПР дальнейшее лечение может быть отменено, что дает возможность уменьшить токсические эффекты. Этот факт может иметь значение в клинической практике ведения больных ХЛЛ. Наши данные подтверждают, что пациенты с более быстрым достижением МОБ-отрицательности (после 3-го курса BR) представляют группу с благоприятным прогнозом, у которых немутированный статус IGHV-генов за период наблюдения не оказывал негативного влияния на выживаемость (см. рис. 6). Следовательно, можно предположить, что скорость достижения эрадикации МОБ при ХЛЛ коррелирует с глубиной ответа и является самостоятельным прогностическим признаком, как это наблюдается у пациентов с хроническим миелолейкозом [30].

Таким образом, по результатам оценки ВБП среди больных ХЛЛ, получавших схему BR в первой линии терапии, на основании МОБ-статуса и мутационного статуса было выделено две группы пациентов со статистически значимо лучшими результатами: достигшие МОБ-отрицательности после 3-го курса терапии и после 6-го курса с мутированным статусом IGHV-генов. Это может быть предпосылкой для более широкого использования в клинической практике данных показателей с целью индивидуализации терапии. Можно предположить, что пациенты, сохраняющие персистенцию МОБ после 3-го курса BR, нуждаются в смене схемы.

На сегодня имеются новые перспективные препараты для лечения ХЛЛ, в т. ч. ингибиторы тирозинкиназ (ибрутиниб, иделалисиб), анти-Bcl-2 препараты (венетоклакс). В настоящее время проводится ряд многоцентровых исследований по изучению эффективности комбинации ибрутиниба с химиотерапией и моноклональными антителами. В частности, в исследовании HELIOS зафиксировано преимущество

комбинации ибрутиниб + BR перед схемой BR у больных с резистентным течением и рецидивами ХЛЛ. У этой категории больных чаще достигалась МОБ-отрицательность, а показатели ВБП были лучше [31]. Ингибитор Bcl-2 венетоклакс показал свою эффективность при резистентности и рецидивах ХЛЛ в монорежиме и в сочетании с ритуксимабом, бендамустином, обинутузумабом. В частности, отмечалось достижение МОБ-отрицательности у 57 % пациентов с рефрактерностью и рецидивами при терапии венетоклаксом и ритуксимабом [32]. Достижение МОБ-отрицательности в этих случаях также коррелировало с лучшей ВБП [32–34].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на то что определение МОБ-статуса широко применяется в клинических исследованиях, до настоящего времени отсутствуют рекомендации по использованию этого фактора в клинической практике. Может ли стать достижение МОБ-отрицательности точкой окончания терапии? Следует ли добиваться МОБ-отрицательности, если она не достигнута после проведенного курса терапии с полным или частичным клиническим ответом?

Ответы на эти вопросы являются предметом исследований, результаты которых мы ожидаем в ближайшее время.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: Ю.В. Миролюбова, Е.А. Стадник, А.Ю. Зарицкий.
Сбор и обработка данных: Ю.В. Миролюбова, В.В. Стругов, Е.А. Стадник, Ю.В. Вирц, Т.О. Андреева.
Предоставление материалов исследования: Е.А. Стадник, Ю.В. Миролюбова, Т.С. Никулина, П.А. Бутылин, А.Г. Румянцев.
Анализ и интерпретация данных: Ю.В. Миролюбова, Е.А. Стадник.
Подготовка рукописи: Ю.В. Миролюбова, Е.А. Стадник.
Окончательное одобрение рукописи: А.Ю. Зарицкий.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность всем пациентам — участникам исследования, а также врачам-гематологам Л.В. Анчуковой, Е.Н. Бабич, Н.Б. Булиевой, Т.Е. Бялик, О.А. Васильевой, Е.М. Володичевой, А.Н. Гавриленко, Н.Н. Глониной, Д.А. Горностаеву, А.В. Губкину, И.Л. Давыдкину, Ж.А. Давыдовой, Н.Б. Есефьевой, В.А. Жеребцовой, К.Д. Капланову, Т.С. Капорской, Е.Г. Кирилловой, Т.С. Константиновой, Т.И. Ксензовой, Г.Б. Кучме, А.Б. Логинову, И.Б. Лысенко, В.Я. Мельниченко, А.А. Мясникову, Е.А. Османову, О.Е. Очировой, О.А. Рукавицыну, О.С. Самойловой, Т.М. Сычевой, А.В. Пройдакову, Т.В. Шелеховой, С.С. Шкляеву, А.Н. Унжековой.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. (eds) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th edition. Lyon: IARC Press; 2008.
2. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. Blood. 2016;127(20):2375–90. doi: 10.1182/blood-2016-01-643569.
3. Клинические рекомендации по обследованию и лечению больных хроническим лимфолейкозом. Под ред. И.В. Поддубной, В.Г. Савченко [электронный документ]. Доступно по: https://blood.ru/documents/clinical%20guidelines/26.%20klinicheskie-rekomendacii-2014-xll.pdf. Ссылка активна на 27.12.2017.
[Poddubnaya IV, Savchenko VG, eds. Clinical guidelines in examination and treatment of patients with chronic lymphocytic leukemia [Internet]. Available from: https://blood.ru/documents/clinical%20guidelines/26.%20klinicheskie-rekomendacii-2014-xll.pdf. (accessed 27.12.2017) (In Russ)]
4. Keating MJ, O'Brien S, Albitar M, et al. Early results of a chemoimmunotherapy regimen of fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab as initial therapy for chronic lymphocytic leukemia. J Clin Oncol. 2005;23(18):4079–88. doi: 10.1200/JCO.2005.12.051.
5. Eichhorst BF, Busch R, Hopfinger G, et al. Fludarabine plus cyclophosphamide versus fludarabine alone in first-line therapy of younger patients with chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2006;107(3):885–91. doi: 10.1182/blood-2005-06-2395.
6. Стадник Е.А., Никитин Е.А., Бидерман Б.В. и др. Ретроспективное сравнение эффективности и токсичности режимов лечения FC и FCR у первичных больных В-клеточным хроническим лимфолейкозом. Онкогематология. 2008;1–2:39–46.
[Stadnik EA, Nikitin EA, Biderman BV, et al. Comparison of efficacy and toxicity of FC and FCR regimens in the treatment of primary B-cell chronic lymphocytic leukemia: a retrospective study. Onkogematologiya. 2008;1–2:39–46. (In Russ)]
7. Vuillier F, Claisse JF, Vandenvelde C, et al. Evaluation of residual disease in B-cell chronic lymphocytic leukemia patients in clinical and bone-marrow remission using CD5-CD19 markers and PCR study of gene rearrangements. Leuk Lymphoma. 1992;7(3):195–204. doi: 10.3109/10428199209053623.
8. Lenormand B, Bizet M, Fruchart C, et al. Residual disease in B-cell chronic lymphocytic leukemia patients and prognostic value. Leukemia. 1994;8(6):1019–26.
9. Cabezudo E, Matutes E, Ramrattan M, et al. Analysis of residual disease in chronic lymphocytic leukemia by flow cytometry. Leukemia. 1997;11(11):1909–14. doi: 10.1038/sj.leu.2400835.
10. Rawstron AC, Villamor N, Ritgen M, et al. International standardized approach for flow cytometric residual disease monitoring in chronic lymphocytic leukaemia. Leukemia. 2007;21(5):956–64. doi: 10.1038/sj.leu.2404584.
11. Rawstron AC, Bottcher S, Letestu R, et al. Improving efficiency and sensitivity: European Research Initiative in CLL (ERIC) update on the international harmonised approach for flow cytometric residual disease monitoring in CLL. Leukemia. 2013;27(1):142–9. doi: 10.1038/leu.2012.216.
12. Rawstron AC, Fazi C, Agathangelidis A, et al. A complementary role of multiparameter flow cytometry and high-throughput sequencing for minimal residual disease detection in chronic lymphocytic leukemia: an European Research Initiative on CLL study. Leukemia. 2016;30(4):929–36. doi: 10.1038/leu.2015.313.
13. Луговская С.А., Почтарь М.Е., Наумова Е.В. Диагностика минимальной остаточной болезни при В-клеточном хроническом лимфолейкозе методом многопараметрической лазерной проточной цитофлюориметрии. Клиническая лабораторная диагностика. 2010;9:20–20а.
[Lugovskaya SA, Pochtar' ME, Naumova EV. Diagnosis of minimal residual diseases in B-cell chronic lympholeukemia by multiparametric laser flow cytofluorometry. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. 2010;9:20–20a. (In Russ)]
14. Stehlikova O, Chovancova J, Tichy B, et al. Detecting minimal residual disease in patients with chronic lymphocytic leukemia using 8-color flow cytometry protocol in routine hematological practice. Int J Lab Hematol. 2014;36(2):165–71. doi: 10.1111/ijlh.12149.
15. Bottcher S, Stilgenbauer S, Busch R, et al. Standardized MRD flow and ASO IGH RQ-PCR for MRD quantification in CLL patients after rituximab-containing immunochemotherapy: a comparative analysis. Leukemia. 2009;23(11):2007–17. doi: 10.1038/leu.2009.140.

16. Thompson PA, Wierda WG. Eliminating minimal residual disease as a therapeutic end point: working toward cure for patients with CLL. Blood. 2016;127(3):279–86. doi: 10.1182/blood-2015-08-634816.

17. Voena C, Ladetto M, Astolfi M, et al. A novel nested-PCR strategy for the detection of rearranged immunoglobulin heavy-chain genes in B cell tumors. Leukemia. 1997;11(10):1793–8. doi: 10.1038/sj.leu.2400801.

18. Logan AC, Zhang B, Narasimhan B, et al. Minimal residual disease quantification using consensus primers and high-throughput IGH sequencing predicts post-transplant relapse in chronic lymphocytic leukemia. Leukemia. 2013;27(8):1659–65. doi: 10.1038/leu.2013.52.

19. Pfitzner T, Engert A, Wittor H, et al. A real-time PCR assay for the quantification of residual malignant cells in B cell chronic lymphatic leukemia. Leukemia. 2000;14(4):754–66. doi: 10.1038/sj.leu.2401706.

20. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: A report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. Blood. 2008;111(12):5446–56. doi: 10.1182/blood-2007-06-093906.

21. EMA. Guideline on the use of minimal residue disease as an endpoint in chronic lymphocytic leukaemia studies [Internet]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2014/12/WC500179047.pdf. (accessed 27.12.2017).

22. Bottcher S, Ritgen M, Fischer K, et al. Minimal residual disease quantification is an independent predictor of progression-free and overall survival in chronic lymphocytic leukemia: a multivariate analysis from the randomized GCLLSG CLL8 trial. J Clin Oncol. 2012;30(9):980–8. doi: 10.1200/JCO.2011.36.9348.

23. Kovacs G, Robrecht S, Fink AM, et al. Minimal Residual Disease Assessment Improves Prediction of Outcome in Patients With Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) Who Achieve Partial Response: Comprehensive Analysis of Two Phase III Studies of the German CLL Study Group. J Clin Oncol. 2016;34(31):3758–65. doi: 10.1200/JCO.2016.67.1305.

24. Damle RN, Wasil T, Fais F, et al. IgV gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. Blood. 1999;94(6):1840–7.

25. Thompson PA, Tam CS, O'Brien SM, et al. Fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab treatment achieves long-term disease-free survival in IGHV-mutated chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2016;127(3):303–9. doi: 10.1182/blood-2015-09-667675.

26. Kwok M, Rawstron A, Varghese A, et al. Minimal residual disease is an independent predictor for 10-year survival in CLL. Blood. 2016;128(24):2770–3. doi: 10.1182/blood-2016-05-714162.

27. Strati P, Keating MJ, O'Brien SM, et al. Eradication of bone marrow minimal residual disease may prompt early treatment discontinuation in CLL. Blood. 2014;123(24):3727–32. doi: 10.1182/blood-2013-11-538116.

28. Стругов В.В., Стадник Е.А., Румянцев А.М. и др. Влияние мутационного статуса IGHV-генов и стереотипности строения BCR на эффективность режима BR в первой линии терапии хронического лимфолейкоза. Клиническая онкогематология. 2017;10(2):141–9. doi: 10.21320/2500-2139-2017-10-2-141-149.

[Strugov VV, Stadnik EA, Rumyantsev AM, et al. Effect of IGHV Gene Mutation Status and BCR Structure Stereotypy on Effectiveness of BR Regimen in First-Line Therapy of Chronic Lymphocytic Leukemia. Clinical oncohematology. 2017;10(2):141–9. doi: 10.21320/2500-2139-2017-10-2-141-149. (In Russ)]

29. Никитин Е.А., Стадник Е.А., Лорие Ю.Ю. и др. Прогностическое значение мутационного статуса генов вариабельного региона иммуноглобулинов у больных хроническим лимфолейкозом, получавших комбинированную терапию флударабином и циклофосфаном. Терапевтический архив. 2007;79(7):66–70.

[Nikitin EA, Stadnik EA, Lorie YuYu, et al. Prognostic significance of IGHV mutational status in chronic lymphocytic leukemia patients after combination therapy with fludarabine and cyclophosphan. Terapevticheskii arkhiv. 2007;79(7):66–70. (In Russ)]

30. Cross NCP, White HE, Colomer D, et al. Laboratory recommendations for scoring deep molecular responses following treatment for chronic myeloid leukemia. Leukemia. 2015;29(5):999–1003. doi: 10.1038/leu.2015.29.

31. Chanan-Khan A, Cramer P, Demirkan F, et al. Ibrutinib combined with bendamustine and rituximab compared with placebo, bendamustine, and rituximab for previously treated chronic lymphocytic leukaemia or small lymphocytic lymphoma (HELIOS): a randomised, double-blind, phase 3 study. Lancet Oncol. 2016;17(2):200–11. doi: 10.1016/S1470-2045(15)00465-9.

32. Seymour JF, Ma S, Brander DM, et al. Venetoclax plus rituximab in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukaemia: a phase 1b study. Lancet Oncol. 2017;18(2):230–40. doi: 10.1016/s1470-2045(17)30012-8.

33. Stilgenbauer S, Chyla B, Eichhorst B, et al. Venetoclax in relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia (CLL) with 17p deletion: outcome and minimal residual disease from the full population of the pivotal M13-982 trial. Eur Hematol Assoc. 2017: Abstract S771.

34. Stilgenbauer S, Morschhauser F, Wendtner C-M, et al. Phase Ib study (GO28440) of venetoclax with bendamustine/rituximab or bendamustine/obinutuzumab in patients with relapsed/refractory or previously untreated chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2016;128(22): Abstract 4393.