

High-risk chronic lymphocytic leukemia: history, definition, diagnosis, and management

E.A. Nikitin and A.B. Sudarikov

ABSTRACT

High-risk chronic lymphocytic leukemia (CLL) is a new term subject to continuous clarification that emerged in a fludarabine era. Clinical significance of high-risk CLL is explained by very poor prognosis compared to the remaining group of patients. The article presents a brief history and modern definition of this term, underlying molecular mechanisms of CLL, and treatment approaches.

Keywords: chronic lymphocytic leukemia, TP53 gene, 17p deletion, fludarabine.

Hematology Research Center, RF Ministry of Health, Moscow

Контакты: eugene_nikitin@mail.ru

Принято в печать: 29 января 2013 г.

Хронический лимфолейкоз высокого риска: история, определение, диагностика и лечение

E.A. Никитин, А.Б. Судариков

РЕФЕРАТ

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) высокого риска — новое и все более уточняемое понятие, которое появилось в эру флударабина. Клиническое значение ХЛЛ высокого риска объясняется очень плохим прогнозом по сравнению с остальной группой пациентов. В статье представлен краткий исторический обзор, а также современное определение этого понятия, рассматриваются молекулярные механизмы, лежащие в основе ХЛЛ высокого риска, а также подходы к терапии.

Ключевые слова:

хронический лимфолейкоз, ген *TP53*, делеция 17p, флударабин.

ВВЕДЕНИЕ

Выделение групп риска для выбора оптимальной терапии — центральная задача в онкологии. В подразделении пациентов на прогностические группы можно руководствоваться разными принципами: они не раз менялись в соответствии с развитием биологии и медицины. Но для подавляющего большинства опухолей кроветворной и лимфоидной тканей принципиальное значение имеет выделение истинных, биологически неодинаковых групп риска, поскольку именно такое подразделение служит основанием для разработки новых таргетных препаратов и их эффективного использования. С точки зрения практики стратификация пациентов на группы имеет смысл при наличии терапевтической альтернативы.

В лечении хронического лимфолейкоза (ХЛЛ) в последнее десятилетие, несомненно, достигнут значительный прогресс [1–3]. Благодаря применению комбинированных схем с флударабином и ритуксимабом улучшились все показатели эффективности и, главное, общей выживаемости (ОВ) [3–6]. Наряду с этим флударабин-

содержащие режимы поляризовали выборку больных ХЛЛ по прогнозу. В дофлударабиновую эру любые варианты лечения были одинаково малоэффективны. Полные ремиссии при ХЛЛ стало возможным получать только с появлением флударабина [7, 8]. Сегодня большинство пациентов достигают качественной ремиссии длительностью более 3–4 лет. У небольшой группы больных ХЛЛ наблюдается рефрактерность к терапии. Показатели выживаемости этих пациентов не изменились, несмотря на появление флударабина и моноклональных антител. Они соответствуют старой эре, когда любое лечение было малоэффективным. Проблема лечения группы больных ХЛЛ высокого риска или рефрактерного ХЛЛ в настоящее время представляется ключевой. Прежде всего, важно идентифицировать этих пациентов, выделить критерии, которые служили бы основанием для альтернативной терапии или включения в клинические исследования.

Общепринятых критериев ХЛЛ высокого риска до сих пор не существует. Термины «рефрактерный ХЛЛ» и «рефрактерность к флуда-

рабину» нередко используются как синонимы [9–14]. В действительности вариант лечения имеет значение, поскольку эффективность монотерапии флударабином существенно отличается от таковой у комбинации флударабина, циклофосфида и ритуксимаба (FCR). Мера селекции устойчивых субклонов ХЛЛ здесь различна, и поэтому последствия субоптимального ответа на эти варианты лечения неравнозначны: в случае устойчивости к флударабину можно ожидать противоопухолевый ответ при использовании иммунохимиотерапии, в то время как при рефрактерности к FCR успех любого другого лечения менее выражен [15–18]. Кроме того, важно, что терапевтический арсенал не исчерпывается флударабином. Список препаратов пополнился новыми лекарственными средствами — бендамустином, леналидомидом и офатумабом, которые доступны в России. Рефрактерность к этим препаратам, применяемым в монорежиме, также требует изучения. Ситуация еще более усложняется, если эти препараты используются в комбинации.

Клиническое значение рефрактерного ХЛЛ объясняется очень плохим прогнозом по сравнению с остальной группой больных. Медиана ОВ у больных с рефрактерностью к FCR составляет 1–2 года, по данным большинства исследований, несмотря на использование различных режимов «спасения» [16, 17].

В последние годы большое внимание уделяется критериям рефрактерности. Регуляторные организации США и Европы (Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США и Европейское агентство лекарственных средств) регистрируют новые препараты для этой особенной группы пациентов ХЛЛ на основании исследований только II фазы, т. е. нерандомизированных [16]. Это обусловлено необходимостью urgentной помощи этим больным, вопросами этики, а также сложностью проведения рандомизированных исследований, поскольку эта группа пациентов немногочисленна.

Настоящая статья посвящена постепенно формирующемуся и все более уточняемому понятию ХЛЛ высокого риска. Поскольку вопрос рефрактерности напрямую связан с вопросом оценки качества ответа, мы остановимся на истории развития критериев эффективности, современном определении ХЛЛ высокого риска, причинах рефрактерности и лечении этой группы больных.

ИСТОРИЯ ВОПРОСА

Разнообразие критериев ответа на терапию приводит к невозможности сравнения результатов разных исследований и не позволяет обеспечивать прогресс в лечении [19, 20]. Это ключевое положение лежит в основе многочисленных предложений по стандартизации критериев диагностики и ответа на терапию у больных ХЛЛ.

В 1978 г. группой авторов, работающих в рамках CALGB (Cancer and Leukemia Group B), были предложены рекомендации по проведению протокольных исследований [21]. В этих рекомендациях выделялись пять категорий ответа: полная ремиссия (ПР), частичная ремиссия (ЧР), клиническое улучшение, отсутствие ответа и прогрессия. Неудачный ответ констатировался в случае: 1) отсутствия улучшения в течение 3 мес. терапии; 2) необходимости в облучении локальных очагов болезни; 3) прогрессии, несмотря на увеличение дозы препарата;

4) токсичности препарата, не позволяющей использовать его в дальнейшем; 5) прогрессии опухоли. Как видно, эти рекомендации отражают терапевтические возможности того времени, когда ПР были недостижимы [22].

В рекомендациях рабочей группы 1988 г., спонсируемой Национальным институтом рака США (NCI), были скомпилированы различные критерии ответа, которые применялись в то время. Выделялись ПР, ЧР и прогрессия [23]. Отсутствие эффекта и рефрактерность относились к одной категории. В 1989 г. международной рабочей группой по ХЛЛ были предложены рекомендации для практического здравоохранения. В основу оценки ответа на лечение в этих рекомендациях положена смена стадий. Так, ЧР считали смену стадии В на А или С на В/А [24]. В 1996 г. рабочая группа, спонсируемая NCI, пересмотрела эти рекомендации [25]. К неудовлетворительному ответу на лечение был отнесен любой ответ хуже ПР, ЧР и частичной нодулярной ремиссии. Никаких комментариев в отношении длительности ответа и интенсивности лечения сделано не было. Рефрактерность констатировалась при невозможности достижения по крайней мере ЧР или при прогрессировании на фоне лечения.

В ключевом исследовании, посвященном рефрактерному к флударабину ХЛЛ, определение рефрактерности было дополнено временной составляющей. Рефрактерность определяется как невозможность достижения ПР или ЧР либо рецидив в течение 6 мес. от последнего введения флударабина [16]. В обзоре 2006 г. E. Montserat и соавт. следуют этому определению, а также дополняют его положением о том, что к этой категории должны относиться пациенты, у которых рецидив развился в течение 12 мес. после трансплантации стволовых кроветворных клеток [7]. Наконец, в самых последних международных рекомендациях 2008 г. рефрактерная болезнь определяется как отсутствие эффекта: 1) недостижение даже ЧР (стабилизация), 2) прогрессия во время лечения, 3) смерть по любой причине; или как прогрессия болезни в течение 6 мес. от последнего введения противоопухолевого препарата [26]. Это определение отличается от рекомендаций 1996 г., но частично соответствует дефиниции, которая применялась при исследовании ХЛЛ в эру хлорамбуцила и монотерапии флударабином [25]. Именно это определение общепринято и используется в большинстве клинических протоколов и в клинической практике. Кроме того, авторами рекомендаций 2008 г. введена категория «ХЛЛ высокого риска». К ней относятся пациенты, у которых оправдано рассматривать аллогенную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток [27].

Однако стандарты терапии уже изменились. Оптимальным выбором терапии первой линии у молодых пациентов с хорошим соматическим статусом является режим FCR. Как уже отмечалось, рефрактерность к FCR совсем не то, что рефрактерность к флударабину или хлорамбуцилу. При использовании хлорамбуцила частота общего ответа составляет 31–72 % (ПР 0–7 %), флударабина — 59–83 % (ПР 7–15 %), FC — 85 % (ПР 24–38 %), FCR — 90–95 % (ПР 44–50 %) [3, 6, 9–11, 28]. Иными словами, доля пациентов с рефрактерностью, соответствующей определению в рекомендациях 2008 г., снизилась примерно до 10 %. Не сужает ли это определение истинную выборку пациентов с рефрактерным ХЛЛ? Не слишком ли мала группа больных, у которых

Таблица 1. Частота неудовлетворительного ответа при использовании различных режимов первой линии терапии ХЛЛ (по данным клинических исследований)

Исследование	A	Clb	B	F	FC	FCR
UKCLL4 (<i>n</i> = 777) [9]		28 %		20 %	6 %	
Clb против B (<i>n</i> = 314) [34]		69 %	32 %			
CAM307 (<i>n</i> = 297) [35]	17 %	45 %				
GCLLSG CLL4 (<i>n</i> = 375) [10]				17 %	5 %	
ECOG (<i>n</i> = 278) [11]				41 %	26 %	
GCLLSG CLL8 (<i>n</i> = 817) [5]					20 %	10 %
MDAC (<i>n</i> = 300, без рандомизации) [4]						5 %

A — алемтузумаб; B — бендамустин; Clb — хлорамбуцил; F — флударабин; FC — флударабин, циклофосфамид; FCR — флударабин, циклофосфамид, ритуксимаб.

в первую очередь должны применяться новые таргетные препараты?

Ответ на FCR как способ стратификации больных

В табл. 1 показана частота неудовлетворительного ответа при использовании разных режимов лечения ХЛЛ. Рефрактерность чаще всего выявляется у больных, получавших F, реже — FC, еще реже FCR. Так, доля больных с отсутствием ответа в исследовании CLL8 снизилась с 20 % в группе FC до 10 % в группе FCR [3]. Формальных сравнений прогноза у больных с рефрактерностью к монотерапии флударабином, к режимам FC и FCR не опубликовано. Результаты ряда исследований свидетельствуют о том, что ранний рецидив после FCR означает очень плохой прогноз [4, 7, 12, 14, 17, 29–31]. Какое значение в этой рефрактерности имеет ритуксимаб? При высокоагрессивных лимфомах результаты лечения пациентов, у которых рецидивы развиваются после ритуксимаб-содержащих режимов, значительно хуже, чем у пациентов, которые исходно не получали ритуксимаб [32]. По данным исследования CLL8, исход у пациентов в группе FC, у которых наблюдалась рефрактерность к терапии и которые получали терапию второй линии, был лучше, чем у пациентов, которые исходно получали FCR [33].

В недавней работе M.D. Anderson Cancer Center (MDACC) проведен анализ эффективности FCR при рецидивах. Неудовлетворительный результат лечения наблюдался у больных с делецией 17p (медиана ОВ составила 10,5 мес.). У больных, которые получили более 3 вариантов терапии медиана ОВ составила 25 мес., а у пациентов с рефрактерностью к флударабину — 38 мес. В этой группе частота ПР составила 0–7 % [6].

По мере увеличения срока наблюдения за больными, получавшими FCR в первой линии, сообщается все больше данных о том, что у пациентов, не попадающих под

определение рефрактерности, но у которых рецидив развивается рано (в течение 24–36 мес.), прогноз неблагоприятный [17]. Результаты из MDACC свидетельствуют, что у больных, которые нуждаются в раннем повторном лечении после FCR, прогноз тоже неблагоприятный [5]. Медиана ОВ больных, нуждающихся в повторном лечении в течение 36 мес., составила менее 24 мес. от момента назначения терапии второй линии, что значительно меньше по сравнению с пациентами, которые получали лечение спустя более 3 лет. В исследовании также сравнивались результаты при использовании различных режимов второй линии. Из 300 пациентов, получавших исходно FCR 114 лечились по этой же программе при рецидивах. Противоопухолевый ответ был получен у 55 % больных. Важным предиктором ответа на режим FCR при рецидивах была эффективность FCR в первой линии: у больных с полной или полной нодулярной ремиссией исходно общий ответ составил 68–78 %, а у больных с исходно ЧР — 30–33 %.

В исследовании CLL8 три категории пациентов, получавших как FC, так и FCR, имели сходный неблагоприятный прогноз: пациенты с рефрактерным ХЛЛ (*n* = 50), пациенты с продолжительностью ремиссии 6–12 мес. (*n* = 42) и пациенты с продолжительностью ремиссии 12–24 мес. (*n* = 63). Медиана ОВ от момента назначения терапии второй линии в этих группах больных составила 21,9, 24,7 и 24,9 мес. соответственно [3, 14]. Таким образом, пациенты с продолжительностью ремиссии менее 24 мес. должны относиться к категории наивысшего риска.

Совокупность этих данных показывает, что FCR отдалает рецидив, но принципиально не преодолевает биологические свойства опухоли, а группа больных с рефрактерностью к флударабину шире.

**ПРЕДЛОЖЕНИЕ МЕЖДУНАРОДНОЙ ГРУППЫ ЭКСПЕРТОВ:
РАБОЧАЯ МОДЕЛЬ КАТЕГОРИЙ РИСКА**

В мае 2012 г. опубликовано предложение международной группы исследователей из Германии и США по стратификации больных ХЛЛ на три категории (табл. 2) [33]. В основу этого разграничения положена прогнозируемая эффективность режима FCR. Предлагаемые терапевтические подходы в этих группах больных основываются только на ретроспективных данных; их эффективность не подтверждена проспективными исследованиями. Данная стратификация может использоваться в будущих клинических исследованиях. Выделяют следующие категории: наивысшего риска, высокого риска, низкого риска.

К группе наивысшего риска относятся больные с делецией или мутациями *TP53*, пациенты с рефрактерностью к флударабину, а также больные, у которых

Таблица 2. Стратификация больных ХЛЛ и выбор терапии. Предложения международной группы экспертов

Группы риска	Определение	Выбор терапии
Наивысший риск	Рефрактерность к флударабину Ранний (< 24 мес.) рецидив после FCR и подобных режимов Делеция/мутация <i>TP53</i> с показаниями к терапии	Индукция ремиссии — новые препараты/алемтузумаб (Кэмпас) Консолидация — аллоТГСК Поддерживающая терапия (клинические исследования)
Высокий риск	ХЛЛ без мутаций варибельного региона IgH; делеция 11q, высокий уровень $\beta 2$ -микроглобулина, отсутствие признаков ХЛЛ наивысшего риска	FCR + новый препарат (в индукции/поддерживающей терапии)
Низкий риск	Ничто из перечисленного выше, отсутствие терапии в анамнезе	FCR, можно рассматривать деэскалацию терапии, возможно, на основании МОБ

аллоТГСК — аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; МОБ — минимальная остаточная болезнь.

длительность ремиссии после терапии FCR составляет менее 24 мес. Маловероятно, что лечение FCR даст в этой группе приемлемый ответ, адекватное число ПР и длительную выживаемость (см. табл. 1). Эти пациенты являются кандидатами на применение препаратов с известной активностью в отношении клеток с утратой или мутациями *TP53*, новых препаратов с иным механизмом действия, а вне клинических исследований — трансплантации аллогенных стволовых гемопоэтических клеток. Методика и время проведения трансплантации не тестировались в клинических исследованиях, но опубликован консенсус — рекомендации рабочей группы по ХЛЛ Европейского регистра по трансплантации костного мозга [27].

Ко второй группе высокого риска относятся пациенты, у которых рецидив после FCR происходит сравнительно рано, хотя они не входят в группу наивысшего риска. В эту категорию попадают пациенты с высоким уровнем $\beta 2$ -микроглобулина или тимидинкиназы, с вариантом ХЛЛ без мутаций варибельного региона иммуноглобулинов, с делецией 11q. Теперь доказано, что добавление ритуксимаба к FC в этой группе пациентов приводит к улучшению ответа, показателей ОВ и выживаемости без прогрессирования (ВБП) [3, 13]. В этой группе наиболее оправдано применение новых препаратов и поддерживающей терапии.

Наконец, к группе низкого риска относятся пациенты без делеций 17p и 11q, без мутаций *TP53*, с вариантом ХЛЛ с мутациями варибельного региона иммуноглобулинов, с низким уровнем $\beta 2$ -микроглобулина. В этой группе больных прогноз наиболее благоприятен и можно рассматривать сокращение объема терапии.

Таким образом, к ХЛЛ наивысшего риска относятся три категории больных:

- пациенты с делецией 17p или мутациями гена *TP53* при наличии показаний к началу терапии;
- ХЛЛ, рефрактерный к флударабину (эффект менее ЧР, рецидив в течение 6 мес. от последнего введения препарата);
- прогрессия на фоне лечения или рецидив, развившийся в течение 24 мес. от начала комбинированной иммунохимиотерапии (режимы FR, FCR, FMCR, BR).

Констатация рефрактерности после FC без ритуксимаба, по-видимому, также возможна при наступлении рецидива в течение 24 мес. На наш взгляд, к этому определению следует добавить фактор адекватности терапии: ранний рецидив после режима FCR, проведенного с неоправданным, необусловленным токсичностью сокращением числа курсов и доз препаратов, не означает плохого

прогноза. В этом случае можно получить ремиссию при проведении терапии в адекватном объеме.

Под рецидивом понимается возврат болезни с характеристиками к началу лечения. Динамика роста опухолевого клона ХЛЛ до показаний к терапии различна. Это относится как к первичным, так и больным с рецидивами. Прогноз неблагоприятный в том случае, если речь идет о раннем развернутом рецидиве.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ, ЛЕЖАЩИЕ В ОСНОВЕ ХЛЛ ВЫСОКОГО РИСКА

Четкие представления о причинах рефрактерности и ее молекулярных маркерах позволили бы предельно точно выделять соответствующие прогностические группы больных до начала терапии. К сожалению, молекулярные маркеры не до конца определены. Более всего изучена и доказана связь между рефрактерностью и делецией 17p. Неблагоприятное прогностическое значение делеции 17p хорошо показано и было подтверждено в проспективных исследованиях [3, 9, 10, 36, 37]. В последние годы получено значительно больше данных о роли мутаций *TP53*. У части больных В-ХЛЛ выявляются только мутации *TP53*, без делеции. В работах T. Zenz и соавт. [38, 39], D. Rossi и соавт. [40] было показано, что мутации *TP53* также связаны с неблагоприятным прогнозом. В исследовании чешских авторов продемонстрировано, что мутации выявляются не реже делеций: авторы обнаружили только мутации у 20 (5%) из 400 больных [41]. Выявление мутаций *TP53* так же важно, как обнаружение делеций. В этом номере журнала «Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика» представлен отечественный опыт по исследованию мутаций *TP53*.

Во всех клиниках, где больным ХЛЛ может быть предложено альтернативное лечение, необходим рутинный скрининг на мутации *TP53* перед началом терапии. Недавно были опубликованы рекомендации по исследованию мутаций *TP53* у больных ХЛЛ [42]. Существует множество методов идентификации мутаций. Важно, что результат выявления мутаций гена *TP53* принципиально зависит от процента клеток ХЛЛ в крови. Если доля лейкозных клеток в крови менее 50%, предпочтительнее исследовать костный мозг или лимфоузел, особенно при использовании прямого секвенирования по Сэнгеру. Альтернативно можно проводить селекцию клеток CD19+. Преимущества и недостатки различных методов выявления мутаций представлены в табл. 3.

Таблица 3. Преимущества и недостатки различных методов выявления мутаций гена *TP53*

Метод	Преимущества	Недостатки
Прямое секвенирование геномной ДНК или комплементарной ДНК по Сэнгеру	Непосредственная информация о типе и локализации мутаций	Низкая чувствительность (не менее 25% мутантных аллелей в образце)
Жидкостная хроматография и анализ конформационного полиморфизма одноцепочечных фрагментов ДНК	Скорость, простота, экономичность, сравнительно высокая чувствительность	Не предоставляет данные о конкретных мутациях
Функциональный анализ раздельных аллелей в дрожжах	Скорость, дешевизна, отсутствие необходимости в специальном оборудовании, высокая чувствительность (метод позволяет выявить мутации, если 10% копий ДНК в образце содержат их)	Не предоставляет данные о конкретных мутациях; не позволяет выявлять мутации, ведущие к нонсенс-зависимой деградации РНК
Биочипы: GeneChip arrays, p53 Amplichip	Высокая чувствительность, точные данные о мутации	Необходимость в специальном оборудовании

При использовании скрининговых методов (анализ конформационного полиморфизма одноцепочечных фрагментов ДНК, жидкостная хроматография, функциональный анализ отдельных аллелей *TP53* в дрожжах) рекомендуется проводить секвенирование для подтверждения мутаций, поскольку в скрининговых методах возможны артефакты. Рекомендуется секвенировать экзоны с 4-го по 9-й, поскольку 95 % мутаций расположены в этом районе. Анализ 268 мутаций *TP53*, обнаруженных при ХЛЛ показал, что мутации никогда не выявлялись в экзонах 2, 3 и 11. На экзон 10 приходится 4 % всех мутаций. (Все праймеры и реакции можно найти на сайте: www-r53.iarc.fr.) Для центров, начинающих работать с *TP53*, прямое секвенирование по Сэнгеру — метод выбора, поскольку это относительно простой метод, доступный в большинстве лабораторий. Секвенирование необходимо проводить с прямого и обратного праймеров, в каждом случае дважды.

Делеция 17p и мутации *TP53* обнаруживаются только у 50 % больных с рефрактерностью к FCR. Каковы же причины рефрактерности у другой половины пациентов? В части случаев они могут быть связаны с нарушениями других генов пути p53, но не все случаи рефрактерности объясняются дефектами генов, активируемых в ответ на повреждение ДНК [43]. Так, дефекты гена *ATM* не четко коррелируют с рефрактерностью. Недавно были описаны мутации генов *SF3B1*, *NOTCH1* и *BIRC3*, которые также могут быть связаны с рефрактерностью [44–48].

В заключение следует отметить, что молекулярных маркеров, которые бы ассоциировались с рефрактерностью в 100 % случаев, нет. Тем не менее скрининг на делецию 17p и мутации *TP53* позволяет идентифицировать группу больных с высокой вероятной рефрактерностью. Проведение альтернативной терапии этим пациентам в первой линии значительно повышает вероятность достижения долгосрочной ремиссии.

ЛЕЧЕНИЕ ХЛЛ ВЫСОКОГО РИСКА

Терапевтический выбор у больных с делецией 17p и рефрактерностью к флударабину в России невелик. В мире используется множество новых препаратов, но мы сконцентрировались в данном обзоре только на тех средствах, которые доступны в Российской Федерации.

У пациентов с делецией 17p/мутациями *TP53* и самыми начальными стадиями, без показаний к терапии ХЛЛ может не иметь прогрессирующего течения довольно долго [49]. Нередко в таких случаях обнаруживается вариант с мутациями генов варибельного региона иммуноглобулинов. Преждевременное назначение терапии не приносит этим пациентам никакой выгоды и может,

наоборот, выступать в роли фактора, способствующего появлению рефрактерных клонов опухолевых клеток. В назначении терапии в таких случаях руководствуются теми же принципами, что и во всей группе больных: лечение начинают при наличии стандартных показаний к нему. По этой причине не оправдано определять делецию 17p или мутации *TP53* у больных без показаний к терапии. Завершенное недавно, но еще не опубликованное исследование германской группы CLL7 позволит определить оптимальную тактику ведения этих больных.

При наличии показаний к началу терапии выбор зависит от возможности проведения аллогенной трансплантации костного мозга. Если по совокупности медицинских и социальных факторов пациенту может быть выполнена аллогенная трансплантация, необходимо обсудить режим индукции ремиссии и дальнейшую терапию со специализированным центром. P. Dreger и соавт. опубликовали долгосрочные результаты исследования CLL3X, в котором изучалась трансплантация с немиелоаблативным режимом кондиционирования [50]. В кондиционировании использовали флударабин и циклофосфамид. В исследование было включено 100 больных, 90 пациентам проведена аллогенная трансплантация костного мозга. При медиане срока наблюдения 46 мес. 4-летняя ОВ составила 65 %, бессобытийная — 42 %. Летальность без учета рецидивов составила 23 %. Бессобытийная выживаемость существенно не отличалась у больных с делецией 17p и у пациентов без этого генетического нарушения. Этот результат говорит сам за себя. Без трансплантации большинство пациентов этой группы погибают в течение 2 лет.

К сожалению, в нашей стране аллогенная трансплантация может быть предложена единичным пациентам. В качестве альтернативных вариантов лечения можно рассматривать монотерапию алемтузумабом, моноклональные антитела в сочетании с кортикостероидами, иммунохимиотерапию.

Алемтузумаб

Алемтузумаб наиболее изучен и, по-видимому, наиболее эффективен у больных с рефрактерностью к флударабину. Исследования, посвященные алемтузумабу в группе больных с рефрактерностью к флударабину, суммированы в табл. 4. M. Keating и соавт. проведено крупное международное исследование, в которое было включено 93 пациента с рефрактерностью к флударабину [16]. Алемтузумаб назначался в дозе 30 мг 3 раза в неделю в течение 12 нед. Медианы ОВ и ВВП составили 16 и 4,7 мес. во всей группе больных и 32 и 16,5 мес. в подгруппе пациентов с благоприятным ответом соответственно.

Таблица 4. Клинические исследования алемтузумаба у больных с рефрактерным ХЛЛ

Исследование	Схема	Число больных	РФ, %	ПР, %	ОО, %	ОО у больных с РФ, %
M. Keating et al., 2002 [16]	Алемтузумаб 30 мг в/в 3 раза в неделю 12 нед.	93	48	2	33	29
K. Rai et al., 2002 [53]	Алемтузумаб 30 мг в/в 3 раза в неделю 16 нед.	24	71	0	33	29
A. Ferrajoli et al., 2003 [54]	Алемтузумаб 30 мг в/в 3 раза в неделю 12 нед.	42	55	5	31	26
P. Moreton et al., 2005 [55]	Алемтузумаб 30 мг в/в 3 раза в неделю до максимального ответа	91	48	36	55	50
A. Cortelezzi et al., 2005 [56]	Алемтузумаб 10 мг п/к 3 раза в неделю до 18 нед.	16	88	25	50	50
S. Stilgenbauer et al., 2009 [51]	Алемтузумаб 30 мг п/к 3 раза в неделю до 18 нед.	103	100	4	34	39

ОО — общий ответ; ПР — полная ремиссия; РФ — рефрактерность.

В связи с высокой токсичностью в/в инъекций алемтузумаба была разработана подкожная форма препарата. Мы остановимся на 3 исследованиях, в которых алемтузумаб назначался подкожно. Мы выбрали эти исследования и потому, что в них представлены данные по делеции 17p.

В исследование германской группы CLL2H включено 103 ранее получавших лечение больных [51]. У 31 пациента обнаружена делеция 17p. Алемтузумаб назначался в виде п/к инъекций по 30 мг 3 раза в неделю. Общий ответ составил 34 % (4 % больных достигли ПР). В группе больных с делецией 17p положительный ответ был получен у 39 %. Медианы ВВП и ОВ в группе с делецией 17p составили 5,8 и 18,3 мес. соответственно по сравнению с 7,7 и 19,1 мес. во всей группе больных.

Большое международное исследование САМ307 было посвящено сравнению монотерапии алемтузумабом и хлорамбуцилом [35]. Делеция 17p была выявлена у 11 пациентов, рандомизированных на введение алемтузумаба. ПР и ЧР в этой группе были получены у 7 (64 %) больных, а медиана ВВП составила 10,7 мес. Эти результаты сопоставимы с эффективностью алемтузумаба в группе пациентов без делеции 17p. Иными словами, делеция 17p не является фактором неблагоприятного прогноза у больных, получающих алемтузумаб. В группе хлорамбуцила делеция 17p была выявлена у 10 больных. ЧР были получены только у 2 пациентов, а медиана ВВП составила 2,2 мес.

Эти данные были подтверждены в ретроспективной работе чешских исследователей. В исследование было включено 105 пациентов с рецидивами ХЛЛ, получавших монотерапию алемтузумабом. Общий ответ составил 43 %, ПР были получены у 4 % больных. В группе больных с делецией 17p ($n = 35$) общий ответ составил 49 %. Данное исследование интересно и тем, что авторы проводят связь между эффективностью терапии и количеством алемтузумаба на курс лечения. У больных, получивших менее 500 мг препарата, общий ответ был 29 %, в то время как у пациентов, получивших более 500 мг, общий ответ составил 62 %. Медиана ВВП у больных с делецией 17p и без нее была одинаковой (7 мес.). Медиана ОВ составила 32,8 мес. во всей выборке больных и 19,1 мес. у больных с делецией 17p. Таким образом, срок применения и суммарная доза алемтузумаба при назначении его в монорежиме имеют большое значение.

Эффективность офатумумаба также была продемонстрирована в нескольких клинических исследованиях. Офатумумаб — полностью гуманизированное антитело, которое также связывается с CD20, но с другим эпитопом. Офатумумаб не считается биологическим эквивалентом ритуксимаба. В исследовании W. Wierda и соавт. было включено 206 больных. У всех пациентов имелась рефрактерность к флударабину. Общий ответ на лечение составил 47 %, медиана ВВП — 5,5 мес., медиана ОВ — 16,3 мес. [57].

Высокие дозы кортикостероидов в сочетании с моноклональными антителами

Эффективность высоких доз метилпреднизолона в лечении рефрактерного ХЛЛ известна с 1990-х годов [58–60].

J. Castro и соавт. представили результаты исследования высоких доз метилпреднизолона в комбинации с ритуксимабом [61]. Метилпреднизолон назначался в дозе

1 г/м²/сут в течение 5 дней, ритуксимаб — в дозе 375 мг/м² 1 раз в неделю 4 раза. У пациентов с рефрактерностью к флударабину ($n = 14$) общий ответ составил 93 % (36 % больных достигли ПР). В ретроспективном исследовании из клиники Мейо высокие дозы метилпреднизолона в сочетании с ритуксимабом получало 37 больных [62]. Общий ответ на лечение составил 78 % (22 % больных достигли ПР). Из 9 пациентов с делецией 17p положительный ответ на лечение наблюдался у 5. В исследование R. Pileckyte и соавт. [63] было включено 29 больных с неблагоприятными цитогенетическими aberrациями и рефрактерностью к флударабину. Метилпреднизолон назначался в дозе 1 г/м²/сут в течение 5 дней, а ритуксимаб — в 1-й и 5-й дни цикла. Циклы повторялись каждые 3 нед. Общий ответ на лечение составил 62 %. В группе больных с делецией 17p положительный ответ был получен у 69 % человек.

Эффективность комбинации высоких доз кортикостероидов с алемтузумабом (режим CamPred) впервые была продемонстрирована A. Pettitt и соавт. у 5 пациентов, четверо из которых имели делецию 17p [64].

Большое исследование по изучению комбинации высоких доз дексаметазона в сочетании с алемтузумабом было проведено группой ученых из Германии и Франции [65]. Алемтузумаб назначался п/к по 30 мг 3 раза в неделю в течение 4 нед. Дексаметазон назначался в дозе 40 мг с 1-го по 4-й и с 15-го по 18-й дни цикла. Пэгфилграстим в дозе 6 мг вводился в 1-й и 15-й дни цикла. В случае достижения ПР или ЧР к 4-й или 8-й неделе или стабилизации к 12-й неделе пациенты получали либо поддерживающую терапию алемтузумабом в дозе 30 мг каждые 2 нед. в течение 2 лет, либо аллогенную трансплантацию костного мозга. Выбор тактики после фазы индукции ремиссии определялся врачом. Всего включено 124 больных из 26 центров. У 55 пациентов была рефрактерность к флударабину. Все пациенты без рефрактерности имели делецию 17p. На момент публикации данные по эффективности имеются для 87 пациентов. Общий ответ в группе первичных пациентов с делецией 17p составил 97 % (20 % пациентов достигли ПР). У больных с рецидивом ХЛЛ и делецией 17p общий ответ составил 76 %, ПР не было. Наконец, в группе больных с рефрактерностью к флударабину общий ответ был 70 % (5 % больных достигли ПР). Медиана ВВП в этих группах больных составила 16,9, 10,4 и 8,4 мес. соответственно. В фазе индукции анемия III–IV степени наблюдалась у 28 % больных, нейтропения — у 47 % и тромбоцитопения — у 44 %. Клинически манифестная цитомегаловирусная инфекция развилась у 29 % первичных больных с делецией 17p, у 15 % больных с рецидивами и делецией 17p и у 56 % больных с рефрактерностью к флударабину. Несмотря на высокую токсичность, это лучший результат, полученный на большой выборке больных с рефрактерностью к флударабину и делецией 17p.

J. Castro и соавт. [66] изучали комбинацию офатумумаба с высокими дозами кортикостероидов. В исследование включено 8 пациентов с предшествующим лечением, у 4 из них получена ЧР.

Иммунохимиотерапия

Эффективность различных режимов иммунохимиотерапии у больных с рефрактерным ХЛЛ представлена в табл. 5. У пациентов, получавших ранее флударабин или FC, можно использовать режим FCR, но при возникшей рефрактерности продолжительный эффект маловероятен.

Таблица 5. Эффективность флударабин-содержащих режимов у больных ХЛЛ с рефрактерностью к флударабину (избранные исследования)

Исследование	Режим	Число больных	РФ, %	ПР, %	ОО, %	ОО у больных с РФ, %
W. Wierda et al., 2005 [69]	Флударабин 25 мг/м ² в/в во 2–4-й день Циклофосфамид 250 мг/м ² в/в во 2–4-й день Ритуксимаб 375–500 мг/м ² в/в в 1-й день	177	21	25	73	59
X. Badoux et al., 2011 [67]	Циклофосфамид 250 мг/м ² в/в в 3–5-й день Флударабин 25 мг/м ² в/в в 3–5-й день Алемтузумаб 30 мг в/в в 1, 3 и 5-й дни Ритуксимаб 375–500 мг/м ² в/в во 2-й день	80	43	29	65	51
F. Bosch et al., 2002 [70]	Флударабин 25 мг/м ² в/в в 1–3-й день Циклофосфамид 200 мг/м ² в/в в 1–3-й день или 600 мг/м ² в/в в 1-й день Митоксантрон 6 или 8 мг/м ² в/в в 1-й день	60	58	50	78	34
T. Elter et al., 2005 [71]	Флударабин 30 мг/м ² в/в в 1–3-й день Алемтузумаб 30 мг в/в в 1–3-й день	36	33	30	83	66
A. Tsimberidou et al., 2008 [72]	Оксалиплатин 17,5, 20 или 25 мг/м ² в/в в 1–4-й день Флударабин 30 мг/м ² в/в во 2-й и 3-й дни Цитарабин 1000 мг/м ² в/в во 2-й и 3-й дни Ритуксимаб 375 мг/м ² в/в в 1-й день	50	60	12	40	33
F. Mauro et al., 2002 [73]	Флударабин 25 мг/м ² в/в в 1–3-й день Цитарабин 1000 мг/м ² в/в в 1–2-й день Митоксантрон 10 мг/м ² в/в в 1-й день Дексаметазон 20 мг в/в в 1–3-й день	31	45	58	81	50

ОО — общий ответ; ПР — полная ремиссия; РФ — рефрактерность.

Сочетание этих режимов с алемтузумабом увеличивает токсичность, но не приводит к повышению выживаемости.

Х. Badoux и соавт. исследовали режим CFAR (циклофосфамид, флударабин, алемтузумаб, ритуксимаб) [67]. В исследование было включено 80 больных с рецидивами и рефрактерностью к флударабину. Общий ответ составил 65 % (у 29 % больных была получена ПР). Несмотря на то что частота ремиссий была выше, чем при использовании FCR, добавление алемтузумаба не привело к увеличению выживаемости. Медиана ВБП составила 10,6 мес., медиана ОВ — 16,7 мес. Режим CFAR более токсичен: инфекционные осложнения наблюдались у 37 (46 %) больных, тяжелые инфекции — у 28 %.

Режим OFAR (оксалиплатин, флударабин, цитарабин, ритуксимаб) также сопровождается высокой токсичностью. В исследование А. Tsimberidou и соавт. [68] было включено 50 больных, из которых 20 имели синдром Рихтера и 30 — рефрактерный ХЛЛ. Положительный ответ был получен у 50 % пациентов с синдромом Рихтера и у 33 % — с рефрактерностью к флударабину. Медиана продолжительности ответа составила 10 мес.

Ф. Мауро и соавт. [73] изучали комбинацию флударабина, цитарабина, митоксантрона и дексаметазона. В исследование включен 31 больной, в т. ч. 14 пациентов с рефрактерностью к флударабину. Общий ответ у больных с рефрактерным ХЛЛ составил 50 % (29 % больных достигли ПР).

Т. Elter и соавт. [71] изучали комбинацию флударабина и алемтузумаба (FluSam) у больных с рецидивами и рефрактерностью. В исследование был включен 31 больной. Общий ответ на лечение составил 83 %. ПР были получены у 11 больных, ЧР — у 19, у 1 пациента наблюдалась стабилизация заболевания и у 5 — прогрессия.

Леналидомид

Определенной эффективностью у больных с рефрактерным ХЛЛ обладает леналидомид. В исследование А. Ferrajoli и соавт. [74] было включено 44 пациента. ЧР

при монотерапии леналидомидом была получена у 31 % больных с делецией 17p и 25 % больных с рефрактерностью к флударабину.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ХЛЛ наивысшего риска — проблема, в которой тесно переплетаются медицинские и социальные факторы. Выявление этих пациентов требует генетического тестирования, которое доступно пока в единичных крупных центрах. Препараты, которые могут применяться в этой группе больных, ограничены. Все эффективные режимы вызывают глубокую иммуносупрессию, поэтому лечение этих пациентов требует значительных усилий и дорогостоящей сопроводительной терапии. Однако создать рефрактерность, назначив пациенту с делецией/мутацией *TP53* флударабин-содержащий режим, — означает резко снизить шансы на достижение долгосрочной ремиссии. Исследование S. Stilgenbauer и соавт. [65] убеждает в том, что альтернативное лечение существует. Алемтузумаб в России в настоящее время доступен только в рамках благотворительной программы компании Sanofi. Учитывая срок доставки алемтузумаба в Россию, крупным региональным больницам может быть целесообразно предусматривать предварительный заказ алемтузумаба заранее на нескольких больных в год. Молодых пациентов с благоприятным соматическим статусом лучше направлять в крупные центры, где им может быть проведено генетическое тестирование на маркеры неблагоприятного прогноза.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Никитин Е.А. подтверждает получение гранта от фармацевтической компании ЗАО «Рош–Москва» на проведение исследований по ХЛЛ, а также грант на стажировку за рубежом. Судариков А.Б. подтверждает отсутствие скрытых конфликтов интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Montserrat E. CLL therapy: progress at last! *Blood*. 2005; 105: 2–3.
2. Byrd J.C., Stilgenbauer S., Flinn I.W. Chronic lymphocytic leukemia. In: *Hematology 2004: American Society of Hematology Education Program Book*. Washington, DC: American Society of Hematology, 2004: 163–83.
3. Hallek M., Fischer K., Fingerle-Rowson G. et al. Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet* 2010; 376(9747): 1164–74.
4. Keating M.J., 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.
5. Tam C.S., O'Brien S., Wierda W. et al. Long-term results of the fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab regimen as initial therapy of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2008; 112(4): 975–80.
6. Badoux X.C., Keating M.J., Wang X. et al. Fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab chemoimmunotherapy is highly effective treatment for relapsed patients with CLL. *Blood* 2011; 117(11): 3016–24.
7. Montserrat E., Moreno C., Esteve J. et al. How I treat refractory CLL. *Blood* 2006; 107(4): 1276–83.
8. Gribben J.G. How I treat CLL up front. *Blood* 2010; 115(2): 187–97.
9. Catovsky D., Richards S., Matutes E. et al. Assessment of fludarabine plus cyclophosphamide for patients with chronic lymphocytic leukaemia (the LRF CLL4 Trial): a randomised controlled trial. *Lancet* 2007; 370(9583): 230–9.
10. Eichhorst B.F., 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.
11. Flinn I.W., Neuberg D.S., Grever M.R. et al. Phase III trial of fludarabine plus cyclophosphamide compared with fludarabine for patients with previously untreated chronic lymphocytic leukemia: US Intergroup Trial E2997. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25(7): 793–8.
12. Dreger P., Dohner H., Ritgen M. et al. Allogeneic stem cell transplantation provides durable disease control in poor-risk chronic lymphocytic leukemia: long-term clinical and MRD results of the German CLL Study Group CLL3X trial. *Blood* 2010; 116(14): 2438–47.
13. Stilgenbauer S., Zenz T., Winkler D. et al. Genomic aberrations, VH mutation status and outcome after fludarabine and cyclophosphamide (FC) or FC plus rituximab (FCR) in the CLL8 trial [abstract]. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2008; 112(11): 781.
14. Zenz T., Busch R., Fink A. et al. Genetics of patients with F-refractory CLL or early relapse after FC or FCR: results from the CLL8 Trial of the GCLLSG [abstract]. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2010; 116(21): 2427.
15. Tsimberidou A.M., Keating M.J. Treatment of fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 2009; 115(13): 2824–36.
16. Keating M.J., Flinn I., Jain V. et al. Therapeutic role of alemtuzumab (Campath-1H) in patients who have failed fludarabine: results of a large international study. *Blood* 2002; 99(10): 3554–61.
17. Stilgenbauer S., Zenz T. Understanding and managing ultra high-risk chronic lymphocytic leukemia [abstract]. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 2010; 2010: 481–8.
18. Wierda W.G., Kipps T.J., Mayer J. et al. Ofatumumab as single-agent CD20 immunotherapy in fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28(10): 1749–55.
19. Rai K.R., Sawitsky A., Cronkite E.P. et al. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1975; 46(2): 219–34.
20. Binet J.L., Auquier A., Dighiero G. et al. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer* 1981; 48(1): 198–206.
21. Silver R.T., Sawitsky A., Rai K., Holland J.F., Glidewell O. Guidelines for protocol studies in chronic lymphocytic leukemia. *Am. J. Hematol.* 1978; 4(4): 343–58.
22. Sawitsky A., Rai K.R., Glidewell O., Silver R.T. Comparison of daily versus intermittent chlorambucil and prednisone therapy in the treatment of patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1977; 50(6): 1049–59.
23. Cheson B.D., Bennett J.M., Rai K.R. et al. Guidelines for clinical protocols for chronic lymphocytic leukemia: recommendations of the National Cancer Institute-sponsored working group. *Am. J. Hematol.* 1988; 29(3): 152–63.
24. International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia. Chronic lymphocytic leukemia: recommendations for diagnosis, staging, and response criteria. *Ann. Intern. Med.* 1989; 110(3): 236–8.
25. Cheson B.D., Bennett J.M., Grever M. et al. National Cancer Institute-sponsored Working Group guidelines for chronic lymphocytic leukemia: revised guidelines for diagnosis and treatment. *Blood* 1996; 87(12): 4990–7.
26. Hallek M., Cheson B.D., 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.
27. Dreger P., Corradini P., Kimby E. et al. Indications for allogeneic stem cell transplantation in chronic lymphocytic leukemia: the EBMT transplant consensus. *Leukemia* 2007; 21(1): 12–7.
28. Eichhorst B.F., Busch R., Stilgenbauer S. et al. First-line therapy with fludarabine compared with chlorambucil does not result in a major benefit for elderly patients with advanced chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2009; 114(16): 3382–91.
29. Oscier D., Wade R., Davis Z. et al. Prognostic factors identified three risk groups in the LRF CLL4 trial, independent of treatment allocation. *Haematologica* 2010; 95(10): 1705–12.
30. Lin K.I., Tam C.S., Keating M.J. et al. Relevance of the immunoglobulin VH somatic mutation status in patients with chronic lymphocytic leukemia treated with fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab (FCR) or related chemoimmunotherapy regimens. *Blood* 2009; 113(14): 3168–71.
31. Abrisqueta P., Pereira A., Rozman C. et al. Improving survival in patients with chronic lymphocytic leukemia (1980–2008): the Hospital Clinic of Barcelona experience. *Blood* 2009; 114(10): 2044–50.
32. Gisselbrecht C., Glass B., Mounier N. et al. Salvage regimens with autologous transplantation for relapsed large B-cell lymphoma in the rituximab era. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28(27): 4184–90.
33. Zenz T., Gribben J.G., Hallek M. et al. Risk categories and refractory CLL in the era of chemoimmunotherapy. *Blood*. 2012; 119(18): 4101–7.
34. Knauf W.U., Lissichkov T., Aldaoud A. et al. Phase III randomized study of bendamustine compared with chlorambucil in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27(26): 4378–84.
35. Hillmen P., Skotnicki A.B., Robak T. et al. Alemtuzumab compared with chlorambucil as first-line therapy for chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25(35): 5616–23.
36. Grever M.R., Lucas D.M., Dewald G.W. et al. Comprehensive assessment of genetic and molecular features predicting outcome in patients with chronic lymphocytic leukemia: results from the US Intergroup Phase III Trial E2997. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25(7): 799–804.
37. Dohner H., Fischer K., Bentz M. et al. p53 gene deletion predicts for poor survival and non-response to therapy with purine analogs in chronic B-cell leukemias. *Blood* 1995; 85(6): 1580–9.
38. Zenz T., Habe S., Denzel T. et al. Detailed analysis of p53 pathway defects in fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia (CLL): dissecting the contribution of 17p deletion, TP53 mutation, p53-p21 dysfunction, and miR34a in a prospective clinical trial. *Blood* 2009; 114(13): 2589–97.
39. Zenz T., Eichhorst B., Busch R. et al. TP53 mutation and survival in chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28(29): 4473–9.
40. Rossi D., Cerri M., Deambrogi C. et al. The prognostic value of TP53 mutations in chronic lymphocytic leukemia is independent of Del17p13: implications for overall survival and chemorefractoriness. *Clin. Cancer Res.* 2009; 15: 995–1004.
41. Malcikova J., Smardova J., Rocnova L. et al. Monoallelic and biallelic inactivation of TP53 gene in chronic lymphocytic leukemia: selection, impact on survival, and response to DNA damage. *Blood* 2009; 114(26): 5307–14.
42. Pospisilova S., Gonzalez D., Malcikova J. et al. European Research Initiative on CLL (ERIC). ERIC recommendations on TP53 mutation analysis in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2012; 26(7): 1458–61.
43. Mohr J., Helfrich H., Fuge M. et al. DNA damage-induced transcriptional program in CLL: biological and diagnostic implications for functional p53 testing. *Blood* 2011; 117(5): 1622–32.
44. Quesada V., Conde L., Villamor N. et al. Exome sequencing identifies recurrent mutations of the splicing factor SF3B1 gene in chronic lymphocytic leukemia. *Nat. Genet.* 2011; 44(1): 47–52.
45. Wang L., Lawrence M.S., Wan Y. et al. SF3B1 and other novel cancer genes in chronic lymphocytic leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2011; 365(26): 2497–506.
46. Rossi D., Brusca A., Spina V. et al. Mutations of the SF3B1 splicing factor in chronic lymphocytic leukemia: association with progression and fludarabine-refractoriness. *Blood* 2011; 118(26): 6904–8.
47. Rossi D., Rasi S., Fabbri G. et al. Mutations of NOTCH1 are an independent predictor of survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2012; 119(2): 521–9.
48. Fabbri G., Rasi S., Rossi D. et al. Analysis of the chronic lymphocytic leukemia coding genome: role of NOTCH1 mutational activation. *J. Exp. Med.* 2011; 208(7): 1389–401.
49. Best O.G., Gardiner A.C., Davis Z.A. et al. A subset of Binet stage A CLL patients with TP53 abnormalities and mutated IGHV genes have stable disease. *Leukemia* 2009; 23(1): 212–4.
50. Dreger P., Dohner H., Ritgen M. et al. Allogeneic stem cell transplantation provides durable disease control in poor-risk chronic lymphocytic leukemia: long-term clinical and MRD results of the GCLLSG CLL3X trial. *Blood* 2010; 116(14): 2438–47.
51. Stilgenbauer S., Zenz T., Winkler D. et al. Subcutaneous alemtuzumab in fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia: clinical results and prognostic marker analyses from the CLL2H study of the German Chronic Lymphocytic Leukemia Study Group. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27: 3994–4001.
52. Fiegl M., Erdel M., Tinhofer I. et al. Clinical outcome of pretreated B-cell chronic lymphocytic leukemia following alemtuzumab therapy: a retrospective study on various cytogenetic risk categories. *Ann. Oncol.* 2010 May 13.
53. Rai K.R., Freter C.E., Mercier R.J. et al. Alemtuzumab in previously treated chronic lymphocytic leukemia patients who also had received fludarabine. *J. Clin. Oncol.* 2002; 20: 3891–7.
54. Ferrajoli A., O'Brien S.M., Cortes J.E. et al. Phase II study of alemtuzumab in chronic lymphoproliferative disorders. *Cancer* 2003; 98: 773–8.
55. Moreton P., Kennedy B., Lucas G. et al. Eradication of minimal residual disease in B-cell chronic lymphocytic leukemia after alemtuzumab therapy is associated with prolonged survival. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 2971–9.

- 56.** Cortelezzi A., Pasquini M.C., Sarina B. et al. A pilot study of low-dose subcutaneous alemtuzumab therapy for patients with chemotherapy-refractory chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica* 2005; 90: 410–2.
- 57.** Wierda W.G., Padmanabhan S., Chan G.W. et al.; Hx-CD20-406 Study Investigators. Ofatumumab is active in patients with fludarabine-refractory CLL irrespective of prior rituximab: results from the phase 2 international study. *Blood* 2011; 118(19): 5126–9.
- 58.** Bosanquet A.G., McCann S.R., Crotty G.M., Mills M.J., Catovsky D. Methylprednisolone in advanced chronic lymphocytic leukaemia: rationale for, and effectiveness of treatment suggested by DiSC assay. *Acta Haematol.* 1995; 93: 73–9.
- 59.** Thornton P.D., Hamblin M., Treleaven J.G. et al. High dose methyl prednisolone in refractory chronic lymphocytic leukaemia. *Leuk. Lymphoma* 1999; 34: 167–70.
- 60.** Thornton P.D., Matutes E., Bosanquet A.G. et al. High dose methylprednisolone can induce remissions in CLL patients with p53 abnormalities. *Ann. Hematol.* 2003; 82: 759–65.
- 61.** Castro J.E., Sandoval-Sus J.D., Bole J., Rassenti L., Kipps T.J. Rituximab in combination with high-dose methylprednisolone for the treatment of fludarabine refractory high-risk chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2008; 22: 2048–53.
- 62.** Bowen D.A., Call T.G., Jenkins G.D. et al. Methylprednisolone-rituximab is an effective salvage therapy for patients with relapsed chronic lymphocytic leukemia including those with unfavorable cytogenetic features. *Leuk. Lymphoma* 2007; 48: 2412–7.
- 63.** Pilecky R., Jurgutis M., Valceckiene V. et al. Dose-dense high-dose methylprednisolone and rituximab in the treatment of relapsed or refractory high-risk chronic lymphocytic leukemia. *Leuk. Lymphoma* 2011; 52: 1055–65.
- 64.** Pettitt A.R., Matutes E., Oscier D. Alemtuzumab in combination with high-dose methylprednisolone is a logical, feasible and highly active therapeutic regimen in chronic lymphocytic leukaemia patients with p53 defects. *Leukemia* 2006; 20: 1441–5.
- 65.** Stilgenbauer S., Cymbalista F., Leblond V. et al. Alemtuzumab Plus Oral Dexamethasone, Followed by Alemtuzumab Maintenance or Allogeneic Transplantation in Ultra High-Risk CLL: Interim Analysis of a Phase II Study of the GCLLSG and fgccl/MW. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2011; 118: 2854.
- 66.** Castro J.E., Barajas-Gamboa J.S., Melo-Cardenas J. et al. Ofatumumab and high-dose methylprednisolone is an effective salvage treatment for heavily pretreated, unfit or refractory patients with chronic lymphocytic leukemia: Single institution experience. *Blood* 2010; 116(21): 4638.
- 67.** Badoux X.C., Keating M.J., Wang X. et al. Cyclophosphamide, fludarabine, alemtuzumab, and rituximab as salvage therapy for heavily pretreated patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2011; 118(8): 2085–93.
- 68.** Tsimberidou A.M., Wierda W.G., Plunkett W. et al. Phase I-II study of oxaliplatin, fludarabine, cytarabine, and rituximab combination therapy in patients with Richter's syndrome or fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26(2): 196–203.
- 69.** Wierda W., O'Brien S., Wen S. et al. Chemoimmunotherapy with fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab for relapsed and refractory chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2005; 18: 1–9.
- 70.** Bosch F., Ferrer A., Lopez-Guillermo A. et al. Fludarabine, cyclophosphamide and mitoxantrone in the treatment of resistant or relapsed chronic lymphocytic leukemia. *Br. J. Haematol.* 2002; 119: 976–84.
- 71.** Elter T., Borchmann P., Schulz H. et al. Fludarabine in combination with alemtuzumab is effective and feasible in patients with relapsed or refractory B-cell chronic lymphocytic leukemia: results of a phase II trial. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23(28): 7024–31.
- 72.** Tsimberidou A., Wierda W.G., Plunkett W. et al. Phase I-II study of oxaliplatin, fludarabine, cytarabine, and rituximab combination therapy in patients with Richter's syndrome of fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26: 196–203.
- 73.** Mauro F.R., Foa R., Meloni G. et al. Fludarabine, ara-C, novantrone and dexamethasone (FAND) in previously treated chronic lymphocytic leukemia patients. *Haematologica* 2002; 87: 926–33.
- 74.** Ferrajoli A., Lee B.N., Schlette E.J. et al. Lenalidomide induces complete and partial remissions in patients with relapsed and refractory chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2008; 111(11): 5291–7.

