

## ОБЗОРЫ

## REVIEWS

## Биологические механизмы сохранения глубокого молекулярного ответа при хроническом миелолейкозе после отмены ингибиторов тирозинкиназ

## Biological Mechanisms of Sustaining Deep Molecular Response in Chronic Myeloid Leukemia Upon Withdrawal of Tyrosine Kinase Inhibitors

Е.Ю. Чельшева, М.А. Гурьянова, А.Г. Туркина

EYu Chelysheva, MA Guryanova, AG Turkina

ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России,  
Новый Зыковский пр-д, д. 4, Москва, Российская Федерация, 125167

National Research Center for Hematology,  
4 Novyi Zykovskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125167

## РЕФЕРАТ

## ABSTRACT

Возможность наблюдения без лечения у пациентов с хроническим миелолейкозом (ХМЛ) в эру ингибиторов тирозинкиназ (ИТК) остается актуальным вопросом. В клинических исследованиях по отмене ИТК при стабильном глубоком молекулярном ответе показана вероятность сохранения молекулярной ремиссии у 40–60 % больных. Сохранение ремиссии без лечения (РБЛ) даже при персистенции остаточных лейкозных клеток свидетельствует о том, что существуют особые, биологически обусловленные механизмы контроля пролиферации опухолевых клеток, не зависящие от BCR-ABL-киназной активности. Поиск факторов, которые определяют различия кинетики остаточного лейкозного клона после отмены ИТК, — важная задача для понимания основ РБЛ как нового биологического явления. В обзоре представлены сведения мировой литературы, касающиеся изучения иммунных, генетических и других биологических механизмов, лежащих в основе контроля минимальной остаточной болезни после отмены ИТК у больных ХМЛ.

The feasibility of treatment-free follow-up in chronic myeloid leukemia (CML) patients is an important issue in the era of tyrosine kinase inhibitors (TKI). The clinical trials of TKI withdrawal in case of a stable deep molecular response prove the probability of sustaining molecular remission in 40–60 % of patients. Treatment-free remission (TFR), even under persistence of residual leukemia cells, suggests that there are special biologically determined mechanisms of tumor cell proliferation control, which are independent of BCR-ABL kinase activity. The search for factors determining differences in residual leukemia clone kinetics upon TKI withdrawal is an objective which is crucial for understanding TFR as a new biological phenomenon. The review provides worldwide evidence dealing with the study of immunological, genetic, and other biological mechanisms underlying the control of minimal residual disease upon TKI discontinuation in CML patients.

**Ключевые слова:** хронический миелолейкоз, ингибиторы тирозинкиназ, ремиссия без лечения, глубокий молекулярный ответ, минимальная остаточная болезнь.

**Keywords:** chronic myeloid leukemia, tyrosine kinase inhibitors, treatment-free remission, deep molecular response, minimal residual disease.

**Получено:** 10 мая 2021 г.

**Received:** May 10, 2021

**Принято в печать:** 23 августа 2021 г.

**Accepted:** August 23, 2021

*Для переписки:* Екатерина Юрьевна Чельшева, канд. мед. наук, Новый Зыковский пр-д, д. 4, Москва, Российская Федерация, 125167; e-mail: denve@bk.ru

*For correspondence:* Ekaterina Yurevna Chelysheva, MD, PhD, 4 Novyi Zykovskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125167; e-mail: denve@bk.ru

*Для цитирования:* Чельшева Е.Ю., Гурьянова М.А., Туркина А.Г. Биологические механизмы сохранения глубокого молекулярного ответа при хроническом миелолейкозе после отмены ингибиторов тирозинкиназ. Клиническая онкогематология. 2021;14(4):427–35.

*For citation:* Chelysheva EYu, Guryanova MA, Turkina AG. Biological Mechanisms of Sustaining Deep Molecular Response in Chronic Myeloid Leukemia Upon Withdrawal of Tyrosine Kinase Inhibitors. Clinical oncohematology. 2021;14(4):427–35. (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2021-14-4-427-435

DOI: 10.21320/2500-2139-2021-14-4-427-435

## ДОСТИЖЕНИЕ ГЛУБОКОГО МОЛЕКУЛЯРНОГО ОТВЕТА ПРИ ТЕРАПИИ ИТК

Применение ингибиторов тирозинкиназ (ИТК) в лечении хронического миелолейкоза (ХМЛ) привело к увеличению продолжительности жизни, которая стала сопоставимой с общепопуляционной [1]. По мере увеличения сроков терапии ИТК у значительного числа больных ХМЛ остаточную популяцию лейкозных клеток удастся определить только при молекулярно-генетическом исследовании экспрессии гена *BCR-ABL* с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ).

Определение молекулярного ответа (МО) в едином формате IS (международная шкала) с условным шагом в 1 lg при терапии ИТК стало общепринятым стандартом [2–4]. Уровень *BCR-ABL*  $\leq 1\%$  IS, обозначаемый как MO2, при котором изначальная экспрессия *BCR-ABL* снижается примерно на 2 lg по сравнению с диагностическим уровнем, является эквивалентом полного цитогенетического ответа. Уровень *BCR-ABL*  $\leq 0,1\%$  IS, при котором вероятность прогрессирования ХМЛ минимальная, соответствует так называемому большому молекулярному ответу (БМО). При снижении уровня *BCR-ABL* еще на 1 lg ( $< 0,01\%$  IS) констатируют достижение глубокого МО.

В зависимости от уровня *BCR-ABL*, определяемому по числу копий контрольного гена *ABL*, и чувствительности метода ПЦР-РВ глубокий МО подразделяют на MO4, MO4.5 и MO5. Уровень *BCR-ABL*  $\leq 0,01\%$  IS или отрицательный результат ПЦР-РВ при количестве копий контрольного гена *ABL*  $\geq 10\,000$  соответствуют MO4. Уровень *BCR-ABL*  $\leq 0,0032\%$  IS или отрицательный результат ПЦР-РВ при количестве копий *ABL*  $\geq 32\,000$  — MO4.5. Уровень *BCR-ABL*  $\geq 0,001\%$  IS или отсутствие экспрессии *BCR-ABL* при 100 000 копий *ABL* и более соответствуют MO5 [2]. Следует отметить, что отрицательные результаты ПЦР-РВ не означают полного отсутствия МОБ и зависят от предела чувствительности применяемого метода в каждой конкретной лаборатории.

Глубокий МО ассоциируется с отсутствием риска прогрессирования ХМЛ при продолжении лечения. У пациентов с глубоким МО ( $\geq$  MO4) через 2 года терапии 6-летняя вероятность смерти от лейкоза равна 0 %, в то время как у пациентов без MO4 этот показатель составил 7 % ( $p = 0,004$ ) [5].

Достижение глубокого МО считается важной предпосылкой дальнейшего сохранения ремиссии при продолжении лечения. Значение стабильного глубокого MO4 в течение как минимум 1 года детально изучалось в ретроспективном одноцентровом наблюдательном исследовании [5]. Было продемонстрировано, что 5-летняя вероятность потери MO4 и БМО у пациентов со стабильным глубоким MO4 составляет 8,7 и 4,6 % соответственно. При этом у пациентов, имеющих только стабильный БМО, 5-летняя вероятность потери БМО была существенно выше и составила 25,4 %.

Согласно германскому многоцентровому исследованию CML IV, кумулятивная частота достижения глубокого МО (MO4.5) через 8 лет терапии иматинибом составляла 66 %, через 9 лет — 70 % [7]. По данным

российского многоцентрового наблюдательного исследования «Регистр больных хроническим миелолейкозом», в который было включено 6995 больных ХМЛ, при медиане длительности заболевания 6 лет (диапазон 0,1–30 лет) доля больных с глубоким МО составила 41 %: у 33 % больных отмечался MO4.5, у 8 % — MO4 [8].

Таким образом, вероятность потери БМО, а также прогрессирования ХМЛ после достижения стабильного глубокого МО крайне низкая. Число больных со стабильным глубоким МО растет по мере увеличения сроков терапии ИТК.

## ПЕРСИСТИРОВАНИЕ МОБ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ИТК

Несмотря на непрерывный прием ИТК, экспрессия *BCR-ABL* у больных ХМЛ может определяться на протяжении многих лет. В экспериментах установлено, что лейкозные стволовые клетки (ЛСК), содержащие ген *BCR-ABL*, нечувствительны к воздействию иматиниба [9]. Аналогичные данные получены и для ИТК2 дазатиниба. Несмотря на относительно большую по сравнению с иматинибом активность по отношению к ранним лейкозным клеткам-предшественницам, дазатиниб не воздействовал на фракцию покоящихся ЛСК [10]. В связи с этим возможность эрадикации ХМЛ при терапии ИТК остается предметом дискуссий.

Согласно существующим представлениям, популяция ЛСК при ХМЛ может существовать в одном из двух кинетических состояний: циркулирующие ЛСК и покоящиеся («спящие») ЛСК [11, 12]. Количество стволовых клеток (СК) и ранних клеток-предшественниц регулируется балансом между симметричным и асимметричным делением СК. Неспособность ИТК полностью искоренить МОБ при ХМЛ предположительно связана с феноменом покоящихся ЛСК, которые могут с течением времени активироваться и вступать в цикл пролиферации, а затем вновь уходить в состояние покоя. Циркулирующая популяция участвует в пролиферации и является транскрипционно активной, в то время как «спящая» популяция может иметь низкую экспрессию *BCR-ABL* или вовсе быть неспособной экспрессировать белок *BCR-ABL* в покоящемся состоянии.

Вероятно, персистенция МОБ на фоне продолжающейся в течение многих лет терапии ИТК связано с соотношением циркулирующих и покоящихся ЛСК и продолжительностью этой циркуляции, определяемой разнообразными биологическими механизмами, которые продолжают изучаться [13, 14].

Одна из гипотез предполагает возможность истощения пула покоящихся ЛСК с течением времени. При переходе обеих дочерних СК в состояние дифференцировки есть вероятность полного исчезновения клона, как только его потомство завершит дифференцировку [15]. Предпринято несколько попыток прогнозирования возможных сроков истощения опухолевого клона на фоне терапии ИТК.

Математическая модель, рассчитанная по результатам определения уровня *BCR-ABL* в исследованиях TIDEL (срок терапии иматинибом до 12 мес.) и IRIS (срок терапии иматинибом 3–10 лет), продемонстрировала

быстрое уменьшение остаточного лейкозного клона в 1-й год лечения иматинибом и дальнейшее медленное уменьшение опухолевой массы при многолетнем наблюдении [16]. Отмечена трехфазная кинетика остаточного лейкозного клона, которая, по всей видимости, отражает стадии элиминации опухолевых клеток: 1) быстрая элиминация пролиферативного клеточного компонента, чувствительного к ИТК; 2) персистенция МОБ, связанное с постепенным истощением гранулоцитарно-макрофагальных клеток-предшественниц, менее чувствительных к воздействию ИТК; 3) персистенция МОБ, связанное с длительным существованием ЛСК, нечувствительных к воздействию ИТК.

В другой кинетической модели была предпринята попытка рассчитать время предполагаемой полной эрадикации заболевания при терапии иматинибом в соответствии с клеточным циклом [17]. После 2 лет терапии среднее снижение уровня BCR-ABL составляло 0,5 lg в год [17, 18]. Расчетное число остаточных лейкозных клеток после достижения глубокого МО могло составлять до  $10^6$ . При этом по теоретическим расчетам элиминация всех лейкозных клеток могла произойти через 10 лет после первого получения глубокого МО у относительно небольшого числа больных.

В противовес эрадикации опухолевого клона в качестве более вероятной модели течения ХМЛ рассматривается персистенция МОБ без формирования резистентных клонов — так называемое функциональное излечение («operational cure»). Впервые этот термин, под которым подразумевалось персистенция небольшого количества ЛСК без способности вызывать клиническую манифестацию либо прогрессирование заболевания, был предложен J. Goldman еще в 2004 г. [19]. В тот период времени возможность «функционального излечения» у больных ХМЛ обсуждалась после выполнения трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (аллотГСК) и на фоне терапии интерфероном- $\alpha$  (ИФН). Кроме того, к этим вопросам обратились и при применении ИТК [12, 19].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ПО ОТМЕНЕ ИТК У БОЛЬНЫХ ХМЛ

Уже в первые годы терапии иматинибом обсуждали новый вопрос [11]: можно ли сохранить достигнутый эффект «функционального излечения» после отмены терапии хотя бы у части пациентов? Определить, какой порог МОБ является безопасным для отмены лечения, выявить закономерности поведения лейкозного клона после отмены терапии, оценить возможность восстановления ответа после возобновления лечения — все это стало важными задачами новых «стоп»-исследований, в которых предусматривались отмена иматиниба и наблюдение без терапии у больных ХМЛ со стабильным глубоким МО.

Первые исследования по отмене иматиниба STIM и TWISTER, которые проводили у больных ХМЛ со стабильным глубоким МО, позволили выявить основные закономерности поведения опухолевого клона: 1) большинство случаев потери глубокого МО регистрировалось в первые 6 мес. после прекращения лечения, а на поздних сроках наблюдения такие случаи

были единичными и отмечалось плато выживаемости без молекулярного рецидива; 2) глубокий МО быстро восстанавливался после возобновления прежней терапии; случаев прогрессирования заболевания не наблюдалось [20, 21].

Таким образом, была продемонстрирована возможность безопасной контролируемой отмены иматиниба у больных ХМЛ с глубоким МО и перспектива длительного наблюдения без лечения. Новый термин «treatment-free remission», т. е. ремиссия без лечения (РБЛ), который начали применять при оценке результатов «стоп»-исследований, подразумевал отсутствие молекулярного рецидива у больных ХМЛ с глубоким МО после отмены ИТК.

Впоследствии в мире было инициировано более 30 исследований по отмене различных ИТК у больных ХМЛ при стабильном глубоком МО. Сведения о результатах международных и российских исследований по отмене ИТК подробно изложены в предыдущих публикациях [22–24].

Важно отметить, что изначально критерии молекулярного рецидива в «стоп»-исследованиях были очень строгими. В первых исследованиях, в которые включали только МОБ-отрицательных пациентов без определяемой экспрессии BCR-ABL, в качестве молекулярного рецидива рассматривали появление ПЦР-положительных результатов BCR-ABL или потерю МО4. Потеря БМО как критерий молекулярного рецидива была утверждена в исследовании A-STIM французской группой только в 2014 г. [25]. В дальнейшем именно этот критерий применялся во многих клинических исследованиях в качестве показателя для возобновления приема ИТК. Определение потери БМО не требовало выполнения подтверждающих повторных анализов и нивелировало межлабораторные различия чувствительности метода ПЦР-РВ, которые были важны на предыдущем этапе для определения ПЦР-позитивности у пациентов с глубоким МО.

Несмотря на некоторую разницу в определении глубокого МО (строго МОБ-отрицательные результаты или МО4, МО4.5 с остаточной экспрессией BCR-ABL), а также критериев молекулярного рецидива, результаты всех «стоп»-исследований были довольно сходными (табл. 1). Вероятность сохранения РБЛ после 2 лет отмены лечения составляла около 45–60 % и особо не зависела от применяемого ИТК. Кинетика лейкозного клона после отмены ИТК2 также существенно не отличалась по сравнению с отменой иматиниба. Во всех исследованиях отмечалось быстрое восстановление БМО и глубокого МО после возобновления лечения.

В качестве благоприятных факторов сохранения РБЛ наиболее часто отмечались сроки терапии и длительность глубокого МО [24]. Кроме того, установлена значимость достижения BCR-ABL-негативных результатов, подтвержденных более чувствительными ПЦР-методами и свидетельствующими о глубоком МО. В некоторых исследованиях выявлено значение длительного применения ИФН перед терапией ИТК, отсутствия резистентности к иматинибу, возраста пациентов (противоречивые данные в разных исследованиях). В российском проспективном исследовании RU-SKI в многофакторном анализе факторами

Таблица 1. Основные клинические исследования по прекращению терапии ИТК у больных ХМЛ

Исследование		Число больных	ИТК, линия терапии	Медиана срока терапии, мес.	Тип МО, срок до отмены терапии, годы	Медиана срока МО до отмены терапии, мес.	Тип МО при рецидиве	Вероятность РБЛ, %	Срок РБЛ, мес.
Название	Автор, год								
STIM1	G. Etienne et al., 2017 [20]	100	ИМ, 1	50	МОБ–, ** ≥ 2	35	МОБ+	38	60
TWISTER	D.M. Ross et al., 2013 [40]	40	ИМ, 1	70	МОБ–, ≥ 2	36	МОБ+	45	60
A-STIM	P. Rousselot et al., 2014 [25]	80	ИМ, 1	79	МОБ–, ≥ 2	41	> БМО или МОБ+	61	36
KID	S.E. Lee et al., 2016 [67]	90	ИМ, 1	81	МОБ–, ≥ 2	40	> БМО	69	24
ISAV	S. Mori et al., 2015 [75]	108	ИМ, 1	103	МОБ–, > 1,5	26	> БМО	48	36
STIM 2	F.E. Nicolini et al., 2019 [76]	218	ИМ, 1	НД	МОБ–, ≥ 2	23	> БМО, МОБ+ и ↑ BCR-ABL > 1 Ig	49	24
EURO-SKI*	S. Saussele et al., 2018 [41]	755	ИМ, НИЛ, ДАЗ, 1 и 2	90	МО4, ≥ 1	56,4	> БМО	49	24
ENESTop	F.X. Mahon et al., 2018 [77]	126	НИЛ, 1	88	МО4.5, ≥ 1	32	> МО4	53	24
ENESTfreedom	D.M. Ross et al., 2018 [78]	190	НИЛ, 2	44	МО4.5, ≥ 1	30	> БМО	49	24
First-line DADI	S. Kimura et al., 2020 [79]	58	ДАЗ, 1	40	МО4, ≥ 1	23	> МО4	55	12
DADI	J. Imagawa et al., 2015 [28]	63	ДАЗ, 2	82	МО4, ≥ 1	НД	> МО4	44	36
D-STOP	T. Kumagai et al., 2018 [80]	54	ДАЗ, 1 и 2	92	МО4, ≥ 2	51	> МО4	63	12
DASFREE	N.P. Shah et al., 2020 [81]	84	ДАЗ, 1 и 2	69	МО4.5, ≥ 2	28	> БМО	46	24
STOP 2G-TKI	D. Rea et al., 2017 [82]	60	НИЛ и ДАЗ, 1 и 2	76	МОБ–, ≥ 2	29	> БМО	54	48
STAT2	N. Takahashi et al., 2018 [29]	78	НИЛ, 2	99	МО4.5, ≥ 2	51	> МО4.5	63	36
NILSt	K. Nagafuji et al., 2019 [83]	87	НИЛ, 1 и 2	82	МО4.5, ≥ 2	НД	> МО4.5	60	36
RU-SKI***	А.Г. Туркина и др., 2020 [23]	98	ИМ, НИЛ, ДАЗ, 1 и 2	99	МО4, ≥ 2	38	> БМО	52	24

БМО — большой молекулярный ответ; ДАЗ — дазатиниб; ИМ — иматиниб; ИТК — ингибиторы тирозинкиназ; НД — нет данных; МО — молекулярный ответ; МОБ — минимальная остаточная болезнь; НИЛ — нилотиниб; ПЦР-РВ — полимеразная цепная реакция в реальном времени; РБЛ — ремиссия без лечения; ХМЛ — хронический миелолейкоз.

\* Опубликованы данные по оценке РБЛ после отмены иматиниба.

\*\* МОБ– означает неопределяемый уровень МОБ, отсутствие экспрессии *BCR-ABL* по данным ПЦР-РВ.

\*\*\* Результаты клинической апробации в ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ.

сохранения БМО после отмены ИТК также послужили длительность терапии и глубокий МО4.5 [24].

Интересно отметить, что сохранение глубокого МО после отмены ИТК далеко не всегда подразумевало стабильно отрицательные результаты ПЦР-РВ. Однако при отсутствии определяемой экспрессии *BCR-ABL* более чувствительные лабораторные методы позволяли выявить МОБ после отмены ИТК. В австралийском исследовании TWISTER применение пациент-специфичных праймеров с выявлением химерного гена *BCR-ABL* в геномной ДНК позволило установить, что у большинства больных с неопределяемым с помощью ПЦР-РВ уровнем *BCR-ABL* определялось персистирование МОБ после отмены иматиниба [26]. Предел чувствительности метода ПЦР с выявлением химерного гена *BCR-ABL* в геномной ДНК составлял 6,2 Ig. По мере увеличения срока наблюдения без терапии в этой группе пациентов (медиана наблюдения 8,6 года после отмены иматиниба) отмечалось, что количество лейкозных клеток в этот период постепенно уменьшалось. У части пациентов появились ДНК-отрицательные результаты, а у пациентов с положительными результатами в геномной ДНК отмечалось достижение МО6 [21].

Стало очевидно, что МОБ-позитивность после отмены лечения необязательно предшествует потере БМО, хотя у больных с сохраняющейся экспрессией *BCR-ABL* вероятность развития последующего молекулярного ре-

цидива была статистически значимо выше. По данным исследования A-STIM, поздние молекулярные рецидивы имели место у 32,7 % пациентов с остаточным низким уровнем *BCR-ABL* (так называемыми флуктуациями). При этом поздние молекулярные рецидивы отмечались только у 3,5 % больных, имеющих стабильно отрицательные значения *BCR-ABL* либо 1–2-кратную ПЦР-позитивность за весь период наблюдения [27]. Медиана срока развития поздних молекулярных рецидивов составляла 3,6 года (диапазон 2,3–6,3 года).

Таким образом, персистирование остаточных лейкозных клеток со способностью к быстрой пролиферации лежит в основе развития ранних молекулярных рецидивов после отмены ИТК. Однако поздние молекулярные рецидивы, флуктуации остаточных уровней *BCR-ABL* после отмены ИТК без последующей потери БМО и постепенное уменьшение количества лейкозных клеток в отсутствие терапии свидетельствуют о том, что существуют биологические механизмы контроля пролиферации опухолевых клеток, не зависящие от *BCR-ABL*-киназной активности.

## ИММУННЫЕ МЕХАНИЗМЫ КОНТРОЛЯ МОБ ПОСЛЕ ОТМЕНЫ ИТК

Предположение о том, что иммунные механизмы могут сохранять уровень МОБ ниже порога обнару-

жения и поддерживать плато сохранения РБЛ после отмены ИТК, стало основой для проведения дополнительных исследований по изучению субпопуляций Т-лимфоцитов с целью определить возможные факторы сохранения РБЛ.

В исследовании DADI по отмене дазатиниба такими факторами были более высокий уровень естественных киллеров (NK) с фенотипами CD3-/CD56+ и CD16+/CD56+, а также клеток CD56+/CD57+ и снижение Т-лимфоцитов  $\gamma\delta$ + и регуляторных Т-клеток CD4+ [28]. Однако в исследовании STAT2 прогностическое значение содержания NK-клеток не подтвердилось [29].

В субпроектах исследований STIM и EURO-SKI была выявлена связь увеличения количества NK-клеток на момент отмены терапии с успешной РБЛ. В исследовании EURO-SKI выживаемость без потери БМО у пациентов с высоким содержанием NK-клеток составила 70 vs 43 % у пациентов с низким содержанием NK-клеток. Увеличение количества NK-клеток у пациентов без молекулярного рецидива отмечалось за счет большей доли зрелых NK-клеток со слабой экспрессией CD56 (dim) по сравнению с менее зрелой фракцией CD56-позитивных клеток (bright) [30, 31]. Выявленные закономерности были актуальными только для ранних молекулярных рецидивов ( $\leq 6$  мес.). У пациентов с поздними молекулярными рецидивами значимых различий в количестве NK-клеток не отмечалось.

Предположительно, эффекты NK-клеток в некоторой мере опосредованы воздействием на инициирующие лейкоз СК, однако молекулярные механизмы такого взаимодействия четко не определены. Офф-таргетное (нецелевое) воздействие ИТК на другие белки-киназы, кроме BCR-ABL, также может служить триггером для активации NK-клеток. Подобные взаимодействия изучались у пациентов с опухолями желудочно-кишечного тракта, получавших иматиниб [32].

Высказываются предположения о том, что цитотоксические лимфоциты могут быть еще более чувствительными к индуцированному ИТК нецелевому воздействию на другие киназы, чем NK-клетки [33]. Например, одна из таких нецелевых киназ — лимфоцит-специфическая протеин-тирозинкиназа, которая связывается с Т-лимфоцитами CD4+ и CD8+, участвует в селекции и созревании стимулированных Т-клеток. Опубликованы результаты исследований, в которых отмечалось снижение числа Т-клеток CD8+ у больных ХМЛ на фоне терапии иматинибом. Однако после отмены иматиниба показатели восстанавливались до уровня, характерного для здоровых лиц [34, 35]. Для нилотиниба и дазатиниба в экспериментах *in vitro* также установлено ингибирование активации и пролиферации Т-клеток [36, 37]. Однако, несмотря на эти результаты, выявлено, что для пациентов, получающих дазатиниб, характерно развитие лимфоцитоза крови, связанного с хорошим ответом на терапию. Морфологически при этом определялись большие гранулярные лимфоциты, иммунофенотип соответствовал цитотоксическим Т-лимфоцитам или NK-клеткам [38].

Роль цитотоксических лимфоцитов в поддержании ремиссии была установлена ранее у больных ХМЛ,

перенесших аллоТГСК, а также при терапии ИФН [39]. В нескольких исследованиях длительная терапия ИФН перед переводом на иматиниб коррелировала с увеличением вероятности РБЛ [40, 41]. С одной стороны, мог иметь место отбор пациентов с изначально благоприятным прогнозом, которые имели возможность дожить до появления ИТК. С другой стороны, нельзя исключить вклад ИФН в регуляцию контроля опухолевого клона. В ранних исследованиях отмечалось, что ИФН в отличие от иматиниба способен индуцировать экспрессию лейкоз-ассоциированных антигенов, которые стимулируют противоопухолевый Т-клеточный иммунный ответ [42]. Кроме того, экспериментально подтверждена возможность активации покоящихся СК с помощью ИФН [43]. Учитывая, что покоящиеся ЛСК нечувствительны к воздействию ИТК, активация СК с помощью ИФН может способствовать процессу их истощения.

Исследователи из Германии сообщили о результатах терапии иматинибом в сочетании с ИФН у 20 пациентов [44]. После отмены иматиниба все пациенты получали только ИФН в поддерживающих дозах, на фоне которого у 75 % больных сохранялся достигнутый ответ. Отмена терапии не была целью этого исследования, т. к. только у 30 % больных отмечался глубокий МО ко времени перевода на ИФН. В настоящее время инициировано несколько рандомизированных исследований, в которых планируется оценить роль ИФН в сочетании с ИТК для сохранения РБЛ (исследование TIGER в Германии, PETALS во Франции) [45, 46]. Одним из ожидаемых препятствий для применения такого подхода является вытеснение ИФН новыми стандартами терапии: ИТК для терапии ХМЛ и более эффективные препараты для терапии гепатита С. В связи с этим несколько фармацевтических компаний предупредили о прекращении выпуска пегилированных форм ИФН.

Еще одно исследование в рамках EURO-SKI выявило, что сниженное число плазматоидных дендритных клеток CD86+ связано с более высокой вероятностью РБЛ. Повышенное содержание этих клеток также сопровождалось лейкоз-специфическим истощением Т-клеток CD8+, которое определяли с помощью экспрессии рецептора PD-1. Примечательно, что повышенное число клеток CD86+ позволило выделить группу неблагоприятного прогноза даже среди пациентов с очень длительным предшествующим сроком терапии иматинибом ( $> 8$  лет), у которых изначально предполагалась высокая вероятность сохранения РБЛ [47].

---

## ИЗУЧЕНИЕ ЛСК В КАЧЕСТВЕ ВОЗМОЖНОГО МАРКЕРА МОБ У БОЛЬНЫХ ХМЛ

Кроме иммунного контроля, который позволяет сдерживать МОБ после отмены ИТК, обсуждается несколько гипотез о природе самих остаточных лейкозных клеток. Высказывались предположения о том, что ЛСК, которые сохранились после терапии ИТК, могли быть функционально неполноценными или иметь терминальную дифференцировку, например, до В-клеток памяти [48]. Эти предположения обозначены в недавнем исследовании австралийских авторов [49], в котором проводилась оценка линейной

дифференцировки остаточных лейкозных клеток у больных ХМЛ, наблюдавшихся после отмены ИТК, с помощью ПЦР с выявлением химерного гена *BCR-ABL* в геномной ДНК. Ни у кого из больных ДНК *BCR-ABL* не была обнаружена во фракции гранулоцитов, однако при этом у большинства из них ДНК *BCR-ABL* была выявлена в В-лимфоцитах; у части больных также в Т- и НК-клетках (в меньших количествах). Наибольший уровень МОБ определялся в популяции наивных В-клеток, абсолютное число которых снижалось с увеличением срока наблюдения в период РБЛ (1–10 лет). Общее число *BCR-ABL*-позитивных В-клеток памяти при этом существенно не менялось. Дополнительное исследование костного мозга у части пациентов не выявило ДНК *BCR-ABL* в клетках CD34+. Однако и в костном мозге также определялась ДНК *BCR-ABL* во фракции лимфоцитов. Авторы сделали вывод о том, что *BCR-ABL*-позитивные лимфоциты, которые составляли часть опухолевого клона в дебюте заболевания, после истощения мультипотентных лейкозных клеток-предшественниц продолжают персистировать преимущественно в виде В-клеток памяти. Исследование поставило новые вопросы о природе МОБ при ХМЛ. Тем не менее ответа на вопрос о предикторах сохранения глубокого МО после отмены ИТК и возможных сроках истощения ЛСК не последовало.

Особого внимания заслуживает белок дипептидилпептидаза-4 (CD26), экспрессия которого выявляется на ЛСК в образцах крови и костного мозга больных ХМЛ. В недавних исследованиях установлена коэкспрессия CD26 у больных ХМЛ в ЛСК CD34+/CD38-/Lin-. Показано, что CD26 определялся только на ЛСК больных ХМЛ как в костном мозге, так и в крови и отсутствовал в нормальных гемопоэтических СК [50–52]. При других миелоидных новообразованиях экспрессия CD26 на ЛСК не выявлялась. Кроме того, ЛСК CD26+ определялись при лимфоидном бластном кризе ХМЛ с транскриптом *BCR-ABL* p210, но отсутствовали при Ph-позитивном остром лимфобластном лейкозе с транскриптом *BCR-ABL* p190 [53]. В культуральных исследованиях установлено, что при колониеобразовании в ЛСК CD26+ присутствует РНК *BCR-ABL* [50]. Эти данные дали основание предполагать, что экспрессия CD26 регулируется механизмами, связанными с *BCR-ABL* p210, и обнаружение ЛСК CD26+ можно считать надежным специфическим маркером ХМЛ.

В дальнейшем изучение роли циркулирующих ЛСК CD26+ проводилось как при терапии ИТК, так и после их отмены. Исследователи из Китая отметили, что ЛСК CD26+ выявлялись у пациентов с ХМЛ на разных сроках терапии ИТК, а также обнаруживались после отмены ИТК при сохранении РБЛ. Количество ЛСК CD26+ было значительно выше в группе больных с неудачей терапии ИТК по сравнению с пациентами, у которых достигнут БМО либо глубокий МО. Однако корреляции количества ЛСК CD26+ и уровня *BCR-ABL* не выявлено [54].

В исследовании итальянских авторов корреляция между количеством ЛСК CD26+ и уровнем *BCR-ABL* также не была подтверждена [55]. В связи с этим авторы сделали вывод о том, что популяция ЛСК могла быть транскрипционно неактивной, в то время как с помощью ПЦР определялась транскрипционно ак-

тивная часть опухолевого клона. При характеристике 112 пациентов с глубоким МО, которые наблюдались в период РБЛ, отмечены сочетание циркулирующих ЛСК и определяемого уровня *BCR-ABL* у 29 % пациентов, циркулирующие ЛСК и неопределяемый уровень *BCR-ABL* — у 38 %, отсутствие ЛСК и определяемый уровень *BCR-ABL* — у 7 %, отсутствие как ЛСК, так и *BCR-ABL* — у 26 %. В указанной публикации авторы также формулируют положение о взаимосвязи увеличенного количества циркулирующих клеток CD26+ с более короткой длительностью РБЛ после отмены ИТК, однако не приводят подтверждающих данных, сообщая только о продолжении изучения роли клеток CD26+ для сохранения РБЛ в проспективном итальянском исследовании FLOWER-TFR.

Помимо экспрессии CD26 у больных ХМЛ для поддержания РБЛ изучалась также роль CD93. Данный маркер не является специфическим только для ХМЛ. Установлено, что экспрессия CD93 присутствует на клетках CD34+CD38- при ОМЛ с перестройкой гена *MLL* и служит неблагоприятным прогностическим фактором [56]. При ХМЛ отмечено, что экспрессия CD93 на ЛСК Lin-CD34+CD38-CD90+ влияет на их свойства по результатам исследований *in vitro* и *in vivo*. С помощью анализа экспрессии различных генов установлено, что ЛСК с данным фенотипом относятся к фракции покоящихся, и отмечено персистирование клеток с повышенной экспрессией CD93 у пациентов с развитием молекулярного рецидива после отмены ИТК [57].

При изучении взаимодействия ЛСК со стромальным микроокружением костного мозга в ряде исследований было показано, что ЛСК при миелопролиферативных заболеваниях, включая ХМЛ, способны «перепрограммировать» микроокружение стромы для поддержания своего роста [58–61]. Частично эти изменения, включая экспрессию различных генов, отвечающих за свойства мультипотентных мезенхимных стромальных клеток, являются обратимыми при проведении терапии ИТК [62].

Предположительно, стромальные клеточные взаимодействия с ЛСК и нормальной популяцией гемопоэтических СК наряду со свойствами самих нормальных СК и ЛСК могут определять риск развития молекулярного рецидива при ХМЛ после отмены лечения. Интересно отметить, что в исследовании DESTINY, в котором отмена ИТК у больных с глубоким МО осуществлялась после фазы редукции доз, отмечалась более высокая по сравнению с другими «стоп»-исследованиями выживаемость без потери БМО, которая составила 72 % через год после отмены терапии [63]. Нельзя исключить, что этот эффект был получен за счет снижения миелосупрессивного воздействия ИТК, которое у большинства пациентов является умеренным и клинически незначимым, и улучшения репопуляции нормальных СК перед отменой лечения.

## ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННЫХ МЕХАНИЗМОВ СОХРАНЕНИЯ РБЛ

Особым направлением является анализ *BCR-ABL*-связанных маркеров и поиск возможных *BCR-ABL*-независимых генетических механизмов контроля МОБ после

отмены ИТК. В целом исследования в этой области не столь многочисленны.

В нескольких работах оценивали роль разных типичных транскриптов *BCR-ABL* p210 как возможных факторов, влияющих на сохранение РБЛ. В 2 ретроспективных исследованиях из Великобритании [64] и Италии [65] отмечалось, что наличие у пациентов транскрипта e14a2 (b3a2) было связано с большей вероятностью сохранения РБЛ по сравнению с типом транскрипта e13a2 (b2a2). В исследовании из Великобритании благоприятным фактором сохранения РБЛ был также возраст пациентов старше 40 лет. В итальянском исследовании никаких других факторов, кроме типа транскрипта, не выявлено. Итальянские авторы объясняют выявленные различия структурными особенностями указанных двух типов транскриптов (e13a2 более короткий), разной тирозинкиназной активностью (выше у e13a2) на основании результатов фосфорилирования *in vitro* [66] и высказывают предположение об их разной иммуногенности, что могло внести свой вклад в сохранение РБЛ. Следует отметить, что в других исследованиях (например, KID) влияние типа транскрипта *BCR-ABL* на исходы отмены ИТК не подтвердилось [67].

В ранних работах обсуждался вклад в молекулярный патогенез ХМЛ таких генетических событий, как снижение экспрессии ИФН-регулирующих генов *ICSBP* и *IRF4*, определяющих эффективность терапии ИФН [68, 69]. В эру применения ИТК появились исследования, посвященные изучению роли гаплотипов KIR (killer immunoglobulin-like receptor) для регулирования противоопухолевой активности NK-клеток при ХМЛ. В одной из таких работ отмечалось, что гомозиготность гаплотипа KIR A была статистически значимо связана с достижением глубокого МО [70]. Позднее при изучении взаимосвязи генотипов KIR и HLA (human leukocyte antigen) с развитием молекулярного рецидива после отмены ИТК показано, что гомозиготный гаплотип KIR A являлся благоприятным фактором и для сохранения глубокого МО после отмены ИТК, а гаплотипы KIR 3DS1/KIR 3DL1/HLA-Bw4 и Vx ассоциировались с развитием молекулярного рецидива [71].

В работе итальянских авторов изучалась роль взаимосвязи длины теломер с сохранением РБЛ. Поскольку теломеры имеют свойство укорачиваться с возрастом, их длина была скорректирована с учетом возраста и пола пациентов при сопоставлении с контрольной группой здоровых лиц. При оценке возраст-скорректированных значений длины теломер установлено, что более короткие теломеры отмечались у пациентов, сохранявших РБЛ, а более длинные — у пациентов с молекулярным рецидивом. Авторы высказали предположение о том, что длинные теломеры, содержащиеся в ЛСК больных ХМЛ, могут быть предрасполагающим механизмом сохранения их пролиферативного потенциала после отмены лечения [72].

Применение технологии секвенирования следующего поколения (NGS) при различных миелоидных новообразованиях позволило определить различные прогностически значимые молекулярные маркеры [73]. Однако в подобных исследованиях при ХМЛ выявить прогностически значимые для сохранения РБЛ генетические маркеры не удалось [74].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, биологические механизмы контроля МОБ после отмены ИТК обусловлены сложными взаимодействиями СК и стромального микроокружения, свойствами самих ЛСК, особенностями иммунного статуса пациентов и, предположительно, некоторыми наследственно обусловленными факторами. Среди предполагаемых механизмов сложно выявить какой-либо наиболее важный. По-видимому, решающим является комплекс различных факторов, которые продолжают быть предметом изучения в настоящее время. С одной стороны, результаты исследований свидетельствуют о возможности постепенного истощения ЛСК с течением времени после отмены ИТК. С другой стороны, персистенция остаточного лейкозного клона, который определяется высокочувствительными методами в течение многих лет, оставляет дискуссионным вопрос о возможности эрадикации ХМЛ. Длительное наблюдение за пациентами с глубоким МО, по-видимому, позволит изучить и более четко определить биологические механизмы сохранения ремиссии после отмены ИТК.

## КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

**Е.Ю. Челышева** — чтение лекций для компаний «Новартис», «Бристоль Майерс Сквибб», «Пфайзер».

**М.А. Гурьянова** — чтение лекций для компании «Пфайзер».

**А.Г. Туркина** — предоставление консультаций и чтение лекций для компаний «Новартис», «Пфайзер», «Фьюжн Фарма», чтение лекций для компании «Бристоль Майерс Сквибб».

## ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

## ВКЛАД АВТОРОВ

**Концепция и дизайн:** Е.Ю. Челышева.

**Сбор и обработка данных:** Е.Ю. Челышева, М.А. Гурьянова.

**Анализ и интерпретация данных:** все авторы.

**Подготовка рукописи:** Е.Ю. Челышева.

**Окончательное одобрение рукописи:** А.Г. Туркина, Е.Ю. Челышева.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Bower H, Bjorkholm M, Dickman PW, et al. Life expectancy of patients with chronic myeloid leukemia approaches the life expectancy of the general population. *J Clin Oncol*. 2016;34(24):2851–7. doi: 10.1200/JCO.2015.66.2866.
2. 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.
3. Hochhaus A, Baccarani M, Silver RT, et al. European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2020;34(4):966–84. doi: 10.1038/s41375-020-0776-2.

4. Bacarani M, Deininger MW, Rosti G, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood*. 2013;122(6):872–84. doi: 10.1182/blood-2013-05-501569.
5. Castagnetti F, Gugliotta G, Breccia M, et al. Long-term outcome of chronic myeloid leukemia patients treated frontline with imatinib. *Leukemia*. 2015;29(9):1823–31. doi: 10.1038/leu.2015.152.
6. Claudiani S, Gatenby A, Szydlo R, et al. MR4 sustained for 12 months is associated with stable deep molecular responses in chronic myeloid leukemia. *Haematologica*. 2019;104(11):2206–14. doi: 10.3324/haematol.2018.214809.
7. Hehlmann R, Muller MC, Lauseker M, et al. Deep molecular response is reached by the majority of patients treated with imatinib, predicts survival, and is achieved more quickly by optimized high-dose imatinib: results from the randomized CML-study IV. *J Clin Oncol*. 2014;32(5):415–23. doi: 10.1200/JCO.2013.49.9020.
8. Туркина А.Г., Новицкая Н.В., Голеньков А.К. и др. Регистр больных хроническим миелолейкозом в Российской Федерации: от наблюдательного исследования к оценке эффективности терапии в клинической практике. *Клиническая онкогематология*. 2017;10(3):390–401. doi: 10.21320/2500-2139-2017-10-3-390-401.
- [Turkina AG, Novitskaya NV, Golenkov AK, et al. Chronic Myeloid Leukemia Patient Registry in the Russian Federation: From Observational Studies to the Efficacy Evaluation in Clinical Practice. *Clinical oncohematology*. 2017;10(3):390–401. doi: 10.21320/2500-2139-2017-10-3-390-401. (In Russ)]
9. Graham SM, Jorgensen HG, Allan E, et al. Primitive, quiescent, Philadelphia-positive stem cells from patients with chronic myeloid leukemia are insensitive to STI571 in vitro. *Blood*. 2002;99(1):319–25. doi: 10.1182/blood.v99.1.319.
10. Copland M, Hamilton A, Elick LJ, et al. Dasatinib (BMS-354825) targets an earlier progenitor population than imatinib in primary CML but does not eliminate the quiescent fraction. *Blood*. 2006;107(11):4532–9. doi: 10.1182/blood-2005-07-2947.
11. Goldman J, Gordon M. Why do chronic myelogenous leukemia stem cells survive allogeneic stem cell transplantation or imatinib: does it really matter? *Leuk Lymphoma*. 2006;47(1):1–7. doi: 10.1080/10428190500407996.
12. Goldman JM. Chronic myeloid leukemia: molecular targeting as a basis for therapy. *Rev Clin Exp Hematol*. 2004;7(1):64–72.
13. Holyoake TL, Vetrie D. The chronic myeloid leukemia stem cell: stemming the tide of persistence. *Blood*. 2017;129(12):1595–606. doi: 10.1182/blood-2016-09-696013.
14. Zhou H, Xu R. Leukemia stem cells: the root of chronic myeloid leukemia. *Protein Cell*. 2015;6(6):403–12. doi: 10.1007/s13238-015-0143-7.
15. Melo JV, Ross DM. Minimal residual disease and discontinuation of therapy in chronic myeloid leukemia: can we aim at a cure? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2011;2011(1):136–42. doi: 10.1182/asheducation-2011.1.136.
16. Tang M, Gonen M, Quintas-Cardama A, et al. Dynamics of chronic myeloid leukemia response to long-term targeted therapy reveal treatment effects on leukemic stem cells. *Blood*. 2011;118(6):1622–31. doi: 10.1182/blood-2011-02-339267.
17. Roeder I, Horn M, Glauche I, et al. Dynamic modeling of imatinib-treated chronic myeloid leukemia: functional insights and clinical implications. *Nat Med*. 2006;12(10):1181–4. doi: 10.1038/nm1487.
18. Branford S, Seymour JF, Grigg A, et al. BCR-ABL messenger RNA levels continue to decline in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia treated with imatinib for more than 5 years and approximately half of all first-line treated patients have stable undetectable BCR-ABL using strict sensitivity criteria. *Clin Cancer Res*. 2007;13(23):7080–5. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-0844.
19. Mughal T, Goldman J. Chronic myeloid leukemia: current status and controversies. *Oncology*. 2004;18(7):837–44.
20. Etienne G, Guilhot J, Rea D, et al. Long-term follow-up of the French Stop Imatinib (STIM) study in patients with chronic myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2017;35(3):298–305. doi: 10.1200/JCO.2016.68.2914.
21. Pagani IS, Shanmuganathan N, Kok CH, et al. Long-term treatment-free remission of chronic myeloid leukemia with falling levels of residual leukemic cells. *Leukemia*. 2018;32(12):2572–9. doi: 10.1038/s41375-018-0264-0.
22. Петрова А.Н., Чельшева Е.Ю., Туркина А.Г. Ремиссия без лечения у больных хроническим миелолейкозом: обзор литературы. *Онкогематология*. 2019;14(3):12–22. doi: 10.17650/1818-8346-2019-14-3-12-22.
- [Petrova AN, Chelysheva EYu, Turkina AG. Treatment-free remission in patients with chronic myeloid leukemia: literature review. *Onkogematologiya*. 2019;14(3):12–22. doi: 10.17650/1818-8346-2019-14-3-12-22. (In Russ)]
23. Туркина А.Г., Петрова А.Н., Чельшева Е.Ю. и др. Результаты проспективного исследования по наблюдению больных хроническим миелолейкозом после прекращения терапии ингибиторами тирозинкиназ. *Гематология и трансфузиология*. 2020;65(4):370–85. doi: 10.35754/0234-5730-2020-65-4-370-385.
- [Turkina AG, Petrova AN, Chelysheva EYu, et al. A prospective study of the monitoring of patients with chronic myeloid leukemia upon withdrawal of tyrosine kinase inhibitor therapy. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2020;65(4):370–85. doi: 10.35754/0234-5730-2020-65-4-370-385. (In Russ)]
24. Шухов О.А., Петрова А.Н., Чельшева Е.Ю. и др. Факторы сохранения молекулярной ремиссии после прекращения терапии ингибиторами тирозинкиназ у пациентов с хроническим миелолейкозом: результаты нерандомизированного проспективного клинического исследования. *Клиническая онкогематология*. 2021;14(1):1–12. doi: 10.21320/2500-2139-2021-14-1-1-12.
- [Shukhov OA, Petrova AN, Chelysheva EYu, et al. Factors for Sustaining Molecular Remission after Discontinuation of Tyrosine Kinase Inhibitors Therapy in Chronic Myeloid Leukemia: Results of Non-Randomized Prospective Clinical Trial. *Clinical oncohematology*. 2021;14(1):1–12. doi: 10.21320/2500-2139-2021-14-1-1-12. (In Russ)]
25. Rousselot P, Charbonnier A, Cony-Makhoul P, et al. Loss of major molecular response as a trigger for restarting tyrosine kinase inhibitor therapy in patients with chronic-phase chronic myelogenous leukemia who have stopped imatinib after durable undetectable disease. *J Clin Oncol*. 2014;32(5):424–30. doi: 10.1200/JCO.2012.48.5797.
26. Ross DM, Branford S, Seymour JF, et al. Patients with chronic myeloid leukaemia who maintain a complete molecular response after stopping imatinib treatment have evidence of persistent leukaemia by DNA PCR. *Leukemia*. 2010;24(10):1719–24. doi: 10.1038/leu.2010.185.
27. Rousselot P, Loiseau C, Delord M, et al. A report on 114 patients who experienced treatment free remission in a single institution during a 15 years period: long term follow-up, late molecular relapses and second attempts. *Blood*. 2019;134(1):27. doi: 10.1182/blood-2019-129919.
28. Imagawa J, Tanaka H, Okada M, et al. DADI Trial Group. Discontinuation of dasatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained deep molecular response for longer than 1 year (DADI trial): a multicentre phase 2 trial. *Lancet Haematol*. 2015;2(12):528–35. doi: 10.1016/S2352-3026(15)00196-9.
29. Takahashi N, Nishiwaki K, Nakaseko Ch, et al. Treatment-free remission after two-year consolidation therapy with nilotinib in patients with chronic myeloid leukemia: STAT2 trial in Japan. 2018;103(11):1835–42. doi: 10.3324/haematol.2018.194894.
30. Ilander M, Olsson-Stromberg U, Schlums H, et al. Increased proportion of mature NK cells is associated with successful imatinib discontinuation in chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2017;31(5):1108–16. doi: 10.1038/leu.2016.360.
31. Rea D, Henry G, Khaznadar Z, et al. Natural killer-cell counts are associated with molecular relapse-free survival after imatinib discontinuation in chronic myeloid leukemia: the IMMUNOSTIM study. *Haematologica*. 2017;102(8):1368–77. doi: 10.3324/haematol.2017.165001.
32. Borg C, Terme M, Taieb J, et al. Novel mode of action of c-kit tyrosine kinase inhibitors leading to NK cell-dependent antitumor effects. *J Clin Invest*. 2004;114(4):379–88. doi: 10.1172/JCI21102.
33. Yoshimoto T, Mizoguchi I, Katagiri S, et al. Immunosurveillance markers may predict patients who can discontinue imatinib therapy without relapse. *Oncolimmunology*. 2014;3(5):28861. doi: 10.4161/onci.28861.
34. Mizoguchi I, Yoshimoto T, Katagiri S, et al. Sustained upregulation of effector natural killer cells in chronic myeloid leukemia after discontinuation of imatinib. *Cancer Sci*. 2013;201(104):1146–53. doi: 10.1111/cas.12216.
35. Ohyashiki K, Katagiri S, Tauchi T, et al. Increased natural killer cells and decreased CD3+CD8 +CD62L+ T cells in CML patients who sustained complete molecular remission after discontinuation of imatinib. *Br J Haematol*. 2012;157(2):254–6. doi: 10.1111/j.1365-2141.2011.08939.x.
36. Blake SJ, Lyons AB, Hughes TP. Nilotinib inhibits the Src-family kinase LCK and T-cell function in vitro. *J Cell Mol Med*. 2009;13(3):599–601. doi: 10.1111/j.1582-4934.2009.00500\_1.x.
37. Schade AE, Schieven GL, Townsend R, et al. Dasatinib, a small-molecule protein tyrosine kinase inhibitor, inhibits T-cell activation and proliferation. *Blood*. 2008;111(3):1366–77. doi: 10.1182/blood-2007-04-084814.
38. Mustjoki S, Eklom M, Arstila TP, et al. Clonal expansion of T/NK-cells during tyrosine kinase inhibitor dasatinib therapy. *Leukemia*. 2009;23(8):1398–405. doi: 10.1038/leu.2009.46.
39. Mollndrem JJ, Lee PP, Wang C, et al. Evidence that specific T lymphocytes may participate in the elimination of chronic myelogenous leukemia. *Nat Med*. 2000;6(9):1018–23. doi: 10.1038/79526.
40. Ross DM, Branford S, Seymour JF, et al. Safety and efficacy of imatinib cessation for CML patients with stable undetectable minimal residual disease: results from the TWISTER study. *Blood*. 2013;122(4):515–22. doi: 10.1182/blood-2013-02-483750.
41. Saussele S, Richter J, Guilhot J, et al. Discontinuation of tyrosine kinase inhibitor therapy in chronic myeloid leukaemia (EURO-SKI): a prespecified interim analysis of a prospective, multicentre, non-randomised, trial. *Lancet Oncol*. 2018;19(6):747–57. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30192-X.
42. Burchert A, Wolf S, Schmidt M, et al. Interferon-alpha, but not the ABL-kinase inhibitor imatinib (STI571), induces expression of myeloblastin and a specific T-cell response in chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2003;101(1):259–64. PMID: 12393722.
43. Essers MA, Offner S, Blanco-Bose WE, et al. IFN alpha activates dormant haematopoietic stem cells in vivo. *Nature*. 2009;458(7240):904–8. doi: 10.1038/nature07815.
44. Burchert A, Muller MC, Kostrewa P, et al. Sustained molecular response with interferon alfa maintenance after induction therapy with imatinib plus interferon alfa in patients with chronic myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2010;28(8):1429–35. doi: 10.1200/JCO.2009.25.5075.
45. Hochhaus A, Burchert A, Saussele S, et al. Nilotinib vs nilotinib plus pegylated interferon alpha (Peg-IFN) induction and nilotinib or Peg-IFN maintenance therapy for newly diagnosed BCR-ABL1 positive chronic myeloid leukemia patients in chronic phase (TIGER study): the addition of Peg-IFN is associated with higher rates of deep molecular response. *Blood*. 2019;134(1):495. doi: 10.1182/blood-2019-130043.
46. Nicolini FE, Etienne G, Huguet F, et al. The combination of nilotinib + pegylated IFN alpha 2a provides somewhat higher cumulative incidence rates of MR4.5 at M36 versus nilotinib alone in newly diagnosed CP CML patients.

Updated results of the Petals phase III national study. *Blood*. 2019;134(1):494. doi: 10.1182/blood-2019-123674.

47. Schutz C, Inselmann S, Sausslele S, et al. Expression of the CTLA-4 ligand CD86 on plasmacytoid dendritic cells (pDC) predicts risk of disease recurrence after treatment discontinuation in CML. *Leukemia*. 2017;31(4):829–36. doi: 10.1038/leu.2017.9.

48. Ross DM, Hughes TP, Melo JV. Do we have to kill the last CML cell? *Leukemia*. 2011;25(2):193–200. doi: 10.1038/leu.2010.197.

49. Ilaria S, Pagani IS, Dang P, et al. Lineage of measurable residual disease in patients with chronic myeloid leukemia in treatment-free remission. *Leukemia*. 2020;34(4):1052–61. doi: 10.1038/s41375-019-0647-x.

50. Herrmann H, Sadovnik I, Cerny-Reiterer S, et al. Dipeptidylpeptidase IV (CD26) defines leukemic stem cells (LSC) in chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2014;123(25):3951–62. doi: 10.1182/blood-2013-10-536078.

51. Raspadori D, Pacelli P, Sicuranza A, et al. Flow cytometry assessment of CD26+ leukemic stem cells in peripheral blood: a simple and rapid new diagnostic tool for chronic myeloid leukemia. *Cytometry B Clin Cytom*. 2019;96(4):294–9. doi: 10.1002/cyto.b.21764.

52. Valent P, Sadovnik I, Racil Z, et al. DPPIV (CD26) as a novel stem cell marker in Ph+ chronic myeloid leukaemia. *Eur J Clin Invest*. 2014;44(12):1239–45. doi: 10.1111/eci.12368.

53. Blatt K, Menzl I, Eisenwort G, et al. Phenotyping and target expression profiling of CD34+/CD38– and CD34+/CD38+ stem- and progenitor cells in acute lymphoblastic leukemia. *Neoplasia*. 2018;20(6):632–42. doi: 10.1016/j.neo.2018.04.004.

54. Cui J, Zhu Z, Liu S, et al. Monitoring of leukemia stem cells in chronic myeloid leukemia patients. *Leuk Lymphoma*. 2018;59(9):2264–6. doi: 10.1080/10428194.2017.1421755.

55. Bocchia M, Sicuranza A, Abruzzese E, et al. Residual peripheral blood CD26+ leukemic stem cells in chronic myeloid leukemia patients during TKI therapy and during treatment-free remission. *Front Oncol*. 2018;8:194. doi: 10.3389/fonc.2018.00194.

56. Iwasaki M, Liedtke M, Gentles A, et al. Cleary. CD93 marks a non-quiescent human Leukemia Stem Cell population and is required for development of MLL-rearranged acute myeloid leukemia. *Cell Stem Cell*. 2015;17(4):412–21. doi: 10.1016/j.stem.2015.08.008.

57. Kinstrie R, Horne GA, Morrison H, et al. CD93 is expressed on chronic myeloid leukemia stem cells and identifies a quiescent population, which persists after tyrosine kinase inhibitor therapy. *Leukemia*. 2020;34(6):1613–25. doi: 10.1038/s41375-019-0684-5.

58. Agarwal P, Bhatia R. Influence of bone marrow microenvironment on leukemic stem cells: breaking up an intimate relationship. *Adv Cancer Res*. 2015;127:227–52. doi: 10.1016/bs.acr.2015.04.007.

59. Park M, Park C.J, Cho YW, et al. Alterations in the bone marrow microenvironment may elicit defective hematopoiesis: a comparison of aplastic anemia, chronic myeloid leukemia, and normal bone marrow. *Exp Hematol*. 2017;45:56–63. doi: 10.1016/j.exphem.2016.09.009.

60. Schepers K, Pietras EM, Reynaud D, et al. Myeloproliferative neoplasia remodels the endosteal bone marrow niche into a self-reinforcing leukemic niche. *Cell Stem Cell*. 2013;13(3):285–99. doi: 10.1016/j.stem.2013.06.009.

61. Schepers K, Campbell TB, Passegue E. Normal and leukemic stem cell niches: insights and therapeutic opportunities. *Cell Stem Cell*. 2015;16(3):254–67. doi: 10.1016/j.stem.2015.02.014.

62. Петинати Н.А., Шипунова И.Н., Бигильдеев А.Е. и др. Изменения в клетках-предшественниках стромального микроокружения костного мозга больных хроническим миелолейкозом в дебюте заболевания и в ходе лечения. *Гематология и трансфузиология*. 2019;64(4):424–35. doi: 10.35754/0234-5730-2019-64-4-424-435.

[Petinati NA, Shipunova IN, Bigildeev AE, et al. Changes in stromal progenitor cells derived from bone marrow in patients with chronic myelogenous leukaemia at the onset of the disease and during treatment. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2019;64(4):424–35. doi: 10.35754/0234-5730-2019-64-4-424-435. (In Russ)]

63. Clark RE, Polydoros F, Apperley JF, et al. De-escalation of tyrosine kinase inhibitor therapy before complete treatment discontinuation in patients with chronic myeloid leukaemia (DESTINY): a non-randomised, phase 2 trial. *Lancet Haematol*. 2019;6(7):e375–e383. doi: 10.1016/S2352-3026(19)30094-8.

64. Claudiani S, Apperley JF, Gale RP, et al. E14a2 BCR-ABL1 transcript is associated with a higher rate of treatment-free remission in individuals with chronic myeloid leukemia after stopping tyrosine kinase inhibitor therapy. *Haematologica*. 2017;102(8):e297–e299. doi: 10.3324/haematol.2017168740.

65. D'Adda M, Farina M, Schieppati F, et al. The e13a2 BCR-ABL transcript negatively affects sustained deep molecular response and the achievement of

treatment-free remission in patients with chronic myeloid leukemia who receive tyrosine kinase inhibitors. *Cancer*. 2019;125(10):1674–82. doi: 10.1002/cncr.31977.

66. Lucas CM, Harris RJ, Giannoudis A, et al. Chronic myeloid leukemia patients with the e13a2 BCR-ABL fusion transcript have inferior responses to imatinib compared to patients with the e14a2 transcript. *Haematologica*. 2009;94(10):1362–7. doi: 10.3324/haematol.2009.009134.

67. Lee SE, Choi SY, Song HY, et al. Imatinib withdrawal syndrome and longer duration of imatinib have a close association with a lower molecular relapse after treatment discontinuation: the KID study. *Haematologica*. 2016;101(6):717–23. doi: 10.3324/haematol.2015.139899.

68. Schmidt M, Hochhaus A, Konig-Merediz SA, et al. Expression of interferon regulatory factor 4 in chronic myeloid leukemia: correlation with response to interferon alpha therapy. *J Clin Oncol*. 2000;18(19):3331–8. doi: 10.1200/JCO.2000.18.19.3331.

69. Schmidt M, Hochhaus A, Nitsche A, et al. Expression of nuclear transcription factor interferon consensus sequence binding protein in chronic myeloid leukemia correlates with pretreatment risk features and cytogenetic response to interferon-alpha. *Blood*. 2001;97(11):3648–50. doi: 10.1182/blood.v97i11.3648.

70. La Nasa G, Caocci G, Littera R, et al. Homozygosity for killer immunoglobulin-like receptor haplotype A predicts complete molecular response to treatment with tyrosine kinase inhibitors in chronic myeloid leukemia patients. *Exp Hematol*. 2013;41(5):424–31. doi: 10.1016/j.exphem.2013.01.008.

71. Caocci G, Martino B, Greco M, et al. Killer immunoglobulin-like receptors can predict TKI treatment-free remission in chronic myeloid leukemia patients. *Exp Hematol*. 2015;43(12):1015–8. doi: 10.1016/j.exphem.2015.08.004.

72. Caocci G, Greco M, Delogu G, et al. Telomere length shortening is associated with treatment-free remission in chronic myeloid leukemia patients. *J Hematol Oncol*. 2016;9(1):63. doi: 10.1186/s13045-016-0293-y.

73. Смирнихина С.А., Лавров А.В., Адильгереева Э.П. и др. Клиническое значение полноэкзомных исследований миелоидных опухолей методом секвенирования следующего поколения. *Клиническая онкогематология*. 2013;6(1):11–9.

[Smirnikhina SA, Lavrov AV, Adilgerееva EP, et al. Clinical significance of the whole-exome studies in myeloid neoplasms using nextgeneration sequencing. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2013;6(1):11–9. (In Russ)]

74. Smirnikhina S, Chelysheva E, Lavrov A, et al. Genetic markers of stable molecular remission in chronic myeloid leukemia after targeted therapy discontinuation. *Leuk Lymphoma*. 2018;59(10):2512–5. doi: 10.1080/10428194.2018.1434880.

75. Mori S, Vagge E, le Coutre P, et al. Age and dPCR can predict relapse in CML patients who discontinued imatinib: the ISAV study. *Am J Hematol*. 2015;90(10):910–4. doi: 10.1002/ajh.24120.

76. Nicolini FE, Dulucq S, Boureau P, et al. Evaluation of residual disease and TKI duration are critical predictive factors for molecular recurrence after stopping imatinib first-line in chronic phase CML patients. *Clin Cancer Res*. 2019;25(22):6606–13. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-3373.

77. Mahon FX, Boquimpani C, Kim DW, et al. Treatment-free remission after second-line nilotinib treatment in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase: results from a single-group, phase 2, open-label study. *Ann Intern Med*. 2018;168(7):461–70. doi: 10.7326/M17-1094.

78. Ross DM, Masszi T, Gomez Casares TM, et al. Durable treatment-free remission in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase following frontline nilotinib: 96-week update of the ENESTfreedom study. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2018;144(5):945–54. doi: 10.1007/s00432-018-2604-x.

79. Kimura S, Imagawa J, Kazunori M, et al. Treatment-free remission after first-line dasatinib discontinuation in patients with chronic myeloid leukaemia (first-line DADI trial): a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Haematol*. 2020;7(3):e218–e225. doi: 10.1016/S2352-3026(19)30235-2.

80. Kumagai T, Nakaseko C, Nishiwaki K, et al. Dasatinib cessation after deep molecular response exceeding 2 years and natural killer cell transition during dasatinib consolidation. *Cancer Sci*. 2018;109(1):182–92. doi: 10.1111/cas.13430.

81. Shah NP, Garcia-Gutierrez V, Jimenez-Velasco A, et al. Dasatinib discontinuation in patients with chronic-phase chronic myeloid leukemia and stable deep molecular response: the DASFREE study. *Leuk Lymphoma*. 2020;61(3):650–9. doi: 10.1080/10428194.2019.1675879.

82. Rea D, Nicolini FE, Tulliez M, et al. Discontinuation of dasatinib or nilotinib in chronic myeloid leukemia: interim analysis of the STOP 2G-TKI study. *Blood*. 2017;129(7):846–54. doi: 10.1182/blood-2016-09-742205.

83. Nagafuji K, Matsumura I, Shimose T, et al. Cessation of nilotinib in patients with chronic myelogenous leukemia who have maintained deep molecular responses for 2 years: a multicenter phase 2 trial, stop nilotinib (NILSt). *Int J Hematol*. 2019;110(6):675–82. doi: 10.1007/s12185-019-02736-5.