

Клиническая значимость достижения МОБ-негативности у больных хроническим лимфолейкозом

Ю.В.Миролюбова[✉], Е.А.Стадник

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А.Алмазова» Минздрава России.
197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Акkuratова, д. 2
[✉]juli9702@yandex.ru

Определение минимальной остаточной болезни (МОБ) при хроническом лимфолейкозе (ХЛЛ) обрело значимость в связи с успехами терапии этого заболевания. Иммунохимиотерапевтические схемы лечения продлили жизнь больных ХЛЛ, что ассоциировалось с достижением МОБ-негативных ремиссий. МОБ-статус стал расцениваться как предиктор беспрогрессивной выживаемости и конечная точка в клинических исследованиях. Применение новых препаратов – таргетных ингибиторов BCR-сигналинга, ингибиторов Vcl-2, новых моноклональных антител и их комбинаций – открыло перспективы для прогностически неблагоприятных вариантов ХЛЛ. Значение МОБ-негативности в эпоху новых препаратов стало объектом современных исследований. Развивались и методы определения МОБ при ХЛЛ. В статье представлены данные по влиянию МОБ-негативности на выживаемость пациентов на современном уровне развития терапии, а также перспективы клинического применения МОБ-статуса в практике ведения больных. В работе использованы результаты анализа МОБ в рамках проспективного исследования VEN-001, проведенного в России (бендамустин-ритуксимаб в 1-й линии терапии ХЛЛ). Проанализированы результаты определения МОБ-статуса методом проточной цитометрии у 84 человек. Образцы костного мозга были исследованы у 81 (96,4%) пациентов. МОБ-негативность после 6-го курса терапии составила 27,4%, что согласуется с данными, представленными в мировой литературе.

Ключевые слова: хронический лимфолейкоз, минимальная остаточная болезнь, беспрогрессивная выживаемость.

Для цитирования: Миролюбова Ю.В., Стадник Е.А. Клиническая значимость достижения МОБ-негативности у больных хроническим лимфолейкозом. Современная Онкология. 2018; 20 (1): 17–22.

Review

Clinical significance of the achievement of MRD-negativity in patients with chronic lymphocytic leukemia

Yu.V.Mirolyubova[✉], E.A.Stadnik

V.A.Almazov National Medical Research Center. 197341, Russian Federation, Saint Petersburg, ul. Akkuratova, 2
[✉]juli9702@yandex.ru

Abstract

The determination of the minimal residual disease (MRD) in chronic lymphocytic leukemia (CLL) has acquired significance in connection with the success of therapy for this disease. Immunochemotherapy regimens significantly prolonged the life of CLL patients, which was associated with the achievement of MRD-negative remissions. MRD-status has been regarded as a predictor of progression-free survival and an endpoint in clinical studies. The use of new drugs – targeted BCR-signal inhibitors, bcl-2 inhibitors, new monoclonal antibodies and their combinations opened new perspectives for prognostically unfavorable CLL cases. The importance of MRD-negativity in the era of new drugs has become the object of modern research. There were also developing methods for determining MRD in CLL. This article presents data on the effect of MRD-negativity on the survival rates of patients at the current level of the development of therapy, as well as the prospects for the clinical use of the MRD status in the practice of patient management. Furthermore, we present results of an exploratory MRD analysis of a prospective BEN-001 study in Russia (bendamustine-rituximab in the first-line treatment of CLL). MRD status was evaluated in 84 pts. Bone marrow samples were available and evaluated in 81 (96.4%) pts. MRD-negative status after 6 courses of treatment was achieved in 27.4%. Our results in a sample of Russian patients are well aligned with MRD negativity rates from literature.

Key words: chronic lymphocytic leukemia, minimal residual disease, progression-free survival.

For citation: Mirolyubova Yu.V., Stadnik E.A. Clinical significance of the achievement of MRD-negativity in patients with chronic lymphocytic leukemia. Journal of Modern Oncology. 2018; 20 (1): 17–22.

Введение

Согласно критериям Всемирной организации здравоохранения, хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) определяется как В-клеточная неоплазия из малых лимфоцитов, обычно коэкспрессирующих CD19, CD5 и CD23 [1]. Количество клональных В-лимфоцитов составляет более 5×10^9 /л в периферической крови [2]. Это самая распространенная у взрослых гемопоэтическая опухоль, отличающаяся гетерогенным течением, которая преимущественно встречается у лиц пожилого возраста [3].

Диагностика заболевания основана на морфологии и иммунофенотипировании клеток крови и костного мозга [4, 5].

Подходы к терапии ХЛЛ претерпели за последние десятилетия значительную эволюцию. Первоначально терапия была симптоматической (хлорбутин, преднизолон) и не увеличивала продолжительность жизни пациентов. С появлением новых химиопрепаратов (флударабин, бендамустин), а также терапевтических моноклональных антител продолжительность жизни значимо увеличилась, что ассоциировалось с достижением полных клинико-гематологических ремиссий [6]. Стало ясно, что морфологическое исследование крови и костного мозга не позволяет адекватно оценить глубину ремиссии и требуются новые лабораторные методы для оценки минимальной остаточной болезни (МОБ). Кро-

ме того, появились первые данные, что достижение элиминации МОБ коррелирует с увеличением общей (ОВ) и беспрогрессивной выживаемости (БПВ) пациентов [7, 8].

Эти факты повлияли на быстрое развитие лабораторных методик определения МОБ при ХЛЛ.

Лабораторные методы определения МОБ при ХЛЛ

Проточная цитометрия. Первоначально было предложено определение МОБ при ХЛЛ с помощью поиска популяции с aberrантной коэкспрессией CD19/CD5, а также моноклональности по легким цепям каппа/лямбда. Этот простой метод показал низкую специфичность ввиду наличия в небольшом количестве нормальных В-лимфоцитов с коэкспрессией CD19/CD5, что приводило к ложноположительным результатам, а также сложностью определения моноклональности на малых популяциях клеток, учитывая слабую экспрессию иммуноглобулина на ХЛЛ-клетках [9–11]. Чувствительность составила около 1%. Несмотря на недостаточную чувствительность, тем не менее метод используется для мониторинга течения заболевания, однако неприменим для оценки собственно МОБ.

Значительным шагом явились предложенные A.Rawstron и соавт. подходы к стандартизации определения МОБ для 4-цветного проточного цитометра [12].

На большом количестве образцов крови и костного мозга было исследовано 50 возможных комбинаций для определения МОБ при ХЛЛ. Применялся метод разведения ХЛЛ-клеток в суспензии нормальных лимфоцитов для установления порога чувствительности, а также исследования образцов, содержащих ХЛЛ-клетки и кровь здоровых доноров, независимыми лабораториями по предложенному протоколу. Было выявлено 3 оптимальных по специфичности и чувствительности комбинации (CD5/CD19/CD20/CD38, CD5/CD19/CD81/CD22 и CD5/CD19/CD79b/CD43). В целом панель для 4-цветного цитометра выглядела следующим образом:

slgk/slgλ/CD19/CD5
CD45/CD14/CD19/CD3
CD20/CD38/CD19/CD5
CD81/CD22/CD19/CD5
CD79b/CD43/CD19/CD5

Первая пробирка служит для доказательства клональности, но не используется для количественного определения МОБ. В следующей пробирке определяются количество лейкоцитов по маркеру CD45 и контаминация популяции Т-клетками по маркеру CD3. Поскольку высокая контаминация Т-клетками (более 50 клеток) может привести к ложноположительным результатам, такие образцы не должны анализироваться.

Подробно разработанная стандартная тактика гейтирования позволила резко поднять специфичность и чувствительность (специфичность 98,8%, чувствительность 91,1%). При этом в большинстве случаев исследователю не требовалось знать исходный фенотип ХЛЛ-клеток, что повышало применимость метода. Чувствительность достигала 0,01% (1:10 000, или 10^{-4}) и была лимитирована количеством проанализированных клеток (событий). Поскольку для достоверного определения опухолевой популяции считалось необходимым наличие как минимум 50 aberrантных событий, требовалось проанализировать в каждой пробирке как минимум 500 000 лейкоцитов для достижения чувствительности 0,01% (1 на 10 000).

Подробные рекомендации по практическому применению метода 4-цветной проточной цитометрии для диагностики МОБ ХЛЛ даны на сайте <http://www.cll-mrd.org>.

Вследствии с ростом технологий метод совершенствовался в направлении увеличения количества доступных флуорохромов и, соответственно, уменьшения количества пробирок, что ускоряет и удешевляет анализ. В частности, в 2012 г. A.Rawstron была предложена 6-цветная панель из 2 пробирок CD19/CD5/CD20 в сочетании с CD3/CD38/CD79b (1) и CD81/CD22/CD43 (2) [13].

С переходом на 8–10-цветную цитометрию удалось сократить количество пробирок до единственной с использо-

ванием маркеров CD19, CD20, CD5, CD43, CD79b и CD81 [14]. Перечисленные 6 маркеров предлагалось дополнить следующими возможными парами: CD45, CD3 – для наиболее точного подсчета МОБ – или CD200 и CD23 – чтобы пользоваться одной панелью и для диагностики ХЛЛ и для определения МОБ ХЛЛ, или ввести новые маркеры, такие как CD160 и ROR1 [15, 16]. Использование единственной пробирки позволило увеличить количество собираемых событий и тем самым увеличить чувствительность метода до 0,001% (10^{-5}). При этом лимитом детекции считалось наличие хотя бы 20 aberrантных событий, лимитом количественного определения – 50 aberrантных событий. То есть, чтобы достичь чувствительности 10^{-5} , необходимо проанализировать 2 000 000 событий для детекции МОБ и 5 000 000 для количественного определения МОБ.

Молекулярные методы выявления МОБ на основе полимеразной цепной реакции

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) с использованием стандартных (консенсусных) праймеров к генам варибельной области тяжелых цепей иммуноглобулинов (IGHV) [17] – наиболее быстрая методика из молекулярных, имеет чувствительность около 10^{-2} , но неприменима для всех пациентов. Ограничением чувствительности является амплификация нормальных поликлональных IGHV, особенно на фоне регенерирующего костного мозга. Метод является качественным.

Значительно повысить чувствительность (10^{-5} – 10^{-6}) позволила ПЦР с применением аллель-специфических праймеров [13, 14, 18]. Для этих методов необходимо иметь данные по исходному образцу (до терапии). Использование метода секвенирования в режиме реального времени [19] позволило добиться чувствительности до 10^{-5} с количественной оценкой МОБ.

Наиболее чувствительными и быстрыми в настоящее время являются методы высокопроизводительного секвенирования нового поколения (чувствительность 10^{-6}) [20, 21], позволяющие проводить количественную оценку МОБ, в том числе когда первичный материал недоступен. Имеются данные, что в ряде случаев глубина ремиссии, определяемая лишь столь высокочувствительными методами исследования (10^{-6} и ниже), коррелирует с достижением плато выживаемости и может служить оптимальной целью терапии. В частности, к такому выводу приводят исследования пациентов с ХЛЛ после аллогенной трансплантации [20], терапии CAR Т-клетками [22], у которых МОБ-негативность, определенная методами секвенирования нового поколения, ассоциировалась с полным отсутствием неблагоприятных событий за время наблюдения, в отличие от МОБ-негативных по данным проточной цитометрии, в группе которых все же наблюдались случаи прогрессии.

Оба метода обнаружения МОБ (ПЦР и проточная цитометрия) при сравнительном анализе показали высокую корреляцию результатов на уровне пороговой чувствительности до 10^{-5} , однако при более низких значениях МОБ она выявляется лишь молекулярными методами [13, 18, 21].

Ограничением в использовании ПЦР-методов являются высокая стоимость реактивов и оборудования, трудозатратная методика выполнения анализа [13, 14, 18–21]. Преимуществом кроме высокой чувствительности является длительная стабильность ДНК, что упрощает транспортировку в центральную лабораторию. Проточная цитометрия быстрее в производстве и дешевле, недостатком является необходимость исследования свежих образцов (до 48 ч). Тем не менее метод проточной цитометрии в диагностике МОБ ХЛЛ благодаря стандартизации, эффективности и простоте получил широкое распространение [23, 24]. Сайт <http://www.ericll.org> (Европейская исследовательская инициатива по ХЛЛ) содержит актуальную информацию и рекомендации по определению МОБ при ХЛЛ как методом проточной цитометрии, так и ПЦР-методами.

Материал для определения МОБ

Определение МОБ возможно как в периферической крови, так и в костном мозге. Периферическая кровь значитель-

но доступнее для анализа. При сравнении парных образцов отмечалась высокая корреляция, однако уровень МОБ в костном мозге, как правило, выше, чем в периферической крови [12–14, 18, 21]. Особенно это актуально в течение 3 мес после проведенной иммунохимиотерапии. В работе G.Kovacs и соавт. показано, что после терапии FCR значимо большую БПВ имели пациенты, у которых МОБ-негативность определялась как в крови, так и в костном мозге, в отличие тех, у которых МОБ определялась только в крови [25].

Итогом дискуссии о методах детекции МОБ стали следующие рекомендации Европейского медицинского агентства (2014 г.) [26]: для клинических исследований – проводить скрининговое исследование МОБ при ХЛЛ в периферической крови и в случае негативности обязательно проводить исследование костного мозга; МОБ-негативностью считается выявление менее 1 ХЛЛ-клетки на 10 000 лейкоцитов ($<10^{-4}$). Два лабораторных метода считаются применимыми для определения МОБ-статуса – количественная ПЦР в режиме реального времени с чувствительностью в пределах 10^{-4} – 10^{-5} и ≥ 4 -цветная проточная цитометрия с чувствительностью 10^{-4} . Подобные рекомендации даны в руководстве National Cancer Institute-sponsored Working Group – NCI-WG (2008 г.) [4].

Возможным резервуаром МОБ при ХЛЛ могут служить лимфатические узлы и селезенка. Однако в настоящее время не разработаны методы детекции МОБ в этих локализациях [21].

Значение определения МОБ как прогностического фактора Частота и прогностическое значение элиминации МОБ для стандартных схем иммунохимиотерапии

В 2011 г. была опубликована статья Sebastian Böttcher и соавт. [27] по результатам рандомизированного исследования CLL-8, в которой приведены данные по определению МОБ в периферической крови и костном мозге у 493 ранее не леченных больных, получивших курс терапии FC (флударабин, циклофосфан) и FCR (флударабин, циклофосфан, ритуксимаб). Схема FCR показала значительное преимущество перед FC в достижении МОБ-негативности (63% против 35% в периферической крови; $p < 0,001$; 44% против 28% в костном мозге; $p = 0,007$). Снижение уровня МОБ привело к увеличению ОВ и БПВ в обеих группах пациентов (как при терапии FC, так и при терапии FCR), причем при достижении МОБ-негативности ОВ и БПВ не имели достоверных различий в обеих группах, хотя в группе пациентов, получивших терапию FCR, число пациентов, достигших МОБ-негативности, было достоверно выше. Таким образом, достижение МОБ-негативности являлось позитивным фактором, независимым от проведенной терапии. При мультифакторном анализе было показано, что МОБ-негативность в конце терапии является предиктором ОВ и БПВ, независимым от известных предшествующих терапии факторов риска.

По данным исследования CLL10 (FCR и BR – бендамустин + ритуксимаб) достижение МОБ-негативности составило 74% против 63% соответственно в периферической крови и 46% и 35% соответственно в костном мозге [28].

В России было проведено многоцентровое исследование BEN-001, куда включались ранее не леченные больные ХЛЛ с показаниями для начала терапии, без жестких критериев отбора, что приближено к рутинной клинической практике. Пациенты получали терапию по схеме BR. В исследовании с 05.06.2012 по 20.01.2015 были включены 196 пациентов из 34 медицинских центров Российской Федерации, в популяцию для полного анализа включены 149. Статус МОБ был проанализирован методом проточной цитометрии у 84 (56,4%) больных, ответивших на терапию. Образцы костного мозга были исследованы у 81 (96,4%) пациента. МОБ-негативность после 6-го курса терапии составила 27,4%, что согласуется с данными мировой литературы [28, 29].

МОБ-статус и клинический ответ: что важнее?

В исследовании Gabor Kovacs и соавт. [25] была проанализирована прогностическая значимость МОБ в сравнении с

клиническим ответом на терапию у 554 ранее не леченных пациентов, включенных в 2 исследования: CLL8 (FC против FCR) и CLL10 (FCR против BR). МОБ измерялась методом проточной цитометрии с чувствительностью 10^{-4} в крови и в костном мозге (в костном мозге – только у пациентов с полной клинической ремиссией). Сравнились 4 группы пациентов: с МОБ-негативной полной ремиссией (МОБ-ПР), МОБ-негативной частичной ремиссией (МОБ-ЧР), МОБ-позитивной полной ремиссией (МОБ+ПР) и МОБ-позитивной частичной ремиссией (МОБ+ЧР). Было установлено, что БПВ не различалась достоверно у пациентов с МОБ-ПР и МОБ-ЧР, что БПВ была достоверно выше у пациентов с МОБ-ЧР, чем у пациентов с МОБ+ПР. При более подробном анализе группы пациентов с МОБ-ЧР выяснилось, что только пациенты с изолированно увеличенной селезенкой имеют сходные результаты с группой МОБ-ПР, а в группе пациентов с увеличенными лимфоузлами БПВ была ниже. В целом результаты исследования показали, что для оценки эффективности терапии достижение МОБ-негативности не менее важно, чем клинический ответ, и оценка МОБ наряду с клиническим ответом должна применяться в рандомизированных клинических исследованиях.

Одно из наиболее долгосрочных исследований влияния эрадикации МОБ на БПВ и ОВ описано в работе M.Kwok и соавт. [29]. Проанализированы данные 536 пациентов, получивших разные виды терапии ХЛЛ с 1996 по 2007 г. и достигших хотя бы частичной ремиссии. Срок наблюдения составил от 9 до 20 лет. БПВ и ОВ в группе МОБ-ЧР также была длиннее, чем у МОБ+ПР.

Является ли МОБ-негативность универсальным предиктором прогноза?

При мультивариантном анализе в работе M.Kwok и соавт. [29] на длительность БПВ влияли достижение МОБ-негативности и цитогенетические данные, а на ОВ – МОБ-статус, возраст, стадия и вид терапии. Те пациенты, которые достигли МОБ-негативности после первичной терапии, имели лучшие БПВ и ОВ, чем предлеченные, также наличие del17 и del11 снижало БПВ и ОВ, в том числе у МОБ-негативных пациентов, хотя они были несколько лучше, чем у МОБ-позитивных.

Результаты долгосрочного наблюдения (16 лет) за пациентами, получившими стандартную терапию FCR, представлены в работе F.Thompson и соавт. [30]. Дан анализ ОВ и БПВ 300 пациентов в зависимости от разных факторов (мутационный статус, цитогенетика, уровень β_2 -микроглобулина, пола, стадии, достижение МОБ-негативности). МОБ определялась в костном мозге по окончании терапии методом пациент-специфической ПЦР (чувствительность 10^{-4}). Одной из целей исследования были выявление факторов, влияющих на длительность БПВ и ОВ, и, соответственно, выделение групп пациентов с потенциально благоприятным прогнозом, не нуждающихся в эскалации терапии и поддерживающей терапии, или, напротив, тех, для которых стандартный терапевтический подход (FCR), скорее всего, окажется бесперспективен и, возможно, следует выбирать для лечения новые схемы. В частности, было установлено, что пациенты с мутированным статусом генов IGHV и достижением МОБ-негативности в конце терапии имеют значимо большие ОВ и БПВ, чем мутированные МОБ-позитивные. В группе немутированных пациентов достижение МОБ-негативности не влияло на ОВ и БПВ – они были значимо ниже, чем у мутированных.

МОБ-негативность как точка окончания терапии: первые данные

Интересным фактом являлось то, что, хотя пациенты, получившие по разным причинам (прежде всего из-за осложнений, связанных с токсичностью) меньше 6 циклов терапии, имели в целом худшую БПВ по сравнению с получившими все 6 циклов, если к моменту окончания терапии были достигнуты МОБ-негативность и полная ремиссия, БПВ не отличалась от получивших полный курс [31]. Это создало некоторые предпосылки для того, чтобы предположить, что пациентам, достигшим МОБ-негативности и полной клинической ремиссии, дальнейшая терапия может быть отменена, что даст возможность уменьшить токсические эффекты.

Такое же предположение было выдвинуто Paolo Strati и соавт. [31] на основании анализа 237 ранее не леченных больных, получивших терапию FCR. Определение МОБ производилось в образцах костного мозга методом 4-цветной проточной цитометрии согласно стандартам ERIC [12] (чувствительность 10^{-4}) после 3-го цикла терапии и через 2 мес после окончания терапии (6 циклов). Часть пациентов (50 человек) получили 3 и менее циклов терапии (в связи с миелосупрессией, сопутствующими заболеваниями и др.). По результатам достижения МОБ-негативности и количеству курсов терапии пациенты были разделены на 5 групп: 3 курса МОБ-, 3 курса МОБ+, пациенты МОБ- после 3-го цикла и продолжившие терапию до 6 циклов (3МОБ- 6МОБ-), 6 курсов МОБ+ и пациенты МОБ+ после 3-го курса и достигшие МОБ- после 6-го курса. По анализу БПВ и ОВ не было различий между тремя МОБ-негативными группами, таким образом, продолжение терапии после достижения МОБ-негативности не улучшает выживаемость. Авторы отмечают, что раннее прекращение терапии после достижения эрадикации МОБ у больных с достижением полной ремиссии и безотягающих прогностических факторов (с мутированным статусом генов IGTV и без del17) позволило бы уменьшить побочные эффекты терапии и, учитывая лимитированное количество наблюдений, предлагают проверить полученные данные в широком рандомизированном исследовании.

Какие предтерапевтические факторы влияют на достижение МОБ-негативности?

Существует некоторая разноречивость данных о том, какие характеристики больных, определяемые до начала терапии, влияют на достижение МОБ-негативности. Наиболее часто, хотя и не во всех работах, назывались такие факторы, как мутационный статус генов IGTV – чаще МОБ-негативность достигалась в группе мутированных [30–32] – и отсутствие del17p [27, 30]. Кроме того, в разных исследованиях отмечалось негативное значение таких факторов, как высокий уровень β_2 -микроглобулина [30], мужской пол [31], мутации NOTCH1 [32], а наличие трисомии 12 расценивалось как положительный фактор [32].

В исследовании BEN-001 не было выявлено статистически значимой корреляции между полом, возрастом, стадией заболевания, цитогенетическими данными, экспрессией CD38, IGTV-статусом и достижением МОБ-негативности после 6-го курса терапии BR в 1-й линии.

МОБ-статус как конечная точка в клинических исследованиях

Таким образом, по результатам приведенных выше наблюдений было доказано, что для стандартных схем иммунохимиотерапии (FC, FCR, BR) МОБ-статус является предиктором ОВ и БПВ [25, 27–32]. На основании этого факта Европейское медицинское агентство рекомендовало использовать достижение МОБ-негативного статуса в качестве конечной точки для клинических исследований для доказательства влияния терапии на БПВ [26].

МОБ в эпоху новых препаратов

Введение в практику новых препаратов – ингибиторов брутотининовой тирозинкиназы (ибрутиниб) выявило такой феномен, как ибрутиниб-индуцированный лимфоцитоз [33], который не препятствовал достижению положительного терапевтического эффекта. МОБ-негативность не достигалась, но отмечались уменьшение лимфатических узлов и нормализация показателей гемоглобина и тромбоцитов. Однако положительные эффекты сохранялись лишь на фоне постоянного приема препарата. В настоящее время проводится ряд многоцентровых исследований эффективности комбинации ибрутиниба с химиотерапией. В частности, в исследовании HELIOS зафиксировано преимущество комбинации ибрутиниб + BR над схемой BR для резистентных и рецидивных больных ХЛЛ. У них чаще достигалась МОБ-негативность, что ассоциировалось с лучшей БПВ [34]. В настоящее время проводится ряд исследований по оценке эффективности ибрутиниба в сочетании с

другими препаратами (ибрутиниб и ритуксимаб [35], ибрутиниб и ублитуксимаб [36], ибрутиниб и алемтузумаб [37], ибрутиниб и венетоклакс [38]). Примечательно, что в дизайне этих исследований определение МОБ является не только критерием оценки эффективности терапии, но также возможной точкой окончания терапии при достижении МОБ-негативности.

Ингибитор Bcl-2 венетоклакс показал свою эффективность у резистентных и рецидивных пациентов, изолированно и в сочетании с ритуксимабом, бендамустином, обинтузумабом. В частности, отмечалось достижение МОБ у 57% рефрактерных и рецидивных пациентов на терапии венетоклаксом и ритуксимабом [39]. Достижение МОБ-негативности в этих случаях также коррелировало с лучшей БПВ [40, 41].

Ряд исследований предлагают после химиотерапии проводить консолидационный курс моноклональными антителами (алемтузумаб [42], обинтузумаб [43]) до достижения МОБ-негативности в костном мозге. Результаты этих исследований, возможно, приведут к пониманию, у каких пациентов следует предпринимать все возможные шаги для достижения МОБ-негативности, а для каких групп пациентов неизбежные осложнения длительной терапии нивелируют потенциальный положительный эффект.

Значение эрадикации МОБ при аллогенной трансплантации стволовых клеток

В настоящее время, в связи с новыми возможностями терапии рецидивных и резистентных пациентов ХЛЛ, отмечается сужение показаний к аллогенной трансплантации стволовых клеток. Тем не менее в случае резистентности ко 2-й линии терапии, включая ибрутиниб и венетоклакс, возможность трансплантации должна быть рассмотрена для соматически сохраненных больных [44]. Эрадикация МОБ при аллогенной трансплантации стволовых клеток достигается примерно в 1/2 случаев и служит предиктором длительной БПВ [20, 45, 46]. Исследование проводили через 6 и 12 мес после аллогенной трансплантации костного мозга. При сравнении метода проточной цитометрии (чувствительность 10^{-4}) и ПЦР нового поколения (чувствительность 10^{-6}) отмечалось некоторое преимущество последнего метода в оценке негативного влияния МОБ-позитивности на рецидив в посттрансплантационном периоде (50-месячная БПВ составила 93,3% при МОБ-негативности по ПЦР и 86% – по проточной цитометрии [20]). Однако в настоящее время нет рекомендации, что делать в случае рецидива МОБ после трансплантации. Имеются сведения об удачном применении инфузии донорских лимфоцитов в таких случаях [45], но число пациентов слишком мало, чтобы делать определенные выводы [21].

Использование определения МОБ в рутинной клинической практике

Несмотря на то, что факт достижения эрадикации МОБ широко применяется в клинических исследованиях, до настоящего времени нет рекомендации определения уровня МОБ в клинической практике [4, 26, 47].

Нет работ, показывающих, как влияет эрадикация МОБ на качество жизни пациентов, также нет рекомендаций терапии рецидива МОБ. Однако ряд современных клинических исследований [31, 32, 35–37, 41, 42, 48, 49] подводит к выводу, что достижение МОБ-негативности может стать точкой окончания терапии, что позволит снизить токсичность, улучшить качество жизни и снизить стоимость терапии. Таким образом, определение МОБ-статуса может стать точкой принятия решения о продолжении, остановке либо смене терапии в клинической практике. Необходима разработка стандартов дизайна измерения МОБ для современных схем терапии, а также оптимальных методов исследования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что конфликт интересов отсутствует.

Информация о спонсорстве

Исследование BEN-001 выполнено при спонсорской поддержке фирмы Astellas Pharma.

Литература/References

- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al. WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues. IARC, Lyon, 2008
- Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* 2016; 127 (20): 2375–90. DOI: 10.1182/blood-2016-01-643569
- Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфолифферативных заболеваний. Под ред. И.В.Поддубной, В.Г.Савченко. М., 2016; с. 224–53. / Rossiiskie klinicheskie rekomendatsii po diagnostike i lecheniu limfoproliferativnykh zabolevaniy. Pod red. I.V.Poddubnoy, V.G.Savchenko. M., 2016; s. 224–53. [in Russian]
- Hallek M, Cheson BD, Catovsky D et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: A report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood* 2008; 111 (12): 5446–56.
- NCCN – Clinical Practice Guidelines in Oncology, B-cell lymphomas version 7.2017, https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/b-cell.pdf (accessed 29 Dec 2017)
- Keating MJ, O'Brien S, Albitar M et al. Early results of a chemoinmunotherapy regimen of fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab as initial therapy for chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2005; 23 (18): 4079–88.
- 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 (13): 2971–9.
- Rawstron AC, Kennedy B, Evans PA et al. Quantitation of minimal disease levels in chronic lymphocytic leukemia using a sensitive flow cytometric assay improves the prediction of outcome and can be used to optimize therapy. *Blood* 2001; 98 (1): 29–35.
- Vuillier F, Claisse JF, Vandenvelde C et al. Evaluation of residual disease in B-cell chronic lymphocytic leukemia patients in clinical and bone-marrow remission using CD5-CD19 markers and PCR study of gene rearrangements. *Leuk Lymphoma* 1992; 7 (3): 195–204.
- Lenormand B, Bizet M, Fruchart C et al. Residual disease in B-cell chronic lymphocytic leukemia patients and prognostic value. *Leukemia* 1994; 8 (6): 1019–26.
- Cabezudo E, Matutes E, Ramrattan M et al. Analysis of residual disease in chronic lymphocytic leukemia by flow cytometry. *Leukemia* 1997; 11: 1909–14.
- Rawstron AC, Villamor N, Ritgen M et al. International standardized approach for flow cytometric residual disease monitoring in chronic lymphocytic leukaemia. *Leukemia* 2007; 21 (5): 956–64.
- Rawstron AC, Botcher S, Testu R et al. Improving efficiency and sensitivity: European Research Initiative in CLL (ERIC) update on the international harmonised approach for flow cytometric residual disease monitoring in CLL. *Leukemia* 2013; 27 (1): 142–9.
- Rawstron AC, Fazi C, Agathangelidis A et al. A complementary role of multiparameter flow cytometry and high-throughput sequencing for minimal residual disease detection in chronic lymphocytic leukemia: an European Research Initiative on CLL study. *Leukemia* 2016; 30 (4): 929–36.
- Farren TW, Liu F, Macey MG et al. Combined ROR1 and CD160 Detection for Improved Minimal Residual Disease in Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL). *Blood* 2013; 122 (21): 2572.
- Farren TW, Giustiniani J, Fanous M et al. Minimal residual disease detection with tumor-specific CD160 correlates with event-free survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood Cancer J* 2015; 5 (1): e273.
- Voena C, Ladetto M, Astolfi M et al. A novel nested-PCR strategy for the detection of rearranged immunoglobulin heavy-chain genes in B cell tumors. *Leukemia* 1997; 11 (10): 1793–8.
- Böttcher S, Stilgenbauer S, Busch R et al. Standardized MRD flow and ASO IGH RQ-PCR for MRD quantification in CLL patients after rituximab-containing immunochemoimmunotherapy: a comparative analysis. *Leukemia* 2009; 23 (11): 2007–17.
- Pfützner T, Engert A, Wittor H et al. A real-time PCR assay for the quantification of residual malignant cells in B cell chronic lymphatic leukemia. *Leukemia* 2000; 14: 754–66.
- Logan AC, Zhang B, Narasimhan B et al. Minimal residual disease quantification using consensus primers and high-throughput IGH sequencing predicts post-transplant relapse in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2013; 27 (8): 1659–65.
- Thompson PA, Wierda WG. Eliminating minimal residual disease as a therapeutic end point: working toward cure for patients with CLL. *Blood* 2016; 127 (3): 279–86.
- Turtle CJ, Hay KA, Hanafi LA et al. Durable Molecular Remissions in Chronic Lymphocytic Leukemia Treated With CD19-Specific Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells After Failure of Ibrutinib. *J Clin Oncol* 2017; 35 (26): 3010–20.
- Steblikova O, Cbovancova J, Tichy B et al. Detecting minimal residual disease in patients with chronic lymphocytic leukemia using 8-color flow cytometry protocol in routine hematological practice. *Int J Lab Hematol* 2014; 36 (2): 165–71.
- Луговская С.А., Почтарь М.Е., Наумова Е.В. Диагностика минимальной остаточной болезни при В-клеточной хронической лимфолейкозе методом многопараметрической лазерной проточной цитофлуориметрии. *Клин. лаб. диагностика.* 2010; 9: 20–20а. / Lugovskaia SA, Pochtar ME, Naumova EV. Diagnostika minimal'noi ostatocnoi bolezni pri V-kletocbnoy khronicheskoj limfoleikoze metodom mnogoparametricheskoi lazernoi protocbnoi sitofluorimetrii. *Klin. lab. diagnostika.* 2010; 9: 20–20a. [in Russian]
- Kovacs G, Robrecht S, Fink AM et al. Minimal Residual Disease Assessment Improves Prediction of Outcome in Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) Who Achieve Partial Response: Comprehensive Analysis of Two Phase III Studies of the German CLL Study Group. *J Clin Oncol* 2016; 34 (31): 3758–65.
- Guideline on the use of minimal residue disease as an endpoint in chronic lymphocytic leukaemia studies EMA/629967/2014 http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2014/12/WC500179047.pdf
- Böttcher S, Ritgen M, Fischer K et al. Minimal residual disease quantification is an independent predictor of progression-free and overall survival in chronic lymphocytic leukemia: a multivariate analysis from the randomized GCLLSG CLL8 trial. *J Clin Oncol* 2012; 30 (9): 980–8.
- Eichborst B, Fink AM, Bablo J et al. First-line chemoinmunotherapy with bendamustine and rituximab versus fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab in patients with advanced chronic lymphocytic leukaemia (CLL10): an international, open-label, randomised, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet Oncol* 2016; 17 (7): 928–42.
- Kwok M, Rawstron A, Varghese A et al. Minimal residual disease is an independent predictor for 10-year survival in CLL. *Blood* 2016; 128 (24): 2770–3.
- Thompson PA, Tam CS, O'Brien SM et al. Fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab treatment achieves long-term disease-free survival in IGHV-mutated chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2016; 127 (3): 303–9.
- Strati P, Keating MJ, O'Brien SM et al. Eradication of bone marrow minimal residual disease may prompt early treatment discontinuation in CLL. *Blood* 2014; 123 (24): 3727–32.
- Santacruz R, Villamor N, Aymerich M et al. The prognostic impact of minimal residual disease in patients with chronic lymphocytic leukemia requiring first-line therapy. *Haematologica* 2014; 99 (5): 873–80.
- Herman SE, Niemann CU, Farooqui M et al. Ibrutinib-induced lymphocytosis in patients with chronic lymphocytic leukemia: correlative analyses from a phase II study. *Leukemia* 2014; 28 (11): 2188–96.
- Cbanan-Khan A, Cramer P, Demirkan F et al. Ibrutinib combined with bendamustine and rituximab compared with placebo, bendamustine, and rituximab for previously treated chronic lymphocytic leukaemia or small lymphocytic lymphoma (HELIOS): a randomised, double-blind, phase 3 study. *Lancet Oncol* 2016; 17 (2): 200–11.
- Collett L, Howard DR, Munir T et al. Assessment of ibrutinib plus rituximab in front-line CLL (FLAIR trial): study protocol for a phase III randomised controlled trial. *Trials* 2017; 18 (1): 387.
- Sbarman JP, Farber CM, Mahadevan D et al. Ublituximab (TG-1101), a novel glycoengineered anti-CD20 antibody, in combination with ibrutinib is safe and highly active in patients with relapsed and/or refractory chronic lymphocytic leukaemia: results of a phase 2 trial. *Br J Haematol* 2017; 176 (3): 412–20.
- Winqvist M, Palma M, Heimersson K et al. Dual targeting of Bruton tyrosine kinase and CD52 induces minimal residual disease-negativity in the bone marrow of poor-prognosis chronic lymphocytic leukaemia patients but is associated with opportunistic infections – Results

- from a phase I study. *Br J Haematol* 2017. DOI: 10.1111/bjh.14836 [Epub ahead of print]
38. Hillmen P, Rawstron A, Munir T et al. The initial report of the Bloodwise TAP CLARITY study containing ibrutinib and venetoclax in relapsed, refractory CLL shows acceptable safety and promising early indications of efficacy. *EHA* 2017; Abstract S770
 39. Seymour JF, Ma S, Brander DM et al. Venetoclax plus rituximab in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukaemia: a phase 1b study. *Lancet Oncol* 2017; 18 (2): 230–40.
 40. Stilgenbauer S, Chyla B, Eichhorst B et al. Venetoclax in relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia (CLL) with 17p deletion: outcome and minimal residual disease from the full population of the pivotal M13-982 trial. *EHA* 2017; Abstract S771.
 41. Stilgenbauer S, Morschhauser F, Wendtner CM et al. Phase 1b study (GO28440) of Venetoclax with bendamustine/rituximab or bendamustine/obinutuzumab in patients with relapsed/refractory or previously untreated chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2016; 128 (22): Abstract 4393.
 42. Varghese AM, Howard DR, Pocock C et al. Eradication of minimal residual disease improves overall and progression-free survival in patients with chronic lymphocytic leukaemia, evidence from NCRN CLL207: a phase II trial assessing alemtuzumab consolidation. *Br J Haematol* 2017; 176 (4): 573–82.
 43. Oughton JB, Collett L, Howard DR et al. GA101 (obinutuzumab) monoclonal Antibody as Consolidation Therapy In CLL (GALACTIC) trial: study protocol for a phase II/III randomised controlled trial. *Trials* 2017; 18 (1): 353.
 44. Dreger P, Schetelig J, Andersen N et al. Managing high-risk CLL during transition to a new treatment era: stem cell transplantation or novel agents? *Blood* 2014; 124 (26): 3841–9.
 45. Dreger P, Dobner H, Ritgen M et al; German CLL Study Group. 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.
 46. Farina L, Carniti C, Doderio A et al. Qualitative and quantitative polymerase chain reaction monitoring of minimal residual disease in relapsed chronic lymphocytic leukemia: early assessment can predict long-term outcome after reduced intensity allogeneic transplantation. *Haematologica* 2009; 94 (5): 654–62.
 47. Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2017 update on diagnosis, risk stratification, and treatment. *Am J Hematol* 2017; 92 (9): 946–65.
 48. Никитин ЕА. Дифференцированная терапия хронического лимфолейкоза. Дис. ... д-ра мед. наук. М., 2014. / Nikitin EA. Differentsirovannaya terapiia khronicheskogo limfoleikoza. Dis. ... d-ra med. nauk. M., 2014. [in Russian]
 49. Кувшинов АЮ, Волошин С.В., Мартынкевич И.С. и др. Хронический лимфолейкоз: прогностическое значение минимальной остаточной болезни, возможности современных методов ее выявления и коррекции (обзор литературы). *Клин. онкогематология*. 2016; 9 (2): 191–8. / Kuvsbinov AYu., Volosbin S.V., Martynkevich I.S. i dr. Khronicheskii limfoleikoz: prognosticheskoe znachenie minimal'noi ostatocnoi bolezni, vozmozhnosti sovremennykh metodov ee vyivleniia i korrektsii (obzor literatury). *Klin. onkologematologii*. 2016; 9 (2): 191–8. [in Russian]

Сведения об авторах

Миролюбова Юлия Владимировна – врач клинической лабораторной диагностики, ассистент каф. лабораторной диагностики и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В.А.Алмазова». E-mail: juli9702@yandex.ru
Стадник Елена Александровна – канд. мед. наук, ФГБОУ ВО «Первый СПбГМУ им. И.П.Павлова», доц., ст. науч. сотр. ФГБУ «НМИЦ им. В.А.Алмазова». E-mail: elena_stadnik@mail.ru