

## КЛИНИКА, ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ЛИМФОИДНЫХ ОПУХОЛЕЙ

## LYMPHOID MALIGNANCIES

### Хронический лимфолейкоз: прогностическое значение минимальной остаточной болезни, возможности современных методов ее выявления и коррекции (обзор литературы)

**А.Ю. Кувшинов, С.В. Волошин, И.С. Мартынкевич,  
Е.В. Клейна, М.А. Михалева, К.М. Абдулкадыров**

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», ул. 2-я Советская, д. 16, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 191024

### Chronic Lymphocytic Leukemia: Prognostic Significance of Minimal Residual Disease and Potential of Modern Methods of Its Diagnosis and Therapy (Literature Review)

**AYu Kuvshinov, SV Voloshin, IS Martynkevich, EV Kleina,  
MA Mikhaleva, KM Abdulkadyrov**

Russian Scientific Research Institute of Hematology and Transfusiology, 16 2-ya Sovetskaya str., Saint Petersburg, Russian Federation, 191024

#### РЕФЕРАТ

Достижение полной ремиссии (ПР) у больных хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ) стало осуществимой целью лечения, которая напрямую коррелирует с длительной выживаемостью. Однако даже при достижении ПР в организме пациента может оставаться определенное количество опухолевых клеток, характеризующее понятие минимальной остаточной болезни (МОБ). В последнее время появилось много данных, доказывающих необходимость выявления и мониторинга МОБ, т. к. она оказывает существенное влияние на прогноз ХЛЛ. Достижение МОБ-отрицательной ремиссии является независимым прогностическим фактором длительной выживаемости без прогрессирования и общей выживаемости. Появление новых диагностических методов позволило дать определение МОБ и разработать стандарты ее оценки. В настоящем обзоре представлен анализ литературных данных по изучению МОБ, методам ее оценки, прогностической значимости, а также способам эрадикации.

**Ключевые слова:** хронический лимфолейкоз, минимальная остаточная болезнь, проточная цитометрия.

**Получено:** 5 января 2016 г.

**Принято в печать:** 10 января 2016 г.

*Для переписки:* Сергей Владимирович Волошин, канд. мед. наук, ул. 2-я Советская, д. 16, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 191024; тел.: +7(812)274-37-70; e-mail: kuvshinovmd@gmail.com

*Для цитирования:* Кувшинов А.Ю., Волошин С.В., Мартынкевич И.С. и др. Хронический лимфолейкоз: прогностическое значение минимальной остаточной болезни, возможности современных методов ее выявления и коррекции (обзор литературы). Клиническая онкогематология. 2016;9(2):191–8.

DOI: 10.21320/2500-2139-2016-9-2-191-198

#### ABSTRACT

Achieving a complete remission (CR) in patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL) has become a feasible goal directly correlating with a prolonged survival. However, a certain number of tumor cells may be present in the patient's body even when CR has been achieved, and this phenomenon is called a minimal residual disease (MRD). A lot of data confirming the necessity of MRD diagnosing and monitoring has emerged recently, since the MRD has a significant impact on the prognosis of CLL. Achieving MRD-negative remission is an independent predictor of long-term progression-free survival and overall survival. The occurrence of new diagnostic techniques has allowed to define the MRD and to develop standards for its assessment. This paper presents an overview of literature data about MRD, methods of its evaluation, prognostic significance, as well as the methods of eradication.

**Keywords:** chronic lymphocytic leukemia, minimal residual disease, flow cytometry.

**Received:** January 5, 2016

**Accepted:** January 10, 2016

*For correspondence:* Sergei Vladimirovich Voloshin, PhD, 16 2-ya Sovetskaya str., Saint Petersburg, Russian Federation, 191024; Tel.: +7(812)274-37-70; e-mail: kuvshinovmd@gmail.com

*For citation:* Kuvshinov AYu, Voloshin SV, Martynkevich IS, et al. Chronic Lymphocytic Leukemia: Prognostic Significance of Minimal Residual Disease and Potential of Modern Methods of Its Diagnosis and Therapy (Literature Review). Clinical oncohematology. 2016;9(2):191–8 (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2016-9-2-191-198

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) — гетерогенное клональное лимфопролиферативное заболевание, опухолевым субстратом которого являются трансформированные зрелые лимфоциты с примесью пролимфоцитов, несущие на своей мембране рецепторы CD5, CD19, CD23, которые определяются в абсолютном количестве более  $5 \times 10^9/\text{л}$  в периферической крови и первично поражают костный мозг.

Стратегия ведения пациентов с ХЛЛ значительно изменилась за последние десятилетия. Если раньше целью лечения таких больных было купировать симптомы заболевания и достичь клинико-гематологического улучшения, то последние 20 лет ставится задача достижения полной ремиссии (ПР), что сопровождается увеличением общей (ОВ) и выживаемости без прогрессирования (ВБП). Однако при всех очевидных успехах ХЛЛ все еще остается неизлечимым заболеванием. Тем не менее прогресс в области биологии ХЛЛ привел к внедрению новых диагностических методов и прогностических факторов в повседневную клиническую практику. Разработка современных программ лечения с использованием моноклональных антител (ритуксимаб) и ингибиторов В-клеточного сигнального пути повысила их эффективность.

Накопленные и систематизированные данные легли в основу опубликованных в 2008 г. Международной рабочей группой по изучению ХЛЛ (IWCLL) рекомендаций по диагностике и лечению ХЛЛ [1]. В них были представлены принципы диагностики, стадирования и лечения заболевания, определены прогностические факторы течения болезни, а также критерии эффективности терапии. В разд. 5 «Рекомендаций» дано определение понятия минимальной остаточной болезни (МОБ) при достижении ПР.

По сути МОБ — это состояние организма, при котором определяются опухолевые клетки в количестве 1 и более на 10 000 нормальных при невозможности их выявления морфологическими методами.

Выявление МОБ в качестве метода определения наличия болезни у пациентов без морфологических признаков опухоли впервые было изучено при остром лимфобластном (ОЛЛ) и промиелоцитарном лейкозах, а также лимфоме из клеток зоны мантии [2–4]. При ОЛЛ оценка МОБ на различных этапах лечения оказалась самым мощным предиктором развития рецидива заболевания [2]. В связи с этим она была включена в исследования, в которых тактика лечения определялась в соответствии с МОБ-положительным статусом у больных ОЛЛ стандартного и промежуточного риска [5]. При лимфоме из клеток зоны мантии N.S. Andersen и соавт. показали, что у МОБ-положительных пациентов при достижении на фоне противоопухолевой терапии, включающей ритуксимаб, МОБ-отрицательный статус увеличивает длительность молекулярной ремиссии и показатели ВБП [3].

У большинства пациентов с ПР ХЛЛ в конечном итоге развиваются рецидивы. В такой ситуации изучение МОБ на различных этапах заболевания имеет важное значение для определения тактики лечения [6–9] и оценки эффективности новых программ терапии [10–13].

Изучение МОБ при ХЛЛ началось два десятилетия назад в исследованиях с использованием специфичной, но слабочувствительной 2-цветной проточной цитометрии (ПЦ). Еще в 1992 г. L.E. Robertson и соавт. показали, что даже при определении МОБ с помощью 2-цветной ПЦ

пациенты с ПР могут быть разделены на две группы, различные по показателям ВБП [14]. МОБ-положительные пациенты имели медиану ВБП 19 мес. по сравнению с 30 мес. у МОБ-отрицательных. S.M. O'Brien и соавт. также показали статистически значимое увеличение показателей ВБП у МОБ-отрицательных пациентов с ПР по сравнению с МОБ-положительными после лечения по программе FC (флударабин, циклофосфамид) [15].

Для оценки МОБ при ХЛЛ существует большое количество диагностических подходов. Наиболее простые — анализ коэкспрессии CD19/CD5 с помощью ПЦ [11, 16, 17] и консенсусная полимеразная цепная реакция генов тяжелых цепей иммуноглобулина (IgH-ПЦР) [10, 18–20].

Эти подходы не являются количественными, имеют низкую и различную чувствительность. Образец, определяемый как МОБ-отрицательный, по одной методике может содержать в 100 раз больше опухолевых клеток, чем МОБ-положительный образец, тестированный более чувствительными методами [18, 20–22]. Тем не менее существуют исследования, доказывающие, что даже качественная оценка МОБ может иметь прогностическое значение [16, 18, 19]. Используемые до настоящего времени качественные, но слабо чувствительные способы оценки МОБ все же требуют замены на более чувствительные количественные методы.

К настоящему времени разработаны и применяются два основных метода выявления МОБ при ХЛЛ — иммунофенотипический и молекулярно-генетический (табл. 1). Оценка МОБ при ХЛЛ возможна и по цитогенетическим нарушениям, выявляемым методом флюоресцентной гибридизации *in situ* (FISH). Однако особенность методики FISH такова, что число клеток с соответствующим сигналом в отрицательном контроле может достигать 10 % [23]. Кроме того, цитогенетические аберрации выявляются только у 60–70 % больных ХЛЛ [24]. По этим причинам оценка МОБ методом FISH характеризуется недостаточной чувствительностью.

Метод ПЦ основан на детекции флюоресценции клеток ХЛЛ, окрашенных моноклональными антителами, а также на определении параметров прямого и бокового светорассеяния. Антитела специфично связываются с присутствующими на клетке антигенами. Каждая молекула антитела конъюгирована с флюорохромом, который флюоресцирует при возбуждении молекулы светом определенной длины волны. Флюорохромы светятся в узком диапазоне

**Таблица 1.** Методы оценки минимальной остаточной болезни (цит. по [20])

Метод	Модификация	Чувствительность
<b>Иммунофенотипирование опухолевых клеток</b>		
Многоцветная	4-цветная	$10^{-4}$ – $10^{-5}$
иммунофлюоресцентная	6-цветная	$10^{-4}$ – $10^{-5}$
проточная цитометрия	8-цветная	$10^{-5}$
	10-цветная	$\geq 10^{-5}$
<b>Молекулярно-генетический анализ</b>		
Полимеразная цепная реакция (ПЦР)	Консенсусная ПЦР	$10^{-1}$ – $10^{-3}$
	AC-IgH-ПЦР	$10^{-4}$ – $10^{-6}$
<b>Цитогенетический анализ</b>		
Метафазный метод	GTD	$10^{-2}$
Интерфазный метод	FISH	$10^{-3}$

AC-IgH-ПЦР — аллель-специфическая полимеразная цепная реакция генов тяжелых цепей иммуноглобулина; GTD — стандартный цитогенетический анализ; FISH — флюоресцентная гибридизация *in situ*.

флюоресцентного спектра. Таким образом, флюоресценция клетки в определенной области спектра указывает на присутствие искомого антигена, а флюоресценция в нескольких областях — на коэкспрессию нескольких антигенов.

Метод с использованием аллель-специфической полимеразной цепной реакции генов тяжелых цепей иммуноглобулинов (АС-IgH-ПЦР) относится к общепринятым и демонстрирует высокую чувствительность при определении МОБ [18, 20]. В основе метода лежит выявление популяции клональных лимфоцитов по вариабельным регионам генов тяжелых цепей иммуноглобулинов. В настоящее время определены стандартные ПЦР-праймеры, которые используются при ХЛЛ для обнаружения и мониторинга МОБ [25].

Несмотря на высокую чувствительность, время, затрачиваемое на получение результатов АС-IgH-ПЦР в реальном времени, часто необоснованно удлиняет срок принятия решения и выработки дальнейшей лечебной тактики. К тому же метод является трудоемким и дорогостоящим. Именно поэтому 4-цветная ПЦ, обладающая чувствительностью, сопоставимой с АС-IgH-ПЦР, и дающая более быстрый результат, является наиболее востребованным методом оценки МОБ при ХЛЛ к настоящему времени [18, 19, 21].

С целью выработать единый подход к оценке МОБ при ХЛЛ А.С. Rawstron с группой ученых из клиник Европы и США провели масштабное исследование [26]. В результате анализа образцов периферической крови и костного мозга больных ХЛЛ, получавших химиотерапию, в 2007 г. были разработаны единые стандарты выполнения ПЦ для оценки МОБ. Протокол диагностики МОБ при ХЛЛ получил название ERIC (European Research Initiative in CLL). Авторы сравнили 50 комбинаций моноклональных антител на предмет возможности разграничения клеток ХЛЛ и нормальных В-лимфоцитов. В итоге была выбрана единая панель для определения МОБ при ХЛЛ, которая включала пять проб:

- 1) Каппа, Lambda, CD19, CD5;
- 2) CD45, CD14, CD19, CD3;
- 3) CD20, CD38, CD19, CD5;
- 4) CD81, CD22, CD19, CD5;
- 5) CD43, CD79b, CD19, CD5.

В этом исследовании была продемонстрирована высокая сопоставимость между данными ПЦ и АС-IgH-ПЦР, описана методика проведения ПЦ, даны рекомендации по оценке МОБ в образцах периферической крови и костного мозга. Позднее была доказана высокая прогностическая значимость уровня МОБ [18]. В связи с этим количественная оценка МОБ в настоящее время является явно предпочтительной.

Внедрение в стандарты лечения пациентов с ХЛЛ новых программ с включением пуриновых аналогов и моноклональных антител [6, 10, 11, 27–29] привело к улучшению результатов терапии и росту частоты достижения ПР до 70 % (в соответствии с критериями Национального института рака США) [1, 30]. Кроме того, стратегия консолидации терапии с использованием трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) [7, 18, 19, 31] или проведение поддерживающей терапии моноклональными антителами [8, 32, 33] были введены в программы лечения с целью увеличить глубину и продолжительность противоопухолевого ответа.

Учитывая, что одновременная оценка CD20, CD5 и CD19 отвечает наибольшей чувствительности и специ-

фичности 4-цветной ПЦ для определения МОБ [20, 21], закономерно встал вопрос о корреляции между выявлением МОБ с помощью ПЦ и АС-IgH-ПЦР у больных ХЛЛ после ТГСК или после содержащих ритуксимаб программ лечения, когда имеется низкий уровень определяемой экспрессии рецепторов CD20 [34].

Использование режимов с ритуксимабом при ХЛЛ [11, 27, 35, 36] имеет два важных аспекта для мониторинга МОБ с помощью ПЦ. Во-первых, эти программы отличаются высокой эффективностью и высокой частотой ПР, что делает оценку МОБ особенно оправданной. Во-вторых, низкий уровень или отсутствие экспрессии CD20 у пациентов, получавших ритуксимаб, а также очень низкий уровень МОБ ставили под сомнение достоверность ее оценки [18, 20]. В связи с тем, что введение ритуксимаба в программы лечения не влияет на оценку МОБ с помощью АС-IgH-ПЦР, сравнительное исследование этих методов при ХЛЛ было весьма оправданным.

По этой причине S. Bottcher и соавт. провели сравнительное исследование обоих методов для количественной оценки МОБ у больных ХЛЛ, получавших FCR (ритуксимаб, циклофосфамид и флударабин) или FC (флударабин и циклофосфамид) [37]. Была оценена чувствительность и специфичность обоих методов определения МОБ в каждой группе пациентов. Сравнение образцов от пациентов, которых лечили с использованием ритуксимаба или без него, позволило исследовать влияние различных сопутствующих факторов (например, различия в средних уровнях МОБ, способность оценивать низкий уровень экспрессии CD20, остаточное количество неопухолевых В-клеток) на достоверность ПЦ и АС-IgH-ПЦР. В соответствии с принципами IWCLL и международного консенсуса по оценке МОБ методом ПЦ [26] исследование было первоначально разработано для достижения уровня чувствительности  $10^{-4}$ . Показано, что методики ПЦ и АС-IgH-ПЦР одинаково эффективны для обнаружения 1 опухолевой клетки ХЛЛ на 10 000 лейкоцитов независимо от применения ритуксимаба. Уровень МОБ  $< 10^{-4}$  более четко обнаруживался с помощью АС-IgH-ПЦР. На основании этого исследования были приняты и опубликованы международные стандарты выполнения ПЦ и АС-IgH-ПЦР для оценки МОБ при ХЛЛ.

В настоящее время имеются данные по оценке МОБ с помощью высокочувствительных 6-, 8- и даже 10-цветной ПЦ [38]. Однако именно 4-цветная ПЦ остается стандартным методом диагностики МОБ с достаточной чувствительностью ( $10^{-4}$ ), принятой к настоящему времени в качестве порогового уровня.

Количественная оценка МОБ после лечения предложена в качестве альтернативы для прогнозирования продолжительности ответа и ОВ.

Самое масштабное исследование по оценке МОБ у больных ХЛЛ было выполнено германской группой по изучению ХЛЛ (GCLLSG) [39]. В ходе исследования сравнивались группы пациентов с различным уровнем МОБ после проведенной терапии: низкий риск (уровень МОБ  $< 10^{-4}$ ), промежуточный риск (уровень МОБ  $10^{-4} - 10^{-2}$ ), высокий риск (уровень МОБ  $> 10^{-2}$ ). Получено статистически значимое увеличение показателей ВБП у пациентов из группы низкого риска по сравнению с другими группами (медиана 68,7, 40,5 и 15,4 мес. соответственно) (рис. 1). Медиана ОВ была выше в группе низкого риска по сравнению с группой высокого риска



(не достигнута и 48,4 мес. соответственно). При этом различий в ОБ и ВБП в зависимости от варианта предшествующей терапии (FC или FCR) не выявлено. Однако частота достижения более низкого уровня МОБ была выше в группе пациентов, получавших режим FCR. Наименьший риск прогрессирования заболевания отмечен у пациентов в группе низкого риска по сравнению с группой промежуточного и высокого риска (отношение рисков [ОР] 2,49 и 14,7 соответственно;  $p < 0,0001$ ).

Полученные результаты подчеркивают важность эрадикации болезни на молекулярном уровне. Следовательно, отсутствие МОБ может стать решающим показателем успеха терапии. Таким образом, отсутствие МОБ, т. е. достижение МОБ-отрицательного результата, было определено в качестве основной цели терапии при ХЛЛ. Представленные данные добавили веские доказательства в пользу необходимости оценки МОБ при ХЛЛ на различных этапах заболевания. Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA) обязало в рамках протоколов клинических исследований с включением больных ХЛЛ проводить определение МОБ.

В исследовании GCLLSG G. Kovacs и соавт. также была продемонстрирована важность достижения МОБ-отрицательной ремиссии [40]. В исследование было включено 542 пациента. Пациенты получали следующие программы терапии: 121 (22,3 %) — FC, 283 (52,2 %) — FCR и 138 (25,5 %) — BR (бендамустин и ритуксимаб). МОБ-отрицательные ремиссии достигнуты у 81,8 % (175/214) пациентов с ПР и у 47,9 % (157/328) — с частичной ремиссией (ЧР). Были выявлены статистически значимые различия ВБП в группах с МОБ-отрицательными и МОБ-положительными ПР (69,2 vs 40,4 мес.; ОР 0,445; 95%-й доверительный интервал [95% ДИ] 0,282–0,703;  $p = 0,001$ ). Дополнительно обнару-

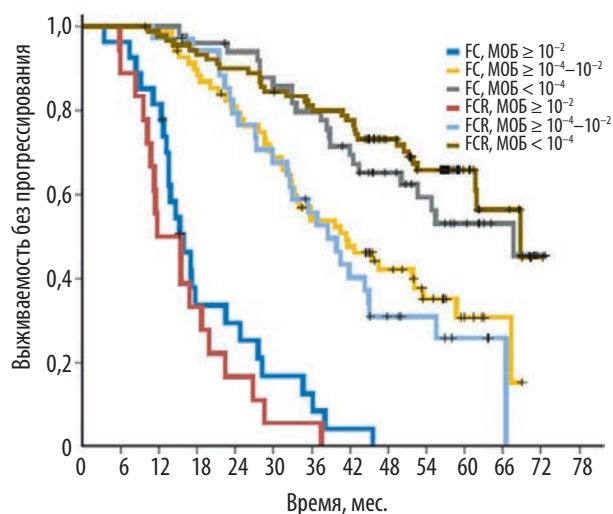
жены значимые различия между МОБ-отрицательными ЧР и МОБ-положительными ПР (61,7 vs 40,4 мес.; ОР 0,537; 95% ДИ 0,340–0,847;  $p = 0,008$ ). Статистически значимые различия между МОБ-отрицательными ПР и МОБ-отрицательными ЧР не выявлены (69,2 vs 61,7 мес.; ОР 0,822; 95% ДИ 0,572–1,182;  $p = 0,29$ ). По результатам исследования был сделан вывод о том, что достижение МОБ-отрицательной ремиссии является мощным прогностическим фактором эффективности лечения. Сохранение спленомегалии после лечения как единственного остаточного признака заболевания у МОБ-отрицательных пациентов не влияет на ВБП.

Следующим этапом изучения МОБ при ХЛЛ стало сравнение наиболее часто используемых в первой линии программ лечения, содержащих ритуксимаб (BR и FCR) [41]. Данное исследование проведено GCLLSG и опубликовано в декабре 2014 г. В исследование был включен 561 больной ХЛЛ. Непосредственные результаты лечения, ОБ и ВБП оценены у 282 пациентов, получавших FCR, и у 279 — BR. Общий ответ в обеих группах был 97,8 % ( $p = 1,0$ ). ПР в группе FCR составила 40,7 %, в группе BR — 31,5 % ( $p = 0,026$ ). МОБ оценена с помощью 4-цветной ПЦ у 355 пациентов (185 — после FCR, 170 — после BR). МОБ-отрицательные ремиссии, а значит, и более длительная ВБП чаще наблюдались у пациентов, получавших лечение по программе FCR по сравнению с BR (58,1 и 31,6 % соответственно;  $p < 0,001$ ). Через 12 мес. наблюдения от начала лечения 58,2 % (46/79) пациентов из группы FCR оставались МОБ-отрицательными по сравнению с 26,3 % (20/76) — в группе BR ( $p < 0,001$ ). Через 18 мес. эти показатели составили 53,8 (35/65) и 24,6 % (16/65) соответственно ( $p = 0,006$ ). Медиана ВБП равнялась 53,7 мес. в группе FCR и 43,2 мес. в группе BR (ОР 1,589; 95% ДИ 1,25–2,079;  $p = 0,001$ ). Результаты исследования еще раз подтвердили важность оценки МОБ не только через 4–6 мес. после завершения химиотерапии, но и в период дальнейшего наблюдения.

Необходимость оценки МОБ постепенно выходит за рамки клинических исследований и становится частью рутинной клинической практики [23, 42]. После получения доказательств о прогностическом значении МОБ-отрицательных ремиссий и их влиянии на показатели выживаемости стали предприниматься попытки воздействия на МОБ различными терапевтическими методами.

Так, в исследовании GCLLSG была оценена консолидация достигнутого терапевтического эффекта алемтузумабом [43]. Пациенты с ХЛЛ, ответившие на стандартную химиотерапию с флударабином, были рандомизированы для лечения алемтузумабом по 30 мг 3 раза в неделю, максимум до 12 нед. Однако в связи с развитием тяжелых инфекционных осложнений у 7 из 11 пациентов, получавших алемтузумаб, исследование было закрыто. Тем не менее следует подчеркнуть, что после лечения алемтузумабом у 5 больных достигнута молекулярная ремиссия, в то время как пациенты из контрольной группы были МОБ-положительными. Кроме того, было продемонстрировано увеличение ВБП у пациентов, получавших алемтузумаб. Это исследование показало, что несмотря на токсичность, консолидация достигнутого эффекта алемтузумабом позволяет добиться молекулярной ремиссии и значительно улучшить продолжительность клинического ответа.

Появились сообщения о роли поддерживающей терапии ритуксимабом при ХЛЛ [8, 44]. В этих небольших



**Рис. 1.** Выживаемость без прогрессирования больных ХЛЛ с различными вариантами терапии (FC vs FCR) и уровнями МОБ периферической крови (цит. по [39])

FC — флударабин, циклофосфамид; FCR — флударабин, циклофосфамид, ритуксимаб; МОБ — минимальная остаточная болезнь.

**Fig. 1.** Progression-free survival of CLL patients with different treatment regimens (FC vs FCR) and MRD levels in the peripheral blood (cited according to [39])

FC — fludarabine and cyclophosphamide; FCR — fludarabine, cyclophosphamide and rituximab; МОБ — minimal residual disease.

исследованиях поддерживающая терапия ритуксимабом была успешно проведена в течение 6 мес. и более. Аналогичные результаты были опубликованы в работе P.H. Wiernik и G.U. Adiga [44], в которой у пациентов, получавших поддерживающую терапию ритуксимабом, отмечено существенное увеличение длительности достигнутого ответа по сравнению с группой без поддерживающего лечения препаратом (35 vs 14 мес. соответственно).

P. Abrisqueta и соавт. сообщили об исследовании, включавшем индукционное лечение по программе R-FCM с последующим проведением поддерживающей терапии ритуксимабом [45]. В исследование было включено 67 пациентов, достигших ответа после R-FCM и получавших поддерживающую терапию ритуксимабом 375 мг/м<sup>2</sup> каждые 3 мес. в течение 2 лет. Ко времени окончания исследования 40,6 % пациентов имели МОБ-отрицательные ПР, 40,6 % — МОБ-положительные ПР, у 4,8 % — сохранялась ЧР. Следует отметить, что у 21 % больных с МОБ-положительной ПР, а также при достижении ЧР после окончания индукционных циклов химиотерапии R-FCM отмечено дальнейшее улучшение ответа в результате поддерживающей терапии ритуксимабом. ВБП и ОВ в течение 4 лет составили 69,1 и 90,5 % для всех пациентов. Эти показатели у больных, получавших поддерживающую терапию, были 74,8 и 93,7 % соответственно. Таким образом, в исследовании продемонстрирована возможность влияния на МОБ, а следовательно, и на показатели ОВ и ВБП с помощью поддерживающей терапии ритуксимабом.

Еще одним препаратом, применяющимся при поддерживающей терапии с целью улучшить ее эффективность, является иммуномодулятор леналидомид. В одном из исследований сообщалось об улучшении качества ответа у пациентов, получавших поддерживающую терапию леналидомидом [46].

Кроме того, в настоящее время проходит III фаза исследования эффективности и безопасности леналидомидом в качестве поддерживающей терапии по сравнению с плацебо у пациентов из группы высокого риска ХЛЛ (№ NCT01556776).

Оценка МОБ была проведена и у пациентов после аллогенной ТГСК (аллоТГСК) [47]. В исследовании GCLLSG было включено 90 пациентов после аллоТГСК. Медиана наблюдения составила 46 мес. (диапазон 7–102 мес.). Смертность за 4 года вне рецидива, ВБП и ОВ составили 23, 42 и 65 % соответственно. МОБ была оценена у 52 пациентов. В группе из 39 больных с 1-летней бессобытийной выживаемостью (БСВ) 27 (52 %) оставались под наблюдением и имели МОБ-отрицательную ремиссию через 12 мес. после выполнения трансплантации. В группе МОБ-положительных ремиссий частота развития рецидивов/прогрессирования заболевания была статистически значимо выше, чем в МОБ-отрицательной группе ( $p = 0,0052$ ). Кроме того, было установлено, что БСВ была одинаковой для всех пациентов независимо от наличия или отсутствия генетических аномалий, в т. ч. и делеции 17p. Это исследование подчеркивает не только важность достижения МОБ-отрицательной ремиссии, но и значение оценки МОБ через 12 мес. после аллоТГСК.

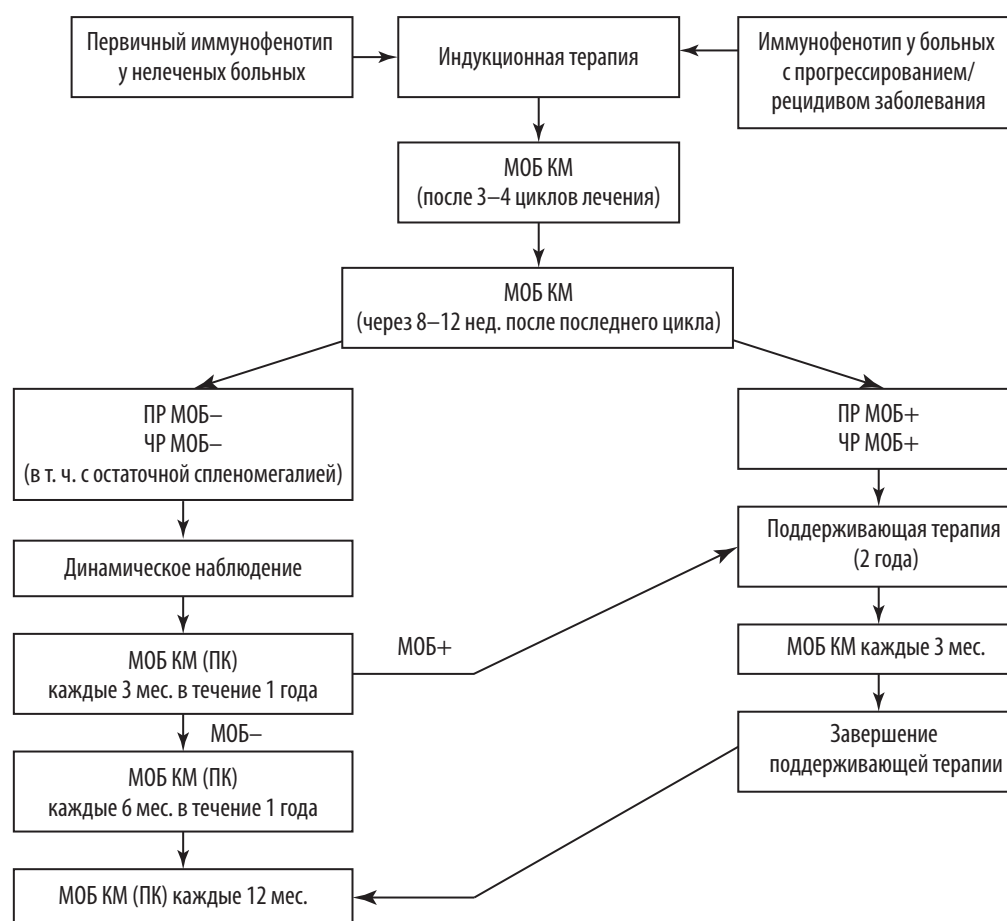
Еще в одном небольшом ретроспективном исследовании [38] также рассматривался вопрос об оценке МОБ после проведения аллоТГСК. В исследовании отводилась роль последовательному мониторингу МОБ, т. к. динамика ее уровня оказалась важным прогностическим фактором.

Важно отметить, что эти 2 исследования доказывают взаимосвязь между уровнем МОБ и улучшением БСВ. Результаты оценки МОБ могут использоваться в клинике для коррекции противоопухолевой терапии при ХЛЛ. Дополнительными модификациями терапии у МОБ-положительных пациентов могут стать вливания донорских лимфоцитов или уменьшение дозы иммуносупрессивных препаратов. Эти наблюдения подчеркивают необходимость дальнейших исследований, касающихся вопросов тактики лечения в соответствии с динамикой МОБ после аллоТГСК.

Таким образом, данные, полученные в ходе клинических исследований, позволили стандартизовать подходы к определению МОБ при ХЛЛ, оценить ее влияние на течение заболевания и определить тактику ведения пациентов с учетом достигнутого лечебного эффекта (табл. 2).

**Таблица 2.** Основные клинические исследования минимальной остаточной болезни при хроническом лимфолейкозе

Автор	Год публикации	Цель исследования	Результат исследования
A.C. Rawstron et al. [26]	2007	Разработать стандарт диагностики МОБ с помощью ПЦ	Выбрана единая панель антител для определения МОБ
S. Bottcher et al. [37]	2009	Сравнить методы определения МОБ в эру ритуксимаба	4-цветная ПЦ и AC-IgH-ПЦП одинаково эффективны для выявления МОБ (при необходимой чувствительности 10 <sup>-4</sup> )
S. Bottcher et al. [39]	2012	Определить прогностическую значимость различных уровней МОБ	Более низкий уровень МОБ соответствует более длительной ОВ и ВБП
G. Kovacs et al. [40]	2014	Оценить значимость достижения МОБ-отрицательной ремиссии	МОБ-отрицательная ремиссия — мощный прогностический фактор эффективности лечения вне зависимости от глубины достигнутого ответа
B. Eichhorst et al. [41]	2014	Изучить влияние программы химиотерапии на частоту достижения МОБ-отрицательных ремиссий	Программа FCR остается стандартом лечения пациентов моложе 60 лет с большей эффективностью по сравнению с BR
C.D. Schweighofer et al. [43]	2009	Определить влияние консолидации терапии алемтузумабом на качество и длительность ремиссии	Консолидация терапии алемтузумабом позволяет добиться молекулярной ремиссии и значительно улучшить продолжительность клинического ответа на терапию
P.H. Wiernik, G.U. Adiga [44]	2011	Оценить влияние поддерживающей терапии ритуксимабом на длительность ремиссии	Проведение поддерживающей терапии позволяет увеличить длительность достигнутой ремиссии
P. Abrisqueta et al. [45]	2013	Определить необходимость проведения поддерживающей терапии ритуксимабом	Поддерживающая терапия ритуксимабом позволяет улучшить глубину ответа, добиться МОБ-отрицательной ремиссии и увеличить длительность ВБП
P. Dreger et al. [47]	2010	Оценить влияние аллоТГСК на частоту достижения МОБ-отрицательных ремиссий	Частота развития рецидива/прогрессирования заболевания выше в группе с МОБ-положительными ремиссиями



**Рис. 2.** Алгоритм мониторинга минимальной остаточной болезни при хроническом лимфолейкозе [42]

КМ — костный мозг; ПК — периферическая кровь; ПР МОБ+ — полная МОБ-положительная ремиссия; ПР МОБ- — полная МОБ-отрицательная ремиссия; ЧР МОБ+ — частичная МОБ-положительная ремиссия; ЧР МОБ- — частичная МОБ-отрицательная ремиссия.

**Fig. 2.** The algorithm for monitoring of minimal residual disease in CLL [42]

КМ — bone marrow; ПК — peripheral blood; ПР МОБ+ — complete MRD-positive remission; ПР МОБ- — complete MRD-negative remission; ЧР МОБ+ — partial MRD-positive remission; ЧР МОБ- — partial MRD-negative remission.

Современным перспективным направлением в дальнейших исследованиях способов эрадикации МОБ является изучение ингибиторов В-клеточного сигнального пути ибрутиниба и иделалисиба. Эти препараты продемонстрировали высокую эффективность в качестве индукционной терапии [48–51]. В настоящее время исследования этих препаратов продолжаются и направлены в т. ч. на изучение их влияния на динамику изменения уровня МОБ.

Оценка МОБ у больных ХЛЛ является важной и неотъемлемой частью комплексного обследования после завершения программы лечения в полном объеме и в период дальнейшего наблюдения за пациентом. Основываясь на полученных данных из литературы, мы разработали и используем собственный алгоритм диагностики и мониторинга МОБ у пациентов с ХЛЛ (рис. 2) [42]. При обследовании после завершения всей программы лечения для определения МОБ необходимо проводить исследование костного мозга. Оценка МОБ в периферической крови допустима при отрицательном результате исследования костного мозга. Мониторинг МОБ на этапе наблюдения или проведения поддерживающей терапии необходим для прогнозирования течения заболевания, своевременной диагностики раннего рецидива/прогрессирования и определения дальнейшей тактики ведения больных ХЛЛ. Что

касается метода оценки МОБ, то к настоящему времени самым приемлемым и достаточным считается 4-цветная проточная цитометрия. Проведение поддерживающей терапии ритуксимабом, по всей вероятности, может быть оправданным и необходимым этапом лечения пациентов, у которых не достигнута МОБ-отрицательная ремиссия.

Таким образом, определение МОБ имеет важное прогностическое значение при ХЛЛ. Современные результаты изучения МОБ составят основу для будущих исследований этой важной и весьма актуальной проблемы при ХЛЛ.

#### КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках НИР «Остаточная болезнь-15».

#### ВКЛАД АВТОРОВ

**Концепция и дизайн:** А.Ю. Кувшинов, С.В. Волошин.  
**Сбор и обработка данных:** А.Ю. Кувшинов, Е.В. Клеина, М.А. Михалева.

**Предоставление материалов исследования:** С.В. Волошин, А.Ю. Кувшинов.

**Анализ и интерпретация данных:** А.Ю. Кувшинов, С.В. Волошин, И.С. Мартынкевич.

**Подготовка рукописи:** С.В. Волошин, А.Ю. Кувшинов, К.М. Абдулкадыров, И.С. Мартынкевич.

**Окончательное одобрение рукописи:** С.В. Волошин.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood*. 2008;111(12):5446–56. doi: 10.1182/blood-2007-06-093906.
- Cave H, van der Werff ten Bosch J, Suci S, et al. Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. European Organization for Research and Treatment of Cancer—Childhood Leukemia Cooperative Group. *N Engl J Med*. 1998;339(9):591–8. doi: 10.1056/nejm199808273390904.
- Andersen NS, Pedersen LB, Laurell A, et al. Preemptive treatment with rituximab of molecular relapse after autologous stem cell transplantation in mantle cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2009;27(26):4365–70. doi: 10.1200/JCO.2008.21.3116.
- Grimwade D, Lo Coco F. Acute promyelocytic leukemia: a model for the role of molecular diagnosis and residual disease monitoring in directing treatment approach in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2002;16(10):1959–73. doi: 10.1038/sj.leu.2402721.
- Vora A, Goulden N, Mitchell C, et al. Augmented post-remission therapy for a minimal residual disease-defined high-risk subgroup of children and young people with clinical standard-risk and intermediate-risk acute lymphoblastic leukaemia (UKALL 2003): a randomised controlled trial. *Lancet Oncol*. 2014;15(8):809–18. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70243-8.
- 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. doi: 10.1200/jco.2005.04.021.
- Ritgen M, Bottcher S, Stilgenbauer S, et al. Quantitative MRD monitoring identifies distinct GVL response patterns after allogeneic stem cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia: results from the GCLLSG CLL3X trial. *Leukemia*. 2008;22(7):1377–86. doi: 10.1038/leu.2008.96.
- Del Poeta G, Del Principe MI, Buccisano F, et al. Consolidation and maintenance immunotherapy with rituximab improve clinical outcome in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Cancer*. 2008;112(1):119–28. doi: 10.1002/cncr.23144.
- Rawstron AC, Kennedy B, Moreton P, et al. Early prediction of outcome and response to alemtuzumab therapy in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2004;103(6):2027–31. doi: 10.1182/blood-2002-10-3270.
- Bosch F, Ferrer A, Villamor N, et al. Fludarabine, cyclophosphamide, and mitoxantrone as initial therapy of chronic lymphocytic leukemia: high response rate and disease eradication. *Clin Cancer Res*. 2008;14(1):155–61. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1371.
- Kay NE, Geyer SM, Call TG, et al. Combination chemoimmunotherapy with pentostatin, cyclophosphamide, and rituximab shows significant clinical activity with low accompanying toxicity in previously untreated B chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2007;109(2):405–11. doi: 10.1182/blood-2006-07-033274.
- Ritgen M, Lange A, Stilgenbauer S, et al. Unmutated immunoglobulin variable heavy-chain gene status remains an adverse prognostic factor after autologous stem cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2003;101(5):2049–53. doi: 10.1182/blood-2002-06-1744.
- Hillmen P, Skotnicki AB, Robak T, et al. Alemtuzumab compared with chlorambucil as first-line therapy for chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2007;25(35):5616–23. doi: 10.1200/jco.2007.12.9098.
- Robertson LE, Huh YO, Butler JJ, et al. Response assessment in chronic lymphocytic leukemia after fludarabine plus prednisone: clinical, pathologic, immunophenotypic, and molecular analysis. *Blood*. 1992;80:29–36.
- O'Brien SM, Kantarjian HM, Cortes J, et al. Results of the fludarabine and cyclophosphamide combination regimen in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2001;19:1414–20.
- Tam CS, O'Brien S, Wierda W, et al. Long-term results of the fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab regimen as initial therapy of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2008;112(4):975–80. doi: 10.1182/blood-2008-02-140582.
- Robak T, Blonski JZ, Gora-Tybor J, et al. Cladribine alone and in combination with cyclophosphamide or cyclophosphamide plus mitoxantrone in the treatment of progressive chronic lymphocytic leukemia: report of a prospective, multicenter, randomized trial of the Polish Adult Leukemia Group (PALG CLL2). *Blood*. 2006;108(2):473–9. doi: 10.1182/blood-2005-12-4828.
- Moreno C, Villamor N, Colomer D, et al. Clinical significance of minimal residual disease, as assessed by different techniques, after stem cell trans-

plantation for chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2006;107(11):4563–9. doi: 10.1182/blood-2005-09-3634.

19. Milligan DW, Fernandes S, Dasgupta R, et al. Results of the MRC pilot study show autografting for younger patients with chronic lymphocytic leukemia is safe and achieves a high percentage of molecular responses. *Blood*. 2005;105(1):397–404. doi: 10.1182/blood-2004-01-0298.

20. Bottcher S, Ritgen M, Pott C, et al. Comparative analysis of minimal residual disease detection using four-color flow cytometry, consensus IgH-PCR, and quantitative IgH PCR in CLL after allogeneic and autologous stem cell transplantation. *Leukemia*. 2004;18(10):1637–45. doi: 10.1038/sj.leu.2403478.

21. 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. doi: 10.1182/blood.v98.1.29.

22. Maloum K, Sutton L, Baudet S, et al. Novel flow-cytometric analysis based on BCD5+ subpopulations for the evaluation of minimal residual disease in chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2002;119(4):970–5. doi: 10.1046/j.1365-2141.2002.03956.x.

23. Никитин Е.А. Дифференцированная терапия хронического лимфолейкоза: Дис. ... д-ра мед. наук. М., 2014. 203 с.

[Nikitin EA. Diferentsirovannaya terapiya khronicheskogo limfoleikoza. (Differentiated therapy of chronic lymphocytic leukemia.) [dissertation] Moscow; 2014. 203 p. (In Russ)]

24. Ripolles L, Ortega M, Ortuno F, et al. Genetic abnormalities and clinical outcome in chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet*. 2006;171(1):57–64. doi: 10.1016/j.cancergencyto.2006.07.006.

25. Van Dongen JJ, Langerak AW, Bruggemann M, et al. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia*. 2003;17(12):2257–317. doi: 10.1038/sj.leu.2403202.

26. Rawstron AC, Villamor N, Ritgen M, et al. International standardized approach for flow cytometric residual disease monitoring in chronic lymphocytic leukaemia. *Leukemia*. 2007;21(5):956–64. doi: 10.1038/sj.leu.2404584.

27. Keating MJ, O'Brien S, Albitar M, et al. Early results of a chemoimmunotherapy regimen of fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab as initial therapy for chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2005;23(18):4079–88. doi: 10.1200/jco.2005.12.051.

28. Byrd JC, Peterson BL, Morrison VA, et al. Randomized phase 2 study of fludarabine with concurrent versus sequential treatment with rituximab in symptomatic, untreated patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia: Results from Cancer and Leukemia Group B 9712 (CALGB 9712). *Blood*. 2003;101(1):6–14. doi: 10.1182/blood-2002-04-1258.

29. Eichhorst BF, Busch R, Hopfinger G, et al. Fludarabine plus cyclophosphamide versus fludarabine alone in first-line therapy of younger patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2006;107(3):885–91. doi: 10.1182/blood-2005-06-2395.

30. Cheson BD, Bennett JM, Grever M, et al. National Cancer Institute-sponsored Working Group guidelines for chronic lymphocytic leukemia: revised guidelines for diagnosis and treatment. *Blood*. 1996;87:4990–7.

31. Dreger P, Ritgen M, Bottcher S, et al. The prognostic impact of minimal residual disease assessment after stem cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia: Is achievement of molecular remission worthwhile? *Leukemia*. 2005;19(7):1135–8. doi: 10.1038/sj.leu.2403800.

32. Wendtner CM, Ritgen M, Schweighofer CD, et al. Consolidation with alemtuzumab in patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL) in first remission—experience on safety and efficacy within a randomized multicenter phase III trial of the German CLL Study Group (GCLLSG). *Leukemia*. 2004;18(6):1093–101. doi: 10.1038/sj.leu.2403354.

33. Montillo M, Tedeschi A, Miqueleiz S, et al. Alemtuzumab as consolidation after a response to fludarabine is effective in purging residual disease in patients with chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2006;24(15):2337–42. doi: 10.1200/jco.2005.04.6037.

34. Rawstron AC, de Tute R, Jack AS, et al. Flow cytometric protein expression profiling as a systematic approach for developing disease-specific assays: identification of a chronic lymphocytic leukaemia-specific assay for use in rituximab-containing regimens. *Leukemia*. 2006;20(12):2102–10. doi: 10.1038/sj.leu.2404416.

35. Hallek M, Fingerle-Rowson G, Fink A, et al. Immunochemotherapy with fludarabine (F), cyclophosphamide (C), and rituximab (R) (FCR) versus fludarabine and cyclophosphamide (FC) improves response rates and progression-free survival (PFS) of previously untreated patients (pts) with advanced chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Blood*. 2008;112: Abstract 325.

36. Wierda W, O'Brien S, Wen S, et al. Chemoimmunotherapy with fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab for relapsed and refractory chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2005;23(18):4070–8. doi: 10.1200/jco.2005.12.516.

37. Bottcher S, Stilgenbauer S, Busch R, et al. Standardized MRD flow and ASO IGH RQ-PCR for MRD quantification in CLL patients after rituximab-containing immunochemotherapy: A comparative analysis. *Leukemia*. 2009;23(11):2007–17. doi: 10.1038/leu.2009.140.

38. Ringelstein-Harlev S, Fineman R. Minimal Residual Disease Surveillance in Chronic Lymphocytic Leukemia by Fluorescence-Activated Cell Sorting. *Ramban Maimonides Med J*. 2014;5(4): e0027. doi: 10.5041/RMMJ.10161.



39. Bottcher S, Ritgen M, Fischer K, et al. Minimal residual disease quantification is an independent predictor of progression-free and overall survival in chronic lymphocytic leukemia: a multivariate analysis from the randomized GCLLSG CLL8 trial. *J Clin Oncol*. 2012;30(9):980–8. doi: 10.1200/JCO.2011.36.9348.
40. Kovacs G, Bottcher S, Bahlo J, et al. Value of minimal residual disease (MRD) negative status at response evaluation in chronic lymphocytic leukemia (CLL): combined analysis of two phase III studies of the German CLL Study Group (GCLLSG). *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2014: Abstract 23.
41. Eichhorst B, Fink AM, Busch R, et al. Frontline chemoimmunotherapy with fludarabine (F), cyclophosphamide (C), and rituximab (R) (FCR) shows superior efficacy in comparison to bendamustine (B) and rituximab (BR) in previously untreated and physically fit patients (pts) with advanced chronic lymphocytic leukemia (CLL): Final analysis of an international, randomized study of the German CLL Study Group (GCLLSG) (CLL10 study). *Proc ASH 2014*: Abstract 19.
42. Garifullin A, Kuvshinov A, Voloshin S, et al. The frequency of occurrence of minimal residual disease (MRD) into different prognostic groups of patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Intern Hematol Club*. [Internet] 2015 Nov 6–7 [cited 2016 April 18] Available from: [http://www.comtecmec.com/IHC/2015/poster\\_list.aspx](http://www.comtecmec.com/IHC/2015/poster_list.aspx).
43. Schweighofer CD, Ritgen M, Eichhorst BF, et al. Consolidation with alemtuzumab improves progression-free survival in patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL) in first remission: long-term follow-up of a randomized phase III trial of the German CLL Study Group (GCLLSG). *Br J Haematol*. 2009;144(1):95–8. doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07394.x.
44. Wiernik PH, Adiga GU. Single-agent rituximab in treatment-refractory or poor prognosis patients with chronic lymphocytic leukemia. *Curr Med Res Opin*. 2011;27(10):1987–93. doi: 10.1185/03007995.2011.615307.
45. Abrisqueta P, Villamor N, Terol MJ, et al. Rituximab maintenance after first-line therapy with rituximab, fludarabine, cyclophosphamide, and mitoxantrone (R-FCM) for chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2013;122(24):3951–9. doi: 10.1182/blood-2013-05-502773.
46. Shanafelt TD, Ramsay AG, Zent CS, et al. Long-term repair of T-cell synapse activity in a phase II trial of chemoimmunotherapy followed by lenalidomide consolidation in previously untreated chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Blood*. 2013;121(20):4137–41. doi: 10.1182/blood-2012-12-470005.
47. Dreger P, Dohner H, Ritgen M, et al. Allogeneic stem cell transplantation provides durable disease control in poor-risk chronic lymphocytic leukemia: long-term clinical and MRD results of the German CLL Study Group CLL3X trial. *Blood*. 2010;116(14):2438–47. doi: 10.1182/blood-2010-03-275420.
48. Byrd JC, Furman RR, Coutre SE, et al. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2013;369(1):32–42. doi: 10.1056/NEJMoa1215637.
49. O'Brien S, Furman RR, Coutre SE, et al. Ibrutinib as initial therapy for elderly patients with chronic lymphocytic leukaemia or small lymphocytic lymphoma: an open-label, multicentre, phase 1b/2 trial. *Lancet Oncol*. 2014;15(1):48–58. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70513-8.
50. Furman RR, Sharman JP, Coutre SE, et al. Idelalisib and rituximab in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2014;370(11):997–1007. doi: 10.1056/NEJMoa1315226.
51. O'Brien S, Lamanna N, Kipps TJ, et al. Update on a Phase 2 Study of Idelalisib in Combination with Rituximab in Treatment-Naive Patients  $\geq 65$  Years with Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) or Small Lymphocytic Lymphoma (SLL). *Blood*. 2014;124: Abstract 1994.

