

Миролюбова Юлия Владимировна

**Лабораторная оценка минимальной остаточной болезни как критерий
эффективности терапии хронического лимфолейкоза с использованием
стандартного иммунохимиотерапевтического режима**

14.03.10 - клиническая лабораторная диагностика

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2020

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель: Зарицкий Андрей Юрьевич - доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Бессмельцев Станислав Семенович - заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», заместитель директора по научной работе;

Луговская Светлана Алексеевна – доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра клинической лабораторной диагностики, профессор.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации

Защита диссертации состоится «02» марта 2021 г. в 14:30 часов на заседании диссертационного совета Д 205.001.01 на базе ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 197374, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, д.54 и на сайте: [https:// nrcerm.ru](https://nrcerm.ru)

Автореферат разослан «___» _____ 2020 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат медицинских наук

Санников Максим Валерьевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Минимальная остаточная болезнь (МОБ) является объективной мерой статуса заболевания, определяемой как количество лейкозных клеток, сохраняющихся в костном мозге и периферической крови после проведенного лечения [Hallek M., 2018., ЕМА 2020]. В клинической лабораторной диагностике детекция МОБ при онкогематологических заболеваниях развивалась в связи с потребностями в объективном контроле терапии и течения заболевания.

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) является наиболее распространенным лейкозом, особенно часто встречающимся у пожилых людей. Среди больных отмечается значительная разнородность по общей выживаемости, сохранению трудоспособности и качеству жизни. Общая выживаемость пациентов колеблется от 2 до 20 лет [В.Г.Савченко, 2014, WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues, 2017]. За последние 20 лет были предложены новые подходы к терапии заболевания, в том числе, таргетная и химио-иммунотерапия, приводящие к исчезновению клинических симптомов у значительной части больных, в том числе и развитию долгосрочных ремиссий [Савченко В.Г., 2014; Никитин Е.А., 2014, Keating, M.J., 2005, Eichhorst B., 2014, Hallek M., 2018]. Наиболее значимые успехи в терапии ХЛЛ были связаны с применением схемы FCR (флударабин, циклофосфан, ритуксимаб) [Keating, M.J., 2005, Hallek M., 2008, Eichhorst B., 2014], где флударабин и циклофосфан являются химиотерапевтическими препаратами, а ритуксимаб – моноклональным антителом. Но не все больные по своему общетерапевтическому статусу, особенно учитывая, что ХЛЛ является болезнью преимущественно пожилого возраста, могут перенести эту, достаточно интенсивную, химиотерапию. Поэтому разрабатывались и другие подходы, в частности, режим бендамустин+ритуксимаб (BR), которая характеризуется меньшей токсичностью [Зарицкий А.Ю., 2011; Eichhorst B., 2014; Fischer K., 2012]. В последние годы предложен ряд других эффективных подходов – ингибиторы В-клеточного рецептора, анти-bcl-2 препараты в виде монотерапии и комбинаций, в том числе с моноклональными антителами [Hallek M., 2018; O'Brien., 2014; Seymour J.F., 2017]. В условиях, когда с появлением новых лекарственных средств появляется возможность терапевтического выбора, особенно важна адекватная, и возможно более ранняя оценка ответа на терапию, в первую очередь для этой цели используются клинические лабораторные методы. Морфологическая оценка ответа является недостаточно чувствительной и часто невозможной, поскольку абсолютный лимфоцитоз, как правило, исчезает к моменту окончания курса терапии, кроме того, лимфоциты при ХЛЛ не имеют заметных морфологических особенностей. Значительно возрастает роль лабораторного определения минимальной остаточной болезни. МОБ-негативность при ХЛЛ определяется как состояние при количественном обнаружении менее 1 лейкозной клетки на 10 тыс. лейкоцитов (0,01%) [Hallek M., 2018., ЕМА 2020]. Как продемонстрировано рядом исследований, достижение МОБ-негативного статуса по окончании терапии,

ассоциируется с продолжительной выживаемостью [Böttcher S., 2012; Kovacs G., 2016; Kwok M., 2016; Moreton P., 2005; Thompson P.A., 2016].

За последние годы предложено несколько лабораторных методов оценки МОБ при ХЛЛ. Наиболее чувствительными являются молекулярные методы на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием набора аллель-специфических ПЦР-праймеров, а также методы высокопроизводительного секвенирования нового поколения. Однако эти методы отличаются значительной трудоемкостью и высокой стоимостью [Böttcher S., 2009; Logan A.C., 2013; Pfitzner T., 2000]. Сравнимым по чувствительности является более доступный метод многоцветной проточной цитофлуориметрии, активно используемый в лабораторной практике [Луговская С.А., 2010; Кисиличина Д.Г., 2013; Rawstron A. C., 2007-2018, Stehlikova O., 2014]. Проведено несколько мультицентровых исследований с целью стандартизации как первичной диагностики, так и последующего мониторинга МОБ методом проточной цитофлуориметрии. На их основе был принят стандарт диагностики, с использованием маркеров CD45, CD19, CD5, CD20, CD23, CD79b, CD22, CD200, CD43 и мониторинга МОБ, с использованием маркеров CD19, CD5, CD45, CD3, CD14, CD20, CD38, CD79b, CD22, CD43, CD81 в панели для четырехцветных проточных цитофлуориметров [Rawstron A. C., 2007]. Вместе с тем проводятся исследования, с целью как повышения чувствительности и специфичности метода, так и к упрощению и удешевлению лабораторной процедуры, путем использования минимального набора наиболее специфичных антител. В частности, была предложена комбинация CD160 и ROR1 для выявления МОБ [Farren T.W., 2013, 2015; Patz M. 2016]. Таким образом, с развитием технологий, в том числе внедрения 6-10 цветных проточных цитометров, метод продолжает совершенствоваться.

С точки зрения клинического подхода важно понять имеет ли количественный уровень МОБ прогностическое значение и использоваться для модификации тактики терапии. В настоящее время не выработаны критерии и алгоритмы терапевтического решения в зависимости от количественных данных измерения МОБ при ХЛЛ. Несмотря на то, что доказана связь МОБ-негативности и продолжительности ремиссии ХЛЛ, нет однозначного понимания является ли элиминация МОБ целью проводимой терапии. Таким образом, современные исследования нацелены на определение значения лабораторной оценки МОБ при хроническом лимфолейкозе для клинической практики и выработки рекомендаций по ее использованию.

Степень разработанности темы

В настоящее время ряд международных и российских исследований доказал значимость достижения недетектируемой МОБ для беспрогрессивной выживаемости (БПВ) и общей выживаемости (ОВ) больных ХЛЛ [Böttcher S., 2012; Kovacs G., 2016; Kwok M., 2016; Moreton P., 2005; Thompson P.A., 2016)]. В большинстве работ анализировались данные пациентов, получивших иммунотерапию по схеме FCR в рамках клинических испытаний, так и в проспективных и ретроспективных наблюдениях. Данных о достижении МОБ-

негативности и на схеме BR и ее прогностической значимости существенно меньше. [Eichhorst B., 2016, Cuneo A., 2018, Fischer K., 2012]. Отсутствуют данные о количественных характеристиках МОБ в определенные точки терапии BR, и их прогностическом значении.

В литературе встречаются противоречивые данные о том, какие пациенты чаще достигают МОБ-негативности при ХЛЛ. В различных исследованиях были идентифицированы различные возможные положительные прогностические факторы, включая отсутствие del(17p), мутированный статус генов варибельного участка иммуноглобулинов (IGHV), трисомию 12, женский пол, отсутствие мутации NOTCH1, возраст <70 лет и отсутствие del(11q) [Böttcher S., 2012; Santacruz R., 2014; Thompson P.A., 2016].

Несмотря на то, что достижение недетектируемой МОБ является положительным фактором прогноза, показано что показатели выживаемости МОБ-негативных пациентов могут существенно варьировать, таким образом эта группа является разнородной. Идет постоянный сбор информации о влиянии факторов биологии ХЛЛ, в том числе цитогенетических особенностей, мутационного статуса IGVH-генов на БПВ и ОВ больных, достигших недетектируемой МОБ на различных схемах терапии.

Лабораторное определение МОБ при ХЛЛ, в настоящее время рекомендовано для клинических исследований в качестве суррогатной конечной точки для сравнения и оценки результатов применения различных терапевтических схем, ставящих перед собой задачу увеличить БПВ и ОВ. [EMA, 2014, 2015]. Показания для определения уровня МОБ при ХЛЛ в клинической практике является предметом для дискуссий. Имеются отдельные данные и предположения о том, что достижение или недостижение МОБ-негативности могло бы послужить критерием для модификации терапии. Ряд современных клинических исследований используют МОБ как критерий для назначения поддерживающей терапии или ее отмены [Ghia P., 2018; Little R.F., 2016; Strati P., 2014; Thompson P.A.,].

Что касается технических вопросов определения МОБ, в настоящее время существует консенсус применять для определения МОБ при ХЛЛ два равноправных метода - многоцветной проточной цитофлуорометрии и пациент-специфической количественной ПЦР [Hallek M., 2018., EMA 2020]. С развитием технических возможностей проточной цитометрии, метод совершенствуется за счет перехода от 4-х цветных панелей к 8-10-цветные панелям, что дает возможность оценить все необходимые маркеры в одной пробирке [Rawstron A.C., 2016, 2018]. Это повышает чувствительность и экономичность метода. Однако, в настоящее время не выработан единый стандартизованный протокол детекции МОБ при ХЛЛ для 8-10-цветных проточных цитометров. Выбор оптимальных маркеров для протокола определения МОБ при ХЛЛ остается предметом современных исследований.

Цель исследования

Определить роль лабораторной оценки минимальной остаточной болезни методом проточной цитометрии как критерия эффективности иммунохимиотерапевтического лечения хронического лимфолейкоза с использованием режима бендамустин+ритуксимаб в первой линии терапии в группе пациентов без жестких критериев отбора.

Задачи исследования

1. Оценить частоту достижения МОБ-негативности после завершения терапии по схеме бендамустин+ритуксимаб, и ее влияние на показатели беспрогрессивной и общей выживаемости больных хроническим лимфолейкозом.
2. Оценить значение количественной и качественной оценки минимальной остаточной болезни, определенного методом проточной цитометрии после третьего (промежуточного) курса терапии по схеме бендамустин+ритуксимаб как критерия прогноза беспрогрессивной и общей выживаемости больных хроническим лимфолейкозом, а также достижения МОБ-негативности по окончании терапии.
3. Оценить зависимость беспрогрессивной и общей выживаемости МОБ-отрицательных больных хроническим лимфолейкозом, получивших терапию по схеме бендамустин+ритуксимаб, от мутационного статуса IGHV-генов.
4. Определить диагностическое значение ROR1 и CD160 как маркеров для выявления минимальной остаточной болезни при хроническом лимфолейкозе методом проточной цитометрии в сравнении со стандартизованной диагностической панелью.

Научная новизна

Проведена оценка частоты достижения МОБ-негативности методом проточной цитометрии, и ее влияние на беспрогрессивную и общую выживаемость у больных хроническим лимфолейкозом, получивших терапию по схеме бендамустин+ритуксимаб в первой линии у пациентов без жестких критериев отбора.

Впервые доказана значимость клинической лабораторной оценки количественного уровня МОБ после третьего (промежуточного) курса терапии методом проточной цитометрии, как раннего критерия прогноза ответа на терапию по схеме бендамустин+ритуксимаб.

Показано сочетанное влияние МОБ-статуса и мутационного статуса IGHV-генов на прогноз терапии хронического лимфолейкоза по схеме бендамустин+ритуксимаб.

Впервые проведена оценка эффективности использования панели с применением моноклональных антител к CD160 и ROR1 для детекции МОБ при хроническом лимфолейкозе, в сравнении со стандартизованной панелью.

Теоретическая и практическая значимость исследования

В результате исследования раскрыто влияние количественного уровня минимальной остаточной болезни, как после окончания терапии, так и на промежуточном этапе лечения, на прогноз хронического лимфолейкоза. Доказана важность скорости элиминации минимальной остаточной болезни, что отражает глубину и, следовательно, долгосрочность ответа. Показано как определение минимальной остаточной болезни используется в качестве лабораторного контроля течения хронического лимфолейкоза. Показано, что мутационный статус IGHV- генов, как один из главных прогностических факторов течения хронического лимфолейкоза, сохраняет свое влияние на выживаемость МОБ-отрицательных больных и, таким образом доказана важность определения обоих параметров для определения прогноза и тактики ведения. Определены количественные параметры уровня МОБ, которые могут использоваться в качестве критерия оценки эффективности, и модификации терапии. Доказаны высокие дискриминантные свойства рецептора ROR1 для использования его при детекции МОБ при ХЛЛ методом проточной цитометрии.

Методология и методы исследования

Методология работы включает в себя теоретические, лабораторные и статистические методы. К теоретическим методам относится анализ и синтез, Лабораторные методы: многоцветная проточная цитометрия, гематологические, молекулярно-биологические и цитогенетические методы исследования. Статистический анализ проводился с помощью компьютерной программы *STATISTICA 10* (анализ кривых выживаемости, построение ROC-кривых, сравнение групп по параметрическим и непараметрическим критериям, многофакторный анализ, дискриминантный анализ).

Положения, выносимые на защиту

1. Количественная оценка минимальной остаточной болезни методом проточной цитометрии при хроническом лимфолейкозе после третьего курса стандартной иммунохимиотерапии по схеме бендамустин+ритуксимаб является критерием ее эффективности, как предиктор достижения МОБ-негативности по окончании полного курса терапии и продолжительности ремиссии заболевания.

2. Беспрогрессивная выживаемость МОБ-отрицательных больных хроническим лимфолейкозом по окончании иммунохимиотерапии по схеме бендамустин+ритуксимаб зависит от мутационного статуса IGHV-генов. Пациенты с мутированным статусом IGHV-генов и неопределяемой МОБ представляют собой группу наиболее благоприятного прогноза.

3. Включение маркера ROR1 в диагностическую панель проточной цитометрии для определения минимальной остаточной болезни при хроническом лимфолейкозе повышает свойства дискриминации ХЛЛ-клеток от нормальных лимфоцитов.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность работы подтверждена числом обследованных пациентов с ХЛЛ, у которых данные по МОБ получены у 149 человек, а также использованием современных методов статистической обработки данных. Материалы, основные положения и выводы диссертации были представлены в виде постерных докладов. «Минимальная остаточная болезнь и мутационный статус как основные предикторы ответа на ХЛЛ» – на XIV Российской конференции с международным участием «Злокачественные лимфомы» (2017 г.). На IV конгрессе гематологов России (2018 г.) был представлен постерный доклад «Минимальная остаточная болезнь при ХЛЛ – ранний ответ как предиктор хорошего прогноза в первой линии терапии». На XV Российской конференции с международным участием «Злокачественные лимфомы» (2018 г.) был представлен постер «ROR1 для детекции МОБ-ХЛЛ методом проточной цитометрии». Результаты работы были доложены на Российском Рабочем Совещании гематологов «Значение Минимальной Остаточной болезни (МОБ) в оптимизации терапии при рефрактерном, рецидивном ХЛЛ: от исследований к рутинной практике» в 2018 г., а также на 10 Евроазиатском гематолого-онкологическом конгрессе в Стамбуле в 2019 г.

Внедрение результатов исследования

Практические рекомендации на основе выводов диссертации используются в клинической практике отделения химиотерапии онкогематологических заболеваний и трансплантации костного мозга. Главные положения диссертации используются в учебном процессе на кафедре факультетской терапии с курсом эндокринологии, кардиологии и функциональной диагностики имени Г.Ф. Ланга с клиникой ФГБОУ «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 9 печатных работ, в том числе 6 в журналах, рекомендованных ВАК РФ для опубликования основных научных результатов диссертации.

Личное участие автора

Автор непосредственно принимал участие в выполнении лабораторных исследований по диагностике ХЛЛ и выявлении МОБ ХЛЛ методом проточной цитометрии, а также в обработке клинических данных и интерпретации результатов исследования.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 114 страницах машинописного текста и включает введение, обзор литературы, характеристику материалов и методов проведенных исследований, собственные результаты исследования, заключение, выводы, практические рекомендации и библиографический список из 91 отечественных и зарубежных источников. Диссертация содержит 45 рисунков и 20 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Характеристика исследуемой группы пациентов

В работе анализировались данные течения заболевания у 186 ранее не леченных пациентов с верифицированным ХЛЛ с 2012 по 2015 год, без ограничения по возрасту, функции почек, индексу коморбидности. За счет отсутствия жестких критериев исключения исследование было приближено к повседневной клинической деятельности. Все пациенты перед началом лечения подписывали информированное согласие, одобренное этическим комитетом ФГБУ НМИЦ им. В.А.Алмазова. Клинико-демографические характеристики участников исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1. Основные клинико-демографические характеристики пациентов до начала терапии.

Показатель	Значение
Возраст, лет (медиана, диапазон):	61 (35-79)
≥65 лет (число, доля):	53 (29,6%)
≥75 лет (число, доля):	14 (7,8%)
Пол:	Пол:
Женщины (число, доля):	69 (38,5%)
Мужчины (число, доля):	110 (61,5%)
Соотношение мужчины/женщины:	1,6 / 1
СКФ по MDRD, мл/мин/1,73 м ² (медиана, диапазон):	71 (25-175)
<70 мл/мин/1,73 м ² (число, доля):	81 (45,8%)
<90 мл/мин/1,73 м ² (число, доля):	140 (79%)
Статус по шкале ECOG (медиана, диапазон)	1 (0-3)
ECOG = 3 (число, доля)	9 (5%)
Индекс коморбидности по шкале CIRS-G (медиана, диапазон)	3 (0-12)
CIRS-G > 6 (число, доля):	22 (12,3%)
Стадия заболевания по Binet	
- Binet A (число, доля):	19 (11%)
- Binet B (число, доля):	116 (67%)
- Binet C (число, доля):	38 (22%)
Гепато- или спленомегалия (число, доля)	110 (61,8%)
Увеличение внутрибрюшных и забрюшинных л/у (число, доля)	108 (60,7%)
Массивная периферическая лимфаденопатия (число, доля)	31 (17,5%)
Уровень лейкоцитов, x10 ⁹ /л (медиана, диапазон)	38,85 (7-500)
Уровень β2-микроглобулина, мг/л (медиана, диапазон)	3,65 (0,16-15,12)
> 3,5 мг/л (число, доля):	53 (50,5%)
Хромосомные aberrации по данным FISH-исследования	
- del17p (число, доля)	9 (6%)
- del11q (число, доля)	62 (41,6%)
- del13q (число, доля)	45 (30,2%)
- трисомия 12 (число, доля)	13 (8,7%)
Мутационный статус генов IGHV	
Немутированный вариант ХЛЛ	123 (67%)
Мутированный вариант ХЛЛ	60 (33%)

Из 186 пациентов данные по МОБ после 3 курса (МОБ3) получены у 140 человек и после 6 курса (МОБ6) у 127 человек – в целом данные по МОБ получены у 149 человек. Все пациенты получали терапию комбинацией химиотерапевтического препарата бендамустина и терапевтического анти-CD20-моноклонального антитела ритуксимаба в стандартных дозировках в качестве первой линии. Схема терапии включала проведение 6 циклов терапии в течение 24 недель

Ответ на терапию определялся согласно рекомендациям международной рабочей группы по ХЛЛ (IWCLL, 2018 г.) как полная ремиссия, частичная ремиссия, прогрессия заболевания и стабилизация заболевания.

Лабораторные методы исследования

Определение МОБ методом 4-х цветной проточной цитометрии выполнялось после 3 и после 6 цикла терапии. Исследование проводилось пациентам в полной и частичной ремиссии при отсутствии абсолютного лимфоцитоза в периферической крови. Материалом для оценки МОБ был костный мозг. Для достижения целевого уровня чувствительности 0,01% собиралось не менее 500000 событий в гейте лейкоцитов. Процедура пробоподготовки по стандартному протоколу включала этап инкубации с антителами в течение 15 минут при комнатной температуре, лизис с помощью рабочего раствора BD FACS Lyse buffer (Becton Dickinson, США) с отмывкой раствором Cell Wash (Becton Dickinson, США). Применялись моноклональные антитела производства BD Biosciences (США) и Dako (Дания). Стандартная четырехцветная панель у части пациентов была дополнена 6 пробиркой CD160 FITC/ROR1PE/ CD19 PerCP- Cy5.5/ CD5 APC с целью тестирования новых маркеров для диагностики МОБ при ХЛЛ (таблица 2). Результаты анализа получены на приборе BD FACS Calibur (Becton Dickinson, США).

Таблица 2. 4-х цветная панель для диагностики МОБ ХЛЛ (6 пробирок). (FITC - изотиоцианат флуоресцеина, PE – фикоэритрин, PerCP- Cy5.5-перидинин хлорофилл протеин-цианин 5.5, APC-аллофикиоцианин, CD – кластер дифференцировки).

№ пробирки	Флюорохромы для 4-х цветной панели			
	FITC	PE	PerCP- Cy5.5	APC
1	CD45	CD14	CD19	CD3
2	CD20	CD38	CD19	CD5
3	CD81	CD22	CD19	CD5
4	CD79b	CD43	CD19	CD5
5	sIgκ	sIgλ	CD19	CD5
6	CD160 FITC	ROR1 PE	CD19 PerCP- Cy5.5	CD APC

Стратегия гейтирования соответствовала протоколу ERIC. В первой пробирке определялось общее количество лейкоцитов по маркеру CD45, количество В-

лимфоцитов и нежелательная контаминация популяции CD 19+ В-клеток CD3+ событиями, представляющими собой Т-лимфоциты (рис.1).

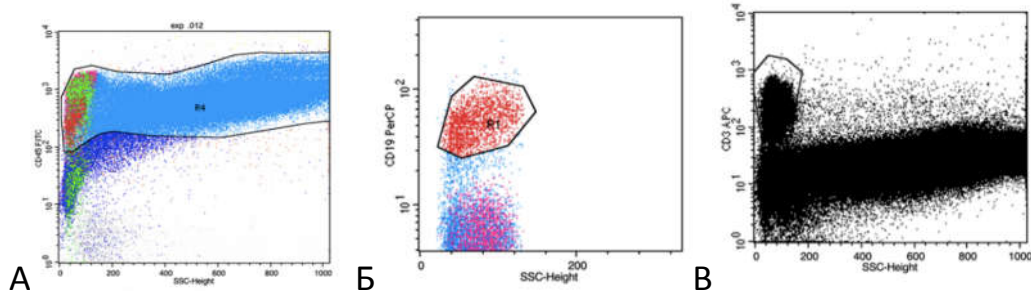


Рисунок 1. Стратегия гейтирования в пробирке 1. Выделение В-клеток.

А – выделение CD45+ лейкоцитов, исключение дедриза и эритроидных клеток. Б – выделение популяции В-клеток по CD19. В. Исключение из анализа Т-лимфоцитов по CD3.

В пробирках 2, 3, 4 и 6 сочетание диагностических маркеров было подобрано с целью наиболее эффективно отделить опухолевые клетки ХЛЛ от зрелых В-лимфоцитов и В-клеточных предшественников (рис.2).

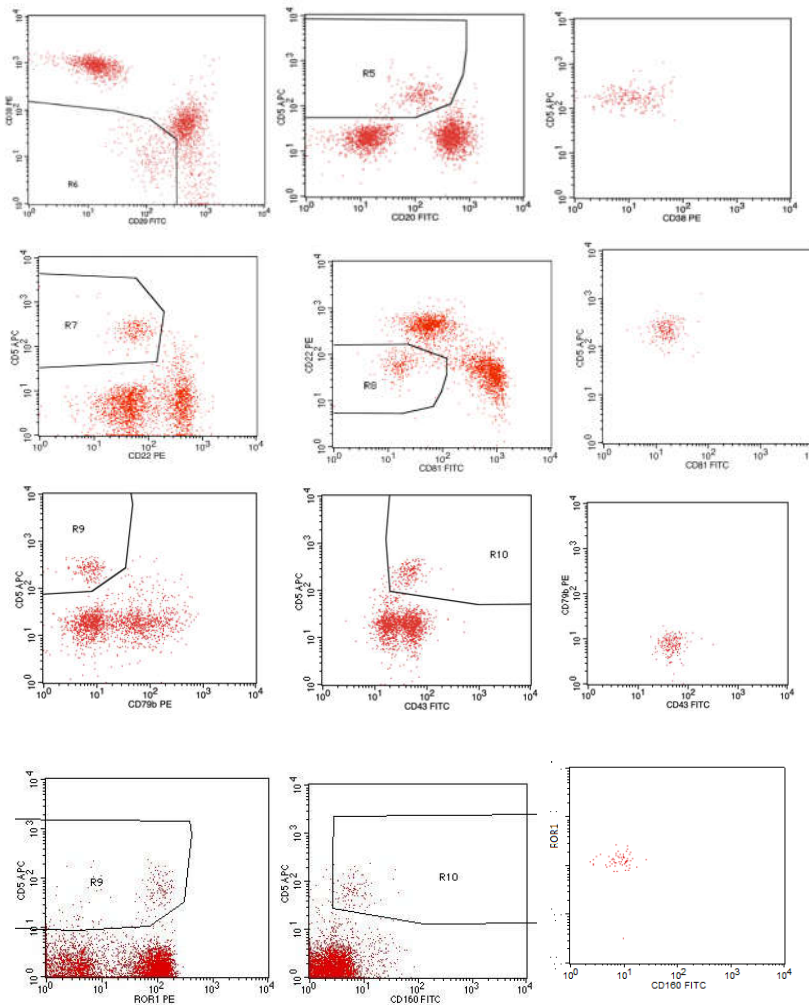


Рисунок 2. Стратегия гейтирования в пробирках 2,3,4, 6. В каждом из графиков выделен регион ХЛЛ-клеток.

Профиль экспрессии каждого из диагностических маркеров представлен в таблице 3.

Пробирка 5 использовалась для подтверждения моноклональности популяции CD19+CD5+ по легким цепям иммуноглобулинов (каппа или лямбда). В каждой из пробирок подсчитывалось общее количество В-лимфоцитов и количество ХЛЛ-клеток. Затем подсчитывалось среднее количество по данным из тех пробирок, где находились ХЛЛ-клетки. Ответ выдавался с указанием % В-лимфоцитов от лейкоцитов костного мозга, % ХЛЛ-клеток от лейкоцитов костного мозга и лимита детекции метода. В целях контроля качества в качестве негативного контроля исследовалась кровь и костный мозг здоровых доноров (20 образцов крови и 10 образцов костного мозга). Положительным контролем служил материал, полученный в результате последовательных разведений лейкоцитов больных с подтвержденным диагнозом ХЛЛ в суспензии лейкоцитов здоровых лиц (30 контрольных исследований).

Таблица 3. Профиль экспрессии диагностических маркеров для выявления МОБ ХЛЛ.

Экспрессия	Клетки ХЛЛ	Зрелые В-лимфоциты	В-клеточные предшественники	Т-лимфоциты
CD19	+	+	+	-
CD5	+	Около 1%+	-	+
CD20	Слабо+	Ярко+	-	-
CD38	Гетерогенная	Слабо+	Ярко+	Слабо+
CD22	Слабо+	Ярко+	Слабо+	-
CD81	Слабо+	+	Ярко+	Ярко+
CD79b	Слабо+	Ярко+	Слабо+	-
CD43	+	+	-	+
ROR1	+	-	+	-
CD160	+	-	-	+

Статистическая обработка данных

Беспрогрессивная выживаемость (БПВ) определялась как время от начала терапии до появления признаков прогрессии заболевания.

Общая выживаемость (ОВ) определялась как время от начала терапии до смерти пациента по любой причине.

Статистический анализ проводился с помощью компьютерной программы *STATISTICA 10*. Для описания количественных признаков использовали медиану, 25 и 75 перцентиль $Me (Q_1-Q_3)$. Для сравнения качественных переменных в используемых группах использовались таблицы сопряженности с использованием критерия χ^2 Пирсона. При анализе четырехпольных таблиц, если хотя бы в одной ячейке значение было от 5 до 9, критерий χ^2 рассчитывался с поправкой Йетса. В случае если значение было меньше 5, для анализа использовался точный критерий Фишера. Анализ количественных переменных в независимых группах проводили с помощью критерия Манна-Уитни. Для построения решающих правил использовался анализ ROC-кривых. Кривые выживаемости оценивались по

методу Каплана и Майера. Для оценки статистической значимости применялся логарифмический ранговый критерий Уровень значимости всех статистических тестов (p) принимался как $\leq 0,05$. Многофакторный анализ проводился методом регрессии по Коксу для значимых показателей. Для оценки роли диагностических маркеров, в том числе ROR1 и CD160 для выявления МОБ, применялся дискриминантный анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты по определению МОБ после 3 курса терапии

Данные по МОБ после 3 курса терапии (МОБЗ) были получены у 139 пациентов из 186. Из них МОБ-отрицательных – 15 пациентов (10,79%). Ни одна из проанализированных предтерапевтических характеристик пациентов в том числе пол, возраст, стадия заболевания и наличие осложнений, цитогенетические данные, мутационный статус достоверно не влияла на раннее достижение МОБ-негативности.

Результаты по определению влияния МОБ после 3 курса терапии на беспрогрессивную и общую выживаемость

При анализе БПВ пациентов в зависимости от МОБЗ, было выявлено, что раннее достижение МОБ-негативности статистически значимо ($p=0,01$) улучшало выживаемость (рис. 3). При этом МОБ-отрицательные пациенты не достигли медианы БПВ, в группе МОБЗ-положительных медиана БПВ составила 43 мес. При анализе ОВ достоверности различий за время наблюдения не выявлено ($p=0,091$).

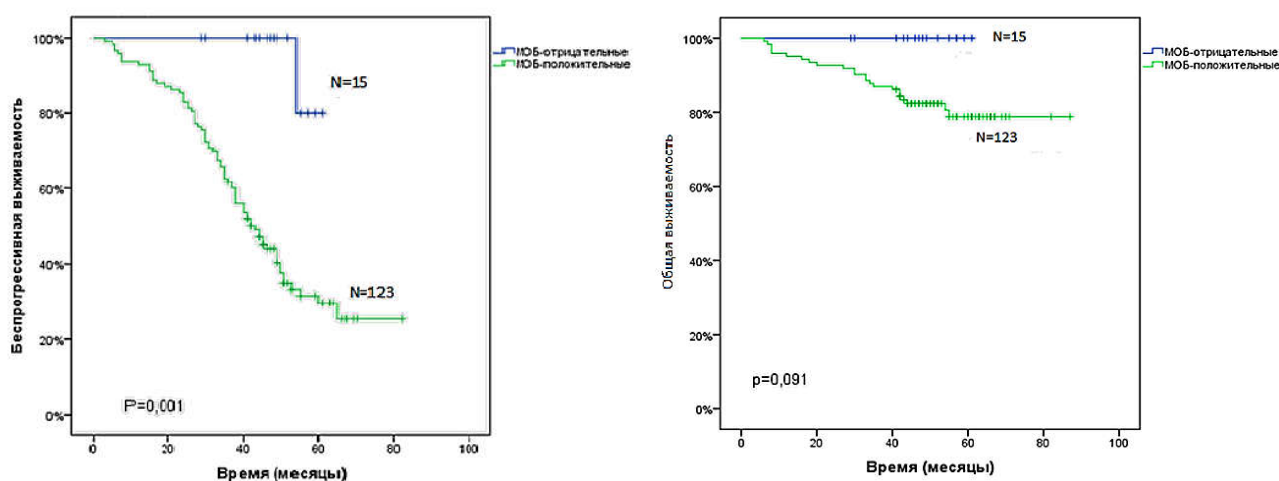


Рисунок 3. Беспрогрессивная и общая выживаемость в зависимости от элиминации МОБ после 3 курса терапии

Чтобы установить, имеет ли значение количественный уровень МОБЗ для прогноза выживаемости о пациенты были разделены по количественному уровню МОБ на 3 группы (таблица 4) БПВ значимо отличалась во всех 3 группах ($p=0,01$) (рис. 4).. Все МОБЗ-отрицательные пациенты (N=15), оставались МОБ-отрицательными и после 6 курса терапии.

Таблица 4. Группы пациентов по количественному уровню МОБЗ.

	Уровень МОБ	N	Процент	Медиана БПВ
Группа 1	МОБ-отрицательные	15	10,87%	Не достигнута
Группа 2	$1\% > \text{МОБ} \geq 0,01\%$	56	40,58%	51 мес
Группа 3	$\text{МОБ} \geq 1\%$	67	48,55%	37 мес

Среди пациентов, не достигших МОБ-негативности после 3 курса (МОБЗ+), часть пациентов стала МОБ-отрицательными после 6 курса (МОБ6-) (N=24). При сравнении БПВ пациентов, достигших МОБЗ-негативности и тех, кто после 3 курса был МОБ-позитивен, но стал МОБ-негативен после 6 курса терапии достоверных различий не выявлено ($p=0,197$). Установлена значимая связь между уровнем МОБЗ и элиминацией МОБ после 6 курса ($p=0,000$ по критерию Манна-Уитни).

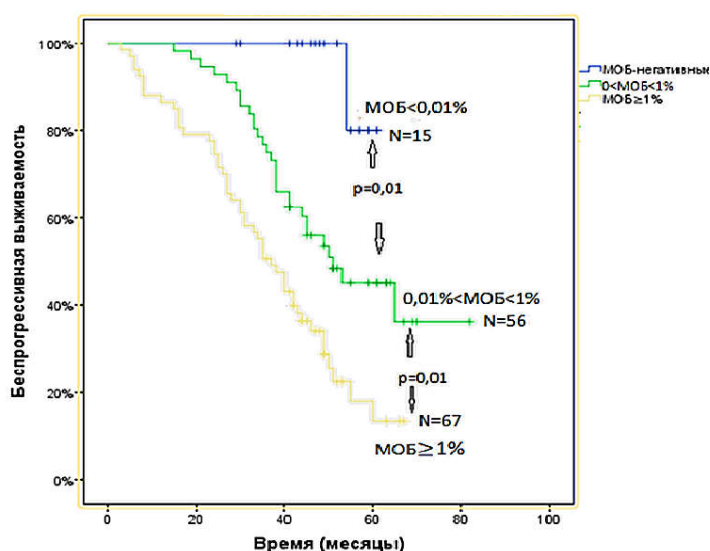


Рисунок 4. Беспрогрессивная выживаемость в группах, выделенных по уровню МОБЗ.

Для установления критерия порога достижения МОБ6-негативности от уровня МОБЗ, был проведен ROC анализ (рис.5). Оптимальной по сочетанию чувствительности и специфичности пороговой точкой явилась точка 0,4 МОБЗ на ROC-кривой. Исход отмечался на 48 месяце наблюдения, как наступившее или не наступившее прогрессирование заболевания.

Таким образом, было показано, что количественный уровень МОБЗ имеет значение для прогнозирования эффекта продолжения терапии VR. Группа пациентов с $\text{МОБ} > 1\%$ имеет низкие шансы добиться МОБ-негативности по окончании терапии и худшие показатели выживаемости, что может служить отправной точкой для выбора дальнейшей тактики ведения таких пациентов.

МОБЗ-негативные пациенты находились либо в полной ремиссии – 9 человек (6,6%), либо в частичной ремиссии без лимфоцитоза, но с превышением нормы по размерам лимфоузлов и/или печени и/или селезенки (6 человек – 4,4%) (рис. 6).

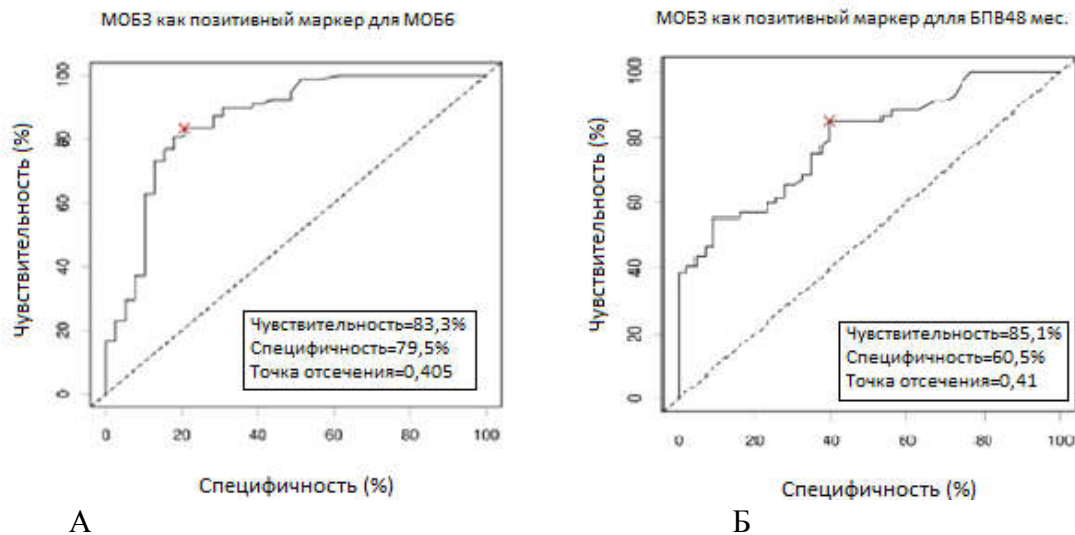


Рисунок 5. ROC анализ достижения МОБ6-негативности от величины МОБ3(А), Беспрогрессивная выживаемость 48месяцев от величины МОБ3(Б)

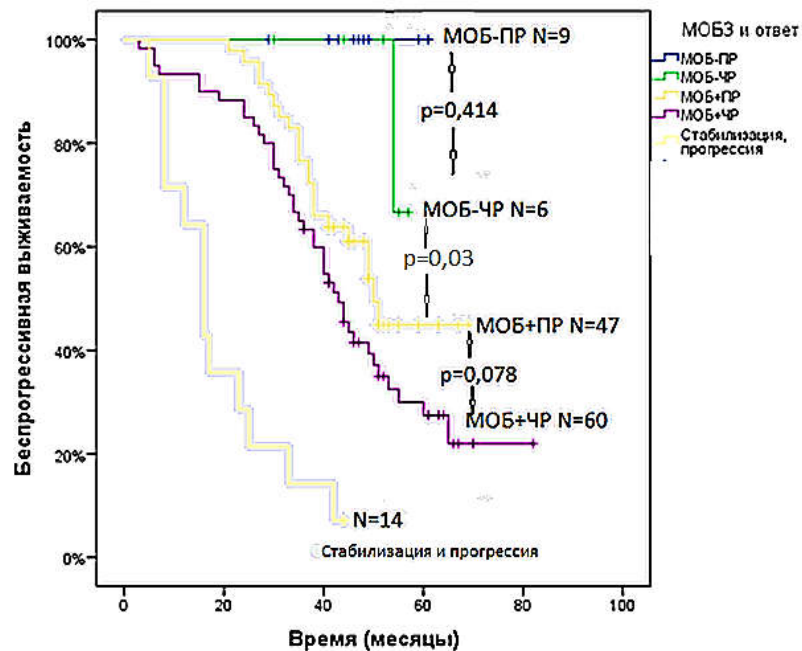


Рисунок 6. Беспрогрессивная выживаемость в зависимости от МОБ3 и клинического ответа. ПР-полная ремиссия ЧР-частичная ремиссия

Различие БПВ между МОБ-отрицательными пациентами в полной и частичной ремиссии статистически не значимо. Достижение МОБ3-негативности являлось предиктором благоприятного прогноза, независимо от того находились ли пациенты в полной, либо частичной ремиссии. Вместе с тем, больные в полной ремиссии без достижения МОБ-негативности имели значимо худший прогноз чем МОБ-отрицательные ($p=0,03$). Это указывает, что измерение МОБ в промежуточной точке терапии является более точным инструментом для оценки статуса больного, чем стандартные критерии ремиссии (размер остаточных лимфоузлов или селезенки).

Результаты по определению МОБ после 6 курса терапии

Данные по МОБ после 6 курса терапии (МОБ6) были доступны по 127 больным из 186 (68%). Из 127 больных, МОБ-негативность выявлена у 40 больных-31,5%. Среди МОБ6-отрицательных пациентов 36 из 40 (90%) находились в полной ремиссии и 4 (10%) в частичной ремиссии. Частичная ремиссия у МОБ-отрицательных пациентов была установлена в связи с увеличением выше нормы размеров селезенки (2 пациента) и лимфатических узлов (2 пациента). Среди МОБ-положительных пациентов 56 человек из 87 находились в полной ремиссии (64,4%), 22 в частичной ремиссии (25,3%) и у 9 (10,3%) наблюдалась стабилизация или прогрессия заболевания. Из приведенных в таблице 1 предтерапевтических данных на достижение МОБ6-негативности влиял пол (женщины чаще достигали МОБ-негативности, $p=0,029$). Прочие характеристики не влияли на достижение МОБ6 негативности.

Анализ влияния МОБ после 6 курса терапии на беспрогрессивную и общую выживаемость

Данные по БПВ и ОВ были получены у 126 пациентов (39 МОБ-отрицательных и 87 МОБ-положительных). Медиана наблюдения составила 49 месяцев. Было установлено, что достижение МОБ6-негативности положительно влияет на БПВ ($p=0,000$) и ОВ ($p=0,003$) (рис.7). МОБ-отрицательные больные не достигли медианы БПВ. Медиана БПВ для МОБ-положительных больных составила 40 месяцев от начала терапии. Обе группы не достигли медианы ОВ, в группе МОБ6-отрицательных больных не наблюдалось летальных исходов.

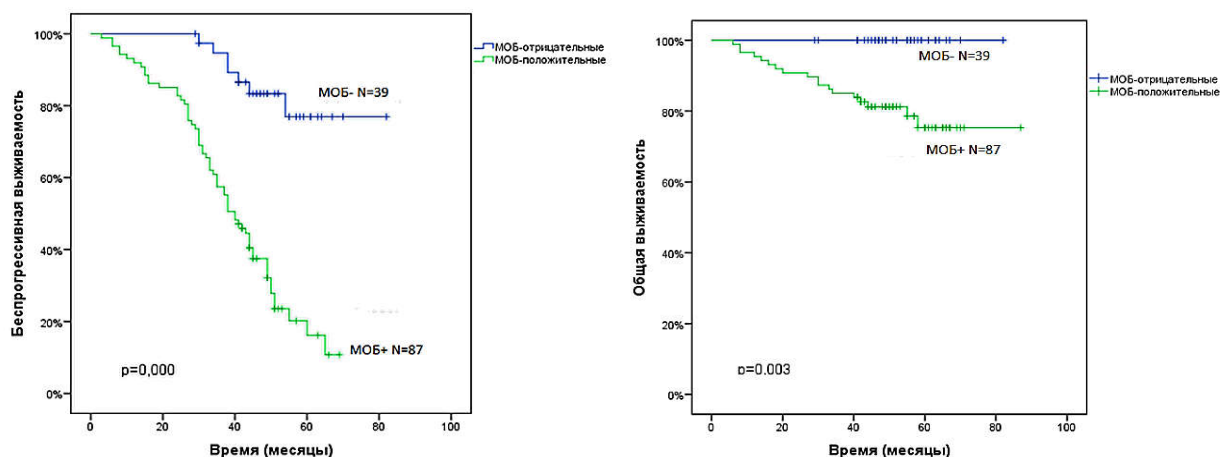


Рисунок 7. Беспрогрессивная и общая выживаемость в зависимости от МОБ после 6 курса терапии

Для анализа выживаемости в зависимости от МОБ и клинического ответа, было выделено 4 группы: МОБ-отрицательные в полной ремиссии (N=35), и в частичной ремиссии (N=4), а также МОБ-положительные пациенты в полной ремиссии (N=56) и в частичной ремиссии (N=22). Не было установлено достоверной разницы по БПВ между МОБ-отрицательными больными, находящимися в полной и частичной ремиссии ($p=0,71$) (рис.8). В обеих МОБ-негативных группах БПВ была достоверно выше, чем у МОБ-положительных

пациентов, в том числе находящихся в полной ремиссии ($p=0,000$). Медиана выживаемости у МОБ-отрицательных больных не была достигнута, у МОБ6+ в полной и частичной ремиссии составила 49 и 31 месяц, соответственно.

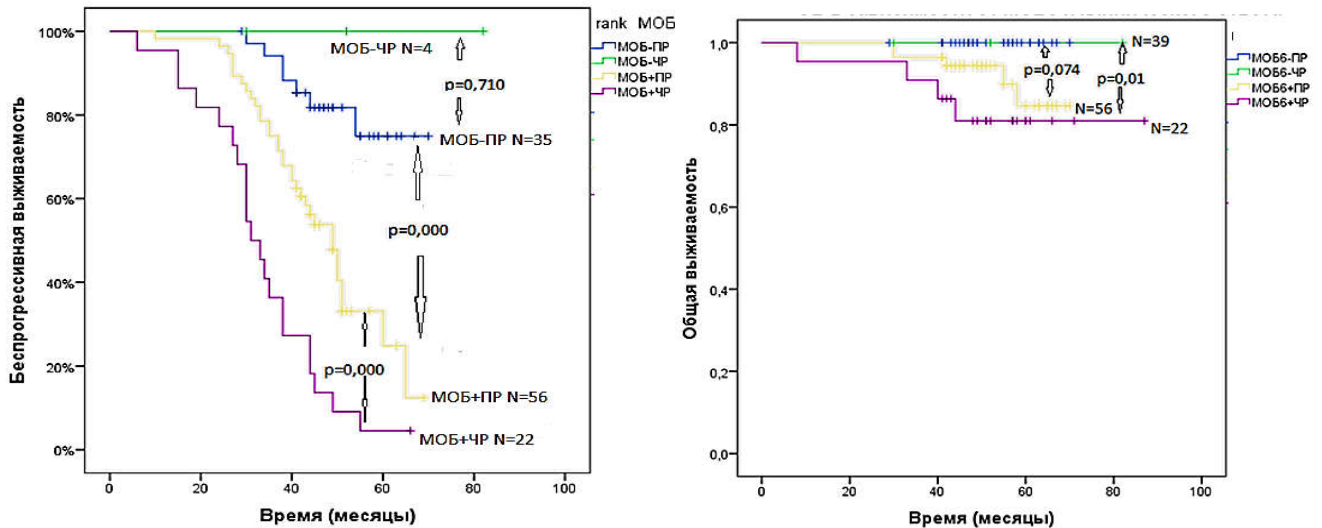


Рисунок 8. Беспрогрессивная и общая выживаемость в зависимости от клинического ответа и МОБ6 у больных, ответивших на терапию. ПР-полная ремиссия, ЧР-частичная ремиссия.

При анализе ОВ, подгруппы с полной и частичной ремиссией не различались между собой и статистически достоверно превосходили по ОВ группу больных МОБ6+ ($p=0,03$). Следовательно, также, как и после 3 курса терапии, МОБ-статус имел преимущественное значение для определения эффективности терапии.

МОБ и мутационный статус IGHV-генов

В нашем исследовании были получены данные о влиянии мутационного статуса IGHV-генов на выживаемость в группах МОБ-отрицательных и МОБ-положительных больных. Мутационный статус IGHV-генов в лейкозных клетках при ХЛЛ является одним из главных факторов прогноза и зависит от того, происходит ли опухоль из клетки, в которой совершилась соматическая гипермутация под воздействием антигена в зародышевом центре в (мутированный статус) или нет (немутированный статус).

Данные по мутационному статусу IGHV-генов и МОБ были получены у 164 пациентов из 186 (таблица 8). Данные по БПВ в зависимости от МОБ6 и мутационного статуса представлены на рисунке 9. Различия БПВ между группами МОБ6-МУТ и МОБ6-НЕМУТ статистически значимы ($p=0,024$). Различия между группами МОБ6+МУТ и МОБ6+НЕМУТ были незначимыми ($p=0,188$). Обе группы имеют худшую БПВ по сравнению с группами МОБ6- ($p=0,009$). Этот факт говорит о том, что группа МОБ-отрицательных больных разнородна, и МОБ-отрицательные пациенты с мутированным статусом IGHV-генов длительно сохраняет ремиссию.

Таблица 8. Группы пациентов по мутационному статусу и МОБ

	МОБ и мутационный статус IGHV-генов	Количество (чел.)	Процент
Группа 1	МОБ6-МУТ	15	13%
Группа 2	МОБ6-НЕМУТ	22	19 %
Группа 3	МОБ6+МУТ	25	22%
Группа 4	МОБ6+НЕМУТ	53	46%
Всего		115	100%

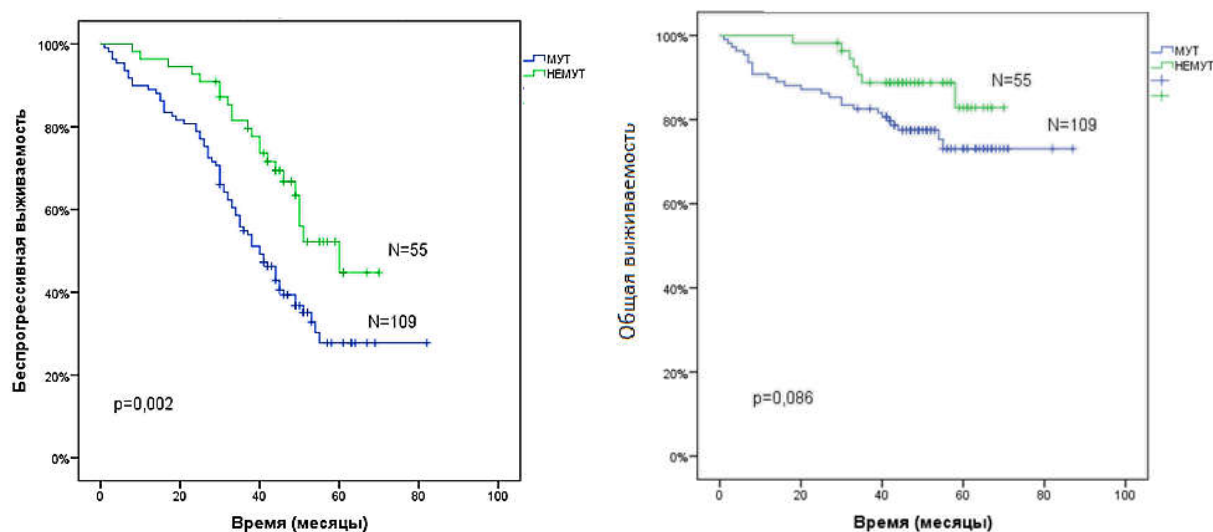


Рисунок 9. Беспрогрессивная и общая выживаемость в зависимости от МОБ6 и мутационного статуса IGHV-генов

Результаты оценки значимости МОБ в мультифакторном анализе

Проведен мультифакторный анализ методом регрессии Кокса для оценки значимости МОБ3 и МОБ6 для БПВ и ОВ. В мультифакторный анализ, кроме МОБ, были включены следующие факторы: возраст, стадия заболевания, размеры лимфатических узлов, уровень $\beta 2$ -микроглобулина, мутационный статус IGHV-генов, наличие хромосомных aberrаций. Уровень МОБ3 и МОБ6 определены как независимые статистически значимые факторы для БПВ и ОВ (МОБ3($p=0,000$), МОБ6 ($p=0,008$)).

Результаты оценки применения сочетания маркеров CD160 и ROR1 для выявления МОБ

В целях оценки значения сочетанного измерения маркеров CD160 и ROR1 в рамках исследования было проведено 64 анализа на МОБ с использованием пробирки с вышеперечисленными антителами. Был выполнен анализ корреляции данных измерения МОБ, полученных при помощи стандартной панели и в экспериментальной пробирке CD160FITC-ROR1PE-CD19PerCP-CD5APC. Коэффициент корреляции Спирмена составил 0,967 ($p=0,000$), что говорит о наличии сильной корреляционной связи между двумя типами измерений. Во всех

случаях измерения отмечалась яркая положительная экспрессия ROR1 на клетках ХЛЛ, а также на В-клеточных предшественниках и отрицательная реакция на зрелых В-лимфоцитах и Т-лимфоцитах.

Результаты дискриминантного анализа

Вопрос о комбинации маркеров, доставляющей наилучшее разделение клеток по их типам, и в частности, выделяющей клетки ХЛЛ среди других клеток может быть решен методом дискриминантного анализа.

Первым этапом являлось определение значимости каждого из используемых маркеров для выявления ХЛЛ-клеток среди зрелых В-лимфоцитов и В-клеточных предшественников, а также Т-лимфоцитов. Для этого была оценена средняя интенсивность экспрессии (GeoMean) для каждого маркера (ROR1, CD160, CD20, CD22, CD43, CD79b, CD38 и CD81) на вышеперечисленных 4 популяциях. Всего было рассмотрено 47 МОБ-положительных проб. Полученные данные графически представлены на рис.10. На приведенных графиках видно, что не существует единственного маркера, дискриминирующего все 4 вида клеток.

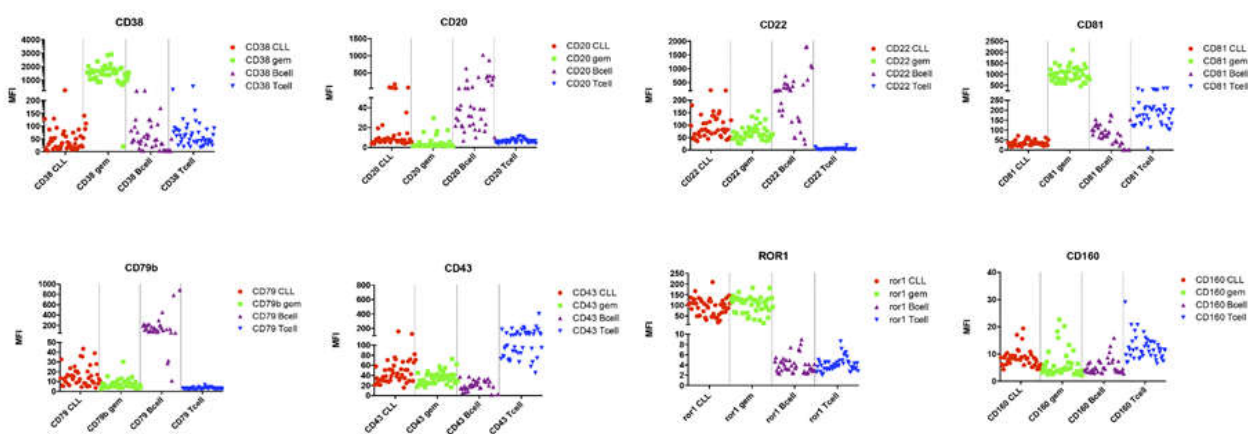


Рисунок 10. Экспрессия диагностических маркеров на популяциях ХЛЛ-клеток (c11 - красные), В-клеточных предшественниках (gem-зеленые), В-лимфоцитах (Bcell-фиолетовые), Т-лимфоцитах (T-cell-синие).

Затем были построены диаграммы рассеяния, из которых виден характер разделения клеток по уровню экспрессии парой выбранных маркеров (рис. 11). Анализировались все возможные сочетания 8 маркеров. Диаграммы показывают, что нет полного разделения всех четырех типов клеток парой выбранных маркеров. Для решения задачи о построении решающего правила дифференциации клеток по их типам наилучшей совместной комбинацией всех используемых маркеров и выяснения роли каждого маркера в таком делении была применена процедура пошагового (с исключением) дискриминантного анализа. Она оставила в итоговой комбинации 5 маркеров из 8: CD22, CD81, CD79, CD43, ROR1; при этом три признака – CD20, CD160, CD38 – были исключены пошаговым анализом по критерию Фишера (F) и лямбде Уилкса (табл. 9).

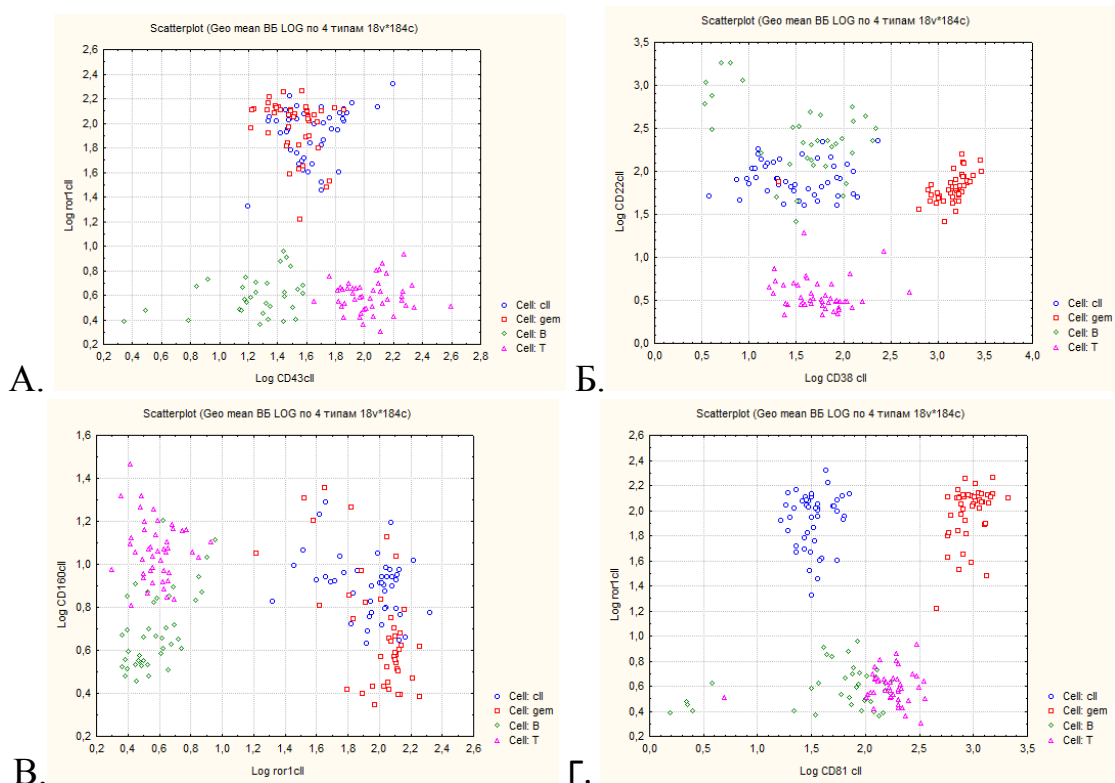


Рисунок 11. Совместные диаграммы рассеяния средней интенсивности экспрессии для 47 выборочных проб (А- ROR1/CD43, Б- CD22/CD38, В – ROR1/CD160, Г= CD81/ ROR1) ХЛЛ-клетки выделены голубым цветом, В-клеточные предшественники - красным, В-лимфоциты - зеленым, Т-лимфоциты – фиолетовым.

Таблица 9. Характеристики включения маркеров пошаговым критерием в итоговую дискриминантную комбинацию. Выделенные маркеры исключены из-за низких дискриминантных свойств.

Log GeoMean	Лямбда Уилкса	Частичная лямбда	Критерий Фишера	Р	Толерантность	R ²
ROR1	0,0055	0,1727	239,5632	0,000000000	0,9535	0,0465
CD81	0,0047	0,2042	194,8611	0,000000000	0,8165	0,1835
CD22	0,0015	0,6450	27,5249	0,000000000	0,8025	0,1975
CD43	0,0014	0,6720	24,4002	0,000000000	0,8469	0,1531
CD79	0,0013	0,7597	15,8177	0,000000005	0,8192	0,1808
CD38	0,0008	0,8581	8,2145	0,000042755	0,8397	0,1603
CD160	0,0008	0,8913	6,0603	0,000639468	0,8977	0,1023
CD20	0,0009	0,9313	3,6643	0,013830630	0,7620	0,2380

Коэффициенты итоговой дискриминантной функции (ДФ) представлены в таблице 10. ДФ1 и ДФ2 отделяют зрелые Т и В-лимфоциты от клеток ХЛЛ и В-клеточных предшественников (гематононов), а ДФ3 – дискриминатор двух последних типов – ХЛЛ-клеток и гематононов друг от друга. Уровень статистической значимости различий по F-критерию составила $p < 0,0001$. Точность классификации по выборке составила 100% (отсутствие инверсий).

Таблица 10. Факторные нагрузки и коэффициенты дискриминантных функций (ДФ) для 4 типов клеток. Цветом выделены наиболее значимые маркеры.

	Факторные нагрузки			Коэффициенты		
	ДФ1	ДФ2	ДФ3	ДФ1	ДФ2	ДФ3
Log CD22	-0,50	-0,64	-0,08	-2,338	-1,663	0,738
Log CD81	-0,06	0,29	0,83	-0,703	0,074	3,712
Log CD79b	-0,13	-0,75	-0,12	-0,176	-2,190	-0,602
Log CD43	0,20	0,34	-0,11	1,855	1,387	-2,236
Log ROR1	-0,77	0,55	-0,20	-4,468	2,316	-1,602
Постоянная				8,324	-0,574	-2,731

Исходя из таблицы 16 по данным о факторной нагрузке для каждого маркера, можно сделать вывод, что для дискриминации ХЛЛ-клеток от зрелых В и Т-лимфоцитов наибольшее значение имеют маркеры ROR1, CD79b и CD22, а для разделения ХЛЛ-клеток и гематогаонов – CD81.

Таким образом, по данным дискриминантного анализа наиболее информативная панель для диагностики МОБ ХЛЛ включает маркеры CD19, CD5, CD79b, CD22, CD81, CD43 и ROR1. Маркеры CD20, CD38 и CD160 не несут дополнительной информации и могут быть исключены из анализа.

Для построения алгоритма деления (решающего статистического правила) были вычислены функции классификации. Значения функций на тестируемой пробе вычисляются подстановкой значений Log GeoMean каждого маркера в формулы:

$$S1 = 36,75 \cdot \text{Log CD22} + 13,252 \cdot \text{Log CD81} + 8,58 \cdot \text{Log CD79} + 25,395 \cdot \text{Log CD43} + 53,678 \cdot \text{Log ROR1} - 123,755$$

$$S2 = 42,092 \cdot \text{Log CD22} + 35,159 \cdot \text{Log CD81} + 3,245 \cdot \text{Log CD79} + 11,887 \cdot \text{Log CD43} + 52,221 \cdot \text{Log ROR1} - 153,723$$

$$S3 = 41,39 \cdot \text{Log CD22} + 23,708 \cdot \text{Log CD81} + 19,909 \cdot \text{Log CD79} + 15,227 \cdot \text{Log CD43} + 15,882 \cdot \text{Log ROR1} - 106,965$$

$$S4 = 14,9649 \cdot \text{Log CD22} + 18,6552 \cdot \text{Log CD81} + 2,4092 \cdot \text{Log CD79} + 37,4168 \cdot \text{Log CD43} + 8,7044 \cdot \text{Log ROR1} - 67,60,$$

где S1, S2, S3, S4 - функции классификации; LogCD22, LogCD81, LogCD79, LogCD43, LogROR1 - логарифмы средней интенсивности экспрессии соответствующего маркера.

Решающее правило классифицирует тестируемое среднее в ту группу, для которой значение соответствующей функции классификации было больше. Наибольшее значение S1 соответствует ХЛЛ-клеткам, S2 - В-клеточным предшественникам, S3 - В-лимфоцитам, S4 – Т-лимфоцитам. Для использования алгоритма была написана компьютерная программа, язык кода – VBA для MS Excel. Чтобы понять к какому виду клеток относится подозрительная популяция, необходимо подставить значения GeoMean подозрительной популяции клеток по каждому из 5 маркеров (CD22, CD81, CD79b, CD43, ROR1) и программа определит природу этой популяции (ХЛЛ-клетки, В-лимфоциты, Т-лимфоциты или В-предшественники).

ВЫВОДЫ

1. В группе пациентов, получивших терапию по схеме BR в первой линии терапии ХЛЛ в рамках наблюдательного исследования без жестких критериев отбора, МОБ-негативность в костном мозге достигнута в 31,5% случаев.

2. Статус МОБ после окончания терапии по схеме бендамустин+ритуксимаб, является независимым прогностическим фактором, влияющим на беспрогрессивную и общую выживаемость больных хроническим лимфолейкозом. В группе больных с полной и частичной ремиссией по окончании терапии, МОБ-отрицательные пациенты имеют значимо лучшие показатели беспрогрессивной и общей выживаемости ($p=0,000$ и $p=0,003$ соответственно), по сравнению с МОБ-положительными.

3. Количественный уровень МОБ после третьего (промежуточного) курса терапии по схеме бендамустин+ритуксимаб, позволяет спрогнозировать вероятность достижения МОБ-негативности и беспрогрессивную выживаемость после проведения полного курса терапии. Наилучший прогноз имеют МОБ3-негативные больные (не достигли медианы БПВ). При сохранении МОБ более 1% после 3 курса терапии прогнозируется низкая вероятность МОБ-негативности по окончании лечения (8,9% достижения МОБ-6-негативности) и низкий показатель беспрогрессивной выживаемости (медиана = 37мес.). Точка отсечения зависимости наступления рецидива к 48 месяцу наблюдения от количественного уровня МОБ3 равна 0,41%. ($p<0,001$). Точка отсечения зависимости достижения МОБ-негативности по окончании терапии от количественного уровня МОБ3 составляет 0,4% ($p<0,001$).

4. Беспрогрессивная выживаемость МОБ-отрицательных больных зависит от мутационного статуса IGHV-генов. В группе МОБ-отрицательных больных с мутированным статусом IGHV-генов не наблюдалось рецидивов и летальных исходов за период наблюдения. В группе МОБ-отрицательных пациентов с немутированным статусом чаще наблюдалась прогрессия заболевания ($p<0,05$).

5. Определение экспрессии орфанного рецептора ROR1 для детекции МОБ при ХЛЛ методом проточной цитометрии имеет высокие дискриминантные свойства для разделения ХЛЛ клеток и нормальных лимфоцитов.

6. Маркер CD160 не несет дополнительной информации в панели для выявления МОБ при ХЛЛ.

7. По данным дискриминационного анализа наиболее информативная панель для диагностики МОБ ХЛЛ включает маркеры CD19, CD5, CD79b, CD22, CD81, CD43 и ROR1.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

врачам клинической лабораторной диагностики, специализирующихся в области лабораторной гематологии, проточной цитометрии и врачей гематологов

1. Для оценки эффективности терапии хронического лимфолейкоза по схеме бендамустин+ритуксимаб следует проводить анализ на МОБ методом проточной цитометрии после 3 курса терапии и по окончании терапии пациентам в полной и частичной ремиссии заболевания.

2. Количественную оценку МОБ при ХЛЛ методом проточной цитометрии после третьего курса терапии по схеме бендамустин+ритуксимаб следует рассматривать как прогностический критерий для принятия решения о модификации терапии. Достижение МОБ-негативности после 3 курса терапии свидетельствует о благоприятном прогнозе и служит предиктором длительной беспрогрессивной выживаемости. Пациенты с уровнем МОБ более 1% после третьего курса терапии редко достигают МОБ-негативности в конце терапии, что ведет к развитию раннего рецидива заболевания.

3. Для более точного прогнозирования эффективности терапии хронического лимфолейкоза следует оценивать результаты анализа на МОБ в комплексе с данными по мутационному статусу IGHV-генов.

4. Для определения МОБ при ХЛЛ методом проточной цитометрии целесообразно включать в диагностическую панель маркеры CD45, CD19, CD5, ROR1, CD81, CD22, CD43, CD79b.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Дальнейшей перспективой разработки анализа МОБ при ХЛЛ методом проточной цитометрии является стандартизация 8-цветной панели с использованием маркера ROR1, а также разработка алгоритмов применения анализа для новых перспективных схем терапии хронического лимфолейкоза.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных журналах и изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертации

1. Стадник Е.А. Проспективный анализ эффективности и безопасности режима BR в 1-й линии терапии хронического лимфолейкоза /Е.А. Стадник, В.В. Стругов, Т.О. Андреева, Ю.В. Вирц, Ю.В. Миролюбова, П.А. Бутылин, А.Ю. Зарицкий // Современная онкология. – 2016. – Т. 18, №5. – С. 33-35.

2. Стадник Е.А. Эффективность комбинации бендамустина и ритуксимаба в первой линии терапии ХЛЛ: результаты исследования VEN-001/ Е. А. Стадник, В.В. Стругов, Т.О. Андреева, Ю.В. Вирц, А.М. Румянцев, Ю.В. Миролюбова, П.А. Бутылин, А.Ю. Зарицкий // Терапевтический архив. – 2017. – Т. 89, № 7. – С.57-64.

3. Стругов В.В. Влияние мутационного статуса IGHV-генов и стереотипности строения VCR на эффективность режима BR в первой линии терапии хронического лимфолейкоза/ Е. А. Стадник, В.В. Стругов, А.М. Румянцев, Т.О. Андреева, Ю.В. Вирц, Ю.В. Миролюбова, П.А. Бутылин, А.Ю. Зарицкий // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2017. –Т. 10. № 2. – С. 141-149.

4. Миролюбова Ю.В. Минимальная остаточная болезнь и мутационный статус IGHV-генов как основные предикторы ответа на терапию первой линии по схеме "бендамустин + ритуксимаб" у больных хроническим лимфолейкозом/ Ю.В. Миролюбова, Е. А. Стадник, В.В. Стругов, Т.О. Андреева, Ю.В. Вирц, А.М.

Румянцев, П.А. Бутылин, А.Ю. Зарицкий // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2018. – Т. 11. № 2. – С. 167-174.

5. Миролюбова Ю.В. Клиническая значимость достижения МОБ-негативности у больных хроническим лимфолейкозом / Ю.В. Миролюбова, Е.А. Стадник // Современная онкология. – 2018. – Т. 20. № 1. – С. 17-22.

6. Миролюбова Ю.В. Орфанный рецептор ROR1 для детекции минимальной остаточной болезни при хроническом лимфолейкозе/ Ю.В.Миролюбова, Н.С.Тимофеева, В.А.Барт, и др.//Медицинский алфавит. Современная лаборатория. – 2020. – Т. 1 №5. – С. 19-25

Статьи, тезисы докладов в материалах конференций

7. Prognostic role of CLL immunogenetics-prospective evaluation in real-world patients treated with BR regimen in the first line / Vladimir Strugov, Elena Stadnik, Andrey Romyantsev, Tatyana Andreeva, Yulia Virts, Yulia Mirolubova, Pavel Butylin, Andrey Zaritskey //Leukemia & Lymphoma. – 2017. – V.58. – P. 143-144

8. Impact of MRD Eradication on Survival Outcomes in CLL Patients with Different IGHV Mutation Status / Natalia Timofeeva, Iuliya Mirolubova, Elena Stadnik, Tatyana Andreeva, Vladimir Strugov, Andrey Romyantsev Andrey Zaritskey // Abstracts of the Society of Hematologic Oncology 2019 Annual Meeting. – Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia. – 2019. – V19. – P.S273

9. Analysis of the progression-free survival of CLL patients who received first-line bendamustine-rituximab therapy depending on the elimination rate of the minimum residual disease and mutational status IGHV genes /I. Mirolubova, E. Stadnik, V. Strugov, Y. Virz, T. Nikulina, E. Tolstopiatova, A. Romyantsev, T. Chatalava, N. Timofeeva, A. Zaritskey// Abstracts of the Xth Eurasian Hematology Oncology Congress. – Leukemia Research. – 2019. – V.85. – P.S.26.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ХЛЛ – хронический лимфолейкоз

BR – бендамустин+ритуксимаб

FCR – флударабин+циклофосфан+ритуксимаб

МОБ – минимальная остаточная болезнь

БПВ – беспрогрессивная выживаемость

ОВ – общая выживаемость

МОБ3 – минимальная остаточная болезнь после 3 циклов терапии

МОБ6 – минимальная остаточная болезнь после 6 циклов терапии

ДФ – дискриминантная функция

ERIC – европейская исследовательская инициатива по ХЛЛ

ЕМА – европейское медицинское агентство

IwCLL – международная рабочая группа по ХЛЛ