

ОЦЕНКА ВЗАИМОСВЯЗИ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ ОПУХОЛЕВЫХ В-ЛИМФОЦИТОВ И СТЕПЕНИ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ПОРАЖЕНИЯ ЛИМФАТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЦИТАРНЫМ ЛЕЙКОЗОМ

Величко А.В.¹, Камаева И.А.¹, Саманева Н.Ю.¹, Селютина О.Н.¹, Гуськова Н.К.¹, Николаева Н.В.¹, Капуза Е.А.¹, Лысенко И.Б.¹, Пушкарева Т.Ф.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, e-mail: lex.vel@mail.ru

Хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) – одно из самых распространенных клональных неизбежно рецидивирующих лимфопролиферативных заболеваний. Целью лекарственной противоопухолевой терапии на сегодняшний день является достижение максимально возможной длительности безрецидивной выживаемости (БРВ). Одним из перспективных подходов к прогнозированию длительности БРВ служит определение количественного отношения опухолевых клеток к нормальным лимфоцитам на этапах терапии. Целью настоящей работы является оценка взаимосвязи между количественным отношением опухолевых В-лимфоцитов к нормальным лимфоцитам и длительностью безрецидивной выживаемости, а также распространенностью поражения лимфатической системы у больных ХЛЛ перед началом химиотерапевтического лечения и при первом рецидиве заболевания. У 19 больных путем иммунофенотипирования костного мозга перед началом лечения и при рецидиве выявляли количественное отношение опухолевых клеток; полагаясь на данные СРКТ, определяли объем поражения лимфатической системы. Всем больным проводили 4–6 курсов противоопухолевой лекарственной терапии в режиме RB или FCR. Показано, что длительность БРВ не зависит от количества опухолевых клеток, выявленных в костном мозге перед началом лечения, однако имеет тесную взаимосвязь с объемом поражения лимфатической системы, определенным также на этапе перед началом лечения.

Ключевые слова: хронический лимфоцитарный лейкоз, минимальная остаточная болезнь, химиотерапевтическое лечение, иммунофенотипирование, безрецидивная выживаемость.

EVALUATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN THE QUANTITATIVE CHARACTERISTICS OF TUMOR B-LYMPHOCYTES AND THE DEGREE OF PREVALENCE OF LYMPHATIC SYSTEM DAMAGE IN PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

Velichko A.V.¹, Kamaeva I.A.¹, Samanava N.IU.¹, Selutina O.N.¹, Gus'kova N.K.¹, Nikolaeva N.V.¹, Kapuza E.A.¹, Lisenko I.B.¹, Pushkareva T.F.¹

¹National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, e-mail: lex.vel@mail.ru

Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is one of the most wide-spread clonal inevitably recurrent lymphoproliferative diseases. The current aim of the antitumor therapy is to achieve the highest possible duration of the disease free survival (DFS). One of the promising approaches to predicting the duration of DFS is to determine the quantitative relation of tumor cells to normal lymphocytes at the therapy stages. The aim of this research is to evaluate the interrelation between the quantitative relation of tumor B-lymphocytes to normal lymphocytes and the duration of the disease-free survival, and also of the spread of lesion of lymphatic system of CLL patients before the start of chemotherapeutic treatment and at the first recurrence of the disease. The quantitative relation of tumor cells before the start of the treatment and at the recurrence of the disease was found in 19 patients by means of immunophenotyping of bone marrow; the volume of the lymphatic system lesion was determined relying on the CT scan data. All patients underwent 4–6 courses of antitumor drug therapy in RB or FCR mode. It has been revealed that the duration of DFS does not depend on the quantity of tumor cells found in the bone marrow before the start of the treatment, but it has the close interrelation with the volume of the lymphatic system lesion, also determined before the start of the treatment.

Keywords: chronic lymphocytic leukemia, minimal residual disease, chemotherapeutic treatment, immunophenotyping, disease free survival.

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) – один из наиболее часто встречаемых нозологических вариантов лейкозов, «золотым стандартом» лечения которого является применение специфической противоопухолевой терапии [1, 2]. Однако использование цитостатиков в каждой последующей линии противоопухолевой терапии ассоциировано с накоплением мутаций (таких как мутация гена TP53, делеция локуса хромосомы 17p13, ряд точечных мутаций), что неизбежно приводит к очередной клональной индукции и формированию химиорезистентного варианта течения заболевания [3]. В связи с этим основной целью лечения ХЛЛ является достижение полной ремиссии (ПР) и длительной общей безрецидивной выживаемости (БРВ). Однако даже при достижении ПР в организме может остаться популяция опухолевых клеток, что принято называть термином «минимальная остаточная болезнь» (МОБ) [4].

Наличие у пациента во время лечения или после его завершения МОБ является основной причиной рецидивирования любой злокачественной опухоли, в частности лимфомы [5]. Международная рабочая группа по изучению ХЛЛ (IWCLL) в 2008 г. предложила определять МОБ как состояние организма, при котором опухолевые клетки выявляются в соотношении 1 и более к 10 000 нормальных клеток при достижении полной ремиссии по данным инструментальных методов исследования [6].

Таким образом, несмотря на многообразие активно развивающейся высокоэффективной фармацевтической продукции, у преобладающей массы больных, у которых удалось достичь ПР, развивается рецидив заболевания, а ХЛЛ продолжает считаться неизлечимой патологией. В связи с этим изучение уровня МОБ на разных этапах течения болезни представляется опорным критерием для определения дальнейшей тактики лечения и изучения новых подходов в лечении [7].

Оценка уровня МОБ у больных ХЛЛ в настоящее время в клинической практике активно используется как надежный прогностический маркер продолжительности ответа на специфическое противоопухолевое лечение и в качестве критерия оценки общей выживаемости [8]. Оценка иммунофенотипических показателей при определении МОБ, таких как увеличение экспрессии антигена CD25 на В-клетках, с высокой долей вероятности может свидетельствовать о развитии рефрактерности к проводимому режиму терапии и прогнозах низкого качества ремиссии заболевания [9].

Области применения параметров, отражающих количественное отношение опухолевых клеток к нормальным лимфоцитам, пропорционально накапливаемым знаниям неуклонно растут. С целью создания в перспективе прогностических алгоритмов ведения больных необходим ряд исследований, конкретизирующих диагностические возможности количественного определения опухолевых клеток у больных ХЛЛ.

Цели исследования: оценить взаимосвязь между количественным отношением опухолевых В-лимфоцитов к нормальным лимфоцитам и длительностью безрецидивной выживаемости, а также распространенностью поражения лимфатической системы у больных ХЛЛ перед началом химиотерапевтического лечения и при первом рецидиве заболевания.

Материал и методы исследования. Ретроспективно проанализировано 19 клинических случаев больных ХЛЛ, получавших противоопухолевую лекарственную терапию в условиях отделения онкогематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» с 2014 по 2021 гг. Средний возраст больных на момент выявления основного заболевания составил $60,7 \pm 1,9$ года, что несколько ниже возрастной медианы в европейских странах. Соотношение мужчин и женщин в выборке 47,4% к 52,6% соответственно. Согласно клиническим рекомендациям, всем больным проводили 4–6 курсов противоопухолевой лекарственной терапии в режиме RB (Ритуксимаб 1 цикл – 375 мг/м^2 в/в кап., день 1, последующие циклы – 500 мг/м^2 в/в кап., день 1; Бендамустин 90 мг/м^2 в/в кап., дни 1, 2) или FCR (Ритуксимаб 1 цикл – 375 мг/м^2 в/в кап., день 1, последующие циклы – 500 мг/м^2 в/в кап., день 1; Флударабин 25 мг/м^2 в/в кап., дни 1–3; Циклофосфамид 250 мг/м^2 в/в кап., дни 1–3). Перед началом лечения и при выявлении рецидива всем пациентам выполняли СРКТ органов шеи, грудной клетки, брюшной полости и малого таза с целью оценки распространенности опухолевого процесса, а также производили пункцию костного мозга с последующим его иммунофенотипированием.

Иммунофенотипирование костного мозга выполняли методом многоцветной проточной цитофлуориметрии (Navios 10/3, Beckman Coulter, США). Исследуемая панель включала моноклональные антитела: CD45, CD19, CD20, CD22, CD23, CD43, CD200, CD5, CD3, CD4, CD8, CD56, CD38, kappa, lambda. Экспрессия В-линейно ассоциированных антигенов оценивалась в гейте CD19-позитивных клеток. В-клеточная клональность устанавливалась обнаружением рестрикции легких цепей поверхностных иммуноглобулинов (каппа или лямбда). Количество клеток, экспрессирующих маркеры, определялось в процентах [10, 11].

Подсчет динамики объема поражения лимфатической системы от момента перед началом лечения и до времени развития первого рецидива в процентном соотношении ($V_{\text{прироста}}$) осуществляли по формуле: $V_{\text{прироста}} = ((V1 - V2) * 100\%) / V1$, где $V1$ – объем поражения лимфатической системы перед началом лечения, $V2$ – объем поражения лимфатической системы на момент появления первого рецидива, при этом V = группа увеличенных лимфоузлов 1 (произведение двух размеров измерений лимфоузлов в мм) + группа увеличенных лимфоузлов 2 (произведение двух размеров измерений лимфоузлов в мм) +

группа увеличенных лимфоузлов n (произведение двух размеров измерений лимфоузлов в мм).

Поиск наличия взаимосвязи между объемом поражения лимфатической системы и количественным отношением опухолевых В-лимфоцитов к нормальным лимфоцитам производили при помощи подсчета коэффициента корреляции Пирсона (R_{xy}) с использованием пакета описательной статистики MS Excel (2016). Интерпретация значений R_{xy} осуществлялась по общепринятой шкале Чеддока.

Результаты исследования и их обсуждение. На первом этапе нами была произведена оценка возможности прогнозирования длительности БВ на основе измерения первичного количества опухолевых клеток (перед началом противоопухолевого лечения). Средняя длительность БРВ у больных, вошедших в исследование, составила $33,2 \pm 4,7$ месяца (минимальное время до рецидива составило 8 месяцев, максимальное – 96 месяцев). При оценке тесноты взаимосвязи первично выявленного отношения опухолевых В-лимфоцитов к нормальным лимфоцитам и длительности БРВ R_{xy} составил $-0,09$ (рис. 1).

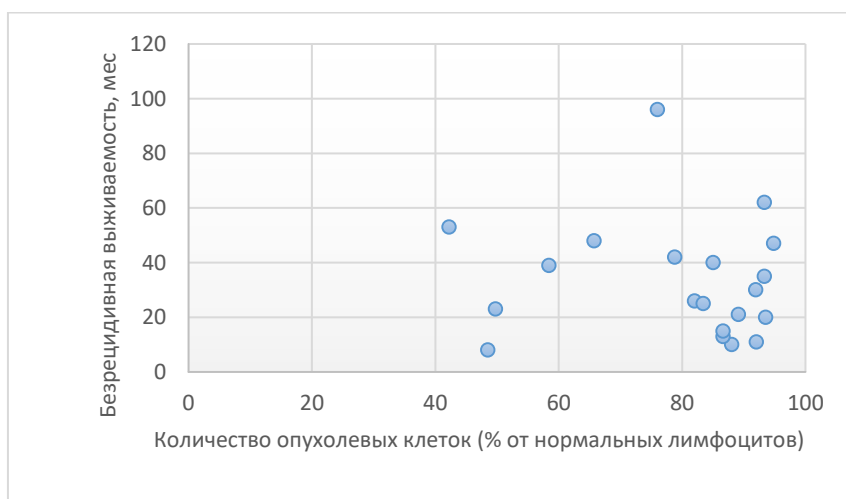


Рис. 1. Зависимость длительности БРВ, мес. (ось ординат), от количества опухолевых В-лимфоцитов, % от нормальных лимфоцитов (ось абсцисс)

Полученные результаты, представленные на рисунке 1, иллюстрируют отсутствие взаимосвязи между двумя сравниваемыми величинами, иначе говоря, измерение количества опухолевых В-лимфоцитов в костном мозге перед началом специфического лечения, к сожалению, не позволяет построить прогностической модели длительности БРВ у больных ХЛЛ после первой линии противоопухолевой терапии.

На втором этапе исследования производили изучение взаимосвязи между объемом поражения лимфатической системы и количественным отношением опухолевых В-

лимфоцитов к нормальным лимфоцитам при первом рецидиве. По результатам подсчета у 12 (68,4%) больных объем поражения лимфатической системы при рецидиве был выше, чем перед началом лечения, при этом процент опухолевых В-лимфоцитов заметно превалировал над таковым у остальных 6 (31,6%) больных. В связи с этим целесообразно стратифицировать данных больных на 2 группы исследования. Итак, группу I составили больные с положительным приростом объема поражения лимфатической системы, средний процент прироста составил $107,5 \pm 24,9\%$; группу II составили больные с отрицательным процентом прироста, средний процент убыли составил $-21,2 \pm 6,7\%$.

В группе I между объемом поражения лимфатической ткани и количественным отношением опухолевых В-лимфоцитов к нормальным лимфоцитам тесной взаимосвязи не выявлено, R_{xy} составил 0,25. В группе II при аналогичном исследовании прослеживается заметная теснота корреляционной связи (R_{xy} составил 0,65), что, вероятно, связано с меньшим числом наблюдений в выборке.

При более детальном анализе при сравнении $V_{\text{прироста}}$ объема лимфатической ткани (%) с количественным отношением опухолевых клеток к нормальным лимфоцитам при рецидиве в группе I выявлена сильная корреляционная взаимосвязь, R_{xy} равен 0,73 (рис. 2).

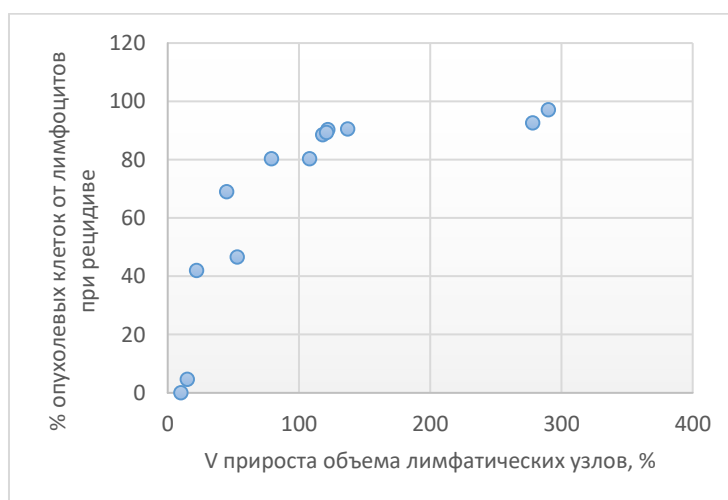


Рис. 2. Зависимость $V_{\text{прироста}}$ объема лимфатических узлов, % (ось абсцисс) от уровня опухолевых В-лимфоцитов (% от нормальных лимфоцитов) при первом рецидиве (ось ординат) в группе I

Согласно полученным данным, представленным на рисунке 2, разница между исходным объемом поражения лимфатических узлов и объемом поражения лимфатических узлов при первом рецидиве (между V_1 и V_2) была более выражена у больных, у которых при

первом рецидиве процентное соотношение опухолевых В-лимфоцитов к нормальным лимфоцитам было выше.

При сравнении $V_{\text{прироста}}$ объема лимфатической ткани (%) с количественным отношением опухолевых В-лимфоцитов к нормальным лимфоцитам в группе II выявлена заметная взаимосвязь по шкале Чеддока, R_{xy} равен 0,53 (рис. 3).

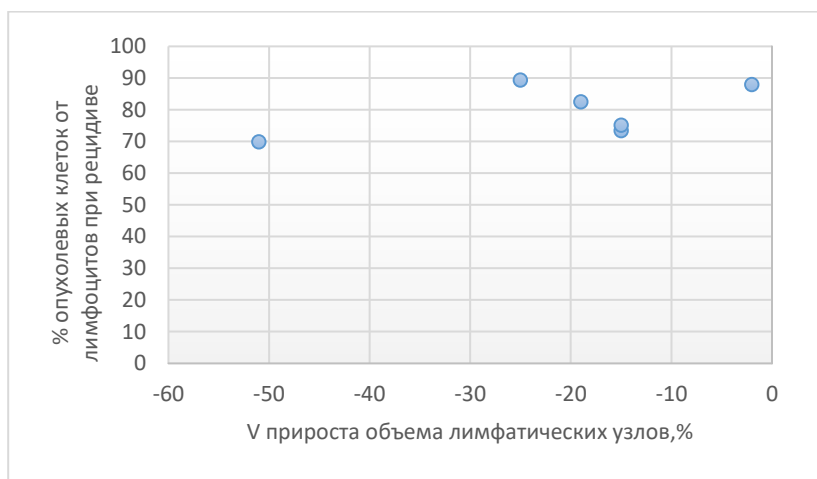


Рис. 3. Зависимость $V_{\text{прироста}}$ объема лимфатических узлов, % (ось абсцисс) от уровня опухолевых В-лимфоцитов (% от нормальных лимфоцитов) при первом рецидиве (ось ординат) в группе II

Таким образом, в нашем исследовании была установлена тесная взаимосвязь между количественным отношением опухолевых В-лимфоцитов к нормальным лимфоцитам, полученным при первом рецидиве, и динамическим показателем прироста объема опухолевого поражения ($V_{\text{прироста}}$). Возможность практического применения полученных результатов требует дополнительных исследований, тем более что о динамических изменениях объема опухолевого поражения при рецидиве с наибольшей точностью могут сказать инструментальные методы визуализации, входящие в перечень обязательного обследования больных [12].

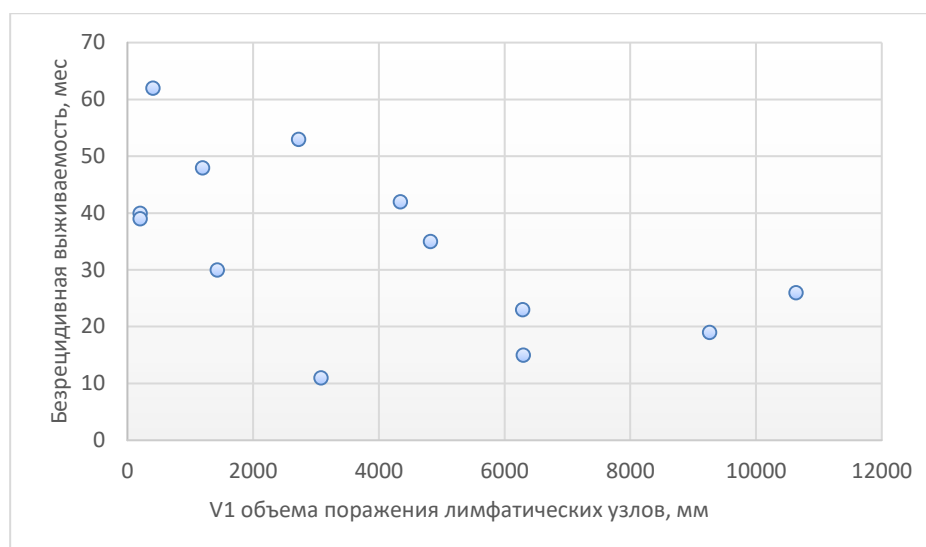


Рис. 4. Зависимость V1 объема поражения лимфатических узлов, мм (ось абсцисс) от длительности ПР, мес. (ось ординат) в группе I

На третьем этапе исследования с целью поиска прогностических маркеров длительности БРВ изучили взаимосвязь между V1 (объемом поражения лимфатической ткани до начала лечения) и временем до первого рецидива в обеих группах. Так, в группе I R_{xy} составил $-0,59$, что говорило о наличии заметной по шкале Чеддока обратной зависимости.

Следовательно, чем выше объем поражения лимфатической ткани у больного перед началом лечения, тем короче была БРВ. В группе II взаимосвязь между V1 и длительностью БРВ была умеренной: R_{xy} составил $-0,39$. Подобные межгрупповые объяснимы принципом распределения групп по приросту/убыли объема поражения лимфатической системы, при этом среднее значение V1 в группе I (3912 ± 952 мм) было в 3,6 раза ниже, чем в группе II (13925 ± 4032 мм). Иными словами, у большинства больных группы I, несмотря на значительный прирост опухолевого объема ко времени развития первого рецидива, исходно наблюдался меньший объем поражения лимфатической ткани, в отличие от больных группы II. В то же время при сравнении V1 и длительности БРВ у больных обеих групп выявлена умеренная отрицательная взаимосвязь ($R_{xy} = -0,41$). Полученные результаты демонстрируют, что исходный объем опухолевого поражения в умеренной степени определяет дальнейшее течение заболевания и данный параметр; при условии выявления остальных формирующих прогноз факторов может быть рекомендован для построения прогностического алгоритма длительности БРВ.

Заключение. Длительность БРВ не зависит от количественного отношения опухолевых В-лимфоцитов к нормальным лимфоцитам, установленного перед началом лечения больных ХЛЛ. В то же время прослеживается заметный уровень зависимости

показателей прироста поражения лимфатической ткани от количественного отношения опухолевых В-лимфоцитов к нормальным лимфоцитам, определяемым к моменту первого рецидива. Представляется значимым для клинической практики наличие умеренной зависимости, установленной между исходным объемом поражения лимфатической ткани и длительностью БРВ у больных ХЛЛ в ходе настоящего исследования.

Список литературы

1. Chen Q., Jain N., Ayer T., Wierda W.G., Flowers C.R., O'Brien S.M., Keating M.J., Kantarjian H.M., Chhatwal J. Prevalence and Economic Burden of Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) in the Era of Oral Targeted Therapies. *Blood*. 2015. vol. 126. no. 23. P. 871. DOI: 10.1016/j.clml.2015.07.653.
2. Архипова О.Е., Черногубова Е.А., Тарасов В.А., Лихтянская Н.В., Кит О.И., Еремеева А.А., Матишов Д.Г. Уровень онкологических заболеваний как индикатор медико-экологической безопасности территорий (на примере Ростовской области) // Вестник Южного научного центра РАН. 2013. Т. 9. № 3. С.7-14.
3. Кувшинов А.Ю., Волошин С.В., Мартынкевич И.С., Клеина Е.В., Чететкин А.В. Значение минимальной остаточной болезни при хроническом лимфолейкозе в эру таргетных лекарственных препаратов // Гематология и трансфузиология. 2016. № 61 (4). С. 190-196. DOI: 10.18821/0234-5730/2016-61-4-190-196.
4. Стругов В.В., Стадник Е.А., Зарицкий А. Ю. Эффективность венетоклакса в терапии хронического лимфолейкоза (обзор литературы) // Онкогематология. 2017. № 12 (4). С.18-25.
5. Шляхтунов В.А., Семенов В.М. Молекулярно-генетическая диагностика минимальной остаточной болезни в онкогематологии // Вестник ВГМУ. 2014. Т. 13. № 4. С. 21-28.
6. Hallek M., Cheson B.D., Catovsky D., Caligaris-Cappio F., Dighiero G., Döhner H., 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. vol. 111. no. 12. P. 5446-5456. DOI: 10.1182/blood-2007-06-093906.
7. Рудакова А.В., Стадник Е.А. Фармакоэкономические аспекты терапии рецидивирующего / рефрактерного хронического лимфоцитарного лейкоза // Онкогематология. 2020. № 15 (1). С. 73-82.
8. 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). С. 191-198. DOI: 10.21320/2500-2139-2016-9-2-191-198.

9. Чуксина Ю.Ю., Яздовский В.В., Катаева Е.В., Голенков А.К. Иммунофенотипическая диагностика минимальной остаточной болезни у больных хроническим лимфолейкозом как оценка эффективности ритуксимабсодержащих режимов терапии // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. 2015. № 10 (5). С. 72-75.

10. Чуксина Ю.Ю., Катаева Е.В., Митина Т.А. Особенности иммунофенотипической диагностики В-клеточных лимфопрлиферативных заболеваний методом проточной цитометрии // Казанский мед. ж. 2020. № 101 (1). С. 145-153. DOI: 10.17816/KMJ2020-145.

11. Гуськова Н.К., Селютина О.Н., Новикова И.А., Максимов А.Ю., Ноздричева А.С., Абакумова С.В. Морфологические и иммунофенотипические особенности моноклональной популяции В-лимфоцитов при хроническом лимфолейкозе. Южно-российский онкологический журнал. 2020. № 1 (3). С. 27-35. DOI: 10.37748/2687-0533-2020-1-3-3.

12. Никитин Е.А., Бялик Т.Е., Зарицкий А.Ю., Исебер Л., Капланов К.Д., Лопаткина Т.Н., Луговская С.А., Мухортова О.В., Османов Е.А., Поддубная И.В., Самойлова О.С., Стадник Е.А., Фалалеева Н.А., Байков В.В., Ковригина А.М, Невольских А.А., Иванов С.А., Хайлова Ж.В., Геворкян Т.Г. Хронический лимфоцитарный лейкоз/лимфома из малых лимфоцитов. Клинические рекомендации // Современная Онкология. 2020. № 22 (3). С. 24-44. DOI: 10.26442/18151434.2020.3.200385.