

Величина остаточного клона как индикатор элиминации биологически активных опухолевых клеток в костном мозге и периферической крови при лечении В-НХЛ/ХЛЛ

Кузьмина Е.Г., Мушкарина Т.Ю., Константинова Т.В., Павлов В.В.

Лаборатория клинической иммунологии отдела лабораторной диагностики МРНЦ им. А.Ф. Цыба, филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время одним из независимых признаков ответа на терапию В-НХЛ/ХЛЛ считается величина минимальной остаточной болезни (МОБ). МОБ – это остаточное количество опухолевых клеток, циркулирующих в крови или обнаруживаемых в костном мозге после лечения. В международных протоколах и в исследовательских Центрах России определяются возможности использования величины МОБ в качестве предиктора чувствительности опухолевых клеток к выбранному методу терапии, для сопоставления ответа на терапию разных методов лечения и для прогноза заболевания [1, 2, 3, 4]. Внедрение этих подходов в практическую медицину актуально и своевременно.

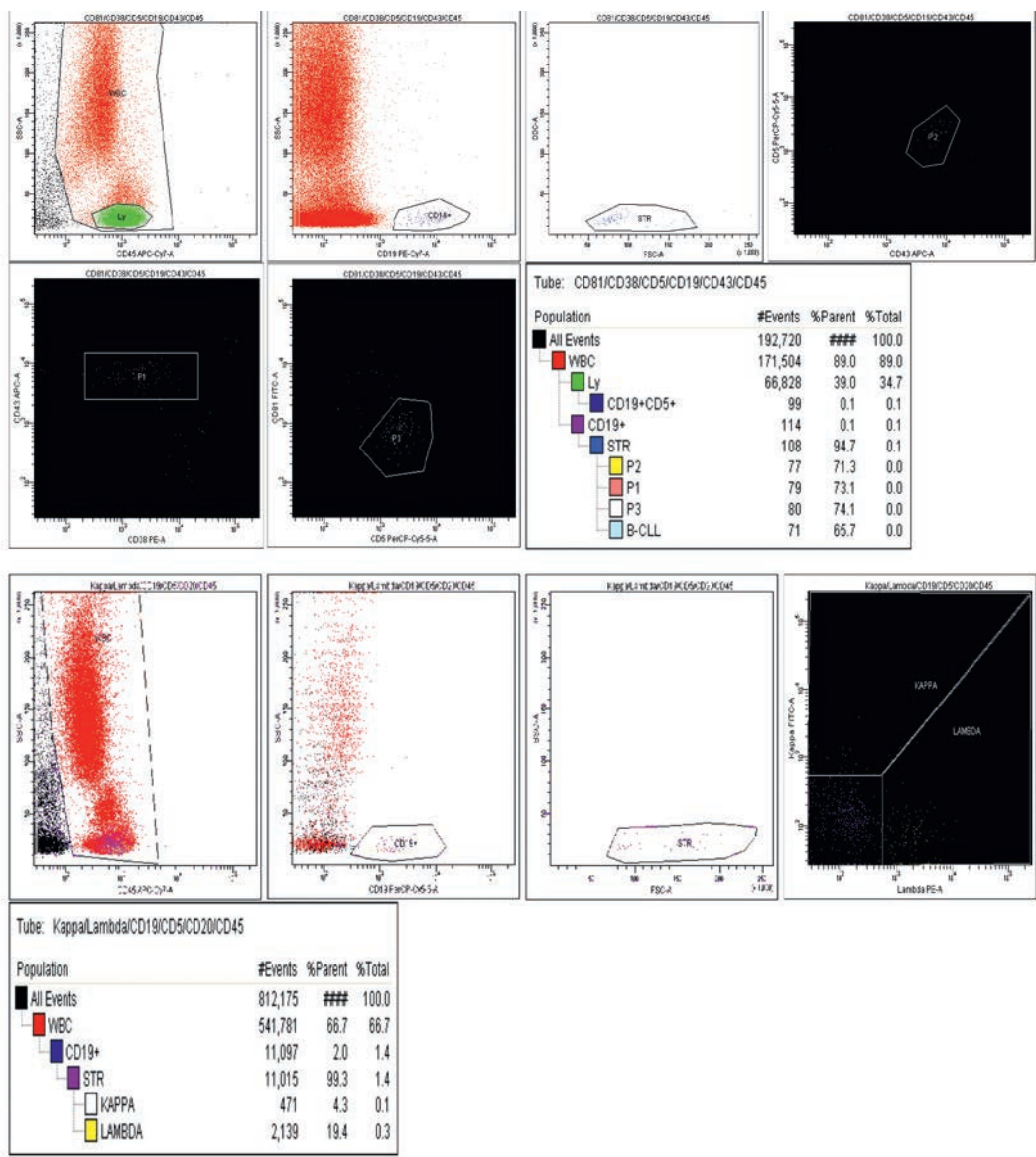
ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить величину МОБ (аберрантных лимфоцитов) в крови и костном мозге в качестве индикатора ответа на лечение В-НХЛ/ХЛЛ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проанализированы данные 11 пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями (В-ХЛЛ, диффузная В-крупноклеточная лимфома, зрелоклеточная лимфома, лимфома селезенки, лимфома зоны мантии с поражением костного мозга и лейкоемизацией клона). Проллиферирующий клон детектировали методом проточной цитофлуориметрии с несколькими флуоресцентными метками (FITC, PE, PerCP, PE-Cy7, APC, APC-Cy7) на проточном цитофлуориметре FACS Canto II, BD. При многоцветной проточной цитофлуориметрии определения МОБ при В-НХЛ/ХЛЛ также использованы несколько флуоресцентных меток, позволяющих идентификацию по клеточным маркерам фенотипа опухолевой клетки и определение количества опухолевых клеток. Иммунофенотипирование оценки МОБ проведено в соответствии с рекомендациями международного стандартизованного подхода [5]. Для идентификации остаточного клона использованы маркеры: CD81+, CD43+, CD5+, CD19+, CD38+, CD20+, CD45+, Kappa+, Lambda+ (рис. 1).

Рис. 1. Этапы определения минимальной остаточной болезни



Величину 0,01% считали порогом обнаружения остаточной популяции aberrантных лимфоцитов. Для выявления МОБ просчитывали число aberrантных клеток на 500 000 лейкоцитов. Пунктаты костного мозга, КМ, и образцы периферической крови, ПК, исследованы после 2–4, 6–8 циклов (иммуно)химиотерапии (R)-СНОР, дополненной при необходимости консолидирующей лучевой терапией в СОД 26–30Гр и через 3–16 месяцев после лечения. Выполнено 47 исследований: 27 определений МОБ в ПК и 20 – в КМ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исходно в обследованной группе больных уровень aberrантных В-лимфоцитов в КМ и ПК близок, в среднем составил 58 – 62% (рис. 2А). После 2–4 циклов ПХТ клон aberrантных клеток и в ПК, и в КМ снизился более чем в 100 раз. У части пациентов (3 из 11) МОБ была высокой и составляла от 7 до 21%.

Темпы снижения опухолевых клеток при более эффективном лечении в ПК выше, чем в КМ. МОБ после завершения лечения в ПК составила 0,047%, в образцах КМ была на порядок выше – 0,29% (рис. 2Б), что согласуется с данными литературы о большей трудности удаления клональной пролиферации из КМ по сравнению с ПК. При контрольных обследованиях пациентов через 3–6 и 12–16 месяцев после завершения лечения МОБ в ПК несколько повысилась и составляла 0,15 и 0,28% соответственно. В КМ уровень МОБ сохранялся на уровне, близком к срокам окончания лечения, либо продолжал снижаться (рис. 3).

Рис. 2. Исходный клон (А) и МОБ (Б) в крови и костном мозге сразу после завершения терапии (6–8ПХТ+ЛТ), %

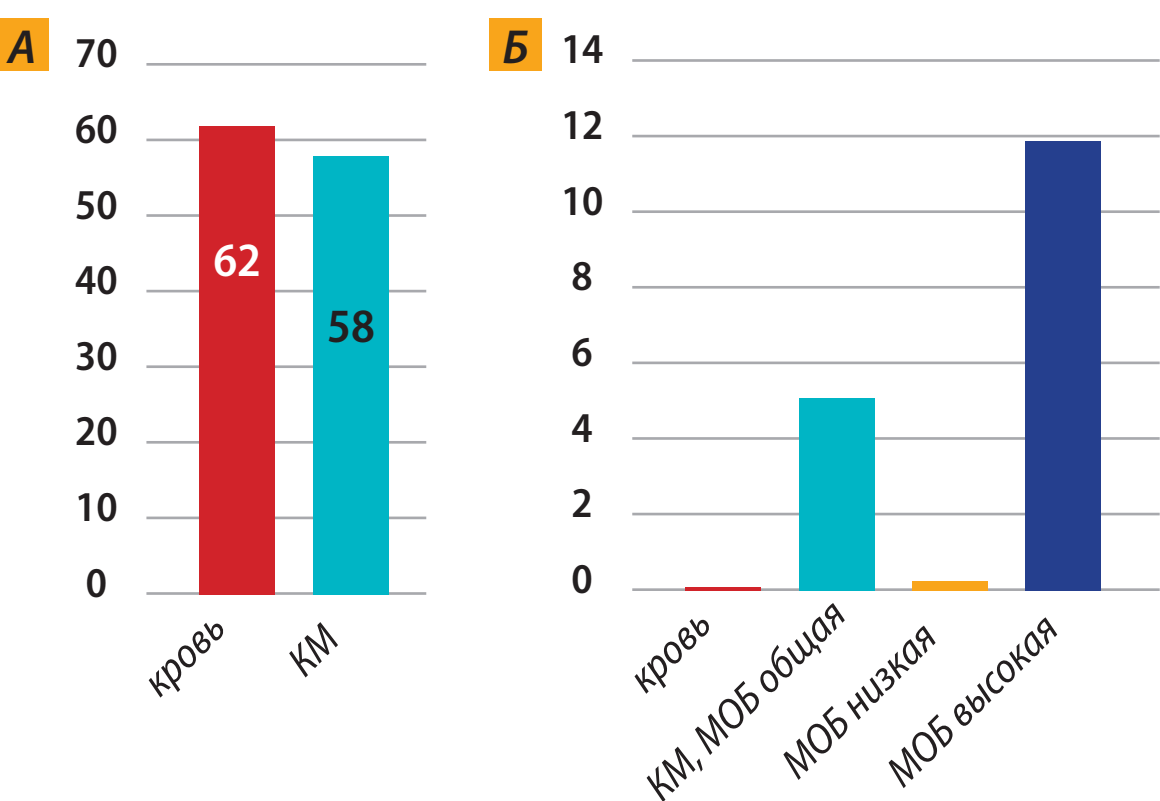
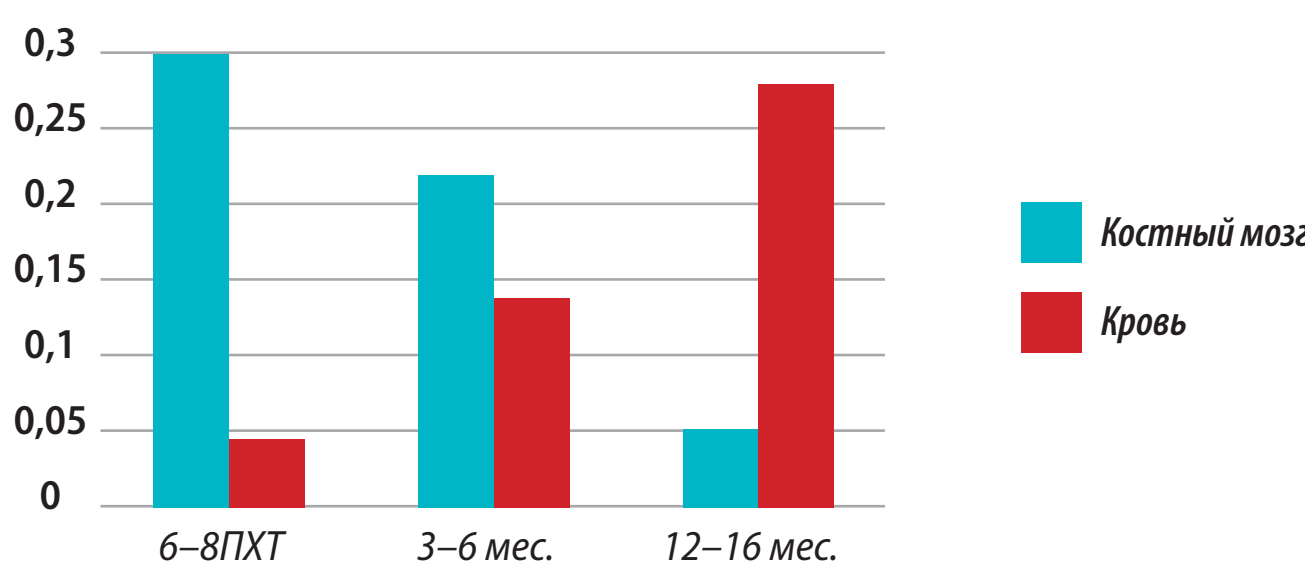


Рис. 3. Динамика МОБ (%) в крови и костном мозге после лечения и на этапах контроля терапии



Отсюда следует, что элиминация aberrантных клеток из КМ – процесс, требующий большего времени, чем их удаление из циркуляции крови. В целом, полученные данные по окончании лечения и в контролируемые сроки наблюдения более 1 года указывают на то, что у большинства пациентов как в ПК, так и в КМ биологический тест определения МОБ положительный. Однако величина остаточного клона варьирует от иммунофенотипически полной ремиссии до наличия МОБ: диапазон колебаний от 0,001–2%. По данным литературы эрадикация заболевания и полная иммунофенотипическая ремиссия при В-НХЛ/ХЛЛ может быть достигнута лишь при отсутствии МОБ. Это значит, что уровень aberrантных лимфоцитов не должен превышать 0,01%. Считается, что такой уровень опухолевых клеток не препятствует достижению практически 100% полной клинической ремиссии. При большем числе aberrантных клеток ремиссия менее стабильна и сопряжена с риском развития рецидива. Полученные результаты должны быть сопоставлены с клинко-инструментальными критериями эффективности лечения В-НХЛ/ХЛЛ. Это послужит обоснованием предпочтения нового подхода количественной биологической оценки эффективности удаления опухолевых клеток из циркулирующей крови и КМ в ответ на проводимое лечение .

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучена динамика одного из независимых признаков ответа на терапию – величины минимальной остаточной болезни (МОБ) на этапах (иммуно)химиотерапии В-НХЛ/ХЛЛ.

Показано, что после 2–4 циклов ПХТ пациенты подразделяются на подгруппы с более резистентным и хорошо выраженным ответом на терапию (по тесту эффективности элиминации aberrантных лимфоцитов из костного мозга и периферической крови). Aberrантные лимфоциты быстрее удаляются из крови, чем из костного мозга. Лишь у малого числа пациентов (2 из 11) после лечения достигнута иммунофенотипическая полная ремиссия с отсутствием МОБ (< 0,01%). У остальных пациентов величина МОБ превышала пороговую величину в 0,01%. Сопоставление МОБ с клинко-инструментальными критериями эффективности лечения В-НХЛ/ХЛЛ послужит обоснованием для предпочтения количественной биологической оценки эффективности удаления опухолевых клеток из кровеносного русла и костного мозга в ответ на проводимое лечение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Никитин Е.А., Грецов Е.М. Минимальная остаточная болезнь при В-клеточном хроническом лимфолейкозе. Современная онкология, 2006, Т8, №1, С.60–66.

2. Луговская С.А., Почтарь М.Е., Наумова Е.В., Кисличкина Д.Г., Никитин Е.А., Долгов В.В. Диагностика минимальной остаточной болезни при В-клеточном хроническом лимфолейкозе методом многопараметрической лазерной проточной цитофлуориметрии. Клиническая лабораторная диагностика, 2010, №9, С20–20а.

3. Наумова Е.В., Луговская С.А., Почтарь М.Е., Никитин Е.А., Сравнительное исследование минимальной остаточной болезни в периферической крови и костном мозге больных с В-ХЛЛ. Клиническая лабораторная диагностика, 2011, №9, С29а .

4. Eugeniya Kuzmina, Tatiana Mushkarina, Tatiana Konstantinova. Minimal residual disease can predict response to treatment of lymphoproliferative disorders. Book of Abstracts/Fourth International Conference on Radiation and Applications in Various Fields of Research, RAD 4, May 23–27, 2016. Niš, Serbia. 2016. P. 82

5. Rawstron AC, Villamor N, Ritgen M, Böttcher S, Ghia P, Zehnder JL, Lozanski G, Colomer D, Moreno C, Geuna M, Evans PA, Natkunam Y, Coutre SE, Avery ED, Rassenti LZ, Kipps TJ, Caligaris-Cappio F, Kneba M, Byrd JC, Hallek MJ, Montserrat E, Hillmen P. International standardized approach for flow cytometric residual disease monitoring in chronic lymphocytic leukaemia. Leukemia. 2007 May;21(5):956–64.