

## Хронический лимфолейкоз высокого риска: история, определение, диагностика и лечение

Е.А. Никитин, А.Б. Судариков

### High-risk chronic lymphocytic leukemia: history, definition, diagnosis, and management

E.A. Nikitin and A.B. Sudarikov

#### ABSTRACT

High-risk chronic lymphocytic leukemia (CLL) is a new term subject to continuous clarification that emerged in a fludarabine era. Clinical significance of high-risk CLL is explained by very poor prognosis compared to the remaining group of patients. The article presents a brief history and modern definition of this term, underlying molecular mechanisms of CLL, and treatment approaches.

**Keywords:** chronic lymphocytic leukemia, TP53 gene, 17p deletion, fludarabine.

Hematology Research Center, RF Ministry of Health, Moscow

Контакты: eugene\_nikitin@mail.ru

Принято в печать: 29 января 2013 г.

#### РЕФЕРАТ

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) высокого риска — новое и все более уточняемое понятие, которое появилось в эру флударабина. Клиническое значение ХЛЛ высокого риска объясняется очень плохим прогнозом по сравнению с остальной группой пациентов. В статье представлен краткий исторический обзор, а также современное определение этого понятия, рассматриваются молекулярные механизмы, лежащие в основе ХЛЛ высокого риска, а также подходы к терапии.

#### Ключевые слова:

хронический лимфолейкоз, ген *TP53*, делеция 17p, флударабин.

#### ВВЕДЕНИЕ

Выделение групп риска для выбора оптимальной терапии — центральная задача в онкологии. В подразделении пациентов на прогностические группы можно руководствоваться разными принципами: они не менялись в соответствии с развитием биологии и медицины. Но для подавляющего большинства опухолей кроветворной и лимфоидной тканей принципиальное значение имеет выделение истинных, биологически неодинаковых групп риска, поскольку именно такое подразделение служит основанием для разработки новых таргетных препаратов и их эффективного использования. С точки зрения практики стратификация пациентов на группы имеет смысл при наличии терапевтической альтернативы.

В лечении хронического лимфолейкоза (ХЛЛ) в последнее десятилетие, несомненно, достигнут значительный прогресс [1–3]. Благодаря применению комбинированных схем с флударабином и ритуксимабом улучшились все показатели эффективности и, главное, общей выживаемости (ОВ) [3–6]. Наряду с этим флударабин-

содержащие режимы поляризовали выборку больных ХЛЛ по прогнозу. В дофлударабиновую эру любые варианты лечения были одинаково малоэффективны. Полные ремиссии при ХЛЛ стало возможным получать только с появлением флударабина [7, 8]. Сегодня большинство пациентов достигают качественной ремиссии длительностью более 3–4 лет. У небольшой группы больных ХЛЛ наблюдается рефрактерность к терапии. Показатели выживаемости этих пациентов не изменились, несмотря на появление флударабина и моноклональных антител. Они соответствуют старой эре, когда любое лечение было малоэффективным. Проблема лечения группы больных ХЛЛ высокого риска или рефрактерного ХЛЛ в настоящее время представляется ключевой. Прежде всего, важно идентифицировать этих пациентов, выделить критерии, которые служили бы основанием для альтернативной терапии или включения в клинические исследования.

Общепринятых критериев ХЛЛ высокого риска до сих пор не существует. Термины «рефрактерный ХЛЛ» и «рефрактерность к флуда-

рабину» нередко используются как синонимы [9–14]. В действительности вариант лечения имеет значение, поскольку эффективность монотерапии флударабином существенно отличается от таковой у комбинации флударабина, циклофосамида и ритуксимаба (FCR). Мера селекции устойчивых субклонов ХЛЛ здесь различна, и поэтому последствия субоптимального ответа на эти варианты лечения неравнозначны: в случае устойчивости к флударабину можно ожидать противоопухолевый ответ при использовании иммунохимиотерапии, в то время как при рефрактерности к FCR успех любого другого лечения менее выражен [15–18]. Кроме того, важно, что терапевтический арсенал не исчерпывается флударабином. Список препаратов пополнился новыми лекарственными средствами — бендамустином, леналидомидом и офатумабом, которые доступны в России. Рефрактерность к этим препаратам, применяемым в монорежиме, также требует изучения. Ситуация еще более усложняется, если эти препараты используются в комбинации.

Клиническое значение рефрактерного ХЛЛ объясняется очень плохим прогнозом по сравнению с остальной группой больных. Медиана ОВ у больных с рефрактерностью к FCR составляет 1–2 года, по данным большинства исследований, несмотря на использование различных режимов «спасения» [16, 17].

В последние годы большое внимание уделяется критериям рефрактерности. Регуляторные организации США и Европы (Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США и Европейское агентство лекарственных средств) регистрируют новые препараты для этой особенной группы пациентов ХЛЛ на основании исследований только II фазы, т. е. нерандомизированных [16]. Это обусловлено необходимостью ургентной помощи этим больным, вопросами этики, а также сложностью проведения рандомизированных исследований, поскольку эта группа пациентов немногочисленна.

Настоящая статья посвящена постепенно формирующемуся и все более уточняемому понятию ХЛЛ высокого риска. Поскольку вопрос рефрактерности напрямую связан с вопросом оценки качества ответа, мы остановимся на истории развития критериев эффективности, современном определении ХЛЛ высокого риска, причинах рефрактерности и лечении этой группы больных.

## ИСТОРИЯ ВОПРОСА

Разнообразие критериев ответа на терапию приводит к невозможности сравнения результатов разных исследований и не позволяет обеспечивать прогресс в лечении [19, 20]. Это ключевое положение лежит в основе многочисленных предложений по стандартизации критериев диагностики и ответа на терапию у больных ХЛЛ.

В 1978 г. группой авторов, работающих в рамках CALGB (Cancer and Leukemia Group B), были предложены рекомендации по проведению протокольных исследований [21]. В этих рекомендациях выделялись пять категорий ответа: полная ремиссия (ПР), частичная ремиссия (ЧР), клиническое улучшение, отсутствие ответа и прогрессия. Неудачный ответ констатировался в случае: 1) отсутствия улучшения в течение 3 мес. терапии; 2) необходимости в облучении локальных очагов болезни; 3) прогрессии, несмотря на увеличение дозы препарата;

4) токсичности препарата, не позволяющей использовать его в дальнейшем; 5) прогрессии опухоли. Как видно, эти рекомендации отражают терапевтические возможности того времени, когда ПР были недостижимы [22].

В рекомендациях рабочей группы 1988 г., спонсируемой Национальным институтом рака США (NCI), были скомпилированы различные критерии ответа, которые применялись в то время. Выделялись ПР, ЧР и прогрессия [23]. Отсутствие эффекта и рефрактерность относились к одной категории. В 1989 г. международной рабочей группой по ХЛЛ были предложены рекомендации для практического здравоохранения. В основу оценки ответа на лечение в этих рекомендациях положена смена стадий. Так, ЧР считали смену стадии В на А или С на В/А [24]. В 1996 г. рабочая группа, спонсируемая NCI, пересмотрела эти рекомендации [25]. К неудовлетворительному ответу на лечение был отнесен любой ответ хуже ПР, ЧР и частичной нодулярной ремиссии. Никаких комментариев в отношении длительности ответа и интенсивности лечения сделано не было. Рефрактерность констатировалась при невозможности достижения по крайней мере ЧР или при прогрессировании на фоне лечения.

В ключевом исследовании, посвященном рефрактерному к флударабину ХЛЛ, определение рефрактерности было дополнено временной составляющей. Рефрактерность определяется как невозможность достижения ПР или ЧР либо рецидив в течение 6 мес. от последнего введения флударабина [16]. В обзоре 2006 г. E. Montserat и соавт. следуют этому определению, а также дополняют его положением о том, что к этой категории должны относиться пациенты, у которых рецидив развился в течение 12 мес. после трансплантации стволовых кроветворных клеток [7]. Наконец, в самых последних международных рекомендациях 2008 г. рефрактерная болезнь определяется как отсутствие эффекта: 1) недостижение даже ЧР (стабилизация), 2) прогрессия во время лечения, 3) смерть по любой причине; или как прогрессия болезни в течение 6 мес. от последнего введения противоопухолевого препарата [26]. Это определение отличается от рекомендаций 1996 г., но частично соответствует дефиниции, которая применялась при исследовании ХЛЛ в эру хлорамбуцила и монотерапии флударабином [25]. Именно это определение общепринято и используется в большинстве клинических протоколов и в клинической практике. Кроме того, авторами рекомендаций 2008 г. введена категория «ХЛЛ высокого риска». К ней относятся пациенты, у которых оправдано рассматривать аллогенную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток [27].

Однако стандарты терапии уже изменились. Оптимальным выбором терапии первой линии у молодых пациентов с хорошим соматическим статусом является режим FCR. Как уже отмечалось, рефрактерность к FCR совсем не то, что рефрактерность к флударабину или хлорамбуцилу. При использовании хлорамбуцила частота общего ответа составляет 31–72% (ПР 0–7%), флударабина — 59–83% (ПР 7–15%), FC — 85% (ПР 24–38%), FCR — 90–95% (ПР 44–50%) [3, 6, 9–11, 28]. Иными словами, доля пациентов с рефрактерностью, соответствующей определению в рекомендациях 2008 г., снизилась примерно до 10%. Не сужает ли это определение истинную выборку пациентов с рефрактерным ХЛЛ? Не слишком ли мала группа больных, у которых

**Таблица 1.** Частота неудовлетворительного ответа при использовании различных режимов первой линии терапии ХЛЛ (по данным клинических исследований)

Исследование	A	Clb	B	F	FC	FCR
UKCLL4 ( <i>n</i> = 777) [9]		28 %		20 %	6 %	
Clb против B ( <i>n</i> = 314) [34]		69 %	32 %			
CAM307 ( <i>n</i> = 297) [35]	17 %	45 %				
GCCLSG CLL4 ( <i>n</i> = 375) [10]				17 %	5 %	
ECOG ( <i>n</i> = 278) [11]				41 %	26 %	
GCCLSG CLL8 ( <i>n</i> = 817) [5]					20 %	10 %
MDAC ( <i>n</i> = 300, без рандомизации) [4]						5 %

A — алемтузумаб; B — бендамустин; Clb — хлорамбуцил; F — флударабин; FC — флударабин, циклофосфамид; FCR — флударабин, циклофосфамид, ритуксимаб.

в первую очередь должны применяться новые таргетные препараты?

### Ответ на FCR как способ стратификации больных

В табл. 1 показана частота неудовлетворительного ответа при использовании разных режимов лечения ХЛЛ. Рефрактерность чаще всего выявляется у больных, получавших F, реже — FC, еще реже FCR. Так, доля больных с отсутствием ответа в исследовании CLL8 снизилась с 20 % в группе FC до 10 % в группе FCR [3]. Формальных сравнений прогноза у больных с рефрактерностью к монотерапии флударабином, к режимам FC и FCR не опубликовано. Результаты ряда исследований свидетельствуют о том, что ранний рецидив после FCR означает очень плохой прогноз [4, 7, 12, 14, 17, 29–31]. Какое значение в этой рефрактерности имеет ритуксимаб? При высокоагрессивных лимфомах результаты лечения пациентов, у которых рецидивы развиваются после ритуксимаб-содержащих режимов, значительно хуже, чем у пациентов, которые исходно не получали ритуксимаб [32]. По данным исследования CLL8, исход у пациентов в группе FC, у которых наблюдалась рефрактерность к терапии и которые получали терапию второй линии, был лучше, чем у пациентов, которые исходно получали FCR [33].

В недавней работе M.D. Anderson Cancer Center (MDACC) проведен анализ эффективности FCR при рецидивах. Неудовлетворительный результат лечения наблюдался у больных с делецией 17p (медиана ОВ составила 10,5 мес.). У больных, которые получили более 3 вариантов терапии медиана ОВ составила 25 мес., а у пациентов с рефрактерностью к флударабину — 38 мес. В этой группе частота ПР составила 0–7 % [6].

По мере увеличения срока наблюдения за больными, получавшими FCR в первой линии, сообщается все больше данных о том, что у пациентов, не попадающих под

определение рефрактерности, но у которых рецидив развивается рано (в течение 24–36 мес.), прогноз неблагоприятный [17]. Результаты из MDACC свидетельствуют, что у больных, которые нуждаются в раннем повторном лечении после FCR, прогноз тоже неблагоприятный [5]. Медиана ОВ больных, нуждающихся в повторном лечении в течение 36 мес., составила менее 24 мес. от момента назначения терапии второй линии, что значительно меньше по сравнению с пациентами, которые получали лечение спустя более 3 лет. В исследовании также сравнивались результаты при использовании различных режимов второй линии. Из 300 пациентов, получавших исходно FCR 114 лечились по этой же программе при рецидивах. Противоопухольевый ответ был получен у 55 % больных. Важным предиктором ответа на режим FCR при рецидивах была эффективность FCR в первой линии: у больных с полной или полной нодулярной ремиссией исходно общий ответ составил 68–78 %, а у больных с исходно ЧР — 30–33 %.

В исследовании CLL8 три категории пациентов, получавших как FC, так и FCR, имели сходный неблагоприятный прогноз: пациенты с рефрактерным ХЛЛ (*n* = 50), пациенты с продолжительностью ремиссии 6–12 мес. (*n* = 42) и пациенты с продолжительностью ремиссии 12–24 мес. (*n* = 63). Медиана ОВ от момента назначения терапии второй линии в этих группах больных составила 21,9, 24,7 и 24,9 мес. соответственно [3, 14]. Таким образом, пациенты с продолжительностью ремиссии менее 24 мес. должны относиться к категории наивысшего риска.

Совокупность этих данных показывает, что FCR отодвигает рецидив, но принципиально не преодолевает биологические свойства опухоли, а группа больных с рефрактерностью к флударабину шире.

### ПРЕДЛОЖЕНИЕ МЕЖДУНАРОДНОЙ ГРУППЫ ЭКСПЕРТОВ: РАБОЧАЯ МОДЕЛЬ КАТЕГОРИЙ РИСКА

В мае 2012 г. опубликовано предложение международной группы исследователей из Германии и США по стратификации больных ХЛЛ на три категории (табл. 2) [33]. В основу этого разграничения положена прогнозируемая эффективность режима FCR. Предлагаемые терапевтические подходы в этих группах больных основываются только на ретроспективных данных; их эффективность не подтверждена проспективными исследованиями. Данная стратификация может использоваться в будущих клинических исследованиях. Выделяют следующие категории: наивысшего риска, высокого риска, низкого риска.

К группе наивысшего риска относятся больные с делецией или мутациями *TP53*, пациенты с рефрактерностью к флударабину, а также больные, у которых

**Таблица 2.** Стратификация больных ХЛЛ и выбор терапии. Предложения международной группы экспертов

Группы риска	Определение	Выбор терапии
Наивысший риск	Рефрактерность к флударабину Ранний (< 24 мес.) рецидив после FCR и подобных режимов Делеция/мутация <i>TP53</i> с показаниями к терапии	Индукция ремиссии — новые препараты/алемтузумаб (Кэмпас) Консолидация — аллоТГСК Поддерживающая терапия (клинические исследования)
Высокий риск	ХЛЛ без мутаций переменного региона IgH; делеция 11q, высокий уровень $\beta 2$ -микроглобулина, отсутствие признаков ХЛЛ наивысшего риска	FCR + новый препарат (в индукции/поддерживающей терапии)
Низкий риск	Ничто из перечисленного выше, отсутствие терапии в анамнезе	FCR, можно рассматривать деэскалацию терапии, возможно, на основании МОБ

аллоТГСК — аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; МОБ — минимальная остаточная болезнь.

длительность ремиссии после терапии FCR составляет менее 24 мес. Маловероятно, что лечение FCR даст в этой группе приемлемый ответ, адекватное число ПР и длительную выживаемость (см. табл. 1). Эти пациенты являются кандидатами на применение препаратов с известной активностью в отношении клеток с утратой или мутациями *TP53*, новых препаратов с иным механизмом действия, а вне клинических исследований — трансплантации аллогенных стволовых гемопоэтических клеток. Методика и время проведения трансплантации не тестировались в клинических исследованиях, но опубликован консенсус — рекомендации рабочей группы по ХЛЛ Европейского регистра по трансплантации костного мозга [27].

Ко второй группе высокого риска относятся пациенты, у которых рецидив после FCR происходит сравнительно рано, хотя они не входят в группу наивысшего риска. В эту категорию попадают пациенты с высоким уровнем  $\beta 2$ -микроглобулина или тимидинкиназы, с вариантом ХЛЛ без мутаций вариабельного региона иммуноглобулинов, с делецией 11q. Теперь доказано, что добавление ритуксимаба к FC в этой группе пациентов приводит к улучшению ответа, показателей ОВ и выживаемости без прогрессирования (ВБП) [3, 13]. В этой группе наиболее оправдано применение новых препаратов и поддерживающей терапии.

Наконец, к группе низкого риска относятся пациенты без делеций 17p и 11q, без мутаций *TP53*, с вариантом ХЛЛ с мутациями вариабельного региона иммуноглобулинов, с низким уровнем  $\beta 2$ -микроглобулина. В этой группе больных прогноз наиболее благоприятен и можно рассматривать сокращение объема терапии.

**Таким образом, к ХЛЛ наивысшего риска относятся три категории больных:**

- пациенты с делецией 17p или мутациями гена *TP53* при наличии показаний к началу терапии;
- ХЛЛ, рефрактерный к флударабину (эффект менее ЧР, рецидив в течение 6 мес. от последнего введения препарата);
- прогрессия на фоне лечения или рецидив, развившийся в течение 24 мес. от начала комбинированной иммунохимиотерапии (режимы FR, FCR, FMCR, BR).

Констатация рефрактерности после FC без ритуксимаба, по-видимому, также возможна при наступлении рецидива в течение 24 мес. На наш взгляд, к этому определению следует добавить фактор адекватности терапии: ранний рецидив после режима FCR, проведенного с неоправданным, необусловленным токсичностью сокращением числа курсов и доз препаратов, не означает плохого

прогноза. В этом случае можно получить ремиссию при проведении терапии в адекватном объеме.

Под рецидивом понимается возврат болезни с характеристиками к началу лечения. Динамика роста опухолевого клона ХЛЛ до показаний к терапии различна. Это относится как к первичным, так и больным с рецидивами. Прогноз неблагоприятный в том случае, если речь идет о раннем развернутом рецидиве.

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ, ЛЕЖАЩИЕ В ОСНОВЕ ХЛЛ ВЫСОКОГО РИСКА**

Четкие представления о причинах рефрактерности и ее молекулярных маркерах позволили бы предельно точно выделять соответствующие прогностические группы больных до начала терапии. К сожалению, молекулярные маркеры не до конца определены. Более всего изучена и доказана связь между рефрактерностью и делецией 17p. Неблагоприятное прогностическое значение делеции 17p хорошо показано и было подтверждено в проспективных исследованиях [3, 9, 10, 36, 37]. В последние годы получено значительно больше данных о роли мутаций *TP53*. У части больных В-ХЛЛ выявляются только мутации *TP53*, без делеции. В работах T. Zenz и соавт. [38, 39], D. Rossi и соавт. [40] было показано, что мутации *TP53* также связаны с неблагоприятным прогнозом. В исследовании чешских авторов продемонстрировано, что мутации выявляются не реже делеций: авторы обнаружили только мутации у 20 (5%) из 400 больных [41]. Выявление мутаций *TP53* так же важно, как обнаружение делеций. В этом номере журнала «Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика» представлен отечественный опыт по исследованию мутаций *TP53*.

Во всех клиниках, где больным ХЛЛ может быть предложено альтернативное лечение, необходим рутинный скрининг на мутации *TP53* перед началом терапии. Недавно были опубликованы рекомендации по исследованию мутаций *TP53* у больных ХЛЛ [42]. Существует множество методов идентификации мутаций. Важно, что результат выявления мутаций гена *TP53* принципиально зависит от процента клеток ХЛЛ в крови. Если доля лейкозных клеток в крови менее 50%, предпочтительнее исследовать костный мозг или лимфоузел, особенно при использовании прямого секвенирования по Сэнгеру. Альтернативно можно проводить селекцию клеток CD19+. Преимущества и недостатки различных методов выявления мутаций представлены в табл. 3.

**Таблица 3.** Преимущества и недостатки различных методов выявления мутаций гена *TP53*

Метод	Преимущества	Недостатки
Прямое секвенирование геномной ДНК или комплементарной ДНК по Сэнгеру	Непосредственная информация о типе и локализации мутаций	Низкая чувствительность (не менее 25% мутантных аллелей в образце)
Жидкостная хроматография и анализ конформационного полиморфизма одноцепочечных фрагментов ДНК	Скорость, простота, экономичность, сравнительно высокая чувствительность	Не предоставляет данные о конкретных мутациях
Функциональный анализ раздельных аллелей в дрожжах	Скорость, дешевизна, отсутствие необходимости в специальном оборудовании, высокая чувствительность (метод позволяет выявить мутации, если 10% копий ДНК в образце содержат их)	Не предоставляет данные о конкретных мутациях; не позволяет выявлять мутации, ведущие к нонсенс-зависимой деградации РНК
Биочипы: GeneChip arrays, p53 Amplichip	Высокая чувствительность, точные данные о мутации	Необходимость в специальном оборудовании

При использовании скрининговых методов (анализ конформационного полиморфизма одноцепочечных фрагментов ДНК, жидкостная хроматография, функциональный анализ отдельных аллелей *TP53* в дрожжах) рекомендуется проводить секвенирование для подтверждения мутаций, поскольку в скрининговых методах возможны артефакты. Рекомендуется секвенировать экзоны с 4-го по 9-й, поскольку 95 % мутаций расположены в этом районе. Анализ 268 мутаций *TP53*, обнаруженных при ХЛЛ показал, что мутации никогда не выявлялись в экзонах 2, 3 и 11. На экзон 10 приходится 4 % всех мутаций. (Все праймеры и реакции можно найти на сайте: [www-r53.iagc.fr](http://www-r53.iagc.fr).) Для центров, начинающих работать с *TP53*, прямое секвенирование по Сэнгеру — метод выбора, поскольку это относительно простой метод, доступный в большинстве лабораторий. Секвенирование необходимо проводить с прямого и обратного праймеров, в каждом случае дважды.

Делеция 17p и мутации *TP53* обнаруживаются только у 50 % больных с рефрактерностью к FCR. Каковы же причины рефрактерности у другой половины пациентов? В части случаев они могут быть связаны с нарушениями других генов пути p53, но не все случаи рефрактерности объясняются дефектами генов, активируемых в ответ на повреждение ДНК [43]. Так, дефекты гена *ATM* не четко коррелируют с рефрактерностью. Недавно были описаны мутации генов *SF3B1*, *NOTCH1* и *BIRC3*, которые также могут быть связаны с рефрактерностью [44–48].

В заключение следует отметить, что молекулярных маркеров, которые бы ассоциировались с рефрактерностью в 100 % случаев, нет. Тем не менее скрининг на делецию 17p и мутации *TP53* позволяет идентифицировать группу больных с высокой вероятной рефрактерностью. Проведение альтернативной терапии этим пациентам в первой линии значительно повышает вероятность достижения долгосрочной ремиссии.

## ЛЕЧЕНИЕ ХЛЛ ВЫСОКОГО РИСКА

Терапевтический выбор у больных с делецией 17p и рефрактерностью к флударабину в России невелик. В мире используется множество новых препаратов, но мы сконцентрировались в данном обзоре только на тех средствах, которые доступны в Российской Федерации.

У пациентов с делецией 17p/мутациями *TP53* и самыми начальными стадиями, без показаний к терапии ХЛЛ может не иметь прогрессирующего течения довольно долго [49]. Нередко в таких случаях обнаруживается вариант с мутациями генов варибельного региона иммуноглобулинов. Преждевременное назначение терапии не приносит этим пациентам никакой выгоды и может,

наоборот, выступать в роли фактора, способствующего появлению рефрактерных клонов опухолевых клеток. В назначении терапии в таких случаях руководствуются теми же принципами, что и во всей группе больных: лечение начинают при наличии стандартных показаний к нему. По этой причине не оправдано определять делецию 17p или мутации *TP53* у больных без показаний к терапии. Завершенное недавно, но еще не опубликованное исследование германской группы CLL7 позволит определить оптимальную тактику ведения этих больных.

При наличии показаний к началу терапии выбор зависит от возможности проведения аллогенной трансплантации костного мозга. Если по совокупности медицинских и социальных факторов пациенту может быть выполнена аллогенная трансплантация, необходимо обсудить режим индукции ремиссии и дальнейшую терапию со специализированным центром. P. Dreger и соавт. опубликовали долгосрочные результаты исследования CLL3X, в котором изучалась трансплантация с немиелоаблативным режимом кондиционирования [50]. В кондиционировании использовали флударабин и циклофосфамид. В исследование было включено 100 больных, 90 пациентам проведена аллогенная трансплантация костного мозга. При медиане срока наблюдения 46 мес. 4-летняя ОВ составила 65 %, бессобытийная — 42 %. Летальность без учета рецидивов составила 23 %. Бессобытийная выживаемость существенно не отличалась у больных с делецией 17p и у пациентов без этого генетического нарушения. Этот результат говорит сам за себя. Без трансплантации большинство пациентов этой группы погибают в течение 2 лет.

К сожалению, в нашей стране аллогенная трансплантация может быть предложена единичным пациентам. В качестве альтернативных вариантов лечения можно рассматривать монотерапию алемтузумабом, моноклональные антитела в сочетании с кортикостероидами, иммунохимиотерапию.

## Алемтузумаб

Алемтузумаб наиболее изучен и, по-видимому, наиболее эффективен у больных с рефрактерностью к флударабину. Исследования, посвященные алемтузумабу в группе больных с рефрактерностью к флударабину, суммированы в табл. 4. M. Keating и соавт. проведено крупное международное исследование, в которое было включено 93 пациента с рефрактерностью к флударабину [16]. Алемтузумаб назначался в дозе 30 мг 3 раза в неделю в течение 12 нед. Медианы ОВ и ВБП составили 16 и 4,7 мес. во всей группе больных и 32 и 16,5 мес. в подгруппе пациентов с благоприятным ответом соответственно.

Таблица 4. Клинические исследования алемтузумаба у больных с рефрактерным ХЛЛ

Исследование	Схема	Число больных	РФ, %	ПР, %	ОО, %	ОО у больных с РФ, %
M. Keating et al., 2002 [16]	Алемтузумаб 30 мг в/в 3 раза в неделю 12 нед.	93	48	2	33	29
K. Rai et al., 2002 [53]	Алемтузумаб 30 мг в/в 3 раза в неделю 16 нед.	24	71	0	33	29
A. Ferrajoli et al., 2003 [54]	Алемтузумаб 30 мг в/в 3 раза в неделю 12 нед.	42	55	5	31	26
P. Moreton et al., 2005 [55]	Алемтузумаб 30 мг в/в 3 раза в неделю до максимального ответа	91	48	36	55	50
A. Cortelezzi et al., 2005 [56]	Алемтузумаб 10 мг п/к 3 раза в неделю до 18 нед.	16	88	25	50	50
S. Stilgenbauer et al., 2009 [51]	Алемтузумаб 30 мг п/к 3 раза в неделю до 18 нед.	103	100	4	34	39

ОО — общий ответ; ПР — полная ремиссия; РФ — рефрактерность.

В связи с высокой токсичностью в/в инъекций алемтузумаба была разработана подкожная форма препарата. Мы остановимся на 3 исследованиях, в которых алемтузумаб назначался подкожно. Мы выбрали эти исследования и потому, что в них представлены данные по делеции 17p.

В исследование германской группы CLL2H включено 103 ранее получавших лечение больных [51]. У 31 пациента обнаружена делеция 17p. Алемтузумаб назначался в виде п/к инъекций по 30 мг 3 раза в неделю. Общий ответ составил 34 % (4 % больных достигли ПР). В группе больных с делецией 17p положительный ответ был получен у 39 %. Медианы ВБП и ОВ в группе с делецией 17p составили 5,8 и 18,3 мес. соответственно по сравнению с 7,7 и 19,1 мес. во всей группе больных.

Большое международное исследование САМ307 было посвящено сравнению монотерапии алемтузумабом и хлорамбуцилом [35]. Делеция 17p была выявлена у 11 пациентов, рандомизированных на введение алемтузумаба. ПР и ЧР в этой группе были получены у 7 (64 %) больных, а медиана ВБП составила 10,7 мес. Эти результаты сопоставимы с эффективностью алемтузумаба в группе пациентов без делеции 17p. Иными словами, делеция 17p не является фактором неблагоприятного прогноза у больных, получающих алемтузумаб. В группе хлорамбуцила делеция 17p была выявлена у 10 больных. ЧР были получены только у 2 пациентов, а медиана БПВ составила 2,2 мес.

Эти данные были подтверждены в ретроспективной работе чешских исследователей. В исследование было включено 105 пациентов с рецидивами ХЛЛ, получавших монотерапию алемтузумабом. Общий ответ составил 43 %, ПР были получены у 4 % больных. В группе больных с делецией 17p ( $n = 35$ ) общий ответ составил 49 %. Данное исследование интересно и тем, что авторы проводят связь между эффективностью терапии и количеством алемтузумаба на курс лечения. У больных, получивших менее 500 мг препарата, общий ответ был 29 %, в то время как у пациентов, получивших более 500 мг, общий ответ составил 62 %. Медиана ВБП у больных с делецией 17p и без нее была одинаковой (7 мес.). Медиана ОВ составила 32,8 мес. во всей выборке больных и 19,1 мес. у больных с делецией 17p. Таким образом, срок применения и суммарная доза алемтузумаба при назначении его в монорежиме имеют большое значение.

Эффективность офатумумаба также была продемонстрирована в нескольких клинических исследованиях. Офатумумаб — полностью гуманизированное антитело, которое также связывается с CD20, но с другим эпитопом. Офатумумаб не считается биологическим эквивалентом ритуксимаба. В исследовании W. Wierda и соавт. было включено 206 больных. У всех пациентов имелась рефрактерность к флударабину. Общий ответ на лечение составил 47 %, медиана ВБП — 5,5 мес., медиана ОВ — 16,3 мес. [57].

### **Высокие дозы кортикостероидов в сочетании с моноклональными антителами**

Эффективность высоких доз метилпреднизолона в лечении рефрактерного ХЛЛ известна с 1990-х годов [58–60].

J. Castro и соавт. представили результаты исследования высоких доз метилпреднизолона в комбинации с ритуксимабом [61]. Метилпреднизолон назначался в дозе

1 г/м<sup>2</sup>/сут в течение 5 дней, ритуксимаб — в дозе 375 мг/м<sup>2</sup> 1 раз в неделю 4 раза. У пациентов с рефрактерностью к флударабину ( $n = 14$ ) общий ответ составил 93 % (36 % больных достигли ПР). В ретроспективном исследовании из клиники Мейо высокие дозы метилпреднизолона в сочетании с ритуксимабом получало 37 больных [62]. Общий ответ на лечение составил 78 % (22 % больных достигли ПР). Из 9 пациентов с делецией 17p положительный ответ на лечение наблюдался у 5. В исследование R. Pileckyte и соавт. [63] было включено 29 больных с неблагоприятными цитогенетическими aberrациями и рефрактерностью к флударабину. Метилпреднизолон назначался в дозе 1 г/м<sup>2</sup>/сут в течение 5 дней, а ритуксимаб — в 1-й и 5-й дни цикла. Циклы повторялись каждые 3 нед. Общий ответ на лечение составил 62 %. В группе больных с делецией 17p положительный ответ был получен у 69 % человек.

Эффективность комбинации высоких доз кортикостероидов с алемтузумабом (режим CamPred) впервые была продемонстрирована A. Pettitt и соавт. у 5 пациентов, четверо из которых имели делецию 17p [64].

Большое исследование по изучению комбинации высоких доз дексаметазона в сочетании с алемтузумабом было проведено группой ученых из Германии и Франции [65]. Алемтузумаб назначался п/к по 30 мг 3 раза в неделю в течение 4 нед. Дексаметазон назначался в дозе 40 мг с 1-го по 4-й и с 15-го по 18-й дни цикла. Пэгфилгратим в дозе 6 мг вводился в 1-й и 15-й дни цикла. В случае достижения ПР или ЧР к 4-й или 8-й неделе или стабилизации к 12-й неделе пациенты получали либо поддерживающую терапию алемтузумабом в дозе 30 мг каждые 2 нед. в течение 2 лет, либо аллогенную трансплантацию костного мозга. Выбор тактики после фазы индукции ремиссии определялся врачом. Всего включено 124 больных из 26 центров. У 55 пациентов была рефрактерность к флударабину. Все пациенты без рефрактерности имели делецию 17p. На момент публикации данные по эффективности имеются для 87 пациентов. Общий ответ в группе первичных пациентов с делецией 17p составил 97 % (20 % пациентов достигли ПР). У больных с рецидивом ХЛЛ и делецией 17p общий ответ составил 76 %, ПР не было. Наконец, в группе больных с рефрактерностью к флударабину общий ответ был 70 % (5 % больных достигли ПР). Медиана ВБП в этих группах больных составила 16,9, 10,4 и 8,4 мес. соответственно. В фазе индукции анемия III–IV степени наблюдалась у 28 % больных, нейтропения — у 47 % и тромбоцитопения — у 44 %. Клинически манифестная цитомегаловирусная инфекция развилась у 29 % первичных больных с делецией 17p, у 15 % больных с рецидивами и делецией 17p и у 56 % больных с рефрактерностью к флударабину. Несмотря на высокую токсичность, это лучший результат, полученный на большой выборке больных с рефрактерностью к флударабину и делецией 17p.

J. Castro и соавт. [66] изучали комбинацию офатумумаба с высокими дозами кортикостероидов. В исследование включено 8 пациентов с предшествующим лечением, у 4 из них получена ЧР.

### **Иммунохимиотерапия**

Эффективность различных режимов иммунохимиотерапии у больных с рефрактерным ХЛЛ представлена в табл. 5. У пациентов, получавших ранее флударабин или FC, можно использовать режим FCR, но при возникшей рефрактерности продолжительный эффект маловероятен.

**Таблица 5.** Эффективность флударабин-содержащих режимов у больных ХЛЛ с рефрактерностью к флударабину (избранные исследования)

Исследование	Режим	Число больных	РФ, %	ПР, %	ОО, %	ОО у больных с РФ, %
W. Wierda et al., 2005 [69]	Флударабин 25 мг/м <sup>2</sup> в/в во 2–4-й день Циклофосфамид 250 мг/м <sup>2</sup> в/в во 2–4-й день Ритуксимаб 375–500 мг/м <sup>2</sup> в/в в 1-й день	177	21	25	73	59
X. Badoux et al., 2011 [67]	Циклофосфамид 250 мг/м <sup>2</sup> в/в в 3–5-й день Флударабин 25 мг/м <sup>2</sup> в/в в 3–5-й день Алемтузумаб 30 мг в/в в 1, 3 и 5-й дни Ритуксимаб 375–500 мг/м <sup>2</sup> в/в во 2-й день	80	43	29	65	51
F. Bosch et al., 2002 [70]	Флударабин 25 мг/м <sup>2</sup> в/в в 1–3-й день Циклофосфамид 200 мг/м <sup>2</sup> в/в в 1–3-й день или 600 мг/м <sup>2</sup> в/в в 1-й день Митоксантрон 6 или 8 мг/м <sup>2</sup> в/в в 1-й день	60	58	50	78	34
T. Elter et al., 2005 [71]	Флударабин 30 мг/м <sup>2</sup> в/в в 1–3-й день Алемтузумаб 30 мг в/в в 1–3-й день	36	33	30	83	66
A. Tsimberidou et al., 2008 [72]	Оксалиплатин 17,5, 20 или 25 мг/м <sup>2</sup> в/в в 1–4-й день Флударабин 30 мг/м <sup>2</sup> в/в во 2-й и 3-й дни Цитарабин 1000 мг/м <sup>2</sup> в/в во 2-й и 3-й дни Ритуксимаб 375 мг/м <sup>2</sup> в/в в 1-й день	50	60	12	40	33
F. Mauro et al., 2002 [73]	Флударабин 25 мг/м <sup>2</sup> в/в в 1–3-й день Цитарабин 1000 мг/м <sup>2</sup> в/в в 1–2-й день Митоксантрон 10 мг/м <sup>2</sup> в/в в 1-й день Дексаметазон 20 мг в/в в 1–3-й день	31	45	58	81	50

ОО — общий ответ; ПР — полная ремиссия; РФ — рефрактерность.

Сочетание этих режимов с алемтузумабом увеличивает токсичность, но не приводит к повышению выживаемости.

X. Badoux и соавт. исследовали режим CFAR (циклофосфамид, флударабин, алемтузумаб, ритуксимаб) [67]. В исследование было включено 80 больных с рецидивами и рефрактерностью к флударабину. Общий ответ составил 65 % (у 29 % больных была получена ПР). Несмотря на то что частота ремиссий была выше, чем при использовании FCR, добавление алемтузумаба не привело к увеличению выживаемости. Медиана ВВП составила 10,6 мес., медиана ОВ — 16,7 мес. Режим CFAR более токсичен: инфекционные осложнения наблюдались у 37 (46 %) больных, тяжелые инфекции — у 28 %.

Режим OFAR (оксалиплатин, флударабин, цитарабин, ритуксимаб) также сопровождается высокой токсичностью. В исследование A. Tsimberidou и соавт. [68] было включено 50 больных, из которых 20 имели синдром Рихтера и 30 — рефрактерный ХЛЛ. Положительный ответ был получен у 50 % пациентов с синдромом Рихтера и у 33 % — с рефрактерностью к флударабину. Медиана продолжительности ответа составила 10 мес.

F. Mauro и соавт. [73] изучали комбинацию флударабина, цитарабина, митоксантрона и дексаметазона. В исследование включен 31 больной, в т. ч. 14 пациентов с рефрактерностью к флударабину. Общий ответ у больных с рефрактерным ХЛЛ составил 50 % (29 % больных достигли ПР).

T. Elter и соавт. [71] изучали комбинацию флударабина и алемтузумаба (FluCam) у больных с рецидивами и рефрактерностью. В исследование был включен 31 больной. Общий ответ на лечение составил 83 %. ПР были получены у 11 больных, ЧР — у 19, у 1 пациента наблюдалась стабилизация заболевания и у 5 — прогрессия.

#### Леналидомид

Определенной эффективностью у больных с рефрактерным ХЛЛ обладает леналидомид. В исследование A. Ferrajoli и соавт. [74] было включено 44 пациента. ЧР

при монотерапии леналидомидом была получена у 31 % больных с делецией 17p и 25 % больных с рефрактерностью к флударабину.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ХЛЛ наивысшего риска — проблема, в которой тесно переплетаются медицинские и социальные факторы. Выявление этих пациентов требует генетического тестирования, которое доступно пока в единичных крупных центрах. Препараты, которые могут применяться в этой группе больных, ограничены. Все эффективные режимы вызывают глубокую иммуносупрессию, поэтому лечение этих пациентов требует значительных усилий и дорогостоящей сопроводительной терапии. Однако создать рефрактерность, назначив пациенту с делецией/мутацией *TP53* флударабин-содержащий режим, — означает резко снизить шансы на достижение долгосрочной ремиссии. Исследование S. Stilgenbauer и соавт. [65] убеждает в том, что альтернативное лечение существует. Алемтузумаб в России в настоящее время доступен только в рамках благотворительной программы компании Sanofi. Учитывая срок доставки алемтузумаба в Россию, крупным региональным больницам может быть целесообразно предусматривать предварительный заказ алемтузумаба заранее на нескольких больных в год. Молодых пациентов с благоприятным соматическим статусом лучше направлять в крупные центры, где им может быть проведено генетическое тестирование на маркеры неблагоприятного прогноза.

#### КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Никитин Е.А. подтверждает получение гранта от фармацевтической компании ЗАО «Рош-Москва» на проведение исследований по ХЛЛ, а также грант на стажировку за рубежом. Судариков А.Б. подтверждает отсутствие скрытых конфликтов интересов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Montserrat E.* CLL therapy: progress at last! *Blood*. 2005; 105: 2–3.
2. *Byrd J.C., Stilgenbauer S., Flinn I.W.* Chronic lymphocytic leukemia. In: *Hematology 2004: American Society of Hematology Education Program Book*. Washington, DC: American Society of Hematology, 2004: 163–83.
3. *Hallek M., Fischer K., Fingerle-Rowson G. et al.* Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet* 2010; 376(9747): 1164–74.
4. *Keating M.J., 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.
5. *Tam C.S., 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.
6. *Badoux X.C., Keating M.J., Wang X. et al.* Fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab chemoimmunotherapy is highly effective treatment for relapsed patients with CLL. *Blood* 2011; 117(11): 3016–24.
7. *Montserrat E., Moreno C., Esteve J. et al.* How I treat refractory CLL. *Blood* 2006; 107(4): 1276–83.
8. *Gribben J.G.* How I treat CLL up front. *Blood* 2010; 115(2): 187–97.
9. *Catovsky D., Richards S., Matutes E. et al.* Assessment of fludarabine plus cyclophosphamide for patients with chronic lymphocytic leukaemia (the LRF CLL4 Trial): a randomised controlled trial. *Lancet* 2007; 370(9583): 230–9.
10. *Eichhorst B.F., 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.
11. *Flinn I.W., Neuberg D.S., Grever M.R. et al.* Phase III trial of fludarabine plus cyclophosphamide compared with fludarabine for patients with previously untreated chronic lymphocytic leukemia: US Intergroup Trial E2997. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25(7): 793–8.
12. *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.
13. *Stilgenbauer S., Zenz T., Winkler D. et al.* Genomic aberrations, VH mutation status and outcome after fludarabine and cyclophosphamide (FC) or FC plus rituximab (FCR) in the CLL8 trial [abstract]. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2008; 112(11): 781.
14. *Zenz T., Busch R., Fink A. et al.* Genetics of patients with F-refractory CLL or early relapse after FC or FCR: results from the CLL8 Trial of the GCLLSG [abstract]. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2010; 116(21): 2427.
15. *Tsimberidou A.M., Keating M.J.* Treatment of fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 2009; 115(13): 2824–36.
16. *Keating M.J., Flinn I., Jain V. et al.* Therapeutic role of alemtuzumab (Campath-1H) in patients who have failed fludarabine: results of a large international study. *Blood* 2002; 99(10): 3554–61.
17. *Stilgenbauer S., Zenz T.* Understanding and managing ultra high-risk chronic lymphocytic leukemia [abstract]. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 2010; 2010: 481–8.
18. *Wierda W.G., Kipps T.J., Mayer J. et al.* Ofatumumab as single-agent CD20 immunotherapy in fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28(10): 1749–55.
19. *Rai K.R., Sawitsky A., Cronkite E.P. et al.* Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1975; 46(2): 219–34.
20. *Binet J.L., Auquier A., Dighiero G. et al.* A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer* 1981; 48(1): 198–206.
21. *Silver R.T., Sawitsky A., Rai K., Holland J.F., Glidewell O.* Guidelines for protocol studies in chronic lymphocytic leukemia. *Am. J. Hematol.* 1978; 4(4): 343–58.
22. *Sawitsky A., Rai K.R., Glidewell O., Silver R.T.* Comparison of daily versus intermittent chlorambucil and prednisone therapy in the treatment of patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1977; 50(6): 1049–59.
23. *Cheson B.D., Bennett J.M., Rai K.R. et al.* Guidelines for clinical protocols for chronic lymphocytic leukemia: recommendations of the National Cancer Institute-sponsored working group. *Am. J. Hematol.* 1988; 29(3): 152–63.
24. *International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia.* Chronic lymphocytic leukemia: recommendations for diagnosis, staging, and response criteria. *Ann. Intern. Med.* 1989; 110(3): 236–8.
25. *Cheson B.D., Bennett J.M., Grever M. et al.* National Cancer Institute-sponsored Working Group guidelines for chronic lymphocytic leukemia: revised guidelines for diagnosis and treatment. *Blood* 1996; 87(12): 4990–7.
26. *Hallek M., Cheson B.D., 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.
27. *Dreger P., Corradini P., Kimby E. et al.* Indications for allogeneic stem cell transplantation in chronic lymphocytic leukemia: the EBMT transplant consensus. *Leukemia* 2007; 21(1): 12–7.
28. *Eichhorst B.F., Busch R., Stilgenbauer S. et al.* First-line therapy with fludarabine compared with chlorambucil does not result in a major benefit for elderly patients with advanced chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2009; 114(16): 3382–91.
29. *Oscier D., Wade R., Davis Z. et al.* Prognostic factors identified three risk groups in the LRF CLL4 trial, independent of treatment allocation. *Haematologica* 2010; 95(10): 1705–12.
30. *Lin K.I., Tam C.S., Keating M.J. et al.* Relevance of the immunoglobulin VH somatic mutation status in patients with chronic lymphocytic leukemia treated with fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab (FCR) or related chemoimmunotherapy regimens. *Blood* 2009; 113(14): 3168–71.
31. *Abrisqueta P., Pereira A., Rozman C. et al.* Improving survival in patients with chronic lymphocytic leukemia (1980–2008): the Hospital Clinic of Barcelona experience. *Blood* 2009; 114(10): 2044–50.
32. *Gisselbrecht C., Glass B., Mounier N. et al.* Salvage regimens with autologous transplantation for relapsed large B-cell lymphoma in the rituximab era. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28(27): 4184–90.
33. *Zenz T., Gribben J.G., Hallek M. et al.* Risk categories and refractory CLL in the era of chemoimmunotherapy. *Blood*. 2012; 119(18): 4101–7.
34. *Knauf W.U., Lissichkov T., Aldaoud A. et al.* Phase III randomized study of bendamustine compared with chlorambucil in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27(26): 4378–84.
35. *Hillmen P., Skotnicki A.B., Robak T. et al.* Alemtuzumab compared with chlorambucil as first-line therapy for chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25(35): 5616–23.
36. *Grever M.R., Lucas D.M., Dewald G.W. et al.* Comprehensive assessment of genetic and molecular features predicting outcome in patients with chronic lymphocytic leukemia: results from the US Intergroup Phase III Trial E2997. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25(7): 799–804.
37. *Dohner H., Fischer K., Bentz M. et al.* p53 gene deletion predicts for poor survival and non-response to therapy with purine analogs in chronic B-cell leukemias. *Blood* 1995; 85(6): 1580–9.
38. *Zenz T., Habe S., Denzel T. et al.* Detailed analysis of p53 pathway defects in fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia (CLL): dissecting the contribution of 17p deletion, TP53 mutation, p53-p21 dysfunction, and miR34a in a prospective clinical trial. *Blood* 2009; 114(13): 2589–97.
39. *Zenz T., Eichhorst B., Busch R. et al.* TP53 mutation and survival in chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28(29): 4473–9.
40. *Rossi D., Cerri M., Deambrogi C. et al.* The prognostic value of TP53 mutations in chronic lymphocytic leukemia is independent of Del17p13: implications for overall survival and chemorefractoriness. *Clin. Cancer Res.* 2009; 15: 995–1004.
41. *Malcikova J., Smardova J., Rocnova L. et al.* Monoallelic and biallelic inactivation of TP53 gene in chronic lymphocytic leukemia: selection, impact on survival, and response to DNA damage. *Blood* 2009; 114(26): 5307–14.
42. *Pospisilova S., Gonzalez D., Malcikova J. et al.* European Research Initiative on CLL (ERIC). ERIC recommendations on TP53 mutation analysis in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2012; 26(7): 1458–61.
43. *Mohr J., Helfrich H., Fuge M. et al.* DNA damage-induced transcriptional program in CLL: biological and diagnostic implications for functional p53 testing. *Blood* 2011; 117(5): 1622–32.
44. *Quesada V., Conde L., Villamor N. et al.* Exome sequencing identifies recurrent mutations of the splicing factor SF3B1 gene in chronic lymphocytic leukemia. *Nat. Genet.* 2011; 44(1): 47–52.
45. *Wang L., Lawrence M.S., Wan Y. et al.* SF3B1 and other novel cancer genes in chronic lymphocytic leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2011; 365(26): 2497–506.
46. *Rossi D., Brusca G., Spina V. et al.* Mutations of the SF3B1 splicing factor in chronic lymphocytic leukemia: association with progression and fludarabine-refractoriness. *Blood* 2011; 118(26): 6904–8.
47. *Rossi D., Rasi S., Fabbri G. et al.* Mutations of NOTCH1 are an independent predictor of survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2012; 119(2): 521–9.
48. *Fabbri G., Rasi S., Rossi D. et al.* Analysis of the chronic lymphocytic leukemia coding genome: role of NOTCH1 mutational activation. *J. Exp. Med.* 2011; 208(7): 1389–401.
49. *Best O.G., Gardiner A.C., Davis Z.A. et al.* A subset of Binet stage A CLL patients with TP53 abnormalities and mutated IGHV genes have stable disease. *Leukemia* 2009; 23(1): 212–4.
50. *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 GCLLSG CLL3X trial. *Blood* 2010; 116(14): 2438–47.
51. *Stilgenbauer S., Zenz T., Winkler D. et al.* Subcutaneous alemtuzumab in fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia: clinical results and prognostic marker analyses from the CLL2H study of the German Chronic Lymphocytic Leukemia Study Group. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27: 3994–4001.
52. *Fiegl M., Erdel M., Tinhofer I. et al.* Clinical outcome of pretreated B-cell chronic lymphocytic leukemia following alemtuzumab therapy: a retrospective study on various cytogenetic risk categories. *Ann. Oncol.* 2010 May 13.
53. *Rai K.R., Freter C.E., Mercier R.J. et al.* Alemtuzumab in previously treated chronic lymphocytic leukemia patients who also had received fludarabine. *J. Clin. Oncol.* 2002; 20: 3891–7.
54. *Ferrajoli A., O'Brien S.M., Cortes J.E. et al.* Phase II study of alemtuzumab in chronic lymphoproliferative disorders. *Cancer* 2003; 98: 773–8.

- 55.** 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: 2971–9.
- 56.** Cortelezzi A., Pasquini M.C., Sarina B. et al. A pilot study of low-dose subcutaneous alemtuzumab therapy for patients with chemotherapy-refractory chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica* 2005; 90: 410–2.
- 57.** Wierda W.G., Padmanabhan S., Chan G.W. et al.; Hx-CD20-406 Study Investigators. Ofatumumab is active in patients with fludarabine-refractory CLL irrespective of prior rituximab: results from the phase 2 international study. *Blood* 2011; 118(19): 5126–9.
- 58.** Bosanquet A.G., McCann S.R., Crotty G.M., Mills M.J., Catovsky D. Methylprednisolone in advanced chronic lymphocytic leukaemia: rationale for, and effectiveness of treatment suggested by DISC assay. *Acta Haematol.* 1995; 93: 73–9.
- 59.** Thornton P.D., Hamblin M., Treleaven J.G. et al. High dose methyl prednisolone in refractory chronic lymphocytic leukaemia. *Leuk. Lymphoma* 1999; 34: 167–70.
- 60.** Thornton P.D., Matutes E., Bosanquet A.G. et al. High dose methylprednisolone can induce remissions in CLL patients with p53 abnormalities. *Ann. Hematol.* 2003; 82: 759–65.
- 61.** Castro J.E., Sandoval-Sus J.D., Bole J., Rassenti L., Kipps T.J. Rituximab in combination with high-dose methylprednisolone for the treatment of fludarabine refractory high-risk chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2008; 22: 2048–53.
- 62.** Bowen D.A., Call T.G., Jenkins G.D. et al. Methylprednisolone-rituximab is an effective salvage therapy for patients with relapsed chronic lymphocytic leukemia including those with unfavorable cytogenetic features. *Leuk. Lymphoma* 2007; 48: 2412–7.
- 63.** Pilleckyte R., Jurgutis M., Valceckiene V. et al. Dose-dense high-dose methylprednisolone and rituximab in the treatment of relapsed or refractory high-risk chronic lymphocytic leukemia. *Leuk. Lymphoma* 2011; 52: 1055–65.
- 64.** Pettitt A.R., Matutes E., Oscier D. Alemtuzumab in combination with high-dose methylprednisolone is a logical, feasible and highly active therapeutic regimen in chronic lymphocytic leukaemia patients with p53 defects. *Leukemia* 2006; 20: 1441–5.
- 65.** Stilgenbauer S., Cymbalista F., Leblond V. et al. Alemtuzumab Plus Oral Dexamethasone, Followed by Alemtuzumab Maintenance or Allogeneic Transplantation in Ultra High-Risk CLL: Interim Analysis of a Phase II Study of the GCLLSG and fcgcll/MW. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2011; 118: 2854.
- 66.** Castro J.E., Barajas-Gamboa J.S., Melo-Cardenas J. et al. Ofatumumab and high-dose methylprednisolone is an effective salvage treatment for heavily pretreated, unfit or refractory patients with chronic lymphocytic leukemia: Single institution experience. *Blood* 2010; 116(21): 4638.
- 67.** Badoux X.C., Keating M.J., Wang X. et al. Cyclophosphamide, fludarabine, alemtuzumab, and rituximab as salvage therapy for heavily pretreated patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2011; 118(8): 2085–93.
- 68.** Tsimberidou A.M., Wierda W.G., Plunkett W. et al. Phase I-II study of oxaliplatin, fludarabine, cytarabine, and rituximab combination therapy in patients with Richter's syndrome or fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26(2): 196–203.
- 69.** 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; 18: 1–9.
- 70.** Bosch F., Ferrer A., Lopez-Guillermo A. et al. Fludarabine, cyclophosphamide and mitoxantrone in the treatment of resistant or relapsed chronic lymphocytic leukemia. *Br. J. Haematol.* 2002; 119: 976–84.
- 71.** Elter T., Borchmann P., Schulz H. et al. Fludarabine in combination with alemtuzumab is effective and feasible in patients with relapsed or refractory B-cell chronic lymphocytic leukemia: results of a phase II trial. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23(28): 7024–31.
- 72.** Tsimberidou A., Wierda W.G., Plunkett W. et al. Phase I-II study of oxaliplatin, fludarabine, cytarabine, and rituximab combination therapy in patients with Richter's syndrome of fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26: 196–203.
- 73.** Mauro F.R., Foa R., Meloni G. et al. Fludarabine, ara-C, novantrone and dexamethasone (FAND) in previously treated chronic lymphocytic leukemia patients. *Haematologica* 2002; 87: 926–33.
- 74.** Ferrajoli A., Lee B.N., Schlette E.J. et al. Lenalidomide induces complete and partial remissions in patients with relapsed and refractory chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2008; 111(11): 5291–7.

