

Monoklonové protilátky v liečbe chronickej lymfocytovej leukémie

MUDr. Eva Mikušková¹, MUDr. Ľudmila Demitrovičová¹, MUDr. Juraj Chudej, PhD.²

¹II. klinika klinickej onkológie LF UK a SZÚ, Oddelenie klinickej hematológie a transfuziológie – B, Národný onkologický ústav, Bratislava

²Klinika hematológie a transfuziológie JLF UK a UN Martin

Chemoterapia v liečbe CLL zaznamenala v posledných dvoch dekádach významný pokrok, keď po dlhej ére chlorambucilu vstúpil do 1. línie fludarabín a jeho kombinácia s cyklofosfamidom a neskôr aj s liekom z novej skupiny – monoklonovou protilátkou rituximabom. Doterajší konzervatívny paliatívny prístup so snahou po minimálnej toxicite u starších pacientov postupne nahrádza snaha terapeuta ušetriť liečbu CLL na mieru s eradikáciou MRD hlavne u mladších a „fit“ pacientov s ambíciou predĺžiť prežívanie. Monoklonové protilátky predstavujú inú skupinu protinádorovej liečby, ktorá pôsobí cielene na nádorovú bunku a indukuje jej zánik iným mechanizmom ako klasické cytostatiká. V liečbe CLL sú etablované alemtuzumab, rituximab, ofatumumab. Rituximab predstavuje v súčasnosti zlatý štandard liečby prvej línie aj relapsu „fit“ aj „non-fit“ pacientov. Po úspešnom klinickom skúšaní boli registrované ďalšie nové anti-CD20 protilátky v 1. línii – obinutuzumab a ofatumumab v kombinácii s chlorambucilom v liečbe starších pacientov s komorbiditou.

Kľúčové slová: monoklonové protilátky, chronická lymfocytová leukémia.

Monoclonal antibodies in the treatment of chronic lymphocytic leukemia

Chemotherapy of CLL underwent significant development in last two decades when after a long era of chlorambucil fludarabine entered in the first line of treatment in combination with cyclophosphamide and later with new agent – monoclonal antibody rituximab. The conservative palliative approach with minimal toxicity in elderly is replaced with an effort to tailor treatment of CLL with eradication of minimal residual disease mainly for young and „fit“ patients with ambition to prolong survival. Monoclonal antibodies represent a new category of anticancer drugs that mediate cell death utilizing several mechanisms different from classical chemotherapy. Alemtuzumab, rituximab and ofatumumab are currently widely used monoclonal antibodies in CLL. Rituximab represents now a gold standard for initial treatment of „fit“ and also „non-fit“ patients and for patients with relapsed CLL. After successful clinical studies another new anti-CD20 antibodies were registered for the first line treatment – obinutuzumab and ofatumumab in combination with chlorambucil in treatment of elderly patients with comorbidities.

Key words: monoclonal antibodies, chronic lymphocytic leukemia.

Onkológia (Bratisl.), 2014; roč. 9(6): 358–364

Úvod

Chronickú lymfocytovú leukémiu (CLL) stále považujeme za ochorenie nevyliciteľné konvenčnou chemoterapiou. Chemoterapia v liečbe CLL však zaznamenala v posledných dvoch dekádach významný pokrok, keď po dlhej ére chlorambucilu vstúpil do 1. línie fludarabín a jeho kombinácia s cyklofosfamidom. Významnejšiu zmenu koncepcie postupu pri CLL spôsobil až príchod monoklonových protilátok, ktoré predstavujú inú skupinu protinádorovej liečby cielene pôsobiacu na nádorovú bunku s indukciou jej zániku iným mechanizmom ako klasické cytostatiká. Doterajší konzervatívny paliatívny prístup so snahou o minimálnu toxicitu u starších pacientov vzhľadom na ich vek a komorbiditu tak postupne nahrádza snaha terapeuta ušetriť liečbu CLL na mieru s eradikáciou minimálnej reziduálnej choroby (MRD) hlavne u mladších a „fit“ pacientov s ambíciou predĺžiť prežívanie. Pred érou monoklonových protilátok nepriniesol žiadny konvenčný liečebný postup (alkylačné látky, purínové analógy, poly-

chemoterapia) zásadnú zmenu v prirodzenom priebehu ochorenia. Predĺženie prežívania sa prvýkrát pozorovalo až pri aplikácii alemtuzumabu u pacientov pri dosiahnutí MRD negativity (1) a neskôr sa tento fakt potvrdil v multicentrickej randomizovanej štúdii CLL 8 – kombinácia fludarabínu s cyklofosfamidom s monoklonovou protilátkou rituximabom (viď ďalej) (2, 3).

Alemtuzumab

Alemtuzumab je humanizovaná anti-CD52 monoklonová protilátka triedy IgG1 s nízkou imunogenicitou.

CD52 antigén sa nachádza vo vysokej hustote na povrchu takmer všetkých fyziologických aj malígnych periférnych B- aj T-lymfocytov (500 000 molekúl, 5 % povrchu bunky). Je to glykoproteín neznámej funkcie, ktorý sa nenachádza na kmeňových bunkách (respektíve na všetkých CD34+ bunkách), erytrocytoch, trombocytoch, ale je pozorovaná vysoká expresia na lymfocytoch, monocytoch, makrofágoch, eozinofíloch, bunkách epitelu semenných

kanálikov. Po aplikácii alemtuzumabu teda nie sú zničené kmeňové bunky a môžu vyzrievať a nahrádzať maligne lymfocyty (4).

Na povrchu B-lymfocyty je asi 500 000 molekúl CD52 antigénu a iba okolo 10 000 – 20 000 molekúl CD20 antigénu (Ag) (23). Densita antigénov môže byť príčinou rozdielneho účinku monoklonových protilátok v monoterapii. V rámci klonu môže dochádzať k dynamickej zmene v denzite antigénu. Počas liečby anti-CD20 monoklonovými protilátkami pozorujeme down-reguláciu CD20. Množstvo CD52 sa počas liečby nemení. Okrem iného sa zistilo, že napríklad rezistencia na fludarabín je spojená so znížením expresie CD20 a so zvýšenou denzitou CD52.

Problémom pri CLL je aj fenomén takzvaného „sheddingu“, čo znamená uvoľňovanie solubilnej formy antigénu do plazmy, ktorá vyvážuje podávanú monoklonovú protilátku, a tak znižuje jej účinok (aj pri rituximabe – typu I anti-CD20). Množstvo solubilného Ag CD52 koreluje s mutačným stavom, hladinou $\beta 2M$ a klinickým štádiom ochorenia.

Pri vývoji rezistencie CLL hrá významnú úlohu proteín p53 kódovaný génom *TP53*, ktorý má funkciu tumor supresorového génu (del17p, mutácia TP53). Pre túto teóriu svedčí fakt, že stačí jediná bunka v počiatočnom veľkom klone nádorových buniek nesúca 17p- anomáliu, ktorá prežije liečbu fludarabínom, aby za istý čas došlo k fludarabín-rezistentnému relapsu, napriek tomu, že objektívne bola výsledkom liečby MRD pozitívna kompletná remisia (CR). Hoci treba brať do úvahy aj fenomén klonovej evolúcie, podporuje to teóriu, že selekcia rezistentného klonu (p53) môže byť až u 20 % až 25 % pacientov dôsledkom iniciálnej liečby. Alemtuzumab dokáže spustiť apoptózu nezávisle od p53.

Impulzom na vývoj alemtuzumabu bolo zavedenie alogénnych transplantácií kostnej drene do liečby v 70. rokoch 20. storočia a spre-vádzajúca ťažká GVHD, ktorá je spôsobená T-lymfocytmí. Už v roku 1979 bola v Cambridge vyvinutá prvá anti-CD52 monoklonová protilátka s výrazným deplečným účinkom na periférne lymfocyty. Protilátky proti CD52 boli väčšinou IgM CAMPATH-1M (Cambridge Pathology) a v mechanizme účinku dominovala komple-mentom mediovaná lýza T-lymfocytov (CDC). Hale pracoval od roku 1985 na hľadani účinnejšej anti-CD52 protilátky. Bola vtedy použitá potkania protilátka IgG2b CAMPATH-1G, ktorá spúšťa aj reakciu ADCC (bunková cytotoxicita závislá od protilátky), v liečbe pacienta s CLL s prolymfocytovou transformáciou s efektom CR. V roku 1988 prichádza CAMPATH-1H humanizovaná IgG1 monoklonová protilátka, ale približne až od roku 2001 nasledovalo rutinné klinické používanie.

Prvé údaje o efektívnosti publikovali Osterborg et al. (5) **v roku 1997 u pacientov s relapsom alebo refraktérnou CLL** a neskôr Rai et al. (6) 2002: ORR 33 % – 43 %, medián TTP 12, respektíve 15 mesiacov. Z nežiaducich účinkov (NÚ) dominovali početné toxické reakcie v súvislosti s infúziou (horúčka, triaška, nauzea, vracanie, raš) s ústupom po 1. týždni liečby a na základe týchto údajov sa etablovala premedikácia antipyretiká, antihistaminiká, kortikoidy a iniciálna schéma eskalácie dávky. Pretože nebola podávaná antiinfekčná profylaxia, 42 % pacientov malo oportúnne infekcie s vysokým výskytom pneumocystovej pneumónie (PCP). Imunosupresia nastupuje zavčas: už po 5 – 10 infúzií dochádza k úplnej deplécii lymfocytov (B, CD4+ T, CD8+ T, NK) s úpravou až 2 – 18 mesiacov po ukončení! Je nevyhnutná profylaxia PCP, monitorovanie CMV, virostatiká (hrozí aj ťažší priebeh HSV, HVZ). Stav potencieje sklon k prolongovanej myelosupresii s nutnosťou podania rastových faktorov.

Tabuľka 1. Účinnosť alemtuzumabu v monoterapii: pacienti s refraktérnou/relapsom CLL

Štúdia	n	ORR (%)	CR (%)	PR (%)	Medián trvania odpovede (mesiace)
Keating (2002)	93	33	2	31	8,7
Osterborg (1997)	29	42	4	38	12
Rai (2002)	24	33	0	33	15,4
Ferrajoli (2003)	42	31	5	26	18
Lozanski (2004)	36	31	6	25	10
Moreton (2005)	91	54	35	19	NR MRD- CR, 20 MRD+CR, 13 PR
Stilgenbauer (2009) s. c.	109	34	4	30	PFS 7,7

Tabuľka 2. Účinnosť alemtuzumabu v monoterapii: pacienti liečení v 1. línii

Štúdia	n	liečba	ORR (%)	CR (%)	Medián trvania odpovede (mesiace)
Hillmen (2007) (10)	149	A 30 mg 3x/tý 12 t i. v.	83	24	NR
Lundin (2002) s. c. (11) Karlsso (2006)	41	A 30 mg 3x/tý 18 t s. c.	87	19	TTF28, pre odpovedajúcich 32

Tabuľka 3. Fit pacienti s del17p, mutáciou TP53

1. lúnia	n	ORR	CR	PFS mesiace	
Alemtuzumab (10) Hillmen 2007	11	60 %	20 %	10,7	
CamPred (13) Pettitt 2012	A 30 mg 3x/tý 16tý HD-MP 1 g/m ² D1-5 à 28 dní	39	80 %	65 %	18,3
CamDex (14) Stilgenbauer 2010	A 30 mg 3x/tý 12tý DXM 40 mg D1-4, 15-18 à 28 dní	31	100 %	23 %	38

Keating et al. (7) publikovali v roku 2002 výsledky multicentrickej štúdie – použitie alemtuzumabu pri fludarabín-refraktérnej CLL: 33 % ORR, z toho 2 % CR (93 pacientov). Prvýkrát bola opísaná súvislosť medzi veľkosťou lymfatických uzlín (LU) a pravdepodobnosťou liečebnej odpovede: pacienti s LU < 2 cm odpovedali CR v 64 % (27 % parciálnych remisii (PR)), pacienti s LU 2 – 5 cm v 15 % CR (56 % PR), pacienti s LU > 5 cm neodpovedali vôbec v zmysle dosiahnutia CR. Infekcie sa vyskytli v 55 % prípadov (závažné NÚ (SAE) 26 %) vrátane reaktivácií CMV a invazívnych fungálnych infekcií. Medián trvania odpovede bol 9 mesiacov a celkové prežívanie 16 mesiacov, u odpovedajúcich pacientov až 32 mesiacov.

Stilgenbauer (8) a Lozanski et al. (9) vyslovili predpoklad efektivity alemtuzumabu u pacientov s CLL s defektom p53 v 1. línii liečby (tabuľka 1).

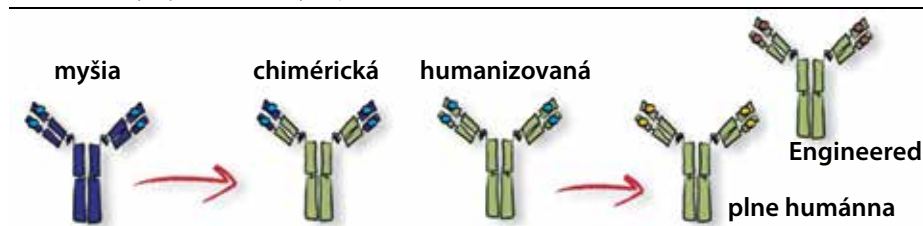
Štúdia CAM307, randomizovaná multicentrická fáza III (10), porovnávala účinnosť alemtuzumabu i. v. (30 mg 3-krát týždenne počas 12 týždňov s profylaxiou) s chlorambucilom p. o. (40 mg/m² 1-krát mesačne počas 12 mesiacov) **v iniciálnej liečbe CLL** u 297 pacientov. U pacientov liečených alemtuzumabom bola dokázaná lepšia účinnosť ORR 83 % vs. 55 %, CR 24 % vs. 2 %, p < 0,0001 v porovnaní s chlorambucilom, ako aj lepšie prežívanie bez choroby, so 42 % redukcii rizika progresie a smrti. K MRD negatívnej CR došlo u 26 % pacientov liečených alemtuzumabom v porovnaní s 0 % pri chlo-

rambucile. MRD negatívni pacienti mali až 89 % prežívanie bez progresie po dvoch rokoch.

Závažná neutropénia/trombocytopenia sa vyskytla pri alemtuzumabe 42 a 17 % vs. 23 a 16 % pri chlorambucile; febrilná neutropénia (FN) 4,8 vs. 3,4 %. CMV infekciu rozvinulo 6,8 % pacientov liečených alemtuzumabom, pričom len 15 % pacientov rozvinulo iné závažnejšie infekcie vs. 6,8 %.

Pri vysokorizikovej CLL s del17p a del11q štúdia dokázala, že chlorambucil nebol dostatočne účinný (ORR 20 % pri del17p a ORR 30 % pri del11q), celkové odpovede na alemtuzumab pri CLL s del17p boli viac ako 60 % (p = 0,0805) a pri del11q viac ako 80 % (p < 0,0001). Kým nízkorizikové skupiny z hľadiska cytogenetického profilu dosahovali dobrú odpoveď aj po chlorambucile, vysokorizikové skupiny s deléciami 17p a 11q profitovali len z podania alemtuzumabu (10). Z toho vyplynulo aj odporúčanie FDA o zaradení alemtuzumabu do 1. lúnie pri CLL s del17p (tabuľka 2).

Farmakokinetické štúdie demonštrovali, že **pri subkutánnom (s. c.) podaní** sa dosiahu podobné sérové koncentrácie lieku ako pri i. v. podaní. Účinnosť s. c. podania bola dokázaná pri jeho podávaní tak **v 1. lúinii** (11) (fáza II: ORR 87 % – 19 % CR, 68 % PR, s mediánom sledovania 80 mesiacov bol medián TTF 28 mesiacov, pre odpovedajúcich na liečbu 32 mesiacov, OS 42 %, 16 % transformovalo do Richterovho syndrómu),

Obrázok 1. Vývoj monoklonových protilátok

ako aj pri fludarabín-refraktérnej CLL (12): CLL2H – 109 pacientov).

CLL2H Study fáza II - German CLL Study Group: pri mediáne sledovania 37,9 mesiaca bolo 75 úmrtí: 56 % malo progresiu ochorenia, 31 % v dôsledku infekcie a 13 % zomrelo bez súvislosti s CLL. Medián veku 63 rokov (60 % pod 65 rokov, 40 % nad 65 rokov). S. c. alemtuzumab bol dobre tolerovaný, hematologická toxicita bola najčastejšia G3-4 neutropénia u 56 % a trombocytopenia u 57 % pacientov, anémia G3-4 u 49 %. Infekcie boli najčastejšou nehematologickou toxicitou, G3-4 non-CMV sa vyskytli u 29 % pacientov, CMV reaktivácia bola pozorovaná u 16 % pacientov, 8 % malo G3-4 CMV infekciu. Viac infekcií bolo u pacientov, ktorí nereagovali na liečbu alemtuzumabom. Kožná reakcia sa vyskytla u 34 % pacientov – bola väčšinou G1-2, len jedna reakcia G3. U polovice pacientov bol podávaný pegfilgrastim profylakticky à 2 týždne, v tejto skupine bolo menej neutropénií (46 % vs. 70 %), ale podobný výskyt G3-4 non-CMV infekcií (26 % vs. 32 %).

Celkovo odpovedalo 34 % pacientov, CR 4 % a PR 30 %, SD 38 % a PD 24 %. Medián OS 19,1 mesiaca, PFS 7,7 a TTTT 5,6 mesiaca (12). U 35 pacientov, ktorí odpovedali, bol medián trvania odpovede 13,7 mesiaca. Ďalšiu liečbu dostalo 74 pacientov – alogénnu transplantáciu kmeňových buniek (aloTKB) (8 pacientov) alebo inú záchrannú (salvage) liečbu. Dvojročné prežívanie bolo 88 % v ramene s aloTKB a 27 % pre iné salvage terapie. Subkutánny alemtuzumab má ekvivalentnú účinnosť ako i. v. alemtuzumab (podobné odpovede ako v štúdiu CAM 211).

Keďže hlavnou príčinou negatívneho výsledku bola strata odpovede alebo nedostatočná odpoveď, je potrebné zvýšiť účinnosť liečby pre vysokorizikových pacientov. Glukokortikoidy (metylprednizolón) indukujú aj od p53-nezávislú bunkovú smrť pri CLL bunkách a ich pridanie môže zvýšiť účinnosť alemtuzumabu hlavne u pacientov s defektom p53 (13).

V liečbe opakovaného relapsu a pri veľmi refraktérnych formách CLL je možné použiť aj kombinované režimy **FluCam (fludarabín 30 mg/m² deň 1 – 3 i. v. a alemtuzumab**

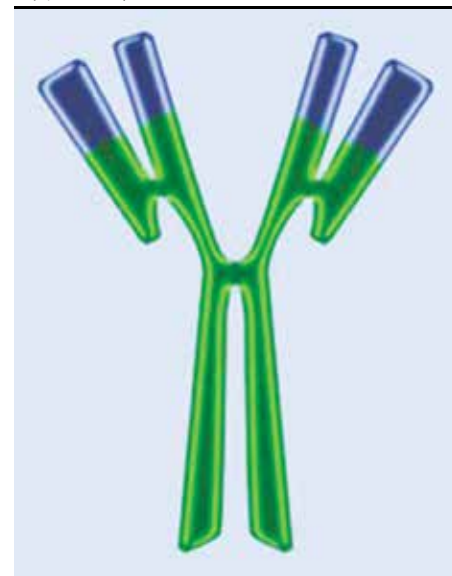
30 mg deň 1 – 3 i. v.; NC D29) (14), OFAR (oxaliplatin eskalácia 17,5 – 20 – 25 mg/m² deň 1 – 4; fludarabín 30 mg/m² deň 2 – 3 i. v.; Ara-c 1 g/m² deň 2 – 3 i. v. a rituximab 375 mg/m² D1; NC D29) (16) a CFAR (cyklofosamid (CFA) 250 mg/m² D 3 – 5 i. v.; fludarabín 25 mg/m² D 3 – 5 i. v.; alemtuzumab 30 mg/d D 1, 3, 5 a rituximab 375 mg/m² D 2; NC D29) (17), ktoré v malých štúdiách dosahovali veľmi dobré výsledky. Sú limitované svojou toxicitou a skôr pre mladších pacientov, zaujímavým faktom je hlavne synergia medzi rituximabom a alemtuzumabom. Aj ťažko predliečení pacienti po podaní CFAR dosahujú ORR 65 %, CR 27 % a PR 38 %. Medián prežívania odpovedajúcich pacientov je až 27 mesiacov. **CFAR v 1. línii: ORR 92 %, CR 70 %, PR 21 % (del17p CR 57 %, ORR 78 %) (18).**

Centrom záujmu je už dlhé roky **snaha o eradikáciu MRD s cieľom predĺženia celkového prežívania**. Reprezentatívne údaje prvýkrát publikovali v roku 2005 Moreton et al. (1) u 91 predliečených pacientov. Tí, ktorí dosiahli prietokovou cytometriou MRD negativitu v kostnej dreni, prežili významne dlhšie ako ostatní pacienti (medián 36 mesiacov). Liečba u pacientov s veľkými uzlinami nebola úspešná. Montillo et al. (19) aplikovali po 8 týždňoch po úspešne ukončenej liečbe fludarabínom (CR, PR) **konsolidáciu** alemtuzumabom celkovo 6 týždňov. Počet CR sa zvýšil z 35 % na 79 % po konsolidácii s 56 % MRD negativitou. Iné štúdie skúmajúce konsolidáciu alemtuzumabom v 1. línii museli byť pre vysokú toxicitu spojenú aj s neočakávanými úmrtiami (30 % mortalita v CR!) zastavené a táto indikácia nie je považovaná za štandardnú (20, 21, 22).

Aj keď v súčasnosti nemá alemtuzumab v EÚ platnú registráciu, stále má svoje **miesto v liečbe refraktérnej CLL, pri relapse s klonovou evolúciou del17p/mut p53 a pri CLL s del17p/mut p53 iniciálne v 1. línii**.

Rituximab

Rituximab je chimérická anti-CD20 monoklonová protilátka triedy IgG1 typu I (myšacia časť (Fab): variabilný región ľahkého a ťažkého reťazca; ľudská časť: IgG1 konštantná oblasť gamma ťažkého reťazca (Fc) a konštantný

Obrázok 2. Zjednodušená schéma monoklonovej protilátky

región kappa ľahkého reťazca). Myšacia Fab časť protilátky sa viaže s vysokou afinitou na antigén *CD20*. Rituximab je prvá monoklonová protilátka schválená v onkológii pre štandardnú protinádorovú liečbu (1997).

Antigén CD20 je transmembránový fosfoproteín vyskytujúci sa na povrchu B-lymfocyty. Expresia *CD20* sa začína vo včasnom pre-B-bunkovom štádiu a postupne dochádza k strate počas plazmatickej diferenciácie. Nie je prítomný na životne dôležitých bunkách vrátane hematopoetických kmeňových a plazmatických buniek produkujúcich protilátky. Presné funkcie *CD20* poznáme len čiastočne: asi vplýva na rast a diferenciáciu B-lymfocytov, má funkciu kalciového kanála a podieľa sa zrejme aj na regulácii programovanej smrti bunky (apoptózy). O modulácii expresie *CD20* génu vieme zo štúdií **špeciálne s CLL – dochádza k cytokínovej upregulácii CD20:** po stimulácii IFN- α , IL-4, TNF- α a GM-CSF. V porovnaní s ostatnými B-lymfoproliferáciami má CLL oveľa nižšiu expresiu *CD20* (denzita CLL ~ 10-40 000 vs. 200 000) s interindividuálnou variabilitou, čo sa odrazilo aj v reakcii na liečbu v monoterapii a následne, samozrejme, aj v dávkovaní rituximabu v liečebných schémach (23, 24)

Najdôležitejším z viacerých mechanizmov účinku rituximabu je od **protilátok** závislá cytotoxicita (ADCC). **Rituximab potencuje aktivitu purínových analógov** – prebieha down-regulácia expresie anti-apoptotického proteínu bcl-2 a bcl-x(l) a robí bunky CLL citlivejšími k fludarabínom-indukovanej apoptóze. A, naopak, **fludarabín** znižuje expresiu komplexu rezistentných proteínov CD 46, CD 55, CD 59 na maligných B bunkách a robí ich viac vní-

mavé na rituximabom-indukovanú **cytotoxicitu závislú od komplementu (CDC)**. Priamy toxický mechanizmus účinku fludarabínu spočíva v inhibícii syntézy DNA, indukcii apoptózy, destabilizácii RNA a znižuje expresiu CD55, pričom expresia CD20 zostáva stabilná. Rituximab má aj nezávislý mechanizmus od cytotoxického pôsobenia – indukuje **apoptózu** aktiváciou kaspázy-3, -9 (mitochondriálna) a PARP (poly-ADP-riboza polymeráza) a nepriamo cez ovplyvnenie rodiny Bcl-2 proteínu (25) (tabuľka 4). Klinický význam vakcinačného účinku zostáva nejasný.

Rituximab je po intravenóznom podaní veľmi dobre tolerovaný a najčastejšie pozorované nežiaduce účinky sú spojené s infúziou rituximabu (infusion-related reaction; IRR) s najvyššou incidenciou pri prvom podaní (> 50 % reakcií) a následne klesajú. Reakcie sa objavujú do 30 – 120 minút po začatí infúzie a miznú po zastavení infúzie (u nás odporúčame vždy podpornú liečbu, nielen pri G3-4). Podanie vhodnej premedikácie (antipyretikum, antihistaminikum v kombinácii aj s kortikoidom) a dodržanie postupu aplikácie po rokoch používania redukovali riziko na minimum a aj v najnovších štúdiách je výskyt IRR G3-4 len okolo 4 % (50). Len veľmi vzácné sa pri podaní rituximabu vyskytuje ťažký syndróm z uvoľnenia cytokínov spojený s ťažkou dýchavičnosťou, bronchospazmom a hypoxémiou.

Prvé správy o rituximabe publikované koncom 90. rokov a na prelome tisícročia neboli úplne priaznivé (McLaughlin et al. 1997, Hainsworth et al. 2003), lebo rituximab bol podávaný podľa „lymfómovej schémy“ (4 dávky 375 mg/m² v monoterapii) a ani eskalácia dávky **v monoterapii** (O'Brien et al. 2001) neprinesla dlhšie trvajúcu odpoveď. Až kombinovanie rituximabu s fludarabínom alebo **s fludarabínom a cyklofosfamidom (FC)** znamenalo zmenu v logistike liečby CLL. Následne publikovali veľmi perspektívne výsledky štúdií fáz II autori z CALGB 9712 (26) **kombinácie fludarabín a rituximab (FR sekvenčne alebo súčasne) a kombinácie fludarabín, cyklofosfamid a rituximab (FCR)** autori z M. D. Anderson Cancer Center (MDACC) (28), neskôr aktualizácia (29) nielen v 1. línii, ale aj pri relabovanej/refraktérnej CLL (30) (tabuľka 5).

Hallekom et al. (2) publikovaná registračná **medzinárodná multicentrická štúdia CLL 8 fázy III porovnávajúca kombináciu FC s rituximabom** (n = 817) potvrdila, že pridanie rituximabu k dovtedy v 1. línii používanej terapeutickú schému FC zlepšuje prirodzený vývoj CLL u „fit“ pacientov, pričom signifikantne zlepšuje PFS aj OS. Už po troch rokoch od randomizácie sa prejavila signifikantne vyššia pravdepodobnosť

Tabuľka 4. Mechanizmus účinku monoklonových protilátok

Typ	Mechanizmus pôsobenia po naviazaní na CLL bunku
Bunková cytotoxicita závislá od protilátok (ADCC: antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity)	Spojením Fc časti protilátky s FcγRIIIa efektorových buniek (NK buniek, neutrofilov, monocytov, makrofágov, dendritických buniek) dochádza k indukcii fagocytózy alebo k uvoľneniu cytotoxických granúl (perforíny a granzýmy)
Bunková cytotoxicita závislá od komplementu (CDC: complement-dependent cytotoxicity)	Schopnosť Fc časti protilátky viazať C1q zložku komplementu a aktivovať jeho proteolytickú kaskádu, ktorá spustí cytolyzu nádorovej bunky sama alebo opsonizáciu v spolupráci s efektorovými bunkami
Priama indukcia apoptózy	Spustenie kaskády intracelulárnej signalizácie a zníženie funkcie anti-apoptotických bunkových faktorov
Skřížená prezentácia antigénov nádorových buniek spojená s vakcinačným efektom	Indukcia antigén-špecifických T-lymfocytov s protinádorovým pôsobením pomocou antigén-prezentujúcich buniek: → po deštrukcii CLL buniek spracujú debris → expanzia cytotoxických T-lymfocytov

Tabuľka 5. Liečba 1. línie CLL

Štúdia	režim	ORR	CR	Med PFS	Med OS	prežívanie
CALGB 9712 Byrd et al. (26) Woyach et al. (27)	FR sekvenčne alebo súčasne	84% (77 % – 90 %) n = 104	38 % (28 % – 47 %)	42 mes	85 mes	5 rokov 71 % (27 % bez progresie)
Keating et al. (28) Tam et al. (29)	FCR	95 % n = 224	72 %	80 mes	NA	6 rokov 77 % (51 % bez progresie)
Hallek et al. (31)	FCR	95 %	52 %	52 mes	NA	3 roky 87 % (66 % bez progresie)

Tabuľka 6. Štúdia CLL 10: FCR verus BR v 1.línii CLL

Odpovede, %	FCR (n = 274)	BR (n = 273)	p-hodnota
ORR	97,8	97,8	1,0
CR	47,4	38,1	0,031
Dostupné MRD údaje	n = 185	n = 170	
MRD-negativita periférnej krvi pri záverečnom stagingu	74,1	62,9	0,024

OS v ramene s FCR (87 % vs. 83 %; p = 0,012) a navyše sa zvýšilo OS v štádiu Binet B a pacientov s nemutovaným stavom génu pre IgV_H. Prekvapením bola najmä v skupine pacientov s del11q, ktorí boli v minulosti považovaní za vysokorizikových, pričom práve u nich pridanie rituximabu veľmi dramaticky mení ich prognózu. CLL8 taktiež potvrdila, že MRD v periférnej krvi na úrovni 10⁻⁴, ktorú už dnes dokážeme detegovať štandardne prietokovou cytometriou, je prediktorom zlepšenia PFS u všetkých pacientov. Režim FCR bol spojený s častejšou neutropéniou, ale počet ťažkých infekcií alebo úmrtí bol v oboch ramenách porovnateľný (31). CLL 8 etablovala režim FCR ako štandardnú liečbu 1. línie u pacientov v dobrom výkonnostnom stave alebo minimálnou komorbiditou.

Rakúska skupina v malej (n = 32) retrospektívnej analýze vyslovila predpoklad korelácie používania G-CSF pri režime FCR so zlepšením celkového prežívania v 24. mesiaci (ORR 94 % vs. 75 %, p = 0,144; PFS 100 % vs. 35,4 % v 24 m, p < 0,001; OS 100 % vs. 77,8 % v 24 m, p = 0,022) (32).

Nemecká skupina publikovala na ASH 2013 aj **výsledky multicentrickej štúdie CLL 10 – priame porovnanie FCR verus BR (ben-damustín + rituximab) u nepredliečených pacientov**. Medián PFS nebol dosiahnutý v ramene s FCR, ale v ramene BR je 44,9 mesiaca (p = 0,041). Po realizácii analýz podskupín podľa veku sa však vyskytlo nasledovné: u pacientov < 65-ročných je signifikantný rozdiel v mediáne PFS medzi liečebnými ramenami – pri režime FCR nebol dosiahnutý vs. BR 38,5 mesiaca (p = 0,016). Tento rozdiel nie je pozorovaný u starších pacientov: FCR 45,6 mesiaca vs. BR nedosiahnutý (p = 0,757). Dvojročné celkové prežívanie je zatiaľ rovnaké 94,2 % FCR vs. 95,8 % BR (p = 0,593). Režim BR nedokázal non-inferioritu v porovnaní s FCR v 1. línii liečby „fit“ CLL pacientov, ale režim FCR sa ukazuje ako oveľa efektívnejší v tejto skupine ako režim BR pri porovnaní odpovedí, PFS a EFS. Na základe týchto predbežných analýz zostáva FCR stále zlatým štandardom liečby „fit“ pacientov vhodných na fludarabín (33) (tabuľka 6).

Tabuľka 7. Porovnanie efektivity kombinácie rituximab a chlorambucil v porovnaní s chlorambucilom samotným

Štúdia	n	odpovede		
		CR	OR	SD/PD
Chlorambucil + rituximab (Foa)	54 (z 98)	16,7 %	81,4 %	7,4 %
Chlorambucil + rituximab (Hillmen) (36)	100	12 (12 %)	80 (80 %)	17 (17 %)
Chlorambucil monoterapia (UK CLL4)	200	12 (6 %)	132 (66 %)	60 (30 %)

Aj keď väčšina v minulosti uskutočnených klinických štúdií potvrdila vhodnosť použitia fludarabínu v 1. línii, **klinické štúdie niekedy neodrážajú realitu praxe**. Príkladom je výber príliš mladých pacientov. CLL je ochorenie vyššieho veku, lebo ľudia vo veku > 65 rokov tvoria takmer 75 % všetkých pacientov s touto diagnózou. V praxi sa stretávame s mnohými pacientmi, u ktorých použitie fludarabínu nie je vhodné, ako napríklad pacienti s autoimunitnými komplikáciami, oportúnnymi infekciami, pacienti s renálnou insuficienciou, niektorí refraktérni na liečbu FC alebo starší pacienti s komorbidity. Jednou z možností ich liečby je napríklad **bendamustín**, látka s duálnym mechanizmom účinku, ktorá spája efekt alkylátorov a purínových analógov, avšak bez skríženej rezistencie a s veľmi nízkou toxicitou. Bendamustín pôsobí synergicky s rituximabom. Ošetrojúci lekári by mali vziať do úvahy všetky okolnosti, ako je vek pacienta a jeho komorbidity, pri relapse predchádzajúca terapia, odpoveď na liečbu a jej trvanie od poslednej terapie, biologické vlastnosti v čase relapsu, ale aj rozhodnutie samotného pacienta a jeho individuálny cieľ.

Nemecká skupina (GCLLSG – German CLL study group) kombinovala **v multicentrickej fáze II rituximab s bendamustínom** (90 mg/m² D 1, 2) u 117 nepredliečených pacientov sledujúc aj efektívitu a aj toxicitu režimu, pričom 50 % pacientov bolo starších ako 65 rokov, 25 % starších ako 75 rokov. Celkovo bolo dosiahnutých ORR 88 %, CR 23,1 %, PR 65%, s mediánom sledovania 27 mesiacov je medián event-free survival 34 mesiacov a 91 % pacientov je nažive (34, 35). Ťažké infekcie G3-4 sa vyskytli u 7,7 % pacientov a neutropénia, trombocytopenia, anémia G3-4 u 19,7 %, 22,2 % a 19,7 % pacientov.

Rituximab môžeme úspešne kombinovať nielen s bendamustínom, ale aj **s chlorambucilom**, ktorý je všeobecne považovaný za dobre tolerovaný liek u pacientov s komorbidity. Poslednú analýzu multicentrickej štúdie fázy II **rituximab plus chlorambucil** publikoval kolektív autorov v apríli 2014 (prvé výsledky 2009) u nepredliečených pacientov s komorbidity (36). Pacienti boli liečení štandardnou dávkou rituximabu s chlorambucilom 10 mg/m² D 1

– 76 cyklov, v prípade nedosiahnutia CR sa ešte pokračovalo 6 cyklami chlorambucilom samotným (tabuľka 7). Primárnym cieľom štúdie bola bezpečnosť. Liečených bolo 100 pacientov s mediánom sledovania 30 mesiacov. Medián veku pacientov bol 70 rokov (43 – 86 rokov) s mediánom 7 komorbidít. Celková odpoveď bola 84 % a 10 % pacientov dosiahlo CR, 74 % PR; žiadny z pacientov nedosiahol MRD negatívnu CR. Medián PFS bol 23,5 mesiaca, medián OS nebol dosiahnutý. Dominovala hematologická toxicita s 41 % výskytom neutropénie G3-4. Výsledky štúdie potvrdili predpoklad zlepšenia efektivity chlorambucilu v kombinácii s monoklonovou protilátkou bez nárastu výskytu neočakávaných nežiaducich účinkov.

Priama porovnávací štúdia **BR vs. Clb prebieha v 1. a 2. línii CLL (fáza IIIb štúdie – MaBLE štúdia)**. Zatiaľ bola publikovaná len predbežná analýza na ASH 2012 (tabuľka 8) (37).

Prvé väčšie skúsenosti s kombinovanou imunochemoterapiou na báze rituximabu a FC pri relapse publikovali znova autori z MDACC (ORR 73 %, CR 25 %) (30).

Do multicentrickej štúdie fázy III REACH, ktorá porovnávala režim R-FC (rituximab + fludarabín + cyklofosfamid) a FC (fludarabín + cyklofosfamid), boli zaradení pacienti **s relapsom CLL alebo CLL refraktérnou** na primárnu liečbu (n = 552) z 88 centier (38). Podmienkou zaradenia bolo absolvovanie prvej línie liečby bez toho, aby sa v prvej línii použila monoklonová protilátka. Pacienti boli randomizovane rozdelení do oboch ramien tak, že boli veľmi dobre vyvážené, čo sa týka veku, pohlavia, zastúpenia štádií, PS, mediánu klírensu kreatinínu a aj prognostických faktorov (IgV_H mutovaný/nemutovaný, ZAP-70 pozitívny/negatívny, 13 q-, 11q-, trizómia 12, 17p-, normálny karyotyp). Pôvodne sa očakávalo, že frekvencia neutropénií a febrilných neutropénií bude vyššia v ramene s rituximabom v dôsledku jeho imunomodulačných účinkov, ale toto sa nakoniec nepotvrdilo. V ramene FC aj v ramene R-FC bol výskyt neutropénie porovnateľný (40 vs. 42 prípadov) a podobný bol aj výskyt febrilnej neutropénie (12 vs. 15 prípadov). Výskyt ostatných nežiaducich účinkov bol takisto porovnateľný. Výnimkou boli len dva

Tabuľka 8. Porovnanie režimov BR a R-chlorambucil

Odpovede (%)	BR	Clb-R	p
ORR	88	81	0,404
1. línia	88	80	–
2. línia	89	83	–
CR	24	10	0,033
1. línia	30	13	0,054
2. línia	11	4	0,413

prípady hepatitídy B v ramene R-FC, ale v oboch prípadoch bola táto infekcia pravdepodobne získaná ešte pred štúdiou.

Celková odpoveď na liečbu relapsu CLL bola významne vyššia v ramene R-FC (70 % vs. 58 %, p = 0,0034) a v ramene s rituximabom v kombinácii sa tiež dosiahli častejšie CR (24 % vs. 13 %, p = 0,0007), aj keď podiel CR bol u týchto pacientov nižší ako v iných štúdiách. Kombinácia R-FC predĺžila aj PFS, a to v priemere o 10 mesiacov v porovnaní s FC (p = 0,0002). Výsledky analýz ukázali, že pacienti s výrazne horšou prognózou (ZAP-70 pozitívni, IgV_H nemutovaní) profitujú z pridania rituximabu do liečby relapsu významne viac ako ZAP-70 negatívni/IgV_H mutovaní. Z pridania rituximabu významne profitovali aj pacienti s del13q (p < 0,0002) a del11q (p < 0,0022). Prežívanie skupiny pacientov s del11q sa dokonca zlepšilo do takej miery, že je v súčasnosti porovnateľné s prežívaním pri trizómii 12, del13q alebo pri normálnom karyotype (ako aj v CLL 8).

Pri mediáne sledovania 25,3 mesiaca sa v štúdiu REACH v ramene R-FC nedosiahol medián OS a v ramene FC bol medián OS 51,9 mesiaca. Výsledky boli konzistentné aj v jednotlivých podskupinách, týkali sa aj vysokorizikových skupín (Binet C, 11q-, nemutovaný IgV_H ZAP-70 pozitívita) a v sekundárnych cieľoch (39).

V súčasnosti prebiehajú u starších pacientov s relabovanou/refraktérnou CLL aj štúdie s kombináciou rituximab a bendamustín. Nemecká štúdia **GCLLSG CLL2M** (40, 41), ktorá sledovala efektívnosť a bezpečnostný profil **kombinácie rituximab + bendamustín**, je prvá štúdia, ktorá dokazuje, že táto kombinácia v liečbe relapsu CLL je vysokoefektívna v počte dosiahnutých odpovedí (n = 78, ORR 59 %, CR 9 %, PR 50 %) a má tolerovateľnú mieru nežiaducich účinkov vrátane infekcií aj v kombinácii s rituximabom (G3-4 neutropénia sa vyskytla u 23,1 %, trombocytopenia u 28,2 %, anémia u 16,6 %, infekcie u 12,8 %, mortalita v súvislosti s liečbou u 3,7 %).

So sledovaním súboru 24 mesiacov bol medián event-free survival 14,7 mesiaca, medián PFS 15,2 mesiaca, medián OS 33,9 mesiaca. Zaujímavé je, že v tejto štúdií odpovedali na liečbu aj niektorí pacienti, ktorí neboli pri predchádzajúcej liečbe senzitívni na fludarabín (ORR 45,5 %). Podľa analýzy mutačného stavu sa zdá, že istý stupeň odpovede je prítomný aj pri nemutovanom stave IgV_H (ORR 58,7 %) a pri vysokorizikových genomických aberáciách, ako je napríklad del11q (ORR 92,3%) a del17p (ORR 7,1 %) (41).

Zaujímavá je z hľadiska biológie aj **kom-binácia rituximabu s vysokodávkovaným metylprednizolónom (rituximab + HDMP 1 g/m²/deň x 5)**. Kortikoidy, ako sme už spomínali, indukujú apoptózu nezávisle od p53 a autori podávali aj rituximab vo vyššej dávke 375 mg/m² v deň 1, 3, 5, 8, 17, 22 v 1. cykle a v deň 1, 7, 14, 21 v 2. a 3. cykle. Táto kombinovaná liečba sa aplikovala v skupine pacientov s vysokorefraktérnym ochorením: všetci pacienti (n = 14) boli refraktérni na fludarabín a 86 % malo vysoké riziko (Rai štádium III/IV). Napriek vysokorefraktérnemu ochoreniu boli nasledovné odpovede: ORR 93 %, CR 36 % a medián TTP bol 15 mesiacov (42). Tolerancia liečby bola veľmi dobrá, ide však o veľmi malý súbor a táto kombinácia je stále predmetom štúdií.

Imunochemoterapia (CIT) postavená na rituximabe je dnes základným ťažiskom liečby CLL v 1. línii aj pri neskorom relapse a v porovnaní s chemoterapiou prináša významný benefit vrátane predĺženého prežívania. Rituximab je **indikovaný aj v liečbe autoimunitných komplikácií** pri CLL po zlyhaní kortikoterapie. Veľmi sľubné sú predbežné údaje z klinických štúdií z udržiavacej liečby rituximabom. Randomizovaná multicentrická štúdia fáza III Mabtenance prebieha aj v slovenských centrách.

Ofatumumab

Ofatumumab je plne humanizovaná IgG1k anti CD20 monoklonová protilátka typu I s väzbou na malú aj veľkú kľučku CD20 epitopu. Viaz sa na iný epitop ako rituximab s vysokou afinitou a pevnejšie s pomalou disociáciou s polčasom 180 minút. Spôsob väzby sa prejavuje významným zosilnením CDC aktivity v porovnaní s rituximabom, ktorá je nezávislá od hustoty CD20 a expresie molekúl regulujúcich komplement. ADCC aktivita je porovnateľná, ale na rozdiel od rituximabu ofatumumab neindukuje priamu apoptózu B-bunkových línii *in vitro* (43, 47).

Medzinárodná randomizovaná štúdia fázy II (45) s touto monoklonovou protilátkou prebiehala na dvoch skupinách pacientov **s relabova-**

nou/refraktérnou CLL: „double-refractory“ (DR – refraktérni na alemtuzumab aj fludarabín, n = 59) a **„bulky-fludarabine-refractory“** (BFR – pacienti nevhodní na liečbu alemtuzumabom z dôvodu objemnej choroby („bulky“) LU > 5 cm, n = 79), ktorí boli predliečení a s vysokým rizikom infekčných komplikácií (44, 45). Celkovo dostali 8 dávok ofatumumabu každý týždeň, po ktorých nasledovali ešte štyri dávky v mesačných intervaloch. Efektivita v prvej skupine bola ORR 58 %, PR 58 %, SD 31 %, medián PFS 5,7 mesiaca a OS 13,7 mesiaca; v druhej skupine sa dosiahla ORR 47 %, PR 46 %, SD 41 %, medián PFS 5,9 mesiaca a OS 15,4 mesiaca. Nežiaduce účinky (infekcie, neutropénia) boli podobné ako pri iných režimoch. Ofatumumab sa ukázal ako účinný u ťažko predliečených pacientov, pričom efekt liečby je nezávislý od veku pacienta, štádia, počtu a zloženia liečebného režimu (45). Liek bol registrovaný od apríla 2010 EMA na liečbu refraktérnej CLL.

Pacienti s komorbiditou a nevhodní na fludarabín boli liečení v multicentrickej medzinárodnej štúdií fázy III (Complement 1, n = 447) v dvoch ramenách **s ofatumumabom s chlorambucilom alebo bez neho** (ofatumumab cyklus 1 D 1 300 mg, D 8 1 000 mg, od 2. cyklu D 1 1 000 mg; chlorambucil 10 mg/m² D 1 – 7, NCD 29). Výsledky v kombinovanom ramene s ofatumumabom boli signifikantne lepšie v porovnaní s monoterapiou chlorambucilom samotným: ORR 82 % vs. 69 %, CR 14 % vs. 1 %, MRD negativita 12 % v ramene O-Clb, medián PFS 22,4 vs. 13,1 mesiaca. Nežiaduce účinky G3-4 boli neutropénia 26 % vs. 14 %, infekcie 14 % vs. 15 % a IRR 10 % vs. NA. S mediánom sledovania 29 mesiacov nebol dosiahnutý medián OS ani v jednom ramene (údaje sú zatiaľ publikované ako abstrakt) (46).

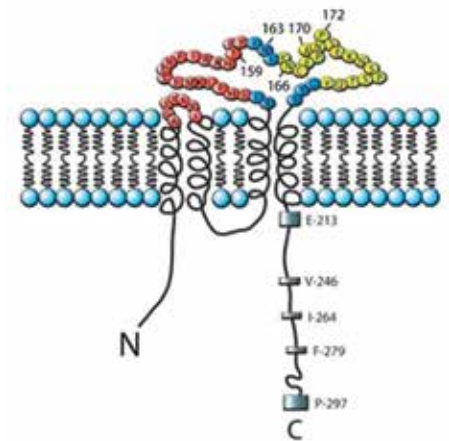
Očakávame aj publikovanie dlhodobějších výsledkov štúdií kombinácie ofatumumab a bendamustín.

Ofatumumab má miesto v liečbe refraktérnej CLL a od júla je registrovaný EMA v kombinácii **s chlorambucilom alebo bendamustínom u nepredliečených starších pacientov s komorbiditou nevhodných na fludarabín.**

Obinutuzumab

Obinutuzumab (GA101) je prvá, genetickým inžinierstvom glykolyzovaná, úplne humanizovaná IgG1 anti-CD20 monoklonová protilátka s vysokou afinitou k epitopu typu II na extracelulárnej kľučke CD20 s potencovanou priamou indukciou apoptózy, ale redukovanou komplement-dependentnou cytotoxicitou (CDC) (48).

Obrázok 3. Váznobné epitopy pre ofatumumab (červený) a rituximab (žltý)



V predklinických štúdiách porovnávajúcich obinutuzumab s rituximabom, obinutuzumab preukázal zvýšenú indukciu priamej smrti bunky, vyššiu ADCC, zníženú mieru od komplementu závislej cytotoxicity. Je dokázaný rozdielny mechanizmus účinku medzi rituximabom a obinutuzumabom napriek tomu, že atakujú ten istý antigén a majú prekrývajúce sa epitopy. Molekulové odlišnosti medzi typom I a typom II protilátky a spôsob väzby na epitop vedú k iným funkčným vlastnostiam. Znížením množstva fukózy v oblasti Fc regiónu vzrastá afinita k rôznym allotypom FcγRIIIa efektorových buniek (NK buniek, monocytov, makrofágov, dendritických buniek), a tak konzekventne vzrastá od protilátok závislá cytotoxicita (ADCC). Modifikácia substitúcie aminokyselín v oblasti Fab regiónu a rozoznávanie CD20 typu II epitopu vedie k vyššej potencii GA 101 indukovať priamu bunkovú smrť cez kaspázy nezávislý, neapoptický, lyzozomálny mechanizmus nasledovne: interakcia protilátka-antigén spúšťa reorganizáciu **aktínu** a membrána lyzozómov sa stáva permeabilnou a uvoľňuje lyzozomálne proteázy do cytozolu. Tam vrcholí generovanie voľných radikálov NADPH oxidázami, čoho výsledkom je nakoniec strata integrity plazmatickej membrány a **ne-apoptická – cytoplazmatická bunková smrť**. Redukovaná CDC súvisí aj **s iným rozoznávaním CD20 epitopu a s chýbaním presunu komplexov do lipidovej kryhy (signálna doména) po naviazaní protilátky na CD20.**

Typ II anti-CD20 protilátky je viacej efektívny ako typ I v deplícii ľudských CD20+ B-buniek, aj keď obidve aktivujú FcR-exprimujúce makrofágy. Sekundárne rozdiely charakteristické pre typ I-mediovanú internalizáciu CD20 B-lymfocytmi vedú k redukovanej aktivite makrofágov a degradácii komplexu CD20-protilátky **a skracujú**

Tabuľka 9. Porovnanie kombinovanej liečby s monoklonovou protilátkou vs. chlorambucil samotný

	Štádium Ia		Štádium Ib	
	Clb (n = 118)	G-Clb (n = 238)	Clb (n = 118)	R-Clb (n = 233)
Medián času observácie, mesiace	20,4	23,2	20,4	23,2
Účinnosť				
ORR, %	31,4	77,3	31,4	65,7
CR, %	0	22,3	0	7,3
Medián PFS, mesiace	11,1	26,7	11,1	16,3
Hazard ratio pre PFS (95 % CI)	0,18 (0,13 – 0,24)		0,44 (0,344 – 0,57)	
MRD-negativita				
Krv	0	26,8	0,82 (0 %)	3/150 (2 %)
Kostná dreň	0	26,8	0,32 (0 %)	2/72 (3 %)

Tabuľka 10. Liečebné odpovede vo fáze II

Odpoveď	Pacienti, (%)	
	R-Clb (n = 329)	G-Clb (n = 333)
ORR	65	78
	p < 0,0001	
CR	7	21
PR	58	58
SD	15	5
PD	11	4
Nehodnotiteľné	9	13

tak počas protilátky (rýchla internalizácia pozorovaná pri CLL a MCL, ale nie pri FL a DLBCL; strata povrchového CD20) (47, 48, 49).

Štúdiá CLL 11 je otvorené, multicentrické, randomizované klinické skúšanie fázy III s tromi ramenami porovnávajúce účinnosť a bezpečnosť obinutuzumabu (GA101) + chlorambucilu (G-Clb), rituximabu + chlorambucilu (R-Clb) alebo chlorambucilu samotného (Clb) u 781 nepredliečených komorbídnych pacientov s chronickou lymfocytovou leukémiou (50). Dizajn štúdie CLL11 bol postavený na realite dennej praxe s vysokým počtom starších pacientov a komorbiditou („non-fit“) a na fakte, že v tejto populácii pacientov nebol úplne presne definovaný štandardný postup liečby. Cieľom bolo dokázať, že u CLL pacientov s komorbiditou je chlorambucil plus anti-CD20 protilátka lepšia ako monoterapia chlorambucilom a že obinutuzumab plus Clb je lepšia alternatíva ako rituximab plus Clb. Primárnym cieľom bolo PFS. Dávkovanie chlorambucilu bolo 0,5 mg/kg D 1 a 15. cyklu; rituximabu 375 mg/m² D 1 1. cyklu, eskalácia od 2. cyklu 500 mg/m²; obinutuzumabu 1 000 mg D 1 + 2 (rozdelená dávka 100 + 900 mg), D 8, D 15 1. cyklu, od 2. cyklu 1 000 mg D 1, všetky lieky celkovo 6 cyklov, NC D 29. Pacienti s progresiou ochorenia v ramene s Clb mali dovolený cross-over do ramena G-Chl.

Liečebné ramená boli dobre vyvážené. Ako ukázali fáza Ia a Ib štúdie, výsledky boli jednoznačne lepšie v prospech kombinovanej liečby s monoklonovou protilátkou (tabuľka 9) týkalo sa to nielen mediánu PFS a odpovedí, ale aj významnej miery dosiahnutia MRD negativity.

Fáza II štúdie je analýzou priameho porovnania dvoch monoklonových protilátok v kombinácii s chlorambucilom. Liečba G-Clb priniesla 61 % redukciu rizika progresie alebo úmrtia v porovnaní s R-Clb (HR 0,39; 95 % CI: 0,31 – 0,49; p < 0,0001), benefit v prežívaní bez progresie 11,5 mesiaca (PFS 26,7 mes vs. 15,2 mes), výsledky z analýz jednotlivých podskupín potvrdili výsledky primárnej analýzy PFS. MRD-negativita bola potvrdená u 38 % (v krvi) a 20 % (v kostnej dreni) pacientov v ramene G-Clb v porovnaní s 3 % pacientov v ramene R-Clb (v krvi a kostnej dreni). Údaje celkového prežívania ešte nie sú dostatočné, pri doterajšej dĺžke sledovania nebol preukázaný rozdiel medzi ramenami G-Clb a R-Clb (HR 0,66; 95 % CI 0,41 – 1,06; p = 0,0872). G-Clb má akceptovateľný bezpečnostný profil bez zistenia nových skutočností v porovnaní s R-Clb a IRR boli najčastejšie sa vyskytujúcim NÚ (66 % všetky stupne; 20 % stupne 3. – 4.) (tabuľka 10) (50).

Obinutuzumab bol registrovaný EMA v júli 2014 na liečbu CLL u nepredliečených starších pacientov s komorbiditou v kombinácii s chlorambucilom.

Záver

Pohľad na CLL a je liečbu sa dramaticky zmenil. Nové monoklonové protilátky a prichádzajúca cieľová liečba pravdepodobne znova úplne zmení uhol pohľadu na túto biologickú entitu.

Literatúra

1. 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;23:2971–2979.

2. Hallek M, Fingerle-Rowson G, Fink AM, et al. Immunotherapy with Fludarabine (F), Cyclophosphamide (C), and Rituximab (R) (FCR) Versus Fludarabine and Cyclophosphamide (FC) Improves Response Rates and Progression-Free Survival (PFS) of Previously Untreated Patients (pts) with Advanced Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL). *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2008;112:Abstract 325.

3. Hallek M, Fingerle-Rowson G, Fink AM, et al. First-Line Treatment with Fludarabine (F), Cyclophosphamide (C), and Rituximab (R) (FCR) Improves Overall Survival (OS) in Previously Untreated Patients (pts) with Advanced Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL): Results of a Randomized Phase III Trial On Behalf of An International Group of Investigators and the German CLL Study Group. *Blood (ASH Annual Meeting-Abstracts)* 2009;114:Abstract 535.

4. Ambrose LR, Morel AS, Warrens AN, et al. Neutrophils express CD52 and exhibit complement-mediated lysis in the presence of alemtuzumab. *Blood.* 2009;114(14):3052–3055.

5. Osterborg A, Dyer MJ, Bunjes D, et al. Phase II multicenter study of human CD52 antibody in previously treated chronic lymphocytic leukemia. European Study Group of CAMPATH-1H Treatment in Chronic Lymphocytic Leukemia. *J Clin Oncol.* 1997;15:1567–1574.

6. Rai KR, Freter CE, Mercier RJ, et al. Alemtuzumab in previously treated chronic lymphocytic leukemia patients who also received fludarabine. *J Clin Oncol.* 2002;20:3891–3897.

7. Keating MJ, 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;99:3554–3561.

8. Stilgenbauer S, Dohner H: Campath-1H induced complete remission of chronic lymphocytic leukemia despite p53 gene mutation and resistance to chemotherapy. *N Engl J Med.* 2002;347:452–453.

9. Lozanski G, Heerema NA, Flinn IW, et al. Alemtuzumab is an effective therapy for chronic lymphocytic leukemia with p53 mutations and deletions. *Blood.* 2004;103:3278–3281.

10. Hillmen P, Skotnicki AB, Robak T, et al. Alemtuzumab compared with chlorambucil as first-line therapy for chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol.* 2007;25(35):5616–5623.

11. Lundin J, Kimby E, Bjorkholm, et al. Phase II trial of subcutaneous anti-CD52 monoclonal antibody alemtuzumab (Campath-1H) as first-line treatment for patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL). *Blood.* 2002;100:768–773.

12. 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.

13. Pettitt AR, Jackson R, Caruthers S, et al: Alemtuzumab in Combination with Methylprednisolone is a Highly Effective Induction Regimen for Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia and Deletion of TP53: Final Results of the National Cancer Research Institute CLL206 Trial. *J Clin Oncol.* 2012; 30:1647–1655.

14. Stilgenbauer S, Cymbalista F, Leblond V, et al: Subcutaneous alemtuzumab combined with oral dexamethazone, followed by alemtuzumab maintenance or allo-SCT in CLL with 17p- or refractory to fludarabine – interim analysis of the CLL20 trial of the GCLLSG and FCGCLL/MW. *Blood.* 2010;116(abstract 920).

15. 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;23:7024–7031.

16. Tsimberidou AM, Wierda WG, Plunkett W, et al: Phase II-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;26:196–203.

17. Wierda WG, O'Brien S, Ferrajoli A, et al. Salvage therapy with combined cyclophosphamide (C), fludarabine (F), alemtuzumab (A), and rituximab (R) (CFAR) for heavily pre-treated patients with CLL. *Blood*. 2005;106:(Abstract 719).
18. Wierda WG, O'Brien S, Ferrajoli A, et al. Combined Cyclophosphamide, Fludarabine, Alemtuzumab, and Rituximab (CFAR), an Active Front line Regimen for High-Risk Patients with CLL. *Blood*. 2007;110: (Abstract 628).
19. Montillo M, Tedeschi A, Miquelisz S, et al. Alemtuzumab as consolidation after a response to fludarabine is effective in purging residual disease in patients with chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2006;24:2337–2342.
20. Wendtner CM, Ritgen M, Schweighofer CD, et al: Consolidation with alemtuzumab in patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL) in first remission: Experience on safety and efficacy within a randomized multicenter phase III trial of the German CLL Study Group (GCLLSG). *Leukaemia*. 2004;18:1093–1101.
21. Lin TS, Donohue KA, Lucas MS, et al. Consolidation Therapy with Subcutaneous (SC) Alemtuzumab Results in Severe Infectious Toxicity in Previously Untreated CLL Patients Who Achieve a Complete Response (CR) after Fludarabine and Rituximab (FR) Induction Therapy: Interim Safety Analysis of the CALGB Study 10101. *Blood*. 2007;110: (Abstract 755).
22. Schweighofer CD, Ritgen M, Eichhorst BF, et al. Consolidation with alemtuzumab improves progression-free survival in patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL) in first remission – long-term follow-up of a randomized phase III trial of the German CLL Study Group. *Br J Haematol*. 2009;144:95–98.
23. Huh YO, Keating MJ, Saffer HL, et al. Higher Levels of Surface CD20 Expression on Circulating Lymphocytes Compared with Bone Marrow and Lymph Nodes in B-Cell Chronic Lymphocytic Leukemia. *Am J Clin Pathol*. 2001;116:437–443.
24. Ginaldi L, De Martinis M, Matutes E, et al. Levels of expression of CD 19 and CD20 in chronic B cell leukaemias. *J Clin Pathol*. 1998;51:364–369.
25. Golay J, Zaffaroni L, Vaccari T, et al. Biologic response of B lymphoma cells to anti-CD20 monoclonal antibody rituximab in vitro: CD55 and CD59 regulate complement-mediated cell lysis. *Blood*. 2000; 95:3900–3908.
26. Byrd JC, Rai K, Peterson BL, et al. Addition of rituximab to fludarabine may prolong progression-free survival and overall survival in patients with previously untreated chronic lymphocytic leukemia: a nupdated retrospective comparative analysis of CALGB 9712 and CALGB 9011. *Blood*. 2005;105:49–53.
27. Woyach JA, Ruppert AS, Heerema NA, et al. Chemoimmunotherapy With Fludarabine and Rituximab Produces Extended Overall Survival and Progression-Free Survival in Chronic Lymphocytic Leukemia: Long-Term Follow-Up of CALGB Study 9712. *J Clin Oncol*. 2011;29:1349–1355.
28. Keating MJ, O'Brien S, Albitar M, et al. Early results of a chemoimmunotherapy regimen of fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab as initial therapy for chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2005;23:4079–4088.
29. Tam CS, O'Brien S, Wierda W, et al. Long-term results of the fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab regimen as initial therapy of chronic lymphocytic leukaemia. *Blood*. 2008;112:975–980.
30. Wierda W, O'Brien S, Wen S, et al. Chemoimmunotherapy with Fludarabine, Cyclophosphamide, and Rituximab for Relapsed and Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia. *J Clin Oncol*. 2005;23:4070–4078.
31. Hallek M, Fischer K, Fingerle-Rowson, et al. Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomized, open-label, phase 3 trial. *Lancet*. 2010;376:1164–1174.
32. Gruber M, Fleiss K, Porpacz E, et al. Prolonged progression-free survival in patients with chronic lymphocytic leukemia receiving granulocyte colony-stimulating factor during treatment with fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab. *Ann Hematol*. 2011; 90: 1131-1136.
33. Eichhorst B, et al. Chemoimmunotherapy with fludarabine (F), cyclophosphamide (C), and rituximab (R) (FCR) versus bendamustine and rituximab (BR) in previously untreated and physically fit patients (pts) with advanced chronic lymphocytic leukemia (CLL): Results of a planned interim analysis of the CLL10 trial, an international, randomized study of the German CLL Study Group (GCLLSG). *ASH 2013; Abstract 526 (oral)*.
34. Fischer K, Cramer P, Stilgenbauer S, et al. Bendamustine Combined with Rituximab (BR) in First-Line Therapy of Advanced CLL: A Multicenter Phase II Trial of the German CLL Study Group (GCLLSG). *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2009;114: Abstract 205.
35. Fischer K, Cramer P, Busch R, et al. Bendamustine in Combination with Rituximab for previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia: A Multicenter Phase II Trial of the German CLL Study Group. *J Clin Oncol*. 2012;30:3209–3216.
36. Hillmen P, Gribben JG, Follows GA, et al. Rituximab Plus Chlorambucil As First-Line Treatment for Chronic Lymphocytic Leukemia: Final Analysis of an Open-Label Phase II Study. *J Clin Oncol*. 2014;32:1236–1241.
37. Leblond V, Laribi K, Ilhan O, et al. Rituximab in Combination with Bendamustine or Chlorambucil for Treating Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia: Interim Results of a Phase IIIb Study (MaBLE). *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2012 120: Abstract 2744.
38. Robak T, Moiseev SI, Dmoszynska A, et al. Rituximab, Fludarabine, and Cyclophosphamide (R-FC) Prolongs Progression Free Survival in Relapsed or Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) Compared with FC Alone: Final Results from the International Randomized Phase III REACH Trial. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2008;112: Abstract 1.
39. Robak T, Dmoszynska A, Solal-Céligny, et al. Rituximab Plus Fludarabine and Cyclophosphamide Prolongs Progression Free Survival Compared with Fludarabine and Cyclophosphamide Alone in Previously Treated Chronic Lymphocytic Leukemia. *J Clin Oncol*. 2010;28:1–10.
40. Fischer K, Stilgenbauer S, Schweighofer CD, et al. Bendamustine in Combination with Rituximab (BR) for Patients with Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL): A Multicenter Phase II Trial of the German CLL Study Group (GCLLSG). *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2008 112: Abstract 330.
41. Fischer K, Cramer P, Busch R, et al. Bendamustine Combined With Rituximab in Patients with Relapsed and/or Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia: A Multicenter Phase II Trial of the German CLL Study Group. *J Clin Oncol*. 2011;29:3559–3566.
42. Castro JE, Sandoval-Sus JD, Bole J, et al. Rituximab in combination with high-dose methylprednisolone for the treatment of fludarabine refractory high-risk chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2008;22:2048–2053.
43. Cheson BD. Ofatumumab, a Novel anti-CD20 Monoclonal Antibody for the Treatment of B-Cell Malignancies. *J Clin Oncol*. 2010;28:3525–3530.
44. Wierda WG, Kipps TJ, Durig J, et al. Ofatumumab combined with fludarabine and cyclophosphamide (O-FC) shows high activity in patients with previously untreated chronic lymphocytic leukemia (CLL): results from a randomized, multicenter, international, two-dose, parallel group, Phase II trial. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2009;114: Abstract 1725.
45. Wierda WG, Kipps TJ, Mayer J, et al. Ofatumumab As Single-Agent CD20 Immunotherapy in Fludarabine-Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia. *J Clin Oncol*. 2010;28:1–10.
46. Hillmen P, Robak T, Janssens A, et al. Ofatumumab + Chlorambucil Versus Chlorambucil Alone In Patients With Untreated Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL): Results Of The Phase III Study Complement 1 (OMB110911) *Blood*. (ASH Annual Meeting Abstracts) 2013;122:528.
47. Klein Ch, Lammens A, Schafer W, et al. Epitope interactions of monoclonal antibodies targeting CD 20 and their relationship to functional properties. *Land Bioscience*. 2013;5(1):22–33.
48. Mössner E, Brunker P, Moser S, et al. Increasing the efficacy of CD20 antibody therapy through the engineering of a new type II anti-CD20 antibody with enhanced direct and immune effector cell-mediated B-cell cytotoxicity. *Blood*. 2010;115:4393–4402.
49. Beers SA, French RR, Claude Chan HT, et al. Antigenic modulation limits the efficacy of anti-CD20 antibodies: implications for antibody selection. *Blood*. 2010;115:5191–5201.
50. Goede V, Fischer K, Busch R, et al. Obinutuzumab plus Chlorambucil in Patients with CLL and Coexisting Conditions. *N Engl J Med*. 2014;370(12):1101–1110.

MUDr. Eva Mikušková

II. klinika klinickej onkológie LF UK
a SZÚ, Oddelenie klinickej hematológie
a transfuziológie – B, NOÚ
Klenová 1, 833 01 Bratislava
eva.mikuskova@nou.sk