

# Relapse-free survival in multiple myeloma patients after autologous transplantation of peripheral blood stem cells depending of the content of CD45+CD19+ B cells in the apheresis product

Irina V. Kruchkova, Svetlana A. Sizikova, Galina U. Ushakova, Vera V. Sergeevicheva, Darya S. Batorova, Egor V. Batorov, Natalya V. Pronkina, Andrey V. Gilevich, Elena R. Chernykh

Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia

Contact: Dr. Irina V. Kruchkova  
E-mail: bmt-novosibirsk@mail.ru

## Background

Currently 40% of autologous stem cell transplantation (auto-SCT) is performed for multiple myeloma (MM) patients, but so far there is no way the disease prognosis after auto-SCT having sufficiently high sensitivity and specificity.

## Objective

To explore the relative content of CD45 + CD19 + B-lymphocytes in separated product from the MM patients and to investigate a possible relationship between the number of these cells and disease-free survival after autologous SCT.

## Patients and Methods

The study included 17 patients with MM, who underwent high-dose chemotherapy with autologous SCT was performed over 2010-2012. The median age was 47 years (37-58 years). Mobilization of hematopoietic stem cells (HSC) was performed using high-dose cyclophosphamide (4 g/m<sup>2</sup>) followed by granulocyte colony-stimulating factor 5-10 mg/kg/day. Apheresis procedure was performed using a blood cell separator AS TEC 204 (Fresenius) and Spectra LRS 07 (COBE). At the time of auto-SCT, 6 patients were in complete remission, 9, in partial response and 2 had a resistant disease. Conditioning regimen included melphalan 140-200 mg/m<sup>2</sup>.  $5.6 \pm 0.6 \times 10^6$  CD34+ HSC/kg (2.6-13.9  $\times 10^6$  CCM/kg) were transplanted. CD45 + CD19 + B cell counts of in separation

product were assessed by flow cytometry (BD FACSCalibur). The data are presented as Me (min-max) or  $M \pm SE$ . Statistical analysis was performed using Statistica 6.0 (StatSoft). To assess significance of differences in continuous variables between independent groups of patients, we used a non-parametric U-Mann-Whitney (PU) test. To evaluate diagnostic values, we used ROC-analysis with calculation area under the curve (AUC). Survival analysis was carried out using the Kaplan-Meier method to estimate the reliability of log-rank-test.

## Results

Median observation period after auto-SCT was 44.1 months (4-67.2 months). Median survival was 38.3 months. There were no significant differences between the patients in remission (n=8) and relapse (n=9), in age (48 vs. 46.5 years;  $P_u = 0.74$ ), re-infused HSC number ( $4.8 \pm 0.5$  versus  $6.5 \pm 1.1 \times 10^6$ /kg  $P=0.23$ ), and disease status at the time of auto-SCT. Higher levels of CD45+CD19+ B cells in apheresis product were founded in MM patients with relapse ( $5.7 \pm 0.9$  vs  $2.9 \pm 0.9\%$  in remission patients;  $P=0.046$ ). By means of ROC analysis we have found  $AUC= 0.80$  (95% CI: 0.588-1.012;  $p = 0.040$ ). The method showed 100% sensitivity and 60% specificity, with a likelihood ratio of 2.5 at the cut-off point of 2.5% for CD45 + CD19 + B cells. We have revealed significant differences ( $P \log\text{-rank}=0.028$ ) when analysing disease-free survival of MM patients after autologous SCT by Kaplan-Meier method, depending on the relative content of CD45 + CD19 + B cells in apheresis product.

## Conclusion

In patients with MM, relative content of >2.5% CD45 + CD19 + B-cells in product apheresis may be considered an adverse prognostic factor indicating shorter period of disease-free survival (-16.8 months). Relative content of <2.5% CD45+ CD19 + B-cells in apheresis product may be associated with prolonged disease-free survival period.

## Keywords

Multiple myeloma, autologous transplantation of hematopoietic stem cells, CD19+ B-cells, apheresis product.

# Безрецидивная выживаемость больных множественной миеломой после аутотрансплантации периферических стволовых кроветворных клеток в зависимости от содержания CD45+CD19+ В-клеток в продукте афереза

Ирина В. Крючкова, Светлана А. Сизикова, Галина Ю. Ушакова, Вера В. Сергеевичева, Дарья С. Баторова, Егор В. Баторов, Наталья В. Пронкина, Андрей В. Гилевич, Елена Р. Черных

Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии, Новосибирск, Россия

## Введение

В настоящее время до 40% всех аутологичных трансплантаций стволовых кроветворных клеток (ауто-ТСКК) проводится больным множественной миеломой (ММ), однако до сих пор не существует способов прогноза течения заболевания после ауто-ТСКК, обладающих достаточно высокой чувствительностью и специфичностью. Цель работы: изучить относительное содержание CD45+CD19+ В-лимфоцитов в продукте сепарации больных ММ и исследовать возможную взаимосвязь между количеством этих клеток и безрецидивной выживаемостью после ауто-ТСКК.

## Пациенты и методы

В исследование были включены 17 больных ММ, которым была проведена высокодозная химиотерапия с ауто-ТСКК в 2010-2012 гг. Медиана возраста составила 47 лет (37-58 лет). Мобилизацию стволовых кроветворных клеток (СКК) проводили с использованием высокодозного циклофосфида (4 г/м<sup>2</sup>) с последующим введением препаратов гранулоцитарного колониестимулирующего фактора 5-10 мкг/кг/день. Процедуру афереза проводили с использованием сепараторов клеток крови AS TEC 204 (Fresenius) и Spectra LRS 07 (COBE). На момент ауто-ТСКК 6 пациентов были в полной ремиссии, 9 – в частичной ремиссии и у 2 было резистентное течение заболевания. В режиме кондиционирования ис-

пользовался мелфалан 140-200 мг/м<sup>2</sup>. Трансплантировано  $5,6 \pm 0,6 \times 10^6$  CD34+ СКК/кг ( $2,6-13,9 \times 10^6$  СКК/кг). Количество CD45+CD19+ В-клеток в продукте сепарации оценивали методом проточной цитометрии (BD FACSCalibur). Данные представлены в виде Me (min-max) или  $M \pm SE$ . Статистическая обработка данных производилась с использованием программных пакетов для статистической обработки Statistica 6.0 (StatSoft). Для оценки значимости различий независимых непрерывных переменных между группами больных использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни (PU). Для оценки диагностической значимости использовали ROC-анализ с расчетом площади под кривой (AUC). Анализ выживаемости проведен по методу Каплана-Мейера, для оценки достоверности использован log-rank-критерий.

## Результаты

Время наблюдения после ауто-ТСКК составило 44,1 мес. (4-67,2 мес.), медиана выживаемости 38,3 мес. Больные с рецидивом ММ (n=9) после ауто-ТСКК значимо не отличались от больных в ремиссии (n=8) по возрасту (48 против 46,5 лет; pU=0,74), количеству реинфузируемых СКК ( $4,8 \pm 0,5$  против  $6,5 \pm 1,1 \times 10^6$ /кг; pU=0,23) и статусу заболевания на момент ауто-ТСКК. Пациенты с рецидивом ММ после ауто-ТСКК отличались от больных в ремиссии более высоким содержанием CD45+CD19+ В-лимфоцитов в продукте афереза:  $5,7 \pm 0,9$  против  $2,9 \pm 0,9\%$ ; pU=0,046). При проведении ROC-анализа

AUC=0,80 (95% ДИ: 0,588-1,012;  $p=0,040$ ). При пороговой точке, равной 2,5 % CD45+CD19+ В-клеток, чувствительность составила 100 %, специфичность – 60 %, отношение правдоподобия – 2,5. При анализе безрецидивной выживаемости больных ММ после ауто-ТСКК по методу Каплана-Мейера в зависимости от относительного содержания CD45+CD19+ В-клеток в продукте афереза выявлены значимые различия:  $p$  (log-rank)=0,028.

## Заключение

У больных ММ относительное содержание в продукте афереза CD45+CD19+ В-клеток > 2,5 % может рас-

считываться как неблагоприятный прогностический фактор, свидетельствующий о более коротком периоде безрецидивной выживаемости – 16,8 месяца. Относительное содержание в продукте афереза CD45+CD19+ В-клеток <2,5 % свидетельствует о более длительном периоде безрецидивной выживаемости.

## Ключевые слова

Множественная миелома, аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, CD19+ В-клетки, продукт сепарации.