

בדיקות מולקולריות בהתאמה אישית לזיהוי מחלה שארייתית: כלי לקבלת החלטות טיפוליות בחולי לימפומה פוליקולרית

ד"ר מלי תוהמי, ד"ר דניאל אייזן, ד"ר רונה אורטנברג, דין ניקולוביץ, חנאן טויל, ד"ר אורי עבדי
המעבדה ההמטולוגית, מערך המעבדות הרפואיות, מרכז רפואי מאיר² המכון ההמטולוגי, מרכז רפואי מאיר

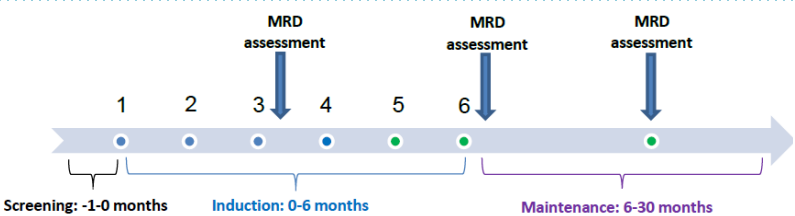
מבוא

מעקב אחר מחלה שארייתית (minimal residual disease; MRD) מאפשר זיהוי תאי מחלה ששרדו את הטיפול. בקבוצת הלימפומות מסוג B-non Hodgkin נמצא ש-MRD חיובי בתום טיפול היווה מדד פרוגנוסטי שלילי. לימפומה פוליקולרית הינה סוג שכיה של לימפומה המתאפיינת במהלך מחלה אימי וכרוני ובאחוזי תגובה גבוהים לטיפול אך בנטייה להישנות. האסטרטגיה הטיפולית מכוונת לשליטה במחלה על ידי שימוש בטיפולים עם פרופיל במיחות גבוה על מנת להימנע מתופעות לוואי מסכנות חיים. קבלת שיטה מחזורי טיפול אימונותרפיה (bendamustine+Obinutuzumab) חושף את החולים לרעילות ולאיימונוסופרסיה ולכן המחקר המוצג מציג אסטרטגיית הפחתה של הטיפול הכימי כתלות בקבלת תוצאת MRD שלילית בדם /או במח העצם (תמונה 1).

מטרת המחקר

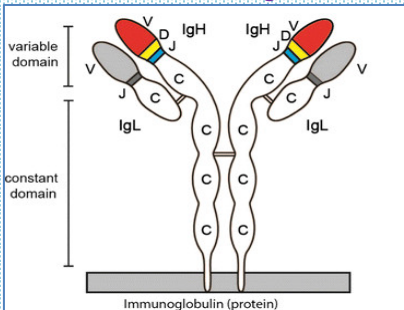
זיהוי ביומרקר בדם ו/או במח העצם של חולים בלימפומה פוליקולרית ועל בסיסו פיתוח בדיקות מעבדה "מותאמות אישית" בשיטת RQ-PCR למעקב MRD.

תמונה 1: תכנית הטיפול התרופתי ונקודות הזמן לבדיקת MRD



ציר הזמן במחקר, מקרא:
● טיפול במשלב bendamustine Obinutuzumab כל 28 יום
● טיפול ב Obinutuzumab כטיפול יחיד

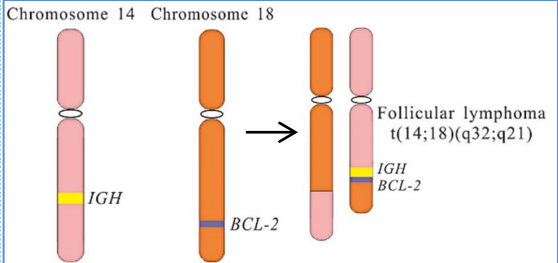
תמונה 2: IGH VDJ region



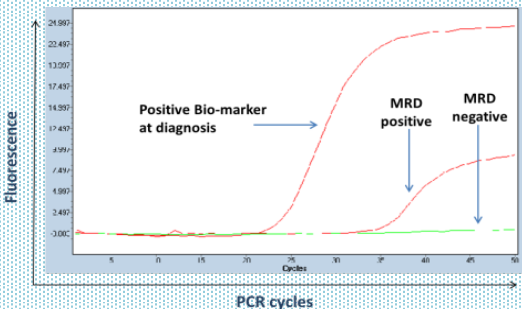
שיטות חפוש ביומרקר בדם ובמח העצם שיהווה סמן של המחלה בשני אופנים: (א) זיהוי רצף ה"דנ"א של ה- junctional region בשרשרת הכבדה של הגן לאיימונוגלובולין (VDJ) בתאי המחלה. אזור זה הינו וריאבילי וייחודי לכל תא ותא מקבוצת תאי B ולכן יהיה ייחודי גם בתאי המחלה. (תמונה 2). (ב) זיהוי שינוי כרומוזומלי המתאפיין במרנסלוקציה בין הגן IGH בכרומוזום 14 לבין הגן BCL2 בכרומוזום 18, t(14;18). השכיח בחולי לימפומה פוליקולרית (תמונה 3). לאחר זיהוי המרקר תוכננה ריאקציית RQ-PCR אישית לכל חולה על בסיסה יחושב ערך ה-MRD לכל חולה בנקודות הזמן שנקבעו (תמונה 1) בדם ו/או במח העצם.

שיטות

תמונה 3: t(14;18) in follicular lymphoma



תמונה 4: תמונה מייצגת של תוצאות RQ-PCR באבחנה ובמעקב MRD



טבלה 1: ביומרקר באבחנה ותוצאות מעקב MRD לאחר מחזור טיפול מס' 3

patient No	Bio marker at diagnosis	MRD assessment after treatment (cycle 3)	
		Peripheral Blood	Bone Marrow
1	VDJ	negative	negative
4	t(14;18)	negative	positive (0.156%)
5	t(14;18)	negative	negative

תוצאות

עד כה גויסו תשעה חולים למחקר. בחמישה מהם זוהה ביומרקר ותוכננה ריאקציית RQ-PCR למעקב (תמונה 4). בחולה מס' 1 תוכננה ריאקציה על בסיס רצף ה-VDJ בתאי המחלה. לאחר מחזור טיפול מס' 3 נמצא חולה זה עם ערך MRD שלילי בדם ובמח עצם ובדיקת הדמיה שלילית ולכן המשיך בטיפול ביולוגי בלבד לשלושת מחזורי הטיפול הנותרים (טבלה 1). בשני חולים נוספים (מס' 4 ומס' 5) זוהתה מרנסלוקציה t(14;18) בעת האבחנה ולפי נקודת השבר בכרומוזום 18 תוכננה ריאקציית RQ-PCR למעקב. לאחר מחזור הטיפול העליוני המשובל, לשני החולים התקבלה בדיקת הדמיה שלילית אולם חולה מס' 4 הציג MRD חיובי במח העצם (0.156%) ולכן המשיך בטיפול המשולב ואילו חולה מס' 5 הציג MRD שלילי בדם ובמח עצם ולכן המשיך בקו הטיפול הביולוגי בלבד (טבלה 1). שני חולים נוספים טרם הגיעו לנקודת הזמן הרלוונטית לבדיקת MRD.

דיון וסיכום

שיטות לזיהוי MRD בחולי לימפומה בכלל ובחולי לימפומה פוליקולרית בפרט מצריך פיתוח בדיקות מעבדה המותאמות לכל מטופל בהתאם ל"מביעת האצבע" של מחלתו ושאינן חלק משגרת המעקב כיום. בעבודה זו מוצגות שיטות זיהוי מרקר ומעקב MRD במדרי רגישות וספציפיות גבוהים. הרגישות הגבוהה מסייעת בזיהוי תאים מעטים שהוסטנו לדם ו/או למח העצם. ספציפיות גבוהה מבטיחה זיהוי התאים הממאירים בלבד ומונעת זיהוי תוצרים לא ספציפיים ("רעש") כגון t(14;18) שעלולה להימצא גם בתאים שאינם תאי המחלה. בנוסף, לימפומה פוליקולרית מתאפיינת בתאי B בשלב הבשלה מתקדם אשר צברו מוטציות סומטיות ברצף ה"דנ"א של ה-VDJ ולכן הכרחי לבצע ריצוף של אזור זה לטובת חנוון נכון של ריאקציית המעקב. בדיקות MRD ברגישות גבוהה תוך הכרה במגבלות שתוארו לעיל יכול להוביל לפיתוח בדיקות שיגרה לכל חולה לימפומה שיאפשרו ביטוס של טיפול בעל פרופיל במיחות גבוה עבור המטופל עם MRD שלילי או לזיהוי מוקדם של הישנות מחלה על בסיס MRD חיובי, ללא הישנות קלינית ולפני הישנות בבדיקות ההדמיה. העבודה המוצגת תחשוף את היכולת להשתמש במעקב MRD רגיש וספציפי לקבלת החלטות טיפוליות בחולי לימפומה פוליקולרית.