

## Assessment of cytokine levels in the patients with relapsed/refractory Hodgkin's lymphoma during nivolumab therapy

Andrey M. Chekalov, Kirill V. Lepik, Nikita D. Yolshin, Albert R. Muslimov, Natalia B. Mikhailova, Elena V. Kondakova, Lubov' A. Tsvetkova, Yury R. Zalyalov, Eugenia S. Borzenkova, Ivan S. Moiseev, Vadim V. Baykov, Boris V. Afanasyev

Raisa Gorbacheva Memorial Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

Contact: Dr. Natalya B. Mikhailova, PhD

E-mail: bmt.lymphoma@gmail.com, a.m.chekalov@gmail.com

### Introduction

PD-1 inhibitors have changed the prognosis of patients with relapsed/refractory Hodgkin's lymphoma (overall response rate > 65%), however, only a small number of patients achieve a stable remission (2-year progression-free survival (PFS) < 50%). Predicting a response and prognosis could help to optimize the therapy with checkpoint inhibitors. The aim of our study was a search for serum cytokine levels as a predictive marker for response to immunotherapy.

### Materials and methods

The study included 80 patients with relapsed/refractory Hodgkin's lymphoma, who underwent the treatment at the Raisa Gorbacheva Memorial Research Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation, I. P. Pavlov First Saint Petersburg, receiving 3 mg/kg of nivolumab, a PD-1 inhibitory drug. Median age of patients was 32 years, 55% men (n=44), 45% women (n=36), median follow-up was 32 months, overall survival (OS) was 96.3%, 2-year progression-free survival (PFS) was 40% (median, 18.8 months). As a part of this study, the blood serum samples were taken for subsequent analysis before therapy initiation, at 1.5 months, 3 months, 6 and 12 months post-treatment. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to determine the concentrations of interleukin-6 (IL-6) (80 patients), interleukin-15 (IL-15) (30 patients) and PDL-1 (42 patients). Associations between clinical characteristics and outcomes were analyzed in accordance with the level of cytokines at the studied points.

### Results

Before starting immune therapy, the mean levels for IL-6, IL-15, and PDL-1 were determined as 7.23 pg/ml, 9.98 pg/ml,

and 16.23 pg/ml, respectively. Subsequent evaluation using proportional hazards model revealed a statistically significant relationship between the values of IL-6 ( $p=0.009$ ), and IL-15 ( $p=0.018$ ) before therapy; IL-6 levels after 1.5 months ( $p=0.008$ ), after 3 months ( $p=0.003$ ), after 6 months ( $p=0.004$ ), and 2-year progression-free survival (PFS). A positive correlation was revealed between IL-6 and PDL-1 at the points before starting the therapy ( $p=0.001$ ), after 1.5 months ( $p=0.023$ ), after 6 months ( $p=0.011$ ). The values of all studied cytokines significantly decreased after 6 months of therapy ( $p < 0.05$ ). By the U-criterion, a relationship was detected prior to the start of nivolumab therapy between the levels of IL-6, and manifestation of B-symptoms ( $p=0.004$ ). Using ROC analysis, a cut-off value was determined for IL-6 before therapy (2.5 pg/ml; AUC=0.589). The pre-treatment level of IL-6 exceeding 2.5 pg/ml was associated with decreased 2-year PFS (22.7% versus 50%, the median PFS 12.77 versus 23.17 months,  $p=0.049$ ).

### Conclusion

Our analysis showed that the level of serum IL-6 in patients with relapsed/refractory Hodgkin lymphoma before nivolumab therapy was associated with lower progression-free survival. Despite limited number of observations the level of IL-15 before the start of therapy also had a statistically significant relationship with PFS ( $p=0.018$ ). A study of the level of PDL-1 did not show any statistical significance in our study.

### Keywords

Hodgkin's lymphoma, nivolumab, ELISA, interleukin-6, interleukin-15, PDL-1.

## Определение уровня цитокинов у пациентов с резистентной/рефрактерной лимфомой Ходжкина на фоне терапии ниволумабом

Андрей М. Чекалов, Кирилл В. Лепик, Никита Д. Ёлшин, Альберт Р. Муслимов, Наталья Б. Михайлова, Елена В. Кондакова, Любовь А. Цветкова, Юрий Р. Залялов, Евгения С. Борзенкова, Иван С. Моисеев, Вадим В. Байков, Борис В. Афанасьев

НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

### Введение

PD-1 ингибиторы (в т.ч. – Ниволумаб) изменили прогноз пациентов с резистентной/ рефрактерной лимфомой Ходжкина (частота общего ответа >65%), однако

полный ответ и стойкая ремиссия достигается лишь у небольшого количества пациентов (2-летняя выживаемость без прогрессирования (БПВ) <50%). Прогнозирование ответа могло бы помочь оптимизировать терапию ингибиторами иммунных контрольных точек (ИКТ).

Целью нашего исследования было изучение уровня сывороточных цитокинов как биомаркеров, позволяющих прогнозировать ответ на терапию ИКТ.

## Материалы и методы

В исследование были включены 80 пациентов с резистентной/рецидивирующей лимфомой Ходжкина, проходивших лечение на базе НИИ ДОГиТ им. Р. М. Горбачевой, получивших в качестве терапии PD-1 ингибитор (Ниволумаб) в дозе 3 мг/кг. Медиана возраста пациентов – 32 года, 55% составили мужчины (n=44), 45% – женщины (n=36), медиана наблюдения составила 32 мес. Общая выживаемость (ОВ) составила 96,3%, 2-летняя выживаемость без прогрессирования (БПВ) – 40% (медиана – 18,8 мес.). В рамках исследования до начала терапии, через 1,5 мес., 3 мес., 6 и 12 мес. забирали образцы сыворотки крови для последующего анализа. Методом иммуноферментного анализа (ИФА) определялась концентрация интерлейкина-6 (ИЛ-6) у 80 пациентов, интерлейкина-15 (ИЛ-15) у 30 больных и PDL-1 – в 42 случаях. Проводился ретроспективный анализ результатов лечения в зависимости от уровня цитокинов в исследуемых точках.

## Результаты

Средний уровень ИЛ-6 перед началом терапии составлял 7,23 пг/мл, ИЛ-15 – 16,23 пг/мл, и PDL-1 – 9,98 пг/мл. С помощью регрессии Кокса выявлена статистически значимая взаимосвязь между показателями 2-летней выживаемости без прогрессирования (БПВ) и значениями ИЛ-15 (p=0,018) и ИЛ-6 (p=0,009) до терапии, ИЛ-6

через 1,5 мес. после нее (p=0,008), через 3 мес. (p=0,003), через 6 мес. (p=0,004). Выявлена положительная корреляция между ИЛ-6 и PDL-1 в точках до начала лечения (p=0,001), через 1,5 мес. (p=0,023) и через 6 мес. (p=0,011). Значения всех исследуемых цитокинов достоверно снизились через 6 мес. на фоне терапии (p<0,05). При помощи U-критерия была выявлена взаимосвязь уровня ИЛ-6 с наличием В-симптомов до начала терапии ниволумабом (p=0,004). С помощью ROC-анализа был определен граничный порог (cut-off value) для ИЛ-6 до терапии (2,5 пг/мл; AUC=0,589). При значении ИЛ-6 до терапии больше 2,5 пг/мл уменьшается 2-летняя БПВ (22,7 % против 50%). Медианы длительности БПВ составили 12,77 против 23,17 мес., p=0,049).

## Выводы

В исследуемой популяции пациентов, уровень ИЛ-6 у пациентов с рефрактерной и рецидивирующей лимфомой Ходжкина до терапии ниволумабом обладал прогностической значимостью для 2-летней выживаемости без прогрессирования (БПВ). Несмотря на ограниченное количество наблюдений, уровень ИЛ-15 до начала терапии также значимо коррелировал с БПВ (p=0,018). Исследование уровня PDL-1 не показало какой-либо статистической значимости в нашем исследовании.

## Ключевые слова

Лимфома Ходжкина, ниволумаб, иммуноферментный анализ, интерлейкин-6, интерлейкин-15, PDL-1.

## The relationship of cytometric abnormalities and cytogenetic aberrancies in patients with myelodysplastic syndromes

Yulia O. Davydova, Irina V. Galtseva, Elena N. Parovichnikova, Alina V. Kohno, Nikolay M. Kapranov, Ksenia A. Nikiforova, Tatiana N. Obukhova, Valentina N. Dvirnykh, Alla M. Kovrigina, Vera V. Troitskaya, Elena A. Mikhailova, Tatiana N. Moiseeva, Larisa A. Kuzmina, Elena A. Lukina, Valery G. Savchenko

National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation

Contact: Dr. Yulia O. Davydova

E-mail: davydova.y@blood.ru, juliya89mur@yandex.ru

## Introduction

Diagnosis of myelodysplastic syndromes (MDS) could be a challenge, especially in the absence of obvious morphological features of MDS such as excess of blasts and ring sideroblasts ( $\geq 15\%$ ). Therefore, it is recommended to carry out cytogenetic, histological and multicolor flow cytometric (MFC) studies of bone marrow (BM). However, there is not enough data on the relationship of cytogenetic aberrations (CGA) and cytometric abnormalities. Our aim was to evaluate sensitivity and specificity of MFC in the MDS without excess of blasts and ring sideroblasts and to study the MFC abnormalities depending on the CGA.

## Patients and methods

The study included 41 MDS patients (M/F ratio of 1:1.9; median age, 62 years): 8 MDS cases with 5q-, 4 – MDS with

single lineage dysplasia; 29 had MDS with multilineage dysplasia. Of these, there were 19 patients without CGA; 8, with isolated del(5q); 7, with recurrent typical abnormalities (-7/del(7q), del(13q), t(1; 3), or del(5q) in complex karyotype), and 7 showed non-specific aberrancies (-Y, t(2; 3), del(20q), +8). The control group included 83 patients with cytopenia (aplastic anemias, PNH, iron-deficient anemias, immune thrombocytopenias etc.). MFC examination of BM was performed according to European Leukemia Net recommendations on BD FACSCanto II. The reference values were obtained from BM data of 35 healthy donors. The final conclusion was made in accordance with the integrated flow cytometric scale (iFCS), i.e.: A, no signs of MDS; B, some signs of MDS; C, corresponds to MDS.