

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-2-93-102

# Влияние значения минимальной остаточной болезни на риск развития рецидива при аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у детей, подростков и молодых пациентов с острым лимфобластным лейкозом

Д.В. Прудников, Ю.Е. Марейко, Н.П. Кирсанова, Н.В. Минаковская, О.В. Алейникова

ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», Республика Беларусь

Минимальная остаточная болезнь (МОБ) – независимый фактор риска рецидива у детей с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ). Цель работы: оценить влияние МОБ, отслеживаемой по реаранжировкам генов *IgH*, *IgK*, *TCRB*, *TCRG*, *TCRD* перед аллогенной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) и после нее, химеризма, определенного методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), после ТГСК на частоту развития рецидива, общую (ОВ) и бессобытийную (БСВ) выживаемость у пациентов с ОЛЛ. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» (Республика Беларусь). С 2010 по 2017 г. (медиана времени наблюдения после ТГСК – 2,8 года) 51 пациент с ОЛЛ в Центре детской онкологии, гематологии и иммунологии Республики Беларусь получили алло-ТГСК. Медиана возраста пациентов составила 11,1 (2,6–32,8) года. Точками контроля перед и после ТГСК были определены следующие: день –21 перед ТГСК и дни +30 ± 10, +60 ± 10, +100 ± 10, +180 ± 10, +365 ± 10 после ТГСК. Перед ТГСК 3-летняя БСВ и кумулятивная частота рецидива (КЧР) составили 71,6 ± 17,1% и 14,3 ± 14,3% соответственно у пациентов ( $n = 7$ ) со значением МОБ < 10<sup>-4</sup> и 0% ( $p = 0,0046$ ) и 50,0 ± 29,2% ( $p = 0,3111$ ) соответственно у больных ( $n = 4$ ) при МОБ ≥ 10<sup>-4</sup>. После ТГСК ( $n = 29$ ) 3-летняя БСВ и КЧР составили 22,2 ± 13,9% и 66,7 ± 18,1% соответственно для реципиентов ( $n = 9$ ) с МОБ ≥ 10<sup>-4</sup> хотя бы в одной из анализируемых точек против 70,0 ± 10,2% ( $p = 0,0172$ ) (отношение рисков (ОР) = 12,3; 95% доверительный интервал (ДИ): 2,33–64,87;  $p = 0,0031$ ), и 5,0 ± 5,0% ( $p = 0,0004$ ) (ОР = 50,7; 2,5–97,5% ДИ: 1,60–1608,56;  $p = 0,0260$ ) соответственно для пациентов ( $n = 20$ ) со значением МОБ < 10<sup>-4</sup> во всех точках. Реципиенты со смешанным химеризмом хотя бы в одном из исследуемых образцов костного мозга с дня +30 по день +365 имели показатели ОВ (57,1%), БСВ (40,0%) и КЧР (50,0%) хуже в сравнении с пациентами, у которых на протяжении года после ТГСК был полный донорский химеризм (79,5% ( $p = 0,248$ ), 71,4% ( $p = 0,072$ ) и 20,0% ( $p = 0,070$ ) соответственно), хотя статистической значимости получено не было. МОБ является значимым фактором риска развития рецидива и фактором, оказывающим влияние на выживаемость пациентов с ОЛЛ после алло-ТГСК. Пациенты со значением МОБ < 10<sup>-4</sup> на этапах перед и после алло-ТГСК имеют статистически значимо лучшие показатели БСВ и КЧР в сравнении с теми больными, у которых значение МОБ ≥ 10<sup>-4</sup>.

**Ключевые слова:** трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, острый лимфобластный лейкоз, дети, минимальная остаточная болезнь, ПЦР-химеризм

Прудников Д.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (2): 93–102.  
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-2-93-102

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России  
Поступила 02.12.2019  
Принята к печати 28.01.2020

## Контактная информация:

Прудников Дмитрий Владимирович, врач-гематолог отделения трансплантации ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии». Адрес: Республика Беларусь, 223053, Минский район, д. Боровляны, ул. Фрунзенская, 43  
E-mail: dima1911@mail.ru

© 2020 by «D. Rogachev NMRCPhO»

Received 02.12.2019

Accepted 28.01.2020

## The effect of the minimum residual disease on the risk of relapse at allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children, adolescents, and young adults with acute lymphoblastic leukemia

D.V. Prudnikov, Yu.E. Mareiko, N.P. Kirsanova, N.V. Minakovskaya, O.V. Aleinikova

Belarusian research center for pediatric oncology, hematology and immunology, Republic of Belarus

### Correspondence:

Dmitry V. Prudnikov, Hematologist  
Department of transplantation, Belarusian  
research center for pediatric oncology,  
hematology and immunology.  
Address: Republic of Belarus, 223053,  
Minsk region, Borovlyani v.,  
Frunzenskaya st., 43  
E-mail: dima1911@mail.ru

Minimal residual disease (MRD) is an independent predictor of relapse risk for childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL). The aim of study to investigate impact MRD by real-time quantitative polymerase chain reaction before (day -21) and at +30 ± 10, +60 ± 10, +100 ± 10, +180 ± 10, +365 ± 10 days after hematopoietic stem cell transplantation (HSCT), and PCR-chimerism on transplant outcomes children with ALL. The study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (Republic of Belarus). Fifty one patients with ALL underwent allogeneic transplantation in remission (period 12.2010–12.2017, median follow-up 2,8 years). 3-years event-free survival (EFS) and cumulative incidence of relapse (CIR) were  $71.6 \pm 17.1\%$  and  $14.3 \pm 14.3\%$  respectively for patients ( $n = 7$ ) with pre-transplant MRD  $< 10^{-4}$  and  $0\%$  ( $n = 4$ ,  $p = 0.0046$ ) and  $50.0 \pm 29.2\%$  ( $p = 0.3111$ ) respectively for MRD  $\geq 10^{-4}$ . After HSCT ( $n = 29$ ) 3-years EFS and CIR were  $22.2 \pm 13.9\%$  and  $66.7 \pm 18.1\%$  respectively for recipients ( $n = 9$ ) with MRD  $\geq 10^{-4}$  at least in one analyzed point. In comparison, patients with MRD  $< 10^{-4}$  at all points ( $n = 20$ ) had EFS and CIR  $70.0 \pm 10.2\%$  ( $p = 0.0172$ ) (HR = 12.3; 95% CI: 2.33–64.87;  $p = 0.0031$ ), and  $5.0 \pm 5.0\%$  ( $p = 0.0004$ ) (HR = 50.7; 2.5–97.5% CI: 1.60–1608.56;  $p = 0.0260$ ) respectively. Patients with mixed chimerism at least in one analyzed point since day +30 to +365 hadn't significant differences OS, EFS, CIR but were worse (57.1%, 40.0% and 50.0% respectively) in comparison full chimerism patients (79.5% ( $p = 0.248$ ), 71.4% ( $p = 0.072$ ) and 20.0% ( $p = 0.070$ ) respectively). MRD is significant predictor of relapse risk for childhood ALL at time of HSCT. MRD  $< 10^{-4}$  patients have significantly better EFS and CIR in comparison MRD  $\geq 10^{-4}$  patients before and after HSCT.

**Key words:** hematopoietic stem cell transplantation, acute lymphoblastic leukemia, children, minimal residual disease, PCR-chimerism

Prudnikov D.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (2): 93–102.

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-2-93-102

Обнаружение минимальной остаточной болезни (МОБ) перед трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) связано с повышенным риском развития рецидива после трансплантации. МОБ характеризуется очень низким содержанием лейкоэмических клеток в костном мозге (КМ) пациента, даже находящегося в состоянии полной морфологической ремиссии ( $< 5\%$  бластов в КМ). На основании оценки уровня МОБ происходит выбор времени для проведения трансплантации. Пациенты с высоким уровнем МОБ, которые являются кандидатами на трансплантацию, могут получить дополнительную терапию с целью уменьшить уровень МОБ, в идеале ниже порога обнаружения. После трансплантации обнаружение МОБ как «предвестника» развития морфологического рецидива может служить индикатором для дополнительных терапевтических вмешательств.

С 1998 г., когда С.С. Кнехтли и соавт. опубликовали одну из первых работ о значимости МОБ перед ТГСК, проведено и опубликовано более 20 крупных исследований, посвященных данному вопросу при остром лимфобластном лейкозе (ОЛЛ) [1]. Эти работы показывают, что у пациентов с отрицательной МОБ до трансплантации выживаемость выше, а частота рецидивов меньше, чем у пациентов с положительной МОБ [1–8]. Соответствующие результаты наблюдаются как при использовании молекулярно-генетических методов [4, 7], так и при оценке МОБ с помощью иммунофенотипирования [2, 6, 9]. После ТГСК МОБ также может быть

использована как ранний маркер рецидива, и хотя на сегодняшний день есть около десятка публикаций по изучению значимости МОБ после ТГСК, все они, как и до ТГСК, ограничены относительно небольшим числом пациентов и, как правило, одним исследовательским центром [1]. Наряду с использованием МОБ в качестве раннего маркера рецидива после ТГСК не следует упускать из виду исследование химеризма методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) после ТГСК [10]. Однако нарастание смешанного химеризма (СХ) не всегда может свидетельствовать о росте патологического клона и развитии рецидива. Взаимоотношения между значением МОБ после ТГСК и ПЦР-химеризмом, значимость этих маркеров по отношению друг к другу и прогностическое значение в отношении рецидива требуют также дополнительного изучения, в том числе в крупных мультицентровых исследованиях.

**Цель настоящей работы:** оценить влияние МОБ, отслеживаемой по реаранжировкам генов *IgH*, *IgK*, *TCRB*, *TCRG*, *TCRD* перед и после аллогенной ТГСК (алло-ТГСК), ПЦР-химеризма после ТГСК на частоту развития рецидива, общую (ОВ) и бессобытийную (БСВ) выживаемость у пациентов с ОЛЛ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и

иммунологии» (Республика Беларусь). С декабря 2010 г. по декабрь 2017 г. 52 пациента с ОЛЛ в Центре детской онкологии, гематологии и иммунологии Республики Беларусь получили алло-ТГСК. Обязательным условием проведения ТГСК являлось наличие письменного информированного согласия родителей или самих пациентов на проведение трансплантации. У 30 (58,0%) пациентов были выявлены реаранжировки генов, дающие возможность отслеживать МОБ. У 19 (36,5%) пациентов имелась возможность для отслеживания МОБ перед ТГСК, 109 образцов КМ было доступно для анализа МОБ и 171 – для анализа ПЦР-химеризма после ТГСК.

Исследование МОБ проводили путем оценки клональности при изучении перестроек иммунорецепторов (Т- и В-клеточных, TCR и IgH). Скрининг реаранжировок генов выполняли при рецидиве или презентации заболевания. Аллель-специфические олигонуклеотиды (АСО-праймеры) использовались для количественной ПЦР в режиме реального времени. Были определены следующие точки контроля МОБ: перед ТГСК и в течение 1 года после нее: день –21 перед ТГСК, дни +30 ± 10, +60 ± 10, +100 ± 10, +180 ± 10, +365 ± 10 после ТГСК. По показаниям мониторинг мог проводиться чаще. После 1 года мониторинг планово проводился через 6 мес, по показаниям – чаще. Реципиенты ТГСК были разделены в зависимости от значения МОБ в исследуемых точках: пациенты со значением МОБ < 10<sup>-4</sup> и больные со значением МОБ ≥ 10<sup>-4</sup>.

Исследование донорского химеризма осуществлялось стандартными методами ПЦР с последующим капиллярным электрофорезом и фрагментным анализом с использованием мишеней STR (short tandem DNA repeats) и/или методом количественной ПЦР в реальном времени с применением мишеней InDel (insertion/deletion polymorphism). Материалом для исследования служили клетки КМ. Оценку значений ПЦР-химеризма после ТГСК проводили в точках, аналогичных таковым при отслеживании МОБ после ТГСК (дни +30 ± 10, +60 ± 10, +100 ± 10, +180 ± 10, +365 ± 10). СХ был определен как содержание клеток реципиента ≥ 1%. Соответственно, пациенты, у которых клетки донора составляли > 99,0%, анализировались как реципиенты с полным донорским химеризмом (ПДХ).

**Статистический анализ.** При анализе исходов после ТГСК у пациентов с ОЛЛ оценивались: 3-летние показатели ОВ и БСВ, кумулятивная частота рецидива (КЧР) в зависимости от значений МОБ и ПЦР-химеризма. Анализ проводился для группы, включающей 51 пациента. Один пациент получил трансплантацию в отсутствие морфоло-

гической ремиссии, прогрессировал и в анализ не был включен. Последнее цензурирование пациентов состоялось 01.07.2019. На момент проведения статистической обработки живы 35 реципиентов ТГСК, умерли 14, потеряны из-под наблюдения 2. БСВ определена как выживаемость без рецидива, отторжения и смерти, обусловленной процедурой ТГСК. Расчет показателей выживаемости, КЧР с учетом конкурирующих рисков и сравнение проводились с использованием программного обеспечения R-statistica 3.3.0. Сравнение проводилось с помощью теста Грея ( $p(F&G)$ ) при анализе КЧР, рассчитывали методом конкурирующих рисков [11, 12]. Показатели выживаемости рассчитывались методом Каплана–Майера. Различия в выживаемости оценивали с помощью теста log-rank ( $p(\log-r)$ ) [13]. Факторы, показавшие значимость ( $p < 0,05$ ) в отношении ОВ, БСВ, КЧР согласно унивариантному анализу [14], были включены в многофакторный анализ. Многофакторный анализ проводился с использованием регрессионной модели Кокса [15]. Статистически значимыми приняты различия при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Медиана времени наблюдения после ТГСК составила 2,8 (0,3–8,5) года. Медиана возраста пациентов – 11,1 (2,6–32,8) года. Кондиционирование согласно международному протоколу ALL SCT I-BFM 2003 (2007) получили 48 (92,0%) пациентов. Тотальное облучение тела (TOT) в составе режима кондиционирования получили 46 (88,0%) больных. Краткая характеристика пациентов представлена в таблице 1.

Из 51 реципиента, которые получили ТГСК в состоянии ремиссии, в первой ремиссии были 14 (27,0%) пациентов, во второй – 29 (57,0%), в третьей и более – 8 (16,0%).

Среди 37 (73,0%) пациентов из 51, трансплантированных во второй и более ремиссии, ранний или очень ранний рецидив до ТГСК был констатирован в 11 (30,0%) случаях, поздний – в 26 (70,0%).

Трехлетняя ОВ для всех пациентов ( $n = 51$ ) составила 71,7 ± 6,4%, БСВ – 62,7 ± 6,8%. После трансплантации рецидивы развились у 12 (24,0%) пациентов, КЧР для них составила 23,5 ± 6,0%. Медиана времени возникновения рецидива после алло-ТГСК составила 235 (66–521) дней.

**Минимальная остаточная болезнь перед трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток.** Перед ТГСК на день –21 для анализа были доступны 11 образцов КМ. В группе пациентов со значением МОБ < 10<sup>-4</sup> ( $n = 7$ ) ОВ и БСВ составили 83,3 ± 15,2% и 71,4 ± 17,1% соответственно

(таблица 2). Рецидивы после ТГСК возникли у 1 реципиента, при этом КЧР составила  $14,3 \pm 14,3\%$ . Для всех пациентов с МОБ  $\geq 10^{-4}$  перед ТГСК ( $n = 4$ ) после трансплантации зафиксированы события, а БСВ составила 0% ( $p = 0,0054$ ). ОВ и КЧР для этих пациентов имели значения  $37,5 \pm 28,6\%$  и  $50,0 \pm 29,2\%$  соответственно и статистически значимо не отличались от таковых у пациентов с МОБ  $< 10^{-4}$ .

**Минимальная остаточная болезнь после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.** На +30-е сутки после ТГСК ОВ и БСВ для пациентов со значением МОБ  $< 10^{-4}$  ( $n = 22$ ) составили  $77,0 \pm 9,0\%$  и  $68,2 \pm 9,9\%$  соответственно, а при уровне МОБ  $\geq 10^{-4}$  ( $n = 5$ )  $16,7 \pm 15,2\%$  ( $p = 0,0168$ ) и 0% ( $p = 0,0030$ ) соответственно (таблица 2). КЧР для этих пациентов составила  $4,5 \pm 4,5\%$  и 100% при количестве рецидивов 1 (при

**Таблица 1**  
Характеристика пациентов

**Table 1**  
Patient characteristics

Характеристика Characteristics	n	%
Пациенты с ОЛЛ Number of patients with ALL	51	100
Возраст: Age:		
<14 лет < 14 y.o.	23	45
$\geq 14$ ( $\geq 18$ ) лет $\geq 14$ ( $\geq 18$ ) y.o.	28 (16)	55 (57)
Пол: Gender:		
мужской male	32	63
женский female	19	37
Донор: Donor:		
сиблинг matched family donor (sibling)	11	21
неродственный unrelated donor	35	69
родственный гаплоидентичный family donor (haploidentical)	5	10
Статус ремиссии: Disease phase at transplantation:		
1-я (CR1) 1 <sup>st</sup> (CR1)	14	27
2-я (CR2) 2 <sup>nd</sup> (CR2)	29	57
> 2 (CR > 2)	8	16
Время рецидива до ТГСК (для CR $\geq 2$ ; $n = 37$ ): Time relapse before HSCT (CR $\geq 2$ ; $n = 37$ ):		
очень ранний (< 18 мес от диагноза, < 6 мес после окончания лечения) very early (< 18 m of diagnoses, < 6 m after treatment)	2	4
ранний ( $\geq 18$ –30 мес от диагноза, < 6 мес после окончания лечения) early ( $\geq 18$ –30 m of diagnoses, < 6 m after treatment)	9	18
поздний ( $\geq 30$ мес от диагноза, $\geq 6$ мес после окончания лечения) late ( $\geq 30$ m of diagnoses, $\geq 6$ m after treatment)	26	51
Источник стволовых клеток: Stem cell source:		
КМ bone marrow	33	65
периферическая стволовая клетка (ПСК) peripheral blood	18	35
Кондиционирование: Conditioning regimen:		
TOT 12 Гр/этопозид 40–60 мг/кг TBI 12 Gy/VP16 40–60 mg/kg	45	88
другой* other*	6	12
Острая реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) (I–IV степени) Acute "graft versus host" disease (Grade I–IV):	23	44
Хроническая РТПХ Chronic "graft versus host" disease	14	27
Рецидивы после ТГСК (из них до года) Relapses after HSCT (relapses to 1 year)	12 (8)	24 (67)
Медиана времени возникновения рецидива после ТГСК, дни Median time of relapse after HSCT, days	235 (66–521)	

Примечание. \* – Flu150/Thio10/Mel140/±ATG или Flu150/Mel140/±ATG или Treo36-42/Flu150/Mel140, или Treo36-42/End120/±ATG, или Bu16/End120/Mel140/±ATG.

Notes. \* – Flu150/Thio10/Mel140/±ATG or Flu150/Mel140/±ATG, or Treo36-42/Flu150/Mel140, or Treo36-42/End120/±ATG, or Bu16/End120/Mel140/±ATG; ALL – acute lymphoblastic leukaemia; CR – complete remission; TBI – total body irradiation; HSCT – hematopoietic stem cells transplantation.

Таблица 2

Исходы в зависимости от значения МОБ ( $\geq 10^{-4}$  против  $< 10^{-4}$ ) перед и после ТГСК

Table 2

Impact of pre- and post-transplant MRD ( $\geq 10^{-4}$  vs  $< 10^{-4}$ ) on patient outcome

Период Point	Значение МОБ MRD value	n	3-летняя КЧР 3-year CIR			3-летняя БСВ 3-year EFS			3-летняя ОВ 3-year OS		
			рецидив, n relapses, n	%	p(F&G)	событие, n events, n	%	p(log-r)	событие, n events, n	%	p(log-r)
День -21 (перед ТГСК) Day -21 (pre-transplant) n = 11	$\geq 10^{-4}$	4	2	50,0 $\pm$ 29,2	0,3111	4	0	0,0046*	2	37,5 $\pm$ 28,6	0,2380
	$< 10^{-4}$	7	1	14,3 $\pm$ 14,3		2	71,6 $\pm$ 17,1		1	83,3 $\pm$ 15,2	
День +30 Day +30 n = 27	$\geq 10^{-4}$	5	5	100	< 0,0001*	5	0	0,0030*	4	16,7 $\pm$ 15,2	0,0168*
	$< 10^{-4}$	22	1	4,5 $\pm$ 4,5		7	68,2 $\pm$ 9,9		5	77,0 $\pm$ 9,0	
День +60 Day +60 n = 23	$\geq 10^{-4}$	3	2	66,6 $\pm$ 33,3	0,0957	3	0	0,0696	3	0	0,0425*
	$< 10^{-4}$	20	3	20,0 $\pm$ 19,3		9	55,0 $\pm$ 11,1		7	65,0 $\pm$ 10,7	
День +100 Day +100 n = 24	$\geq 10^{-4}$	4	2	50,0 $\pm$ 32,5	0,0161*	3	25,0 $\pm$ 21,7	0,1090	3	25,0 $\pm$ 21,7	0,0747
	$< 10^{-4}$	20	1	5,0 $\pm$ 5,0		6	70,0 $\pm$ 10,2		5	75,0 $\pm$ 9,7	
День +180 Day +180 n = 19	$\geq 10^{-4}$	4	2	50,0 $\pm$ 32,5	0,0051*	3	25,0 $\pm$ 21,7	0,0043*	2	37,5 $\pm$ 28,6	0,1090
	$< 10^{-4}$	15	0	0		2	86,7 $\pm$ 8,8		2	86,7 $\pm$ 8,8	
День +365 Day +365 n = 15	$\geq 10^{-4}$	2	2	100	0,0001*	2	0	< 0,0001*	2	0	0,0006*
	$< 10^{-4}$	13	0	0		1	92,3 $\pm$ 7,4		1	92,3 $\pm$ 7,4	
После ТГСК (позитивный хотя бы в 1 из исследуемых точек с +30-го по +365-й день) Post-transplant (positive at least in one of investigations points from day +30 to +365) n = 29	$\geq 10^{-4}$	9	6	66,7 $\pm$ 18,1	0,0004*	7	22,2 $\pm$ 13,9	0,0172*	6	29,6 $\pm$ 16,4	0,0184*
	$< 10^{-4}$	20	1	5,0 $\pm$ 5,0		6	70,0 $\pm$ 10,2		4	79,7 $\pm$ 9,1	

Примечание. \* – различия показателей статистически значимы при  $p < 0,05$ .Notes. \* – differences statistically significant when  $p < 0,05$ ; MRD – minimal residual disease; CIR – cumulative incidence of relapse; EFS – event-free survival; OS – overall survival.

МОБ  $< 10^{-4}$ ) и 5 (при МОБ  $\geq 10^{-4}$ ) соответственно ( $p < 0,0001$ ).

На +60-е сутки после ТГСК значение МОБ не оказало влияния на БСВ и КЧР. ОВ лучше у пациентов с МОБ  $< 10^{-4}$  ( $p = 0,0425$ ). В последующих точках наблюдения после ТГСК положительное значение МОБ ( $\geq 10^{-4}$ ) оказывает значительное влияние как на развитие рецидива, так и на БСВ и ОВ, с максимальной статистически значимой разницей на день +365. Так, КЧР, БСВ и ОВ на день +365 в группе со значением МОБ  $< 10^{-4}$  ( $n = 13$ ) в сравнении с МОБ-позитивными пациентами ( $n = 2$ ) составили 0% и 100% ( $p = 0,0001$ ), 92,3  $\pm$  7,4% и 0% ( $p < 0,0001$ ), 92,3  $\pm$  7,4% и 0% ( $p = 0,0006$ ) соответственно.

Для пациентов ( $n = 9$ ), у которых после ТГСК МОБ имела значение  $\geq 10^{-4}$  хотя бы в одной из анализируемых точек, ОВ и БСВ составили 29,6  $\pm$  16,4% и 22,2  $\pm$  13,9% соответственно ( $n = 9$ , события – 7, умерли 6 пациентов) (рисунк 1). Рецидивы возникли у 6 реципиентов ТГСК, КЧР составила 66,7  $\pm$  18,1%. Это статистически значимо хуже в сравнении с теми же показателями у реципиентов ТГСК, значение МОБ которых было  $< 10^{-4}$  во всех исследуемых точках. Для них ( $n = 20$ , события – 6, рецидивы – 1, умерли 4 человека) ОВ составила 79,7  $\pm$  9,1% ( $p = 0,0184$ ),

БСВ – 70,0  $\pm$  10,2% ( $p = 0,0172$ ), а КЧР – 5,0  $\pm$  5,0% ( $p = 0,0004$ ).

**ПЦР-химеризм.** ОВ и БСВ пациентов с СХ ( $n = 6$ ) на день +30 после ТГСК составили 44,4  $\pm$  22,2% и 16,7  $\pm$  15,2% соответственно. Рецидивы случились у 4 пациентов, КЧР составила 66,7  $\pm$  24,1%. Существенно выше показатели ОВ и БСВ были достигнуты у пациентов с ПДХ ( $n = 36$ ) 79,7  $\pm$  6,9% ( $p = 0,0815$ ) и 72,2  $\pm$  7,5% ( $p = 0,0037$ ) соответственно. Меньше и количество рецидивов в группе с ПДХ, КЧР составила 19,4  $\pm$  6,7% ( $p = 0,0158$ ). Аналогично результатам, полученным при оценке МОБ после ТГСК в дни +60 и +100, статистически значимых различий в ОВ, БСВ, КЧР получено не было. Статистически значимо наличие ПДХ к дням +180 и +365 в отношении выживаемости и частоты рецидивов (таблица 3).

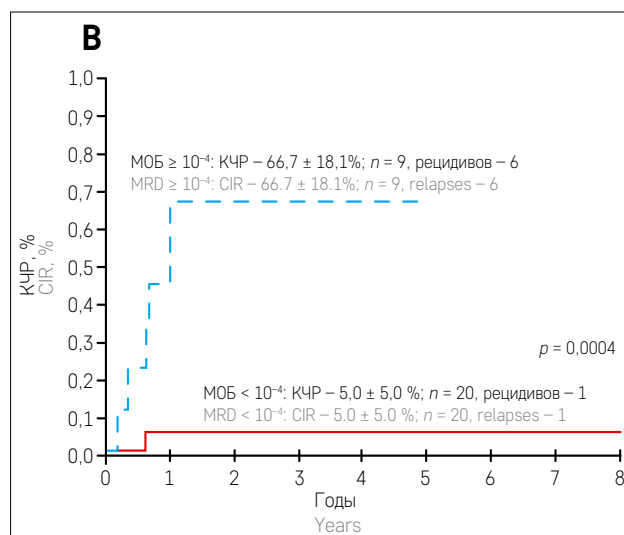
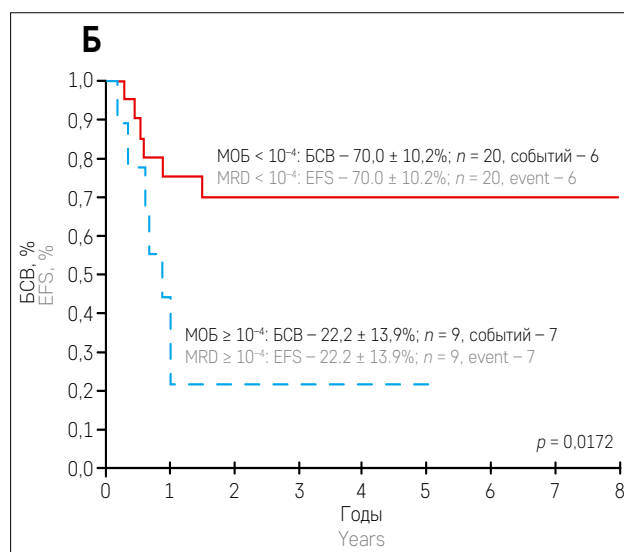
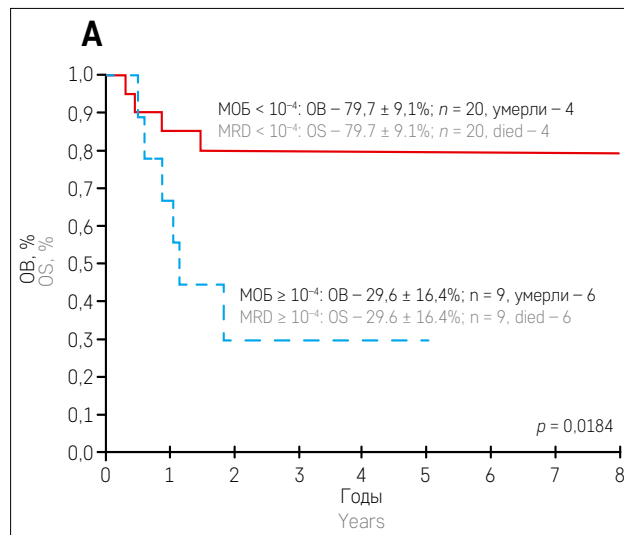
Реципиенты ТГСК ( $n = 2$ ), которые не достигли к этому времени ПДХ или потеряли его, умерли в результате возникновения у них рецидива. Таким образом, в отличие от пациентов с СХ, ОВ, БСВ и КЧР для больных с ПДХ на день +180 ( $n = 31$ ) составили 86,4% ( $p = 0,0040$ ), 74,2% ( $p = 0,0057$ ) и 19,4% ( $p = 0,0019$ ) соответственно, а на день +365 ( $n = 22$ ) – 89,8% ( $p < 0,0001$ ), 81,8% ( $p = 0,0015$ ) и 13,6% ( $p = 0,0002$ ) соответственно.

**Рисунок 1**

ОВ (А), БСВ (Б), КЧР (В) в зависимости от значения МОБ после алло-ТГСК ( $\geq 10^{-4}$  (штриховой пунктир) против  $< 10^{-4}$  (сплошная)) для пациентов ( $n = 29$ ) с +30-го по +365-й день после ТГСК

**Figure 1**

OS (A), EFS (B), CIR (B) according to post-transplant MRD ( $\geq 10^{-4}$  (dash line) vs  $< 10^{-4}$  (solid line)) from day +30 to +365 ( $n = 29$ ).

**Рисунок 2**

ОВ (А), БСВ (Б), КЧР (В) в зависимости от значения ПЦР-химеризма после алло-ТГСК ( $> 99,0\%$  (штриховой пунктир) против  $\leq 99,0\%$  (сплошная)) для пациентов ( $n = 45$ ) с +30-го по +365-й день после ТГСК

**Figure 2**

OS (A), EFS (B), CIR (B) according to post-transplant PCR-chimerism ( $> 99,0\%$  (dash line) vs  $\leq 99,0\%$  (solid line)) from day +30 to +365 ( $n = 45$ ).

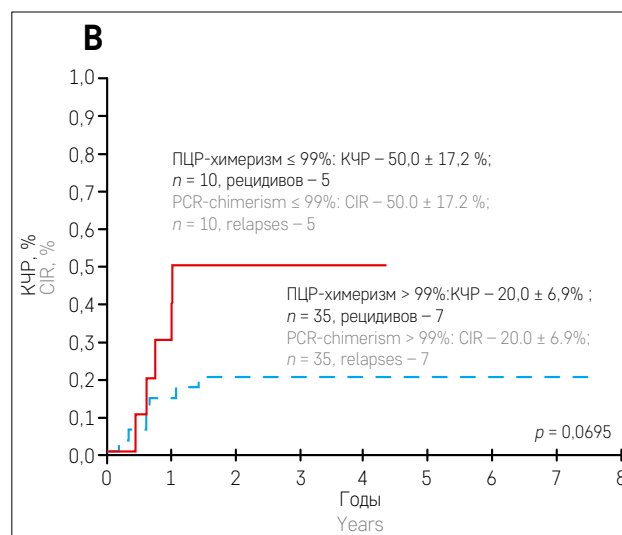
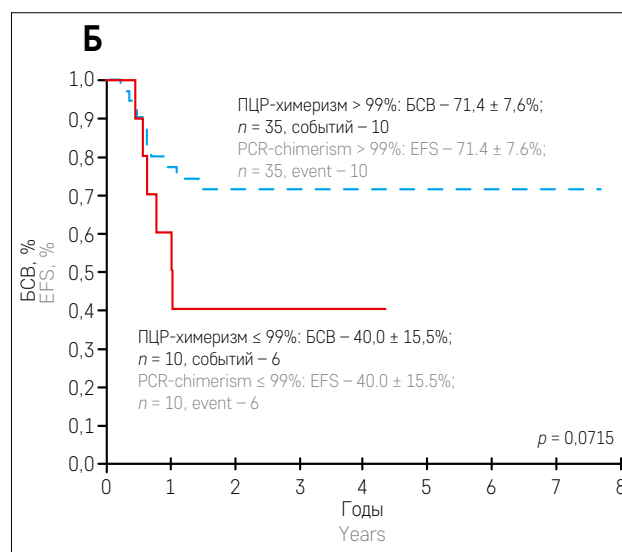
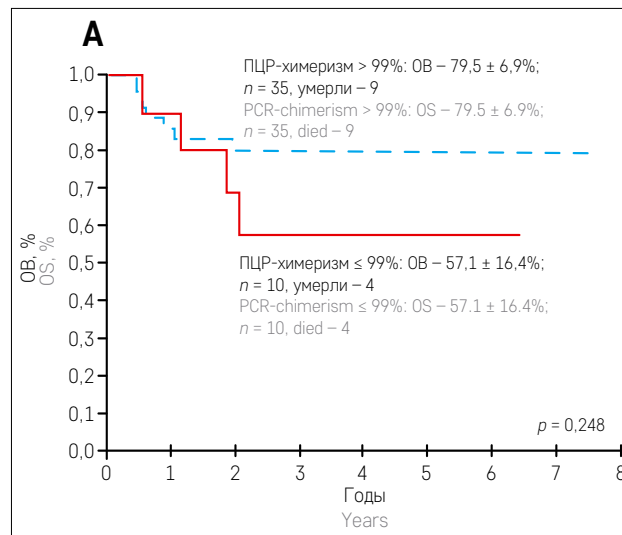


Таблица 3

Исходы в зависимости от значения ПЦР-химеризма ( $> 99,0\%$  против  $\leq 99,0\%$ ) после ТГСК

Table 3

Impact of post-transplant PCR-chimerism ( $> 99,0\%$  vs  $\leq 99,0\%$ ) on patient outcome

Период Point	Значение МОБ MRD value	n	3-летняя КЧР 3-year CIR			3-летняя БСВ 3-year EFS			3-летняя ОВ 3-year OS		
			рецидив, n relapses, n	%	p(F&G)	событие, n events, n	%	p(log-r)	событие, n events, n	%	p(log-r)
День +30 Day +30 n = 42	$\leq 99$	6	4	66,7 $\pm$ 24,1	0,0158*	5	16,7 $\pm$ 15,2	0,0037*	3	44,4 $\pm$ 22,2	0,0815
	$> 99$	36	7	19,4 $\pm$ 6,7		10	72,2 $\pm$ 7,5		7	79,7 $\pm$ 6,9	
День +60 Day +60 n = 32	$\leq 99$	5	2	40,0 $\pm$ 25,0	0,6051	2	60,0 $\pm$ 21,9	0,859	2	53,3 $\pm$ 24,8	0,302*
	$> 99$	27	8	29,6 $\pm$ 9,0		10	63,0 $\pm$ 9,3		6	76,2 $\pm$ 8,6	
День +100 Day +100 n = 39	$\leq 99$	5	2	40,0 $\pm$ 25,0	0,6368	2	60,0 $\pm$ 21,9	0,842	2	60,0 $\pm$ 21,9	0,444
	$> 99$	34	10	29,4 $\pm$ 7,9		12	64,7 $\pm$ 8,2		8	75,2 $\pm$ 7,7	
День +180 Day +180 n = 33	$\leq 99$	2	2	100	0,0019*	2	0	0,0057*	2	0	0,0040*
	$> 99$	31	6	19,4 $\pm$ 7,2		8	74,2 $\pm$ 7,9		4	86,4 $\pm$ 6,4	
День +365 Day +365 n = 24	$\leq 99$	2	2	100	0,0002*	2	0	0,0015*	2	0	$< 0,0001^*$
	$> 99$	22	3	13,6 $\pm$ 7,5		4	81,8 $\pm$ 8,2		2	89,8 $\pm$ 6,9	
После ТГСК (позитивный хотя бы в 1 из исследуемых точек с +30-го по +365-й день) Post-transplant (positive at least in one of investigations points from day +30 to +365) n = 45	$\leq 99$	10	5	50,0 $\pm$ 17,2	0,0695	6	40,0 $\pm$ 15,5	0,0715	4	57,1 $\pm$ 16,4	0,248
	$> 99$	35	7	20,0 $\pm$ 6,9		10	71,4 $\pm$ 7,6		7	79,5 $\pm$ 6,9	

Примечание. \* – различия показателей статистически значимы при  $p < 0,05$ .  
Notes. \* – differences statistically significant when  $p < 0,05$ .

В случае наличия СХ хотя бы в одном из исследуемых образцов КМ с дня +30 по день +365 реципиенты ТГСК имели хуже показатели ОВ (57,1%), БСВ (40,0%) и КЧР (50,0%) в сравнении с пациентами, у которых на протяжении года после ТГСК был ПДХ (рисунки 2).

**Многофакторный анализ.** Модели мультивариантного анализа, проведенные нами для МОБ, ПЦР-химеризма в отношении БСВ, КЧР после ТГСК (таблицы 4 и 5), показывают, что значение МОБ  $\geq 10^{-4}$  у реципиентов хотя бы однократно в течение года после трансплантации увеличивает риск возникновения события, связанного с неблагоприятным исходом (БСВ) в 12,3 раза (95% доверительный интервал (ДИ): 2,33–64,87;  $p = 0,0031$ ), а риск развития рецидива (КЧР) в 50,7 раза (2,5–97,5% ДИ: 1,60–1608,56;  $p = 0,0260$ ) в сравнении с пациентами со значением МОБ  $< 10^{-4}$ . Выше риск развития рецидива после трансплантации и у пациентов с очень ранним и ранним рецидивами перед ТГСК (отношение рисков (ОР) = 0,1; 2,5–97,5% ДИ: 0,02–0,50;  $p = 0,0062$ ). Исследование ПЦР-химеризма в качестве маркера развития рецидива (КЧР), БСВ после ТГСК не показало значимости при проведении мультивариантного анализа.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью работы было проанализировать исходы пациентов с ОЛЛ после алло-ТГСК, прежде всего КЧР, в зависимости от значений МОБ и ПЦР-химеризма. На сегодняшний день, по нашим данным [16], также как и по данным других авторов [17–19], основной проблемой после ТГСК при ОЛЛ являются все еще высокая частота развития рецидивов и смертность от рецидива.

Существует несколько подходов к оценке МОБ. При ОЛЛ ведущим подходом является оценка клональности при изучении перестроек иммунорецепторов (Т- и В-клеточных, TCR и IgH), так как эти перестройки встречаются у подавляющего большинства пациентов (до 95%) [20]. По нашим данным, только для 58% реципиентов ТГСК из исследуемой группы ( $n = 51$ ) была возможность отслеживать МОБ по выявленным реаранжировкам генов TCR или IgH.

Исследование МОБ до ТГСК помогает выделить группу пациентов с высоким риском развития рецидива после трансплантации и уже на этапе подготовки к ней планировать терапевтическую тактику для этих больных. Значение МОБ  $\geq 10^{-4}$  перед ТГСК

не в 100% случаев является маркером развития рецидива в посттрансплантационном периоде. Однако, согласно некоторым исследованиям, частота рецидива для пациентов со значением МОБ  $\geq 10^{-4}$  перед ТГСК значимо больше в сравнении с больными со

Таблица 4

Мультивариантный анализ БСВ для пациентов с ОЛЛ

Table 4

Multivariate analysis of EFS for patients ALL

Параметр Parameter	БСВ EFS		
	ОР HR	95% ДИ 95% CI	P
Значение МОБ после ТГСК: Post-transplant MRD value: < $10^{-4}$ $\geq 10^{-4}$	1 12,30	2,33–64,87	0,0031*
Кондиционирование: Conditioning regimen: TOT/этопозид TBI/VP16 другое# other#	1 5,74	0,58–56,63	0,1349
ПЦР-химеризм после ТГСК: Post-transplant PCR-chimerism: > 99% $\leq 99\%$	1 0,47	0,10–2,34	0,3591
Источник стволовых клеток: Stem cell source: КМ bone marrow ПСК peripheral blood	1 1,25	0,33–4,77	0,7425

Примечание. # – Flu150/Thio10/Mel140/±ATG или Flu150/Mel140/±ATG, или Treo36-42/Flu150/Mel140, или Treo36-42/End120/±ATG, или Bu16/End120/Mel140/±ATG; \* – различия показателей статистически значимы при  $p < 0,05$

Notes. # – Flu150/Thio10/Mel140/±ATG or Flu150/Mel140/±ATG, or Treo36-42/Flu150/Mel140, or Treo36-42/End120/±ATG, or Bu16/End120/Mel140/±ATG; HR – hazard ratio; 95% CI – 95% confidence interval; \* – differences statistically significant when  $p < 0.05$ .

Таблица 5

Мультивариантный анализ КЧР для пациентов с ОЛЛ

Table 5

Multivariate analysis of CIR for patients ALL

Параметр Parameter	КЧР CIR		
	ОР HR	2,5–97,5% ДИ 2.5–97.5% CI	P
Значение МОБ после ТГСК: Post-transplant MRD value: < $10^{-4}$ $\geq 10^{-4}$	1 50,73	1,60–1608,56	0,0260*
Период рецидива до ТГСК: Time relapse before HSCT: поздний late ранний и очень ранний early and very early	1 0,10	0,02–0,50	0,0062*
Хроническая РТПХ: Chronic "graft versus host" disease: да yes нет no	1 0,47	0,21–1,05	0,0660
Значение ПЦР-химеризма после ТГСК: Post-transplant PCR-chimerism: > 99% $\leq 99\%$	1 1,63	0,38–7,00	0,5100

Примечание. \* – различия показателей статистически значимы при  $p < 0,05$ .

Notes. \* – differences statistically significant when  $p < 0.05$ .

значением МОБ  $< 10^{-4}$  и достигает 39–53%, а БСВ после ТГСК – 0–23% [1]. Кроме того, МОБ перед ТГСК, как, впрочем, и после нее, является сильным и, согласно некоторым исследованиям, независимым прогностическим фактором в отношении возврата заболевания [21, 22]. Согласно нашим данным, ОВ и БСВ для пациентов со значением МОБ  $< 10^{-4}$  перед ТГСК составили 83,3% и 71,6% соответственно, а КЧР – 14,3%. При этом показатели БСВ статистически значимо лучше в сравнении с пациентами со значением МОБ  $\geq 10^{-4}$  ( $p = 0,0046$ ). КЧР и ОВ для реципиентов с МОБ  $\geq 10^{-4}$  перед ТГСК также хуже, они составили 50,0% и 37,5% соответственно, хотя нами и не получены статистически значимые различия, что может быть обусловлено небольшой группой пациентов.

Значение МОБ  $\geq 10^{-4}$  уже на ранних этапах после ТГСК – показание к более частому мониторингованию этих пациентов и применению терапевтических мер с целью предотвратить развитие морфологического рецидива. При этом значение МОБ  $\geq 10^{-4}$  к году после ТГСК у пациентов с ОЛЛ, по нашим данным, в 100% случаев приводит к морфологическому рецидиву ( $p = 0,0001$ ), в то время как пациенты со значением МОБ  $< 10^{-4}$  имеют БСВ и ОВ 92,3% ( $p < 0,0001$  и  $p = 0,0008$  соответственно) при отсутствии у них рецидивов. Значение же МОБ  $\geq 10^{-4}$  на любом этапе после ТГСК (хотя бы однократно) в 50,7 раза (2,5–97,5% ДИ: 1,60–1608,56;  $p = 0,0260$ ) увеличивает риск развития рецидива в посттрансплантационном периоде. Работ по исследованию значения МОБ в посттрансплантационном периоде, представленных в литературе, немного, хотя и можно выделить порядка 10 за последние 10–15 лет с числом пациентов 40 и более. Большинство из них согласуются с нашими данными и показывают, что БСВ, безрецидивная выживаемость пациентов после алло-ТГСК значимо хуже у МОБ-положительных пациентов (0–30%), а частота рецидивов выше (50–100%) в сравнении с реципиентами, у которых МОБ  $< 10^{-4}$  [7, 23]. Хотя есть работы, которые не выявили значимости МОБ в отношении исходов после ТГСК [24].

Мониторирование химеризма методом ПЦР позволяет выявить оставшиеся после ТГСК или вновь появившиеся клетки реципиента. Эти клетки могут быть как злокачественные, оставшиеся после ТГСК, так и оставшиеся или вновь появившиеся гематологические клетки реципиента или их смесь. Поэтому оценка химеризма в большей степени отражает реакцию трансплантата, его аллореактивность и является динамически оцениваемым прогностическим фактором, который может помочь предотвратить рецидив, нежели маркером МОБ. Замечено, что пациенты с растущим в динамике СХ имеют выше риск развития рецидива, однако требуют частого

мониторирования образцов КМ реципиентов [25]. Определение же МОБ молекулярными методами описано как более чувствительная и специфичная методика прогнозирования рецидива [26]. Мы проанализировали исходы реципиентов ТГСК в зависимости от наличия СХ в исследуемых контрольных точках и с учетом полученных результатов провели многофакторный анализ влияния различных факторов риска развития рецидива и факторов, влияющих на БСВ, включая значение МОБ и ПЦР-химеризм. Значимо худшие значения КЧР и БСВ отмечены нами у пациентов с СХ в дни  $+30 \pm 10$ ,  $+180 \pm 10$ ,  $+365 \pm 10$  после ТГСК в зависимости от уровня химеризма, что согласуется с различиями в зависимости от значения МОБ в этих точках. Однако использование многофакторного анализа показало, что хотя бы однократное значение  $\text{МОБ} \geq 10^{-4}$  после ТГСК является статистически значимым фактором, оказывающим влияние на БСВ и КЧР, в отличие от СХ, для которого статистической значимости не выявлено.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Прогнозирование развития рецидива после алло-ТГСК, мониторинг пациентов с высоким риском развития рецидива (исходя из факторов риска

развития рецидива дотрансплантационного этапа) имеют большое значение для этих больных в целях как можно более раннего применения существующих терапевтических вмешательств и попытки предотвратить возникновение рецидива. Как показывает наше исследование, МОБ является значимым фактором риска развития рецидива и фактором, оказывающим влияние на выживаемость пациентов с ОЛЛ после алло-ТГСК. Пациенты с  $\text{МОБ} < 10^{-4}$  на этапах перед и после алло-ТГСК имеют статистически значимо лучшие показатели БСВ и КЧР в сравнении с теми, у которых значение  $\text{МОБ} \geq 10^{-4}$ . Использование данного метода позволяет выделить пациентов с высоким риском развития рецидива на ранних этапах после трансплантации.

## ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

## ORCID

**Prudnikov D.V.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7899-3773>

**Mareiko Yu.E.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4172-9466>

**Kirsanova N.P.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3193-4864>

**Minakovskaya N.V.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4814-804X>

**Aleynikova O.V.** ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0143-1921>

## Литература

1. Lambie A., Phelan R., Burke M. When Less Is Good, Is None Better? The Prognostic and Therapeutic Significance of Peri-Transplant Minimal Residual Disease Assessment in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Med* 2017; 6 (7). pii: E66. DOI: 10.3390/jcm6070066
2. Pulsipher M.A., Langholz B., Wall D.A., Schultz K.R., Bunin N., Carroll W., et al. Risk Factors and Timing of Relapse after Allogeneic Transplantation in Pediatric ALL: For Whom and When should Interventions be Tested? *Bone Marrow Transplant* 2015; 50 (9): 1173–9. DOI: 10.1038/bmt.2015.103
3. Leung W., Pui C.H., Coustan-Smith E., Yang J., Pei D., Gan K., et al. Detectable minimal residual disease before hematopoietic cell transplantation is prognostic but does not preclude cure for children with very-high-risk leukemia. *Blood* 2012; 120 (2): 468–72. DOI: 10.1182/blood-2012-02-409813
4. Bader P., Kreyenberg H., Henze G.H., Eckert C., Reising M., Willasch A., et al. Prognostic value of minimal residual disease quantification before allogeneic stem-cell transplantation in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia: the ALL-REZ BFM Study Group. *J Clin Oncol* 2009; 27 (3): 377–84. DOI:10.1200/JCO.2008.17.6065
5. Wayne A.S., Radich J.P. Pretransplant MRD: the light is yellow, not red. *Blood* 2012; 120 (2): 244–46. DOI: 10.1182/blood-2012-05-427443
6. Pulsipher M.A., Bader P., Klingebiel T., Cooper L.J. Allogeneic transplantation for pediatric acute lymphoblastic leukemia: the emerging role of peritransplantation minimal residual disease/chimerism monitoring and novel chemotherapeutic, molecular, and immune approaches aimed at preventing relapse. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; 15 (1 Suppl): 62–71. DOI:10.1016/j.bbmt.2008.11.009
7. Pulsipher M.A., Carlson C., Langholz B., Wall D.A., Schultz K.R., Bunin N., et al. IgH-V(D)J NGS-MRD measurement pre- and early post-allotransplant defines very low- and very high-risk ALL patients. *Blood* 2015; 125 (22): 3501–8. DOI: 10.1182/blood-2014-12-615757
8. Athale U.H., Gibson P.J., Bradley N.M., Malkin D.M., Hitzler J.; POGO MRD Working Group. Minimal Residual Disease and Childhood Leukemia: Standard of Care Recommendations From the Pediatric Oncology Group of Ontario MRD Working Group. *Pediatr Blood Cancer* 2016; 63 (6): 973–82. DOI: 10.1002/pbc.25939
9. Pulsipher M.A., Wayne A.S., Schultz K.R. New frontiers in pediatric Allo-SCT: novel approaches for children and adolescents with ALL. *Bone Marrow Transplant* 2014; 49 (10): 1259–65. DOI: 10.1038/bmt.2014.114

10. Clark J.R., Scott S.D., Jack A.L., Lee H., Mason J., Carter G.I., et al.; United Kingdom National External Quality Assessment Service for Leucocyte Immunophenotyping Chimerism Working Group. Monitoring of chimerism following allogeneic haematopoietic stem cell transplantation (HSCT). *Br J Haematol* 2015; 168 (1): 26–37. DOI: 10.1111/bjh.13073
11. Gooley T.A., Leisenring W., Crowley J., Storer B.E. Estimation of failure probabilities in the presence of competing risks: new representations of old estimators. *Stat Med* 1999; 18 (6): 695–706.
12. Gray R. A class of K-sample tests for comparing the cumulative incidence of a competing risk. *Ann Stat* 1998; 16 (3): 1140–54.
13. Kaplan E., Meier P. Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. *J Am Stat Associat* 1958; 53 (282): 457–81.
14. Прудников Д.В., Янушкевич П.Г., Исайкина Я.И., Минаковская Н.В., Алейникова О.В. Факторы риска развития рецидивов после аллогенной трансплантации у детей, подростков и молодых взрослых с острым лимфобластным лейкозом. *Российский журнал детской гематологии и онкологии. Сборник материалов в рамках X Конгресса НОДГО «Актуальные вопросы и перспективы развития детской гематологии-онкологии в Российской Федерации», 25–27 апреля 2019 г. Абстракт №Р-123.*
15. Cox D.R. Regression models and life tables (with discussion) *J Royal Stat Society* 1972; 34 (2): 187–220.
16. Прудников Д.В., Кирсанова Н.П., Марейко Ю.Е., Минаковская Н.В., Алейникова О.В. Результаты трансплантации гемопоэтических стволовых клеток при остром лимфобластном лейкозе у детей, подростков и молодых взрослых в Республике Беларусь. *Педиатрия* 2019; 98 (4): 14–22.
17. Peters C., Schrappe M., von Stackelberg A., Schrauder A., Bader P., Ebell W., et al. Stem-cell transplantation in children with acute lymphoblastic leukemia: A prospective international multicenter trial comparing sibling donors with matched unrelated donors – The ALL-SCT-BFM-2003 trial. *J Clin Oncol* 2015; 33 (11): 1265–74. DOI: 10.1200/JCO.2014.58.9747
18. Burke M.J., Verneris M.R., Le Rademacher J., He W., Abdel-Azim H., Abraham A.A., et al. Transplant Outcomes for Children with T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia in Second Remission: A Report of the CIBMTR. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21 (12): 2154–9. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.08.023
19. Fagioli F., Quarello P., Zecca M., Lanino E., Rognoni C., Balduzzi A., et al. Hematopoietic stem cell transplantation for children with high-risk acute lymphoblastic leukemia in first complete remission: a report from the AIEOP registry. *Haematologica* 2013; 98 (8): 1273–81. DOI: 10.3324/haematol.2012.079707
20. Schrappe M. Minimal residual disease: optimal methods, timing, and clinical relevance for an individual patient. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012; 2012: 137–42. DOI: 10.1182/asheducation-2012.1.137
21. Balduzzi A., Di Maio L., Silvestri D., Songia S., Bonanomi S., Rovelli A., et al. Minimal residual disease before and after transplantation for childhood acute lymphoblastic leukaemia: Is there any room for intervention? *Br J Haematol* 2014; 164 (3): 396–408. DOI: 10.1111/bjh.12639
22. Eckert C., Hagedorn N., Sramkova L., Mann G., Panzer-Grumayer R., Peters C., et al. Monitoring minimal residual disease in children with high-risk relapses of acute lymphoblastic leukemia: Prognostic relevance of early and late assessment. *Leukemia* 2015; 29 (8): 1648–55. DOI: 10.1038/leu.2015.59
23. Bader P., Kreyenberg H., von Stackelberg A., Eckert C., Salzmann-Manrique E., Meisel R., et al. Monitoring of minimal residual disease after allogeneic stem-cell transplantation in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia allows for the identification of impending relapse: Results of the all-bfm-sct 2003 trial. *J Clin Oncol* 2015; 33 (11): 1275–84. DOI: 10.1200/JCO.2014.58.4631
24. Imashuku S., Terui K., Matsuyama T., Asami K., Tsuchiya S., Ishii E., et al.; multi-institutional collaborative study in Japan. Lack of clinical utility of minimal residual disease detection in all ogenic stem cell recipients with childhood acute lymphoblastic leukemia: Multi-institutional collaborative study in Japan. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31 (12): 1127–35.
25. Bader P., Kreyenberg H., Hoelle W., Dueckers G., Handgretinger R., Lang P., et al. Increasing mixed chimerism is an important prognostic factor for unfavorable outcome in children with acute lymphoblastic leukemia after allogeneic stem-cell transplantation: possible role for pre-emptive immunotherapy? *J Clin Oncol* 2004; 22 (9): 1696–705.
26. Terwey T.H., Hemmati P.G., Nagy M., Pfeifer H., Gökbüget N., Brüggemann M., et al. Comparison of chimerism and minimal residual disease monitoring for relapse prediction after allogeneic stem cell transplantation for adult acute lymphoblastic leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014; 20 (10): 1522–9. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.05.026