

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-4-79-89

Цитометрическое и цитоморфологическое определение достижения ремиссии у детей с В-линейным острым лимфобластным лейкозом

А.М. Попов¹, Г.А. Цаур^{2,4}, Ю.В. Румянцева^{1,5}, О.И. Быданов¹, Т.Ю. Вержбицкая^{2,3}, Л.В. Мовчан⁶, Е.В. Михайлова¹, О.И. Илларионова¹, М.В. Белевцев⁶, С.Н. Лагойко¹, Л.И. Жарикова^{1,5}, Ж.В. Пермикин^{2,4}, Н.В. Мякова¹, Д.В. Литвинов^{1,5}, О.П. Хлебникова², О.В. Стренева^{2,3}, О.Р. Аракаев², Е.А. Столярова⁶, Л.А. Хачатрян¹, Н.И. Пономарева⁷, О.В. Алёникова¹, Л.Г. Фечина^{2,3}, Г.А. Новичкова¹, А.И. Карачунский^{1,5}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

²ГАОУ СО «Областная детская клиническая больница», Екатеринбург

³ГАОУ СО «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург

⁴ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург

⁵ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

⁶ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», Республика Беларусь, Минск

⁷Российская детская клиническая больница – филиал ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Достижение клинико-гематологической ремиссии по окончании индукционной терапии при остром лимфобластном лейкозе (ОЛЛ) у детей традиционно считается ключевым показателем оценки эффективности проводимого лечения. Цель исследования – определение ремиссии с помощью многоцветной проточной цитометрии и цитоморфологического исследования костного мозга (КМ) после окончания индукционной терапии у детей с В-линейным ОЛЛ. Настоящее исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. В работу были включены пациенты исследований «ОЛЛ-МБ 2008» и «ОЛЛ-МБ 2015», которым одновременно проводились цитоморфологическое исследование КМ и цитометрическое определение минимальной остаточной болезни (МОБ) на момент окончания индукционной терапии. Критериями достижения ремиссии были приняты < 5% бластов в КМ и МОБ < 1% для цитологического и цитометрического исследований соответственно. В исследуемую группу включены 1498 детей в возрасте от 1 года до 18 лет (медиана возраста 4 года 11 месяцев) с ОЛЛ из В-линейных предшественников. Итоговая сопоставимость методов проточной цитометрии и цитоморфологического исследования КМ составила 96,1% (1440 из 1498 пациентов). У 36 (2,4%) детей при уровне МОБ \geq 1% был определен М1-статус КМ, а у 22 (1,5%) пациентов с М2/М3-картиной КМ величина МОБ была < 1%. Результаты терапии оценивали у 522 пациентов исследования «ОЛЛ-МБ 2008». Дети с М2/М3-статусом КМ, как и с МОБ \geq 1%, демонстрировали значительно худшие результаты терапии по сравнению с достигшими ремиссии пациентами. Наличие хотя бы 1 из 2 указанных параметров позволило выделить группу из 23 (4,4%) детей, которые имели крайне низкие показатели выживаемости: бессобытийная выживаемость 34,9% (стандартная ошибка 11,0), кумулятивная частота рецидивов 56,4% (стандартная ошибка 12,0). Проточная цитометрия и цитологическое исследование КМ на 36-й день терапии должны быть использованы вместе для определения статуса достижения ремиссии. Соответственно, высокое количество опухолевых клеток, определенное любым из данных методов, является основанием для констатации неудачи индукции. Цитометрическое определение МОБ на момент окончания индукции должно быть интегрировано в любой современный протокол терапии как обязательный этап итоговой стратификации пациентов на группы риска. Учитывая важность результатов определения МОБ, оно должно проводиться только в централизованном формате в рамках референсной лабораторной группы.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, ремиссия, проточная цитометрия, минимальная остаточная болезнь

Попов А.М. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023; 22 (4): 79–89.
DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-4-79-89

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 30.08.2023
Принята к печати 29.09.2023

Контактная информация:

Попов Александр Михайлович,
канд. мед. наук, заведующий лабораторией
иммунофенотипирования гемобластозов
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: uralcytometry@gmail.com

© 2023 by «D. Rogachev NMRCPhOI»

Received 30.08.2023

Accepted 29.09.2023

Flow cytometric and cytomorphological definition of remission achievement in children with B-lineage acute lymphoblastic leukemia

A.M. Popov¹, G.A. Tsaur²⁻⁴, Yu.V. Rumiantseva¹⁻⁵, O.I. Bydanov¹, T.Yu. Verzhbitskaya²⁻³, L.V. Movchan⁶, E.V. Mikhailova¹, O.I. Illarionova¹, M.V. Belevtsev⁶, S.N. Lagoyko¹, L.I. Zharikova¹⁻⁵, Zh.V. Permikin^{2,4}, N.V. Myakova¹, D.V. Litvinov¹⁻⁵, O.P. Khlebnikova², O.V. Strenева²⁻³, O.R. Arakaev², E.A. Stolyarova⁶, L.A. Khachatryan¹, N.I. Ponomareva⁷, O.V. Aleinikova¹, L.G. Fechina²⁻³, G.A. Novichkova¹, A.I. Karachunskiy¹⁻⁵

¹Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

²Regional Children's Clinical Hospital, Yekaterinburg

³Institute of Medical Cell Technologies, Yekaterinburg

⁴Ural State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Yekaterinburg

⁵N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

⁶Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, the Republic of Belarus, Minsk

⁷Russian Children's Clinical Hospital of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Correspondence:

Alexander M. Popov,

Cand. Med. Sci., Head of Leukemia Immunophenotyping Laboratory at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation
Address: 1 Samoy Mashela St., Moscow 117997, Russia
E-mail: uralcytometry@gmail.com

The achievement of remission at the end of induction (EOI) chemotherapy in patients with acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the key parameter of treatment effectiveness evaluation. The aim of the study – defining complete remission by multicolor flow cytometry (MFC) and bone marrow (BM) cytomorphology (CM) at the EOI chemotherapy in children with B-lineage ALL. The study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology. The study included patients of "ALL-MB 2008" and "ALL-MB 2015" trials for whom minimal residual disease (MRD) was evaluated by MFC at the EOI simultaneously with CM BM investigation. Less than 5% blasts in BM and MRD < 1% were established as the remission achievement criteria for CM and MFC respectively. The study group included 1498 children aged from 1 to 18 years (median age was 4 years and 11 months) with B-cell precursor ALL. The overall concordance of MFC and CM was found to be 96.1% (1440 of 1498 patients). In 36 (2.4%) children with MRD ≥ 1%, M1 BM status was observed. In contrast, in 22 (1.5%) patients with M2/M3 BM status by CM, MRD value was below 1%. Treatment outcome was analyzed in 522 patients of "ALL-MB 2008" trial. Children with M2/M3 BM, as well as with MRD ≥ 1% demonstrated dramatically inferior outcome, in comparison to those who achieved remission. The presence of at least one of the mentioned criteria (M2/M3 status by CM or MRD ≥ 1% by MFC) defined a group of 23 (4.4%) patients with very low event-free survival (34.9%, standard error 11.0%) and very high cumulative incidence of relapse (56.4%, standard error 12.0%). For the evaluation of remission achievement, MFC and CM should be applied simultaneously at the EOI. High leukemic burden found by any of these methods is the clear definition of induction failure. MRD detection at the EOI should be implemented in any modern treatment protocol as an obligatory stage of treatment response monitoring and final risk group stratification. Considering the crucial importance of the MRD detection results, this study must be performed only in the reference laboratories of the study groups.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, remission, flow cytometry, minimal residual disease

Popov A.M., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (4): 79–89.

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-4-79-89

Достижение клинко-гематологической ремиссии по окончании индукционной терапии при остром лимфобластном лейкозе (ОЛЛ) у детей традиционно считается ключевым показателем эффективности проводимого лечения и индикатором достаточной чувствительности опухолевых клеток к применяемой комбинации химиопрепаратов [1–4]. Классическое определение ремиссии ОЛЛ включает в себя количество бластных клеток в костном мозге (КМ) менее 5% (так называемый M1-статус КМ), отсутствие экстрамедуллярных очагов лейкемии и восстановление гемопоэза [1, 3, 5]. При этом чаще всего для оценки количества бластов применяется световая микроскопия мазков КМ [3, 5]. При отсутствии ремиссии (M2/M3-статус КМ) по окончании индукционной фазы протокола терапии пациенты облигатно продолжают лечение в группе высокого риска, хотя прогноз при этом все равно остается крайне неблагоприятным [1–3]. Отсутствие клинко-морфологической ремиссии после интенсивной терапии по программе для высокого риска (как правило, 6–8 нед или 3–4 интенсивных терапевтических элемента в зависимости от протокола) заставляло определять этих пациентов как рефрактерных к терапии (non-responder). Эта группа больных отличалась крайне неблагоприятным прогнозом.

В то же время развитие высокочувствительных диагностических технологий (многоцветная проточная цитометрия и молекулярные методы исследования) определения минимальной остаточной болезни (МОБ) [6] существенно изменило представление о достижении ремиссии при ОЛЛ. Международные мультицентровые исследования с применением технологий определения МОБ на большом числе больных [7, 8] показали, что, обладая существенно большими чувствительностью и специфичностью, по сравнению с микроскопией мазков костного мозга [6, 9], технологии определения МОБ поставили под сомнение эффективность цитоморфологического определения количества бластов в КМ как ключевого метода оценки ответа опухоли на проводимую терапию [7, 8], существенно дополняя и корректируя оценку статуса достижения ремиссии при помощи более традиционных лабораторных методов.

Известно, что самым важным фактором риска при лечении лейкемии является сама терапия, поскольку при ее отсутствии летальность составляет 100%. Тип терапии также влияет на определение статуса ремиссии с помощью современных высокочувствительных методов анализа МОБ, в частности на скорость клиренса лейкемических клеток в КМ. Современные западные протоколы лечения ОЛЛ

отличаются высокой интенсивностью химиотерапии, и клиренс лейкемических клеток при их применении хорошо изучен [6, 10]. Особняком стоят программы лечения ОЛЛ российской мультицентровой исследовательской научно-клинической группы «Москва–Берлин» [11], поскольку они создавались как протоколы со сниженной интенсивностью лечения в целях уменьшения токсичности [12–15] и по своему дизайну значительно отличались от хорошо известных западных программ терапии [11]. С 2008 г. в рамках исследования «ОЛЛ-МБ 2008» [16], а затем «ОЛЛ-МБ 2015» [17] в группе «Москва–Берлин» определение МОБ методом проточной цитометрии стало проводиться на регулярной основе. Его результаты являются предметом анализа в данной статье.

Цель исследования – определение ремиссии с помощью многоцветной проточной цитометрии и цитоморфологического исследования КМ после окончания индукционной терапии у детей с В-линейным ОЛЛ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящее исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

Пациенты

В исследуемую группу включали детей с ОЛЛ при соблюдении следующих критериев:

- ОЛЛ из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ), подтвержденный в референс-лаборатории исследования;
- возраст от 1 года до 18 лет;
- терапия по протоколу «ОЛЛ-МБ 2008» или «ОЛЛ-МБ 2015»;
- соблюдение всех правил участия в исследованиях «ОЛЛ-МБ 2008» или «ОЛЛ-МБ 2015» (исследуемые пациенты);
- определение МОБ на момент окончания индукционной терапии в одной из лабораторий, включенных в российско-белорусскую кооперативную группу по диагностике острых лейкозов у детей [16, 18, 19];
- проведение цитоморфологического исследования КМ в той же точке наблюдения;
- отсутствие хромосомных aberrаций высокого цитогенетического риска.

Так как ключевой задачей определения достижения ремиссии является перевод в группу высокого риска больных, не достигших ремиссии, пациенты, изначально попадавшие в группу высокого риска по причине выявления хромосомных aberrаций, относящихся к группе высокого цитогенетического риска [20], были исключены из исследования. В то же время группа пациентов с высоким иници-

альным лейкоцитозом (более $100 \times 10^9/\text{л}$), несмотря на неблагоприятный прогноз в целом [21], продемонстрировала свою крайнюю неоднородность [21], поэтому из данного исследования такие пациенты не исключались. Всем больным проводились диагностические цитоморфологическое, иммунофенотипическое, цитогенетическое и молекулярно-генетическое исследования согласно стандартам группы «Москва–Берлин» [19, 22].

Протокол терапии

Стратификация на группы риска протокола «ОЛЛ-МБ 2008» детально описана нами ранее [15, 21, 23, 24]. В исследовании «ОЛЛ-МБ 2008» пациенты с ВП-ОЛЛ стратифицировались в группу стандартного риска при соблюдении всех следующих условий: инициальный лейкоцитоз менее $30 \times 10^9/\text{л}$, размер селезенки менее 4 см от края реберной дуги, нет поражения центральной нервной системы (ЦНС) (статус ЦНС-3), отсутствие транслокации $t(4;11)(q21;q23)/KMT2A::AFF1$ или $t(9;22)(q34;q11)/BCR::ABL1$ [24, 25]. Пациенты с инициальным лейкоцитозом менее $100 \times 10^9/\text{л}$, не имеющие данных цитогенетических aberrаций, но не соответствующие критериям группы стандартного риска, были стратифицированы в группу промежуточного риска [23]. Наконец, дети с лейкоцитозом более $100 \times 10^9/\text{л}$ и/или с указанными цитогенетическими aberrациями получали терапию по программе группы высокого риска [15, 21]. В эту группу также рестратифицировались по окончании индукции все пациенты, не достигшие клинко-гематологической ремиссии. В протоколе «ОЛЛ-МБ 2015» как таковой стратификации на группы риска не было, пациенты разделялись на несколько так называемых терапевтических групп [26], однако данное разделение для ВП-ОЛЛ было практически полностью основано на системе стратификации протокола «ОЛЛ-МБ 2008» с выделением в отдельную группу детей старше 15 лет и пациентов с транслокацией $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ [26]. Индукционная и последующая терапия протоколов «ОЛЛ-МБ 2008» и «ОЛЛ-МБ 2015» детально описаны ранее [15, 26, 27].

Исследования на момент окончания индукционной терапии

На момент окончания индукционной терапии (36-й день) проводилось стандартное цитоморфологическое исследование мазков пунктата КМ с подсчетом относительного количества бластов. Статус КМ определялся как М1 (< 5% бластов в КМ), М2 (количество бластов $\geq 5\%$, но < 25% в КМ) или М3 ($\geq 25\%$ бластов в КМ) [28]. Поскольку только М1-статус соответствует клинко-гематологической ремиссии, то пациенты по результатам цитоморфоло-

гического исследования КМ разделялись на 2 группы: М1 и М2/М3. Определение МОБ на 36-й день терапии проводили методом проточной цитометрии по ранее описанной методике [16, 17]. Образцы КМ считали МОБ-позитивными при величине МОБ $\geq 0,001\%$. Количественно величины МОБ разделялись по 10-кратной шкале: $\geq 0,001\%$, $\geq 0,01\%$, $\geq 0,1\%$, $\geq 1\%$, $\geq 10\%$. Соответствующим достижению клинико-гематологической ремиссии был установлен уровень МОБ $< 1\%$ [5, 29].

Статистический анализ

Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение R-statistics. Для качественного сравнения результатов определения количества опухолевых клеток, определенного разными методами, применяли критерий χ^2 с поправкой Йетса. Анализ выживаемости проводился только среди пациентов, получавших терапию по протоколу «ОЛЛ-МБ 2008», поскольку только у них период наблюдения соответствовал этой задаче. Результаты терапии оценивали в 522 случаях (4 пациента, получивших трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) в первой ремиссии, были исключены из анализа) по кривым бессобытийной выживаемости (БСВ), построенным по методу Каплана–Майера [30], а также по кумулятивной частоте развития рецидива (КЧР). При расчете БСВ под событиями понимали рецидив, смерть вследствие любой причины как первое событие, вторую опухоль. Для сравнения кривых использовали непараметрические критерий log-rank (для БСВ) и критерий Грея (для КЧР) [31]. Стандартную ошибку рассчитывали по формуле Гринвуда. Для сравнения частоты рецидивов у пациентов, не достигших ремиссии по данным разных методов исследования, использовали точный критерий Фишера. Все различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследуемая группа

В исследуемую группу были включены 1498 детей в возрасте от 1 года до 18 лет (медиана возраста 4 года 11 месяцев) с ВП-ОЛЛ, у которых проводилось определение МОБ на момент окончания индукционной терапии одновременно с цитоморфологическим исследованием КМ. Из этого числа 526 пациентов получали терапию с января 2008 г. по ноябрь 2014 г. по протоколу «ОЛЛ-МБ 2008» и были включены в пилотное исследование по мониторингу МОБ [16], так как лечились в клиниках, аффилированных с лабораториями, составляющими российско-белорусскую кооперативную группу по диагностике острых лейкозов у детей [16–19]. Остальные 972 пациента получали терапию в клиниках Российской Федерации

по протоколу «ОЛЛ-МБ 2015» после начала централизованного мониторинга МОБ в рамках исследования «ОЛЛ-МБ 2015» в период с января 2020 г. по декабрь 2022 г. Краткая характеристика пациентов представлена в таблице.

Сопоставление результатов двух методов

Результаты прямого сопоставления величины МОБ на 36-й день терапии и статуса КМ по данным цитоморфологического исследования представлены на рисунке 1А. Из всех 1498 пациентов в исследуемой группе 38 (2,5%) детей имели М2/М3-статус КМ, в то время как остальные 1460 – М1-статус. В то же время у 52 (3,5%) из 1498 детей определялась МОБ $\geq 1\%$. Шестнадцать (1,1%) пациентов имели М2/М3-статус КМ и МОБ $\geq 1\%$, а 1424 (95,0%) – достигли ремиссии по данным обоих методов исследования. Среди них 455 (31,9%) человек сохраняли МОБ на уровне от 0,001 до 1%. Таким образом, итоговая сопоставимость результатов определения статуса ремиссии методом проточной цитометрии и цитоморфологического исследования КМ составила 96,1% (1440 из 1498 пациентов). В то же время у 36 (2,4%) детей при уровне МОБ $\geq 1\%$ был определен М1-статус КМ. С другой стороны, у 22 (1,5%) пациентов с М2/М3-картиной КМ величина МОБ была $< 1\%$, а у 14 (0,9%) из них МОБ не определялась вообще. Сопоставимость двух методов подтверждения достижения ремиссии была практически одинаковой ($p = 0,601$) при сравнении протоколов «ОЛЛ-МБ 2008» (96,6%, рисунок 1Б) и «ОЛЛ-МБ 2015» (95,9%, рисунок 1В), несмотря на то, что в исследовании «ОЛЛ-МБ 2015» цитологическое исследование проводилось в локальных лабораториях, а в пилотном исследовании в рамках «ОЛЛ-МБ 2008» – в лабораториях, включенных позднее в референсную группу.

Среди 52 пациентов с МОБ $\geq 1\%$ у 22 определялась МОБ $\geq 5\%$, что эмпирически представляется более точно сопоставимым с цитологическими критериями достижения ремиссии. Двенадцать из этих 22 пациентов имели М2/М3-статус КМ. Среди остальных 30 пациентов с уровнем МОБ между 1% и 5% только 4 человека имели М2/М3-статус КМ ($p = 0,002$).

Влияние достижения ремиссии на исход острого лимфобластного лейкоза из В-линейных предшественников

БСВ и КЧР пациентов исследования «ОЛЛ-МБ 2008» ($n = 522$), достигших и не достигших ремиссии по данным разных методов исследования, представлены на рисунке 2. Дети с М1-статусом КМ на 36-й день терапии имели существенно лучшие результаты лечения (БСВ 92,5% (стандартная ошибка (СО) 1,2), КЧР 5,3% (СО 1,0)), чем дети с М2/М3-статусом ($n = 11$, БСВ 45,5% (СО 13,4), КЧР

45,5% (СО 12,3), рисунок 2А). В то же время высокий уровень МОБ ($\geq 1\%$) выделял несколько большую группу пациентов ($n = 16$) с еще более негативным прогнозом (БСВ 25,1% (СО 10,8), КЧР 62,5% (СО 13,8), рисунок 2Б)). Однако и группа пациентов с МОБ $< 1\%$ ($n = 506$) имела несколько худшие показатели выживаемости (БСВ 89,0% (СО 1,4), КЧР 9,1% (СО 1,3)), чем группа пациентов с М1-статусом КМ. Лишь у 4 пациентов отсутствие ремиссии на 36-й день терапии было установлено обоими методами исследования. При этом частота рецидивов у этих пациентов существенно не отличалась от таковой у 7 пациентов с М2/М3-статусом КМ, имевших МОБ $< 1\%$ (рисунок 3А). В то же время и частота рецидивов у 12 пациентов с высоким уровнем МОБ, но М1-статусом КМ оказалась настолько же высокой

(рисунок 2Б). Не было существенной разницы и в частоте рецидивов у пациентов с МОБ $\geq 5\%$ и тех, у кого МОБ была менее 5%, но превышала 1% (рисунок 3Б). С учетом того, что каждый из использованных методов выявлял относительно отдельную группу пациентов с очень плохим прогнозом, целесообразным представляется объединение двух данных критериев для выявления пациентов, не достигших ремиссии к окончанию индукционной терапии: М2/М3-статус КМ или МОБ $\geq 1\%$. Наличие хотя бы одного из двух указанных параметров позволило выделить группу из 23 (4,4%) детей, которые имели крайне низкие показатели выживаемости – БСВ 34,9% (СО 11,0), КЧР 56,4% (СО 12,0), что было существенно хуже, чем у пациентов с М1-статусом КМ и МОБ $< 1\%$ (БСВ 89,2% (СО 1,4) и КЧР 8,8% (СО 1,3), рисунок 2В).

Таблица

Краткая характеристика пациентов, включенных в исследование

Table

Brief characteristics of the patients included in the study

Параметр Parameter		n	%
Всего пациентов Total number of patients		1498	100
Пол Sex	Мальчики Boys	811	54,1
	Девочки Girls	687	45,9
Возраст, годы Age, years	< 10	1223	81,6
	≥ 10	275	18,4
Инициальный лейкоцитоз, $\times 10^9/\text{л}$ Initial white blood cell count, $\times 10^9/\text{L}$	< 50	1266	84,5
	≥ 50	232	15,5
Протокол терапии Treatment protocol	«ОЛЛ-МБ 2008» ALL-MB 2008	526	35,1
	«ОЛЛ-МБ 2015» ALL-MB 2015	972	64,9
Инициальная группа риска (по протоколу «ОЛЛ-МБ 2008») Initial risk group (according to the ALL-MB 2008 protocol)	Стандартная Standard	820	57,7
	Промежуточная Intermediate	579	41,6
	Высокая High	99	6,6
Стероидный ответ* Steroid response*	Хороший Good	1431	95,5
	Плохой Poor	41	2,8
	Нет данных No data	26	1,7
Статус КМ на 15-й день терапии** Bone marrow (BM) status on day 15 of treatment**	М1	1218	81,3
	М2	169	11,3
	М3	95	6,3
	Нет данных No data	16	1,1
Транслокация (12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1 (12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1 translocation	Есть Yes	364	24,3
	Нет No	1124	75,0
	Нет данных No data	10	0,7
Инициальное поражение ЦНС (статус ЦНС-3) Initial central nervous system (CNS) involvement (CNS 3 status)	Есть Yes	44	2,9
	Нет No	1452	97,0
	Нет данных No data	2	0,1

Примечание. * – плохой стероидный ответ: ≥ 1000 бластов в 1 мкл периферической крови на 8-й день терапии; ** – М1-статус КМ – менее 5% бластов; М2-статус КМ – количество бластов от 5 до 25%; М3-статус КМ – более 25% бластов.
Note. * – poor steroid response: ≥ 1000 blasts in 1 μL of peripheral blood on day 8 of treatment; ** – M1 BM status – less than 5% blasts; M2 BM status – blast count ranges from 5 to 25%; M3 BM status – more than 25% blasts.

Прогностическое значение минимальной остаточной болезни у пациентов, достигших ремиссии

Среди 499 пациентов, достигших ремиссии на 36-й день терапии по данным обоих методов исследования (M1-статус КМ и МОБ < 1%), у 219 человек была обнаружена МОБ в диапазоне значений

от 0,001 до 1%. При этом у 47 (9,4%) пациентов уровень МОБ превышал 0,1%, что считается наиболее значимым неблагоприятным пороговым значением на 36-й день терапии для протокола «ОЛЛ-МБ 2008» [15]. Эти пациенты имели крайне неблагоприятный прогноз – БСВ 63,8% (СО 7,0), КЧР 34,0% (СО 7,0),

Рисунок 1

Прямое сопоставление величины МОБ на 36-й день терапии и статуса КМ по данным цитоморфологического исследования (M1 против M2/M3)

А – вся исследуемая группа ($n = 1498$); Б – пациенты исследования «ОЛЛ-МБ 2008» ($n = 526$); В – пациенты исследования «ОЛЛ-МБ 2015» ($n = 972$). Красной пунктирной линией показаны пороговые уровни МОБ-позитивности (0,001%) и цитометрического определения ремиссии (1%)

Figure 1

A direct comparison of two values: minimal residual disease (MRD) on day 36 of treatment and BM status according to the findings of cytomorphological examination (M1 versus M2/M3)

A – whole study group ($n = 1498$); Б – patients of the ALL MB 2008 trial ($n = 526$); В – patients of the ALL MB 2015 trial ($n = 972$). The red dashed line shows the threshold levels of MRD positivity (0.001%) and cytometric definition of remission (1%)

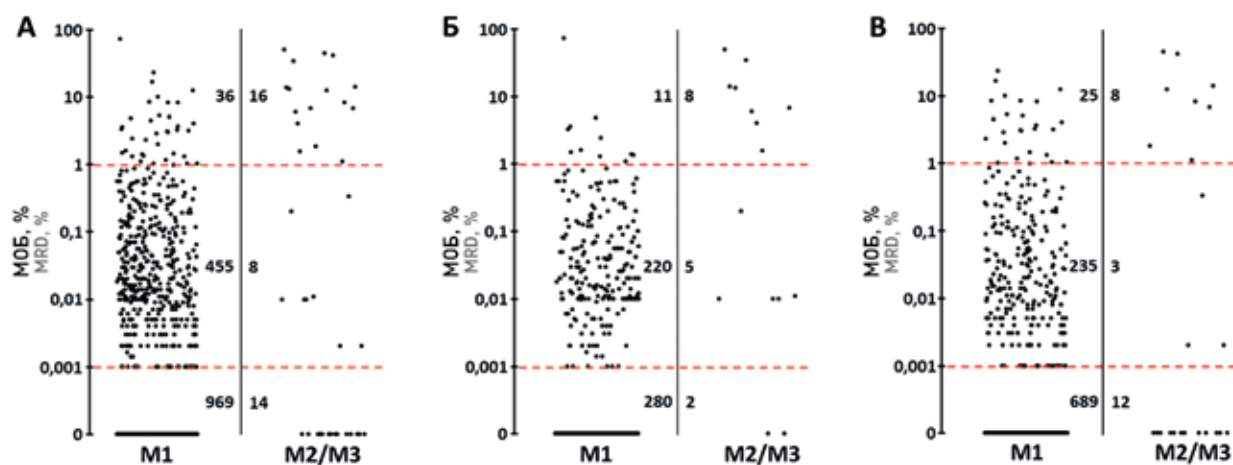


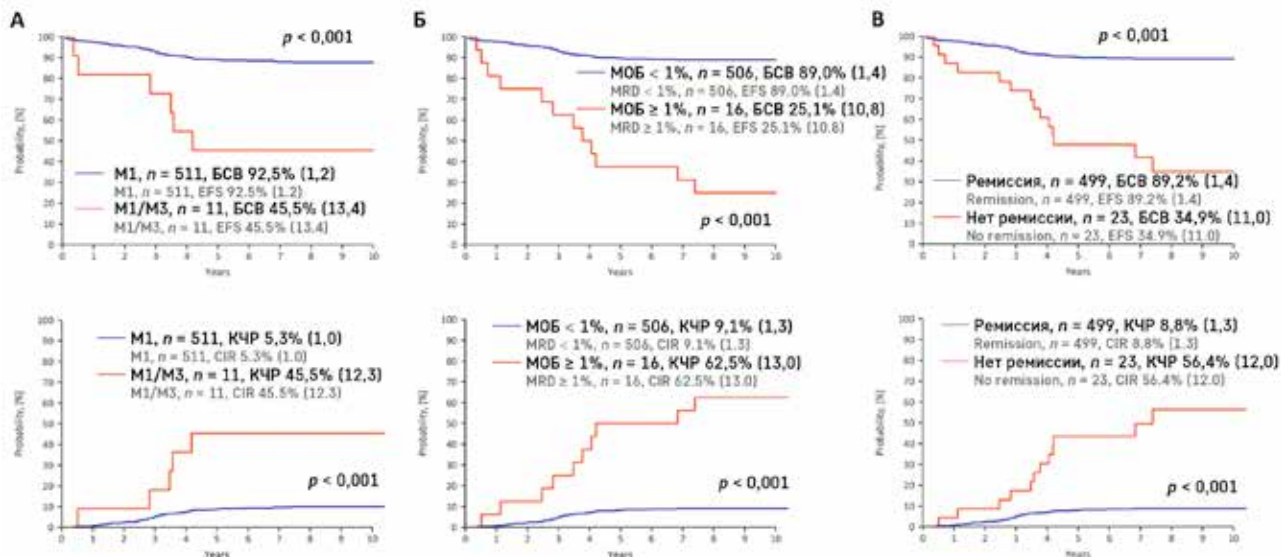
Рисунок 2

Результаты терапии пациентов исследования «ОЛЛ-МБ 2008» (БСВ – верхний ряд, КЧР – нижний ряд) в зависимости от статуса ремиссии по данным разных методов оценки остаточного количества опухолевых клеток А – цитоморфологическое исследование; Б – проточная цитометрия; В – комплексное определение ремиссии. На графике В достигшими ремиссии считаются пациенты, имеющие M1-статус КМ и МОБ < 1%, а не достигшими – пациенты с M2/M3-статусом КМ либо МОБ ≥ 1%. Стандартные ошибки указаны в скобках

Figure 2

Treatment results in patients of the ALL MB 2008 trial (event-free survival (EFS) – upper row, cumulative incidence of relapse (CIR) – lower row) depending on the remission status according to different methods used for the evaluation of residual tumor cell number

А – cytomorphological examination; Б – flow cytometry; В – comprehensive definition of remission. In graph B, patients with M1 BM status and MRD < 1% are considered to have achieved remission, and patients with M2/M3 BM status or MRD ≥ 1% are considered not to have achieved remission. Standard errors are in parentheses



что было существенно хуже по сравнению с детьми с более низкими величинами МОБ или МОБ-негативностью (рисунки 4А). Кроме того, 102 (20,4%) из этих 499 детей были классифицированы как пациенты с медленным МОБ-ответом в соответствии с разработанным по результатам исследования «ОЛЛ-МБ 2008» алгоритмом применения МОБ для стратификации пациентов [15, 21]: в группу с медленным МОБ-ответом попадают пациенты группы стандартного риска с МОБ на 36-й день терапии $\geq 0,1\%$ и больные групп промежуточного и высокого риска с МОБ на 36-й день терапии $\geq 0,01\%$. Пациенты с быстрым МОБ-ответом имели крайне благоприятный прогноз (БСВ 94,3% (СО 1,2), КЧР 4,1% (СО 1,0), рисунок 4Б), в то время как пациенты с медленным МОБ-ответом имели неблагоприятный прогноз (БСВ 69,4% (СО 4,6), КЧР 26,7% (СО 4,4)), однако лучшие БСВ и КЧР по сравнению с детьми, не вышедшими в ремиссию ($p = 0,010$ и $p = 0,033$ соответственно). Таким образом,

определение МОБ на момент окончания индукционной терапии имеет существенное прогностическое значение и у пациентов, достигших ремиссии к окончанию индукционной терапии.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Крупнейшей на данный момент работой по сопоставлению цитометрического и морфологического статусов ремиссии является работа группы COG [7]. На группе из более чем 9 тыс. пациентов (включая почти 8 тыс. пациентов с ВП-ОЛЛ) были получены результаты, совершенно сопоставимые с данными нашего исследования: общая сходимость оценки достижения ремиссии при использовании аналогичных пороговых величин составила 96,4% (95,0% в данной работе), а доля пациентов с МОБ $\geq 1\%$ и M1-статусом КМ была даже несколько выше (3,4% против 2,4%) [7]. При этом авторы рекомендуют

Рисунок 3

Соотношение уровня МОБ и статуса КМ у пациентов протокола «ОЛЛ-МБ 2008», не достигших ремиссии по данным цитоморфологического исследования (А) и проточной цитометрии (Б, В)

Figure 3

The MRD level and BM status in patients treated according to the ALL MB 2008 protocol who did not achieve remission according to the data of cytomorphological examination (A) and flow cytometry (Б, В)

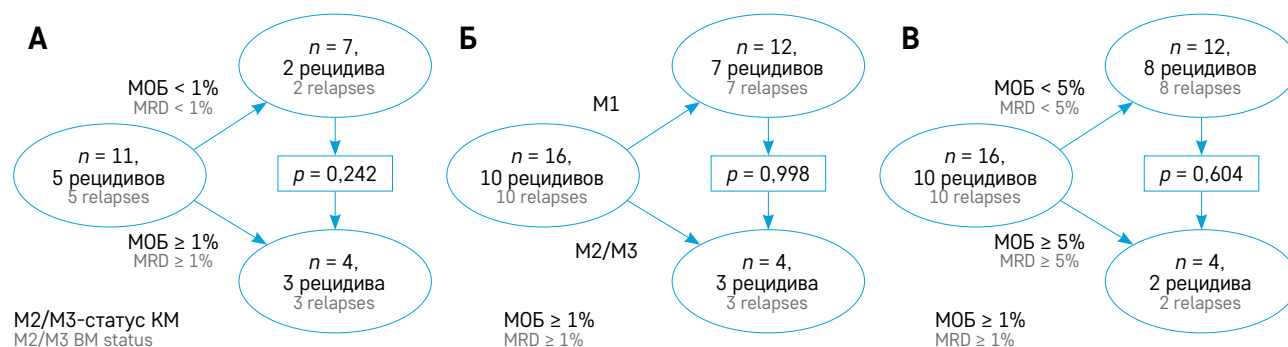


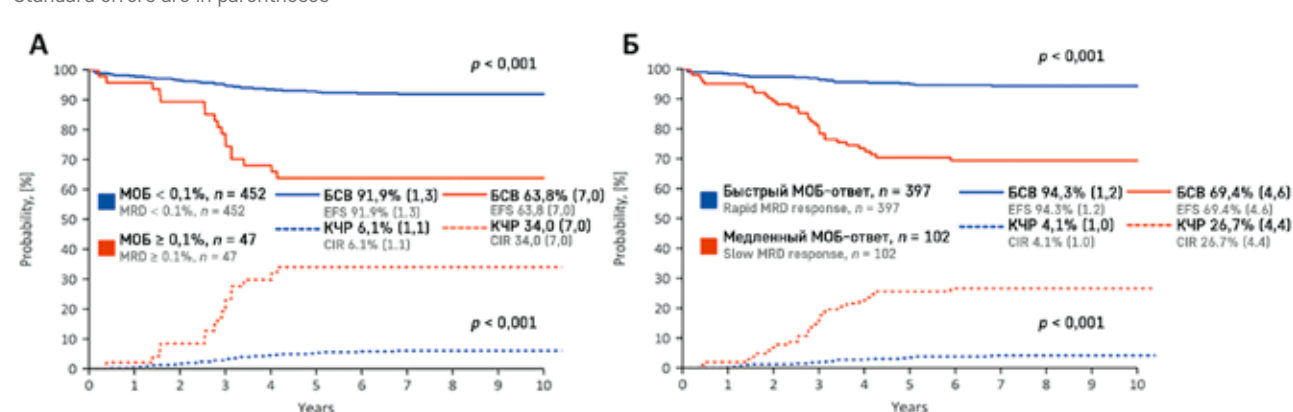
Рисунок 4

Результаты лечения пациентов, достигших ремиссии по данным комбинированного применения цитоморфологического исследования и проточной цитометрии в зависимости от величины МОБ на 36-й день терапии при пороговом уровне 0,1% (А) и при использовании дифференцированного подхода [15] к определению быстрого и медленного МОБ-ответа с поправкой на изначально выделенные группы риска (Б)

Стандартные ошибки указаны в скобках

Figure 4

Treatment results in patients who achieved remission, according to the combined use of cytomorphological examination and flow cytometry, depending on the MRD value on day 36 of treatment at a threshold of 0.1% (A) and using a differentiated approach [15] to determine a rapid and slow MRD response adjusted for the initially identified risk groups (B)



применять оба метода для определения статуса ремиссии [7]. Несмотря на применение одинакового с цитоморфологией порогового уровня и для проточной цитометрии (5%), допускается использование и других пороговых величин МОБ [7]. Подобные же выводы были сделаны и по результатам исследования MRC UKALL 2003 [8], хотя напрямую сравнивать результаты этой работы с данным исследованием и работой группы COG несколько сложнее, поскольку в качестве технологии оценки МОБ применялось определение клональных перестроек генов антигенраспознающих рецепторов с использованием полимеразной цепной реакции [8], а данная технология существенно отличается от проточной цитометрии как по методике определения остаточных опухолевых клеток, так и по технологии расчета количественной величины МОБ [6].

Несмотря на то, что сопоставимость цитоморфологического и цитометрического способов оценки достижения ремиссии на момент окончания индукционной терапии, по нашим данным, оказалась очень высокой (95,0%), было выявлено и существенное число пациентов, которые имели M2/M3-статус КМ при низкой величине МОБ либо, наоборот, высокую МОБ ($\geq 1\%$) при M1-статусе КМ. Из 23 человек, не достигших ремиссии по данным хотя бы одного из методов, только у 4 (17,4%) были получены сопоставимые результаты, остальные же 19 были выделены по данным лишь одного метода. Анализ результатов терапии показал, что при большом количестве опухолевых клеток в КМ, определенном любым из методов, они остаются крайне неудовлетворительными. Таким образом, наиболее информативным оказалось комбинирование результатов двух исследований. Несмотря на то, что ни одна из технологий не смогла продемонстрировать однозначного преимущества в определении пациентов, которые должны быть по результатам индукции переведены в группу высокого риска, в итоговой группе детей, не вышедших в ремиссию, около половины случаев (12 из 23) были выявлены только при помощи проточной цитометрии. Более того, среди 7 пациентов с M2/M3-статусом КМ и МОБ $< 1\%$ было зарегистрировано только 2 поздних рецидива.

Важно отметить, что для проточной цитометрии и цитологического исследования применялись разные пороговые значения (1% и 5% соответственно). Такая разница не вносит каких-либо дополнительных различий в сопоставление результатов исследований. Во-первых, количество опухолевых клеток, выявляемых при помощи проточной цитометрии, практически всегда несколько ниже по сравнению с микроскопией мазков КМ [32, 33]. Во-вторых, проточная цитометрия обладает большей точностью в определении опухолевых клеток, в том числе на фоне начинающегося

восстановления КМ [34, 35], поэтому для нее допустимо применение несколько более низкого порогового значения. В-третьих, пороговое значение МОБ, равное 1%, находясь в пределах одного порядка с величиной 5%, тем не менее является гораздо более привычным и стандартным для определения МОБ, где в том числе в рамках многоцентровых исследований чаще всего используются шкалы с 10-кратным изменением пороговых величин. Наконец, как для протоколов группы «Москва–Берлин» [36], так и для других исследований [29, 37, 38], все пациенты с очень высоким уровнем МОБ ($\geq 1\%$) имеют примерно одинаково высокую частоту рецидивов, что автоматически позволяет их всех относить к группе высокого риска. Результаты данного исследования показали, что введение дополнительного порогового значения в 5% не приносит дополнительной прогностической информации по сравнению с МОБ $\geq 1\%$. Наконец, в рамках масштабной консенсусной работы группы Ponte-di-Legno именно величина в 1% рекомендована в качестве порогового уровня для подтверждения достижения ремиссии с использованием МОБ-технологий [5].

Важным результатом данного исследования является также то, что даже при уровне МОБ существенно ниже установленного для подтверждения статуса ремиссии порога в 1% и при M1-статусе КМ величина МОБ, адаптированная к изначально выделенным группам риска, остается крайне важным прогностическим фактором даже при формальном достижении ремиссии, подтвержденном любым из используемых методов.

Фактически цитометрическое исследование на момент окончания индукционной терапии при комбинировании с данными цитоморфологической оценки КМ поделило пациентов на три группы с различным прогнозом и разными перспективами дальнейшей терапии (рисунки 5):

- пациенты в ремиссии с быстрым МОБ-ответом – предполагается продолжение запланированной химиотерапии;
- пациенты в ремиссии, но с медленным МОБ-ответом – предполагается применение иммунотерапевтических препаратов без обязательного повышения интенсивности химиотерапии и/или проведения ТГСК;
- пациенты, не вышедшие в ремиссию, – дальнейшая терапия может включать комбинации более интенсивных курсов химиотерапии, ТГСК и применение существующих или перспективных иммунотерапевтических препаратов [39–41].

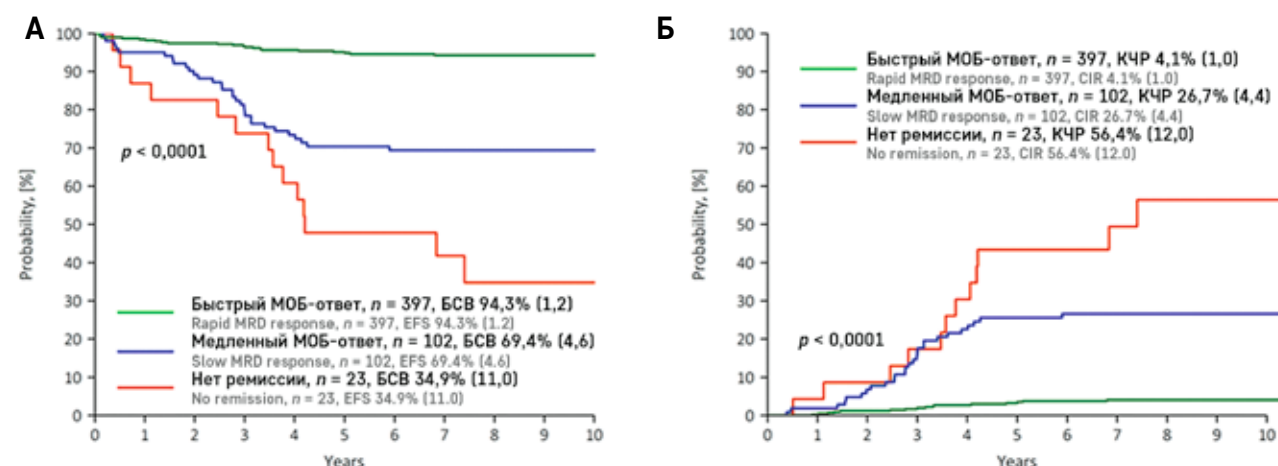
В настоящее время классическое определение достижения ремиссии и неудачи индукции на основе только цитоморфологического исследования КМ претерпевает существенные изменения [5, 8, 42]. В масштабной работе группы

Рисунок 5

БСВ (А) и КЧР (Б) у пациентов, не достигших ремиссии на 36-й день терапии по совокупности данных цитологического исследования КМ и проточной цитометрии (красная линия), у детей с медленным МОБ-ответом (синяя линия) и быстрым МОБ-ответом (зеленая линия). Стандартные ошибки указаны в скобках

Figure 5

EFS (A) and CIR (B) in patients who did not achieve remission on day 36 of treatment according to the combined data of BM cytological examination and flow cytometry (red line), in children with a slow MRD response (blue line) and rapid MRD response (green line). Standard errors are in parentheses



Ponte-di-Legno [5] для большинства крупных современных исследований показано применение МОБ-технологий, как проточной цитометрии, так и молекулярных методов, для подтверждения ремиссии. Группа рекомендует использование данных высокочувствительных и высокоспецифичных лабораторных технологий с пороговым значением в 1% при их доступности в относительно стандартизованном виде для обязательного подтверждения достижения пациентом ремиссии по окончании индукционной терапии [5].

Так как для протоколов группы «Москва–Берлин» окончание индукционной терапии является ключевой прогностически и клинически важной точкой наблюдения [15, 23, 24, 43], применение проточной цитометрии и для определения статуса ремиссии представляется возможным практически для всех пациентов в централизованном формате [16, 17]. При этом данное исследование (определение МОБ на 36-й день терапии) должно выполняться с двумя целями: подтверждение достижения ремиссии (с пороговым значением в 1%) и дополнительная стратификация пациентов, вышедших в ремиссию, в зависимости от величины МОБ и инициальных факторов риска [15]. При таком подходе иммунофенотипирование КМ на момент окончания индукционной терапии становится исключительно важным для дальнейшего определения тактики терапии. Учитывая разный уровень качества проведения проточной цитометрии в России [44] и существенные расхождения результатов иммунофенотипирования, получаемых разными лабораториями [45], настолько важное исследование

может проводиться для протоколов группы «Москва–Берлин» только в централизованном формате в рамках российско-белорусской кооперативной группы по диагностике острых лейкозов у детей [16, 17, 19].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оба использованных метода – проточная цитометрия и цитологическое исследование КМ на 36-й день терапии – должны быть использованы вместе для определения статуса достижения ремиссии. При этом вполне возможны и нередки ситуации расхождения результатов данных методов выявления лейкоэмических бластов. Соответственно, высокое количество опухолевых клеток, определенное любым из данных методов, является основанием для констатации неудачи индукции. Современное определение ремиссии при ОЛЛ должно включать не только M1-статус КМ, отсутствие экстрамедуллярных очагов и восстановление гемопоэза, но и цитометрическое подтверждение низкого количества остаточных опухолевых клеток (МОБ < 1%). Мы считаем, что иммунофенотипическое определение МОБ на момент окончания индукции должно быть интегрировано в любой современный протокол терапии как обязательный этап итоговой стратификации пациентов на группы риска. Применение проточной цитометрии должно быть обязательным для подтверждения достижения ремиссии и, наоборот, определения неудачи индукционной терапии. Учитывая важность результатов определения МОБ,

оно должно проводиться только в централизованном формате в рамках референсной лабораторной группы.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Popov A.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0889-6986>
Rumiantseva Yu.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9670-3728>
Bydanov O.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3232-2322>
Mikhailova E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3450-0498>
Verzhbitskaya T.Yu. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9329-1828>
Lagoiko S.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3793-104X>
Zharikova L.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1105-8676>
Myakova N.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4779-1896>
Litvinov D.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7461-0050>
Khachatryan L.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7265-0414>
Aleinikova O.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0143-1921>
Fechina L.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1885-3912>
Novichkova G.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2322-5734>
Karachunskiy A.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9300-198X>

Литература

- Schrapppe M., Hunger S.P., Pui C.H., Saha V., Gaynon P.S., Baruchel A., et al. Outcomes after induction failure in childhood acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2012; 366 (15): 1371–81.
- Oudot C., Auclerc M.F., Levy V., Porcher R., Pignatelli B., Perel Y., et al. Prognostic factors for leukemic induction failure in children with acute lymphoblastic leukemia and outcome after salvage therapy: the FRALLE 93 study. *J Clin Oncol* 2008; 26 (9): 1496–503.
- Silverman L.B., Gelber R.D., Young M.L., Dalton V.K., Barr R.D., Sallan S.E. Induction failure in acute lymphoblastic leukemia of childhood. *Cancer* 1999; 85 (6): 1395–404.
- Suzuki N., Yumura-Yagi K., Yoshida M., Hara J., Nishimura S., Kudoh T., et al. Outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia with induction failure treated by the Japan Association of Childhood Leukemia study (JACLS) ALL F-protocol. *Pediatr Blood Cancer* 2010; 54 (1): 71–8.
- Buchmann S., Schrapppe M., Baruchel A., Biondi A., Borowitz M.J., Campbell M., et al. Remission, treatment failure, and relapse in pediatric ALL: An international consensus of the Ponte-di-Legno Consortium. *Blood* 2022; 139 (12): 1785–93.
- Van Dongen J.J., van der Velden V.H., Brüggemann M., Orfao A. Minimal residual disease diagnostics in acute lymphoblastic leukemia: need for sensitive, fast, and standardized technologies. *Blood* 2015; 125 (26): 3996–4009.
- Gupta S., Devidas M., Loh M.L., Raetz E.A., Chen S., Wang C., et al. Flow-cytometric vs. -morphologic assessment of remission in childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Oncology Group (COG). *Leukemia* 2018; 32 (6): 1370–9.
- O'Connor D., Moorman A.V., Wade R., Hancock J., Tan R.M., Bartram J., et al. Use of Minimal Residual Disease Assessment to Redefine Induction Failure in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Oncol* 2017; 35 (6): 660–7.
- Gaipa G., Basso G., Biondi A., Campana D. Detection of minimal residual disease in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Cytometry B Clin Cytom* 2013; 84 (6): 359–69.
- Berry D.A., Zhou S., Higley H., Mukundan L., Fu S., Reaman G.H., et al. Association of Minimal Residual Disease With Clinical Outcome in Pediatric and Adult Acute Lymphoblastic Leukemia: A Meta-analysis. *JAMA Oncol* 2017; 3 (7): e170580.
- Румянцев А.Г., Карачунский А.И. Оптимизация терапии острого лимфобластного лейкоза у детей в России. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Спирского* 2009; 88 (4): 19–27.
- Karachunskiy A., Herold R., von Stackelberg A., Miakova N., Timakow A., Mahorth T., et al. Results of the first randomized multicentre trial on childhood acute lymphoblastic leukaemia in Russia. *Leukemia* 2008; 22 (6): 1144–53.
- Karachunskiy A., Roumiantseva J., Lagoiko S., Buhrer C., Tallen G., Aleinikova O., et al. Efficacy and toxicity of dexamethasone vs methylprednisolone-long-term results in more than 1000 patients from the Russian randomized multicentric trial ALL-MB 2002. *Leukemia* 2015; 29 (9): 1955–8.
- Karachunskiy A., Tallen G., Roumiantseva J., Lagoiko S., Chervova A., von Stackelberg A., et al. Reduced vs. standard dose native *E. coli*-asparaginase therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia: long-term results of the randomized trial Moscow-Berlin 2002. *J Cancer Res Clin Oncol* 2019; 145 (4): 1001–12.
- Popov A., Henze G., Roumiantseva J., Budanov O., Belevtsev M., Verzhbitskaya T., et al. A simple procedure to identify children with B-lineage acute lymphoblastic leukemia who can be successfully treated with low or moderate intensity: Sequential versus single-point minimal residual disease measurement. *Pediatr Blood Cancer* 2023; 70 (6): e30295.
- Попов А.М., Белевцев М.В., Боякова Е.В., Вержбицкая Т.Ю., Мовчан Е.В., Фадеева М.И. и др. Стандартизация определения минимальной остаточной болезни методом проточной цитометрии у детей с В-линейным острым лимфобластным лейкозом. Опыт работы российско-белорусской кооперативной группы. *Онкогематология* 2016; 11 (4): 64–73.
- Попов А.М., Михайлова Е.В., Вержбицкая Т.Ю., Мовчан Л.В., Пермикин Ж.В., Шман Т.В. и др. Определение минимальной остаточной болезни при В-линейном остром лимфобластном лейкозе методом проточной цитометрии. Рекомендации российско-белорусской кооперативной группы по диагностике острых лейкозов у детей. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2023; 22 (3): 199–209. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-3-199-209
- Новикова И.А., Вержбицкая Т.Ю., Мовчан Л.В., Цаур Г.А., Белевцев М.В., Попов А.М. Стандарт российско-белорусской кооперативной группы по иммунофенотипированию острого лимфобластного лейкоза у детей. *Онкогематология* 2018; 13 (1): 73–82.
- Попов А.М., Вержбицкая Т.Ю., Мовчан Л.В., Дёмина И.А., Михайлова Е.В., Семченкова А.А. и др. Диагностическое иммунофенотипирование острых лейкозов. Рекомендации российско-белорусской кооперативной группы по диагностике острых лейкозов у детей. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2023; 22 (1): 165–77. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-165-177
- Moorman A.V. The clinical relevance of chromosomal and genomic abnormalities in B-cell precursor

- acute lymphoblastic leukaemia. *Blood Rev* 2012; 26 (3): 123–35.
21. Popov A., Henze G., Roumiantseva J., Budanov O., Belevtsev M., Verzhbitskaya T., et al. A single flow cytometric MRD measurement in children with B-lineage acute lymphocytic leukemia and hyperleukocytosis redefines the requirements of high-risk treatment: Results of the study ALL-MB 2008. *Leuk Res* 2022; 123: 106982.
 22. Цаур Г.А., Ольшанская Ю.В., Обухова Т.Н., Сударинов А.Б., Лазарева О.В., Гиндина Т.П. Цитогенетическая и молекулярно-генетическая диагностика онкогематологических заболеваний: позиция Организации молекулярных генетиков в онкологии и онкогематологии. *Гематология и трансфузиология* 2023; 68 (1): 129–43.
 23. Popov A., Henze G., Roumiantseva J., Budanov O., Belevtsev M., Verzhbitskaya T., et al. One-point flow cytometric MRD measurement to identify children with excellent outcome after intermediate-risk BCP-ALL: results of the ALL-MB 2008 study. *J Cancer Res Clin Oncol* 2023; 149 (8): 4629–37.
 24. Popov A., Henze G., Roumiantseva J., Budanov O., Belevtsev M., Verzhbitskaya T., et al. A simple algorithm with one flow cytometric MRD measurement identifies more than 40% of children with ALL who can be cured with low-intensity therapy. *The ALL-MB 2008 trial results. Leukemia* 2022; 36 (5): 1382–5.
 25. Popov A., Henze G., Roumiantseva Y., Budanov O., Belevtsev M., Verzhbitskaya T., et al. Low-intensity therapy cures over 40% of children with rapid Flow-MRD responding ALL: the ALL-MB 2008 trial results. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2022; 21 (2): 95–104.
 26. Супрун Р.Н., Румянцева Ю.В., Быданов О.И., Жарикова Л.И., Лагойко С.Н., Лебедев В.В. и др. Острый лимфобластный лейкоз у детей с синдромом Дауна: сравнительный анализ результатов лечения по протоколам ALL-MB 2008 и ALL-MB 2015. *Российский журнал детской гематологии и онкологии* 2022; 9 (3): 12–31.
 27. Супрун Р.Н., Румянцева Ю.В., Быданов О.И., Жарикова Л.И., Лагойко С.Н., Лебедев В.В. и др. Острый лимфобластный лейкоз у детей с синдромом Дауна: опыт группы «Москва–Берлин». *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2021; 20 (1): 14–26. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-1-14-26
 28. Miller D.R., Coccia P.F., Bleyer W.A., Lukens J.N., Siegel S.E., Sather H.N., et al. Early response to induction therapy as a predictor of disease-free survival and late recurrence of childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Cancer Study Group. *J Clin Oncol* 1989; 7 (12): 1807–15.
 29. Borowitz M.J., Wood B.L., Devidas M., Loh M.L., Raetz E.A., Salzer W.L., et al. Prognostic significance of minimal residual disease in high risk B-ALL: a report from Children's Oncology Group study AALL0232. *Blood* 2015; 126 (8): 964–71.
 30. Kaplan E.L., Meier P. Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. *Journal of the American Statistical Association* 1958; 53 (282): 457–81.
 31. Gray R.J. A Class of K-Sample Tests for Comparing the Cumulative Incidence of a Competing Risk. *The Annals of Statistics* 1988; 16 (3): 1141–54.
 32. Chen X., Wood B.L. How do we measure MRD in ALL and how should measurements affect decisions. *Re: Treatment and prognosis? Best Pract Res Clin Haematol* 2017; 30 (3): 237–48.
 33. DiGiuseppe J.A., Wood B.L. Applications of Flow Cytometric Immunophenotyping in the Diagnosis and Posttreatment Monitoring of B and T Lymphoblastic Leukemia/Lymphoma. *Cytometry B Clin Cytom* 2019; 96 (4): 256–65.
 34. Михайлова Е.В., Вержбицкая Т.Ю., Румянцева Ю.В., Илларионова О.И., Семченкова А.А., Фечина Л.Г. и др. Влияние режима приема дексаметазона на выявление нормальных В-клеточных предшественников в костном мозге у детей с острым лимфобластным лейкозом на момент окончания индукционной терапии. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2020; 19 (1): 53–7. DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-1-53-57
 35. Попов А.М., Вержбицкая Т.Ю., Цаур Г.А., Шорилов Е.В., Цвиренко С.В., Савельев Л.И. и др. Ограниченная возможность применения упрощенного подхода для определения минимальной остаточной болезни методом проточной цитометрии у детей с острым лимфобластным лейкозом из В-линейных предшественников. *Клиническая лабораторная диагностика* 2011; (3): 25–9.
 36. Попов А.М., Вержбицкая Т.Ю., Цаур Г.А., Солодовников А.Г., Аракаев О.Р., Стрелева О.В. и др. Применение проточной цитометрии для определения минимальной остаточной болезни у детей с острым лимфобластным лейкозом, получающих терапию по протоколам со сниженной интенсивностью. *Онкогематология* 2015; 10 (4): 44–55. DOI: 10.17650/1818-8346-2015-10-4-44-55
 37. Coustan-Smith E., Sancho J., Hancock M.L., Boyett J.M., Behm F.G., Raimondi S.C., et al. Clinical importance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2000; 96 (8): 2691–6.
 38. Borowitz M.J., Devidas M., Hunger S.P., Bowman W.P., Carroll A.J., Carroll W.L., et al. Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia and its relationship to other prognostic factors: a Children's Oncology Group study. *Blood* 2008; 111 (12): 5477–85.
 39. Queudeville M., Schlegel P., Heinz A.T., Lenz T., Doring M., Holzer U., et al. Blinatumomab in pediatric patients with relapsed/refractory B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Eur J Haematol* 2021; 106 (4): 473–83.
 40. Viardot A., Locatelli F., Stieglmaier J., Zaman F., Jabbour E. Concepts in immuno-oncology: tackling B cell malignancies with CD19-directed bispecific T cell engager therapies. *Ann Hematol* 2020; 99 (10): 2215–29.
 41. Литвинов Д.В., Тесаков И.П., Шелихова Л.Н., Хачатрян Л.А., Зеркаленкова Е.А., Ольшанская Ю.В. и др. Острый лимфобластный лейкоз с транслокацией t(17;19): надежда появилась! Описание случая мультимодальной иммунотерапии у ребенка 3 лет с рефрактерным течением заболевания. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2022; 21 (3): 100–14. DOI: 10.24287/1726-1708-2022-21-3-100-114
 42. Pui C.H., Campana D. New definition of remission in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2000; 14 (5): 783–5.
 43. Popov A., Henze G., Roumiantseva J., Budanov O., Verzhbitskaya T., Boyakova E., et al. Flow cytometric MRD at the end of consolidation in childhood B-lineage acute lymphoblastic leukemia has significant prognostic value but limited clinical implications: Results of study ALL-MB 2008. *Leuk Res* 2022; 125: 106998.
 44. Попов А.М., Лагойко С.Н., Румянцева Ю.В., Луговская С.А., Фечина Л.Г., Румянцев С.А. и др. Проблемы иммунофенотипирования в России: опыт работы референсного центра кооперированной клинической группы «Москва–Берлин». *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2015; 14 (1): 58–61.
 45. Попов А.М., Вержбицкая Т.Ю., Зуева Е.Е., Ананьева О.В., Бабенко Е.В., Байдун Л.В. и др. Результаты внешнего контроля качества диагностики острого лимфобластного лейкоза методом проточной цитометрии. *Онкогематология* 2016; 11 (3): 68–75. DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-3-68-75