

ГЕМАТОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.155.392.2-036.11-053.3-085-036.86-076.5

Цаур Г. А.^{1,2,3}, Ригер Т. О.^{1,2}, Попов А. М.^{1,2}, Наседкина Т. В.⁴, Кустанович А. М.⁵, Солодовников А. Г.³, Стрелева О. В.^{1,2}, Шориков Е. В.^{1,2}, Цвиренко С. В.^{1,3}, Савельев Л. И.^{1,2,3}, Фечина Л. Г.^{1,2}**СРАВНЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИНИМАЛЬНОЙ ОСТАТОЧНОЙ БОЛЕЗНИ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И КОСТНОМ МОЗГЕ У ДЕТЕЙ 1-ГО ГОДА ЖИЗНИ С ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ**

¹ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1», 620149, г. Екатеринбург; ²ГБУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», 620905, г. Екатеринбург; ³ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, 620028, г. Екатеринбург; ⁴ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта» РАН, 119991, г. Москва; ⁵ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» Минздрава Республики Беларусь, 223053, г. Минск

Наличие минимальной остаточной болезни (МОБ) является важным прогностическим фактором при остром лимфобластном лейкозе (ОЛЛ) у детей и взрослых. В подавляющем большинстве работ для определения МОБ используют костный мозг (КМ). Мы провели сравнительную характеристику выявления МОБ в периферической крови (ПК) и в КМ и оценили прогностическую роль наличия МОБ в ПК и КМ при терапии по протоколу MLL-Baby. В анализ включили 142 парных образца от 53 пациентов с ОЛЛ и различными перестройками гена MLL в возрасте младше 365 дней. МОБ определяли путем выявления химерных транскриптов методом полимеразно-цепной реакции в режиме реального времени в 7 последовательных точках наблюдения (ТН), определенных протоколом терапии. Сопоставимость результатов качественного выявления МОБ в КМ и ПК составила 84,5%. При этом во всех 22 (15,5%) дискордантных образцах МОБ была выявлена в КМ, но не в ПК. Несмотря на высокий уровень сопоставимости результатов определения МОБ в ПК и КМ, наличие МОБ в ПК на различных этапах терапии не показало самостоятельной прогностической значимости. Выявленные различия не были связаны с чувствительностью метода, определяемой по величине абсолютной экспрессии гена ABL, а скорее всего отражали реальное распределение опухолевых клеток. В результате проведенного исследования показано, что использование ПК вместо КМ для мониторинга МОБ при ОЛЛ у детей 1-го года жизни нецелесообразно. В то же время сохранение МОБ в ТН4 в КМ являлось независимым прогностически неблагоприятным фактором при терапии ОЛЛ у детей 1-го года жизни по протоколу MLL-Baby (ОО = 7,326 (95% доверительный интервал 2,378–22565)).

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз; минимальная остаточная болезнь; дети 1-го года жизни, перестройки гена MLL.

Tsaur G.A.^{1,2,3}, Riger T.O.^{1,2}, Popov A.M.^{1,2}, Nasedkina T.V.⁴, Kustanovich A.M.⁵, Solodovnikov A.G.³, Strelina O.V.^{1,2}, Shorikov E.V.^{1,2}, Tsvirenko S.V.^{1,3}, Savelyev L.I.^{1,2,3}, Fechina L.G.^{1,2}

THE COMPARISON OF RESULTS OF DETECTION OF MINIMAL RESIDUAL DISEASE IN PERIPHERAL BLOOD AND MARROW IN CHILDREN OF THE FIRST YEAR OF LIFE WITH ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUCOSIS

¹The Oblast children clinical hospital №1, 620149 Yekaterinburg, Russia; ²The institute of medical cell technologies, 620905 Yekaterinburg, Russia; ³The Ural state medical university, 620028 Yekaterinburg, Russia; ⁴The V.A. Engelgardt of molecular biology of the Russian academy of sciences, 119991 Moscow, Russia; ⁵ The Belorussian center of children oncology, hematology and immunology, 223053 Minsk, the Republic of Belarus

The occurrence of minimal residual disease is an important prognostic factor under acute lymphoblastic leucosis in children and adults. In overwhelming majority of research studies bone marrow is used to detect minimal residual disease. The comparative characteristic of detection of minimal residual disease in peripheral blood and bone marrow was carried out. The prognostic role of occurrence of minimal residual disease in peripheral blood and bone marrow under therapy according protocol MLL-Baby was evaluated. The analysis embraced 142 pair samples from 53 patients with acute lymphoblastic leucosis and various displacements of gene MLL younger than 365 days. The minimal residual disease was detected by force of identification of chimeric transcripts using polymerase chain reaction in real-time mode in 7 sequential points of observation established by protocol of therapy. The comparability of results of qualitative detection of minimal residual disease in bone marrow and peripheral blood amounted to 84.5%. At that, in all 22 (15.5%) discordant samples minimal residual disease was detected only in bone marrow. Despite of high level of comparability of results of detection of minimal residual disease in peripheral blood and bone marrow the occurrence of minimal residual disease in peripheral blood at various stages of therapy demonstrated no independent prognostic significance. The established differences had no relationship with sensitivity of method determined by value of absolute expression of gene ABL. Most likely, these differences reflected real distribution of tumor cells. The results of study demonstrated that application of peripheral blood instead of bone marrow for monitoring of minimal residual disease under acute lymphoblastic leucosis in children of first year of life is inappropriate. At the same time, retention of minimal residual disease in ТН4 in bone marrow was an independent and prognostic unfavorable factor under therapy of acute lymphoblastic leucosis of children of first year of life according protocol MLL-Baby (OO=7.326, confidence interval 2.378-22.565).

Key words: acute lymphoblastic leucosis; minimal residual disease; children; first year of life; displacement of gene MML.

Для корреспонденции:

Цаур Григорий Анатольевич, канд. мед. наук, зав. лаб. мол. биологии
Адрес: 620149, Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32
E-mail: tsaur@mail.ru

Таблица 1

Характеристика пациентов, включенных в исследование (n = 53)

Показатель	n	%
Возраст, мес, медиана (диапазон)	5,30 (0,03–11,80)	
Мальчики/девочки	20/33	37,7/62,3
Инициальный лейкоцитоз, медиана (диапазон)	86 (0,9–1264)	
Инициальное поражение ЦНС	19	35,8
CD10-негативный иммунофенотип	45	84,9
Перестройка гена MLL:		
MLL-AFF1 (MLL-AF4)	24	47,2
MLL-MLLT3 (MLL-AF9)	10	18,9
MLL-MLLT1 (MLL-ENL)	9	17,0
MLL-MLLT10 (MLL-AF10)	5	9,4
MLL-EPS15 (MLL-AF1p)	4	7,5
Более 1000 бластов в 1 мкл крови на 8-е сутки терапии дексаметазоном	7	13,2
Отсутствие гематологической ремиссии на 36-е сутки	1	1,9

Введение. Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) у детей 1-го года жизни представляет собой особый тип лейкоза, имеющий характерные клинико-лабораторные показатели и уникальную биологию опухоли [1, 2]. Наиболее распространенными симптомами ОЛЛ у детей 1-го года жизни являются гепатоспленомегалия и нейрорлейкоз, которые выявляются в данной возрастной группе заметно чаще, чем у детей других возрастных групп [1]. Среди лабораторных показателей следует выделить высокий инициальный лейкоцитоз, CD10-негативный иммунофенотип бластных клеток с коэкспрессией миелоидных (CD15, CD65) и нейральных (NG2) антигенов, а также наличие перестроек гена MLL [1, 3], которые, по разным данным, выявляют в 60–80% случаев [3–9]. Другие генетические нарушения, характерные для детей более старшего возраста, такие как транслокация t(9;22)(q34;q11)/BCR-ABL1, высокая гипердиплоидия, криптическая транслокация t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1, транслокация t(1;19)(q23;p13.3)/TCF3-PBX1, выявляют у детей 1-го года жизни крайне редко [4, 5, 10–12]. Результаты терапии ОЛЛ у детей 1-го года жизни остаются неудовлетворительными: бессобытийная выживаемость редко превышает 50%, основной причиной неудачи терапии являются рецидивы [4, 6, 7, 13–16]. Один из эффективных способов прогнозировать развитие рецидивов – определение минимальной остаточной болезни (МОБ).

МОБ – это сохранение в организме пациента опухолевых клеток в количестве, не распознаваемом стандартными цитологическими методами. МОБ представляет собой один из современных вариантов оценки ответа опухоли на интенсивную химиотерапию. Наличие МОБ в костном мозге (КМ) является важным прогностическим фактором при ОЛЛ у детей и взрослых. Для определения МОБ при ОЛЛ применяют такие высокочувствительные методы диагностики, как полимеразно-цепная реакция и многоцветная проточная цитометрия [17–23]. При использовании ПЦР для мониторинга МОБ имеются три принципиально разные мишени: индивидуальные перестройки генов иммуноглобулинов (Ig) и Т-клеточного рецептора (TCR), химерные гены, химерные транскрипты. В первых двух случаях исходным материалом для анализа является геномная ДНК, в третьем – РНК.

В подавляющем большинстве случаев ОЛЛ для выявления МОБ используют КМ [17–23]. Периферическую кровь (ПК) для этих целей используют крайне редко. Исключением является лишь (Т-ОЛЛ) для которого показана хорошая сопоставимость между величиной МОБ в ПК и КМ как при использовании ПЦР, так и проточной цитометрии [24, 25]. Также есть попытки использовать свободную ДНК из плазмы крови для оценки МОБ при ОЛЛ [26, 27].

В РФ Л. Г. Фечина разработала оригинальный протокол MLL-Baby для лечения ОЛЛ у детей 1-го года жизни, в основе которого лежит совместное применение интенсивной химиотерапии вместе с дифференцирующим агентом – полностью транс-ретиноевой кислотой [28]. Полученные на сегодняшний день результаты терапии по протоколу MLL-Baby превосходят все имеющиеся аналоги [29]. Важной особенностью протокола стал проспективный анализ МОБ методами проточной цитометрии и выявлением химерных транскриптов с вовлечением гена MLL в ходе обратного-транскриптазной ПЦР (ОТ-ПЦР) и ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Ранее мы показали прогностическое значение сохранения МОБ в КМ при терапии по протоколу MLL-Baby [30]. Цель данной работы – сравнение результатов выявления МОБ в ПК и в КМ и оценка прогностической роли наличия МОБ в ПК при терапии по протоколу MLL-Baby.

Материалы и методы. В исследование включили 53 пациента (20 мальчиков и 33 девочки) с ОЛЛ и различными перестройками гена MLL, получавших терапию по протоколу MLL-Baby. Медиана возраста составила 5,3 мес (диапазон 1 день – 11,8 мес). На этапе первичной диагностики выявленные перестройки гена MLL проводили из образцов КМ методами гнездовой ОТ-ПЦР по ранее описанным протоколам [31–

33] и флюоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) с зондами LSI MLL dual color break apart rearrangement probe («Abbott Molecular», США) и XL MLL plus (MetaSystems, Германия) согласно инструкции производителя. Инициальные характеристики пациентов, включенных в исследование, приведены в табл. 1.

Для исключения образцов низкого качества из анализа перед проведением ОТ-ПЦР и ПЦР-РВ оценивали качество РНК с использованием микроструйных чипов RNA 6000 Nano LabChip (Caliper Technologies, США) на биоанализаторе Agilent 2100 (Agilent, США) согласно инструкции производителя. В дальнейшую работу брали образцы, в которых показатель целостности РНК превышал 4,2 [34].

Мониторинг МОБ проводили в 142 парных образцах КМ и ПК методом ПЦР-РВ по ранее описанным методикам [19, 35, 36] в точках наблюдения (ТН), определенных протоколом терапии MLL-Baby: ТН1–ТН2 – 15-й и 36-й индукционной терапии; ТН3–ТН7 – после каждого курса АТРА (рис. 1). Пациенты с наличием t(4;11)(q21;q23)/MLL-AF4 получали терапию по ветви высокого риска, пациенты с любыми другими перестройками гена MLL, достигшие к 36-м суткам гематологической ремиссии, были отнесены к группе промежуточного риска. Чувствительность ПЦР-РВ, которую оценивали методом лимитирующих разведений клеточных культур RS411 и ТНР-1, составила $1 \cdot 10^{-5}$. Расчет МОБ проводили по формуле. В качестве контрольного гена использовали *ABL*.

$$\text{МОБ} = \frac{\text{Количество копий транскрипта химерного гена}}{\text{Количество копий контрольного гена}} \cdot 100\%.$$

Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение «SPSS 17.0», «Statistica 8.0», «R-statistics». При сравнении двух групп пациентов по количественным признакам использовали критерий Манна–Уитни. Результаты терапии оценивали по кривым бессобытийной выживаемости (БСВ), построенным по методу Каплана–Мейера, а также по кумулятивной вероятности развития рецидива. Для сравнения кривых использовали непараметрические log-rank-критерий и критерий Грея соответственно. Расчет отношения опасности (ОО) с 95% доверительным интервалом (ДИ) провели по методу Кокса в однофакторной и многофакторной моделях. Все различия считались достоверными при $p < 0,05$. Информированное согласие на проведение диагностических и лечебных процедур было получено во всех случаях.

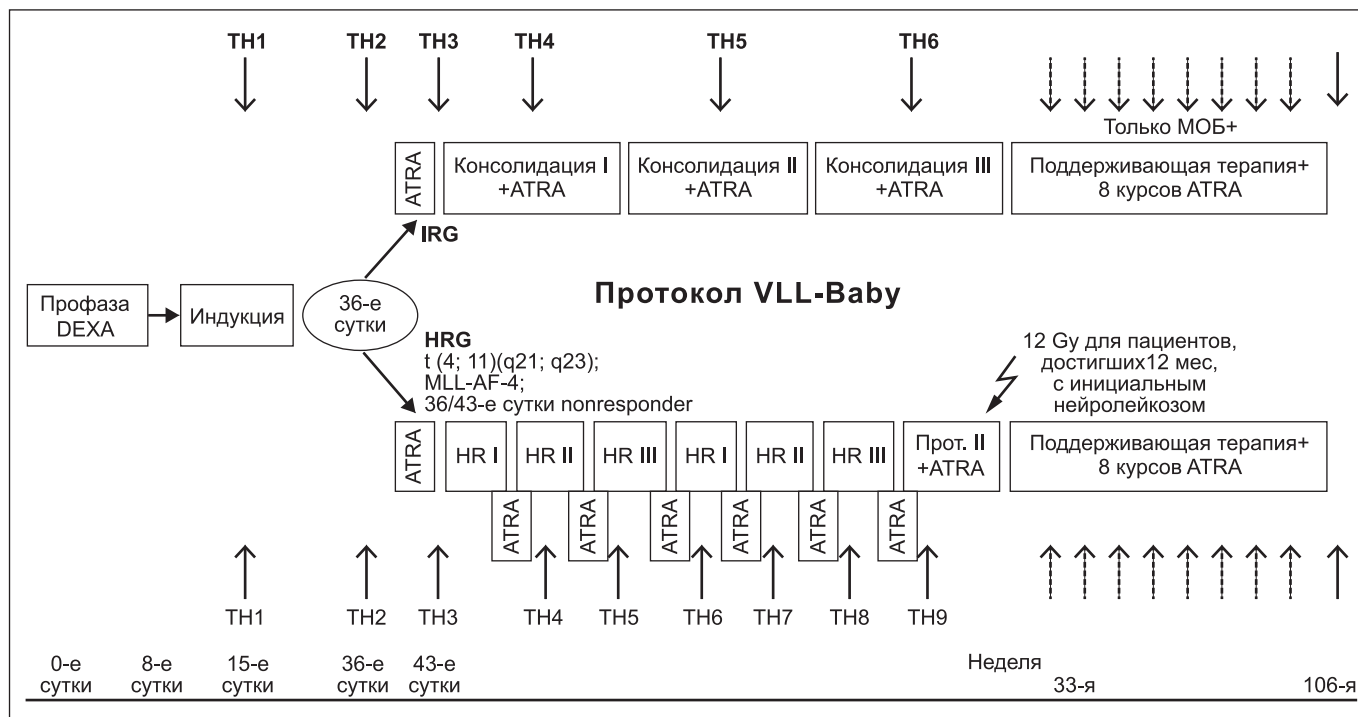


Рис. 1. Схема протокола MLL-Baby с указанием ТН, в которые проводили оценку МОБ.

Результаты и обсуждение. На первом этапе исследования мы сравнили процент выявления МОБ в 142 образцах ПК по сравнению с таковой в парных образцах КМ, взятых в идентичные ТН. Общая сопоставимость результатов качественного выявления МОБ в КМ и ПК составила 84,5% (рис. 2). При этом во всех 22 (15,5%) дискордантных образцах МОБ выявили в КМ, но не в ПК. Минимальную сопоставимость зафиксировали в ТН3 и ТН5 (77,3 и 76,2% соответственно), максимальную – в ТН4 и ТН7 (92,5 и 100% соответственно) (табл. 2). Величина абсолютной экспрессии гена *ABL*, использованного для нормализации, достоверно не различалась в образцах ПК и КМ: в ПК медиана количества копий *ABL* составила $4,95 \cdot 10^4$ (диапазон $1,3 \cdot 10^3 - 1,4 \cdot 10^6$), в КМ – $4,85 \cdot 10^4$ копий (диапазон $1,08 \cdot 10^3 - 3,45 \cdot 10^6$) ($p = 0,76$).

На втором этапе провели оценку прогностической значимости выявления МОБ в ПК в различные ТН (табл. 3). Единственной ТН, для которой были выявлены различия в исходах терапии между МОБ-положительными и МОБ-негативными пациентами, была ТН6. Кроме того, базируясь на ранее полученных данных о негативной прогностической роли сохранения МОБ в ТН4 в КМ, мы повторно оценили прогностическую роль наличия МОБ в этой ТН в КМ при включении в анализ всех 53 пациентов. При этом показали, что сохране-

ние МОБ ТН4 в КМ ведет к достоверно более низкой БСВ по сравнению с таковой у МОБ-негативных пациентов ($0,06 \pm 0,06$ и $0,7 \pm 0,09$ соответственно; $p = 0,0001$) и более высокой кумулятивной вероятности развития рецидива ($0,92 \pm 0,01$ и $0,29 \pm 0,08$ соответственно; $p < 0,0001$) (рис. 3). Медиана времени наблюдения составила 5,02 года. Также получили достоверные различия в величинах БСВ и кумулятивной вероятности развития рецидива между МОБ-положительными и МОБ-негативными пациентами в ТН4 в КМ при разделении их на группы высокого и промежуточного риска (рис. 4).

Затем мы оценили прогностическое значение наличия МОБ в ТН6 в ПК по сравнению с МОБ, определенной в ТН4 в КМ. При этом показали, что использование ПК в

Таблица 2
Сопоставимость выявления МОБ в КМ и ПК в различные ТН протокола MLL-Baby

ТН	Количество образцов	Сопоставимость, %
1	19	89,5
2	31	80,6
3	22	77,3
4	26	92,3
5	21	76,2
6	16	87,5
7	7	100

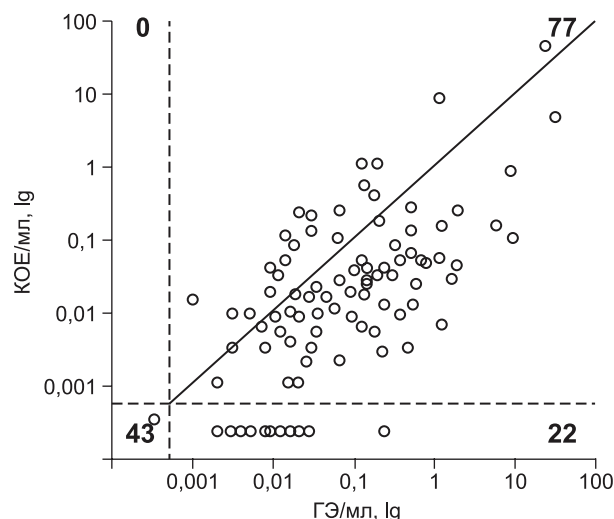


Рис. 2. Сопоставимость результатов определения (в %) МОБ в КМ (по горизонтали) и ПК (по вертикали).

Горизонтальная и вертикальная пунктирные линии отграничивают негативные образцы от позитивных. Цифры – количество образцов. Качественная сопоставимость 84,5%.

Прогностическое значение наличия МОБ в ПК в различные ТН

ТН	Бессобытийная выживаемость (стандартная ошибка)		<i>p</i>	Кумулятивная вероятность рецидива (стандартная ошибка)		<i>p</i>
	МОБ (+)	МОБ (-)		МОБ (+)	МОБ (-)	
2	0,15 (0,12)	0,50 (0,25)	0,433	0,70 (0,09)	0,51 (0,02)	0,460
3	0,16 (0,15)	0,42 (0,10)	0,467	0,83 (0,04)	0,62 (0,04)	0,502
4	0,20 (0,17)	0,51 (0,18)	0,499	0,80 (0,05)	0,50 (0,03)	0,481
5	0	0,57 (0,24)	0,098	0,66 (0,13)	0,42 (0,09)	0,091
6	0	0,44 (0,14)	0,056	0,88 (0,11)	0,25 (0,13)	0,030

Примечание. ТН1 и ТН7 исключили из анализа по следующим причинам: в ТН1 все образцы были МОБ-положительными, в ТН7 было 7 образцов.

ТН6 не дает дополнительных преимуществ, так как исходы терапии, определенные по данным этой ТН, практически полностью дублируют данные, полученные в КМ в ТН4 (рис. 5).

Результаты оценки влияния различных инициальных параметров и факторов ответа на терапию, включая МОБ в ТН4 в КМ, на развитие рецидива ОЛЛ показали, что в однофакторной модели значимыми факторами, повышающими вероятность развития рецидивов, были инициальные лейкоцитоз выше $100 \cdot 10^9$ (ОО = 2,443 (95% ДИ 1,129–5,285)) и нейтролейкоз (ОО = 2,995 (95% ДИ 1,382–6,493)), а также сохранение МОБ в ТН4 в КМ (ОО = 7,181 (95% ДИ 3,002–17,177)). В то же время в многофакторной модели пропорционального риска Кокса единственным значимым фактором являлось сохранение МОБ в ТН4 в КМ (ОО = 7,326 (95% ДИ 2,378–22,565)) (табл. 4).

Использование ПК для оценки МОБ выглядит довольно привлекательным в силу ряда факторов: простоты взятия материала, возможности более частых исследований, снижения травматизации, по сравнению с использованием КМ. Еще одним немаловажным фактором является идентичность опухолевых blastов в КМ и ПК при ОЛЛ, что показано путем сравнения профиля экспрессии генов [37]. Выявление МОБ в ПК стало рутинной практикой при хроническом миелолейкозе [38]. Также это находит применение при ряде солидных опухолей [39–41], лимфомах [42–44], множественной миеломе [45]. Поскольку химерные гены и их транскрипты обнаруживают лишь у 35–40% пациентов с ОЛЛ, то предпринимались попытки использовать величину экспрессии гена опухоли Вильямса (WT1) в ПК в качестве суррогатного маркера оценки МОБ, но в отличие от острого миелоидного лейкоза этот подход не получил большого распространения при ОЛЛ [46].

Работ, посвященных целенаправленному исследованию МОБ в ПК при ОЛЛ, не очень много, и в большинстве из них оценивалась лишь техническая возможность использования ПК для мониторинга МОБ. При использовании в качестве мишени для выявления МОБ индивидуальных перестроек генов Ig/TCR показана сходная кинетика МОБ в ПК и КМ при ОЛЛ [47]. Позднее удалось продемонстрировать высокий уровень сопоставимости количественных результатов определения МОБ в ПК и КМ при Т-ОЛЛ методом ПЦР, в то время как для В-линейных ОЛЛ величина МОБ в ПК и КМ заметно различалась [25]. Подобные данные получены и при использовании в качестве метода мониторинга МОБ проточной цитометрии [24]. Более противоречивые результаты оказались при применении химерных транскриптов для сравнительной оценки МОБ в ПК и КМ. Так, F. van Rhee и соавт. выявили сходный уровень экспрессии *BCR-ABL*, нормализованный как на 1 мкг РНК, вносимый в реакцию, так и по отношению к экспрессии контрольного гена *ABL* [48]. В то же время Н. Martin и соавт. показали, что величина экспрессии *BCR-ABL* в КМ была примерно в 35 раз выше, чем в ПК [49].

Еще меньше исследований проводилось для определения прогностической роли МОБ в ПК при ОЛЛ. М. Vrisko и соавт. обнаружили, что наличие МОБ в ПК у пациентов с ОЛЛ в ремиссии являлось ранним маркером предшествующего гематологического рецидива [50]. Е. Coustan-Smith и соавт. выявили, что одновременное наличие МОБ в ПК и КМ на момент окончания индукционной терапии (46-е сутки) по протоколу TOTAL вело к более высокой вероятности рецидива, чем у тех, у кого МОБ детектировали только в КМ [24]. М. Wogowitz и соавт. показали прогностическую значимость наличия и величины МОБ в ПК на 8-е сутки терапии по про-

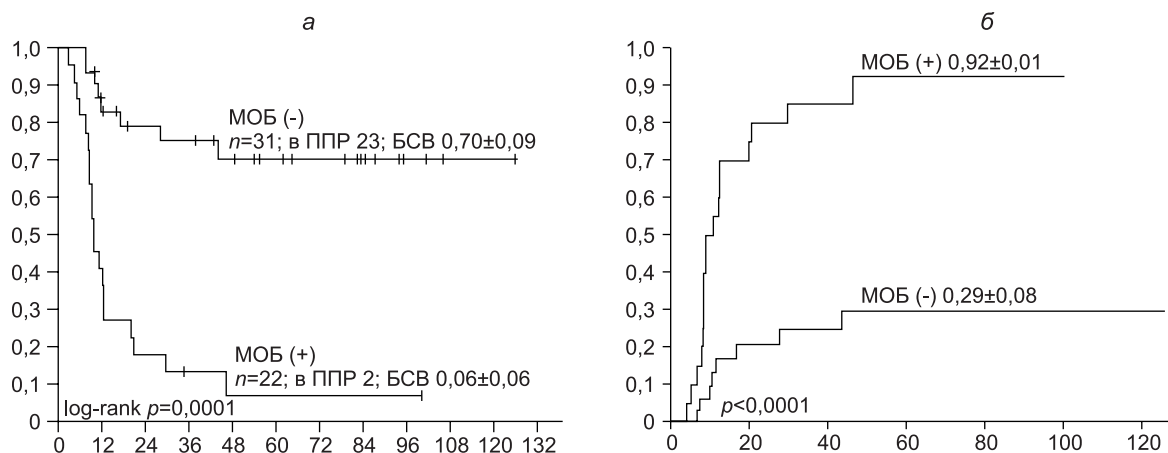


Рис. 3. БСВ (а) и кумулятивная вероятность развития рецидива (б) МОБ-положительных и МОБ-негативных пациентов в зависимости от выявления МОБ в ТН4 в КМ.

Здесь и на рис. 4: по оси абсцисс время наблюдения (в мес); медиана времени наблюдения 5,02 года.

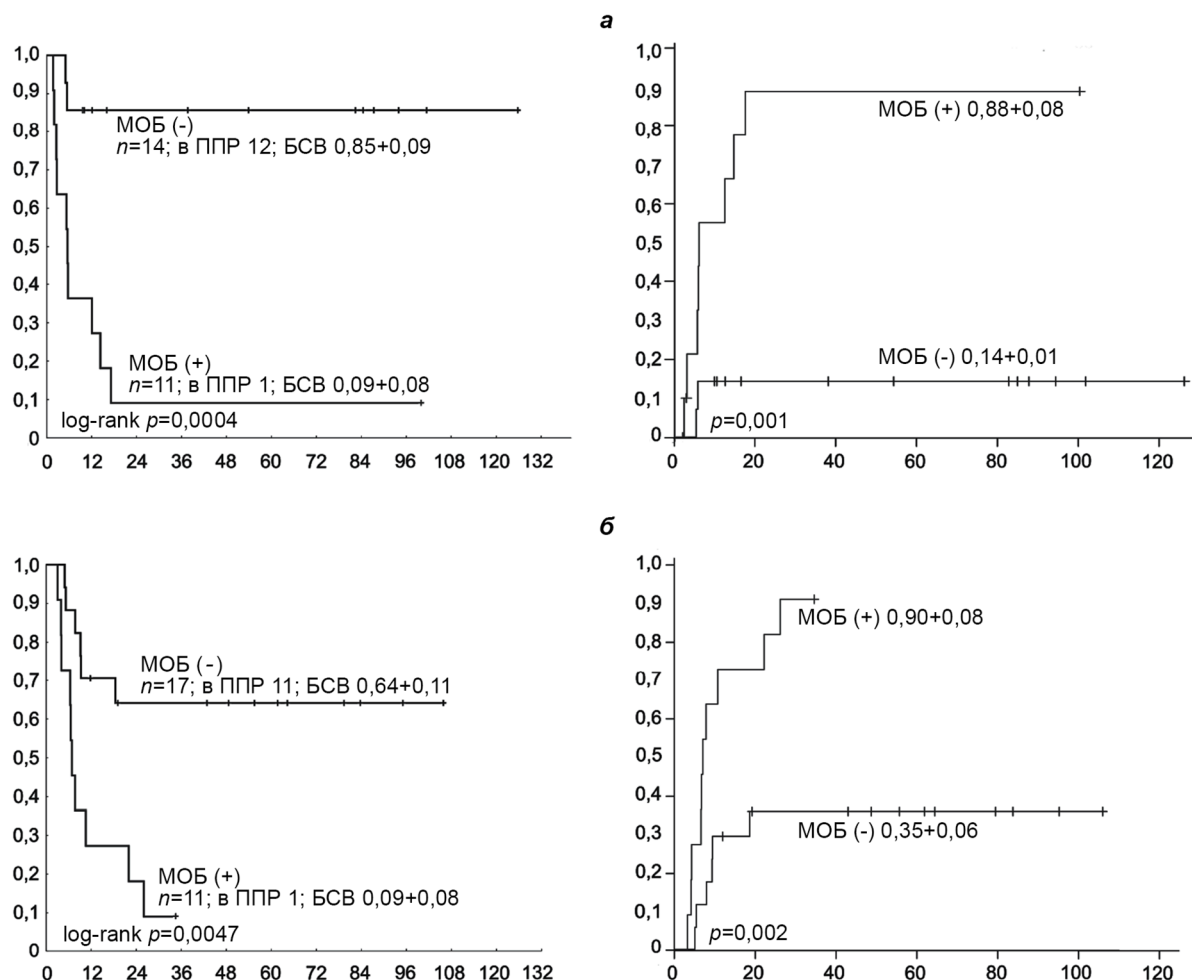


Рис. 4. БСВ и кумулятивная вероятность развития рецидива у 25 пациентов группы высокого риска (с наличием *MLL-AF4*) (а) и 28 пациентов группы промежуточного риска (все остальные перестройки гена *MLL*) (б) в зависимости от обнаружения МОБ в ТН4 в КМ.

Слева по вертикали – БСВ; справа – кумулятивная вероятность развития рецидива.

токолам группы POG (P9904, P9905, P9906): с увеличением значения МОБ снижалась БСВ [21]. J. Volejnikova и соавт. напротив, использовали определение МОБ в ПК для поиска прогностически благоприятной группы пациентов. В эту категорию они отнесли больных, которые имели величину МОБ в ПК на 15-е сутки терапии по протоколу ALL IC-BFM 2002 ниже, чем 10^{-4} [51]. U. Scheuring и соавт. представили данные, согласно которым при мониторинге МОБ у пациентов с Rh-положительным ОЛЛ увеличение нормализованного количества копий *BCR-ABL* более чем в 100 раз ассоциировано с быстрым развитием гематологического рецидива [52].

Полученные в нашей работе различия между выявлением МОБ в ПК и КМ могут быть объяснены как изначально меньшим количеством опухолевых клеток в ПК, так и большей скоростью их элиминации при проведении программной химиотерапии. Мы не получили убедительных данных, доказывающих прогностическое значение наличия МОБ в ПК в различные ТН при терапии ОЛЛ по протоколу *MLL-Baby*. В то же время наши результаты однозначно свидетельствуют о важной роли определения МОБ в КМ: пациенты, у которых сохранялась МОБ в ТН4 в КМ, имели более низкие показатели БСВ. При этом подавляющим большинством неблагоприятных событий в этой группе являлись рецидивы. Важно подчеркнуть, что достоверные различия были зафиксированы также между МОБ-положительными и МОБ-негативными пациентами при разделении на группы высокого и промежуточного риска. Интересно отметить, что в группе МОБ-

негативных пациентов с наличием *MLL-AF4* было всего 2 неблагоприятных события (14%), а в аналогичной группе с наличием других перестроек гена *MLL* их выявляли заметно чаще – 35% ($n = 6$).

Несмотря на высокий уровень сопоставимости результатов определения МОБ в ПК и КМ, наличие МОБ в ПК на

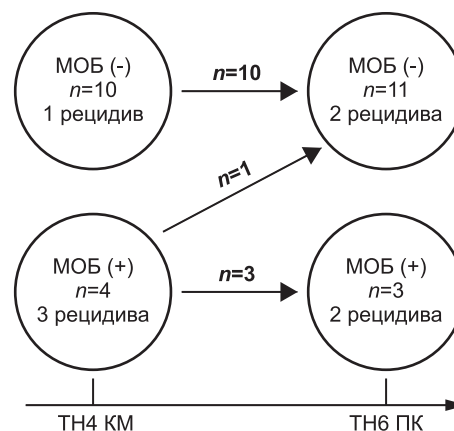


Рис. 5. Оценка прогностического значения выявления МОБ в ТН6 в ПК по отношению к МОБ в ТН4 в КМ.

Таблица 4

Анализ прогностических показателей, влияющих на возникновение рецидивов у пациентов 1-го года жизни с ОЛЛ, которые получают терапию по протоколу MLL-Baby с учетом МОБ в ТН4 в КМ

Показатель	n	Событие	Однофакторный анализ			Многофакторный анализ		
			ОО	95% ДИ	p	ОО	95% ДИ	p
Возраст, мес:								
старше 6	22	8	Референтное	–	0,059	Референтное	–	0,513
младше 6	31	19	2,179	0,949–5,005		1,393	0,515–3,765	
Иммунофенотип:								
VI-ОЛЛ	36	16	0,746	0,346–1,610	0,623	1,611	0,405–6,416	0,499
VII-ОЛЛ	8	7	2,136	0,899–5,077	0,079	1,225	0,274–5,469	0,790
VIII-ОЛЛ	9	4	0,703	0,242–2,041	0,514	1	–	–
Наличие MLL-AF4:								
нет	28	4	Референтное	–	0,685	Референтное	–	0,529
есть	25	8	0,853	0,396–1,840		0,752	0,311–1,821	
Инициальный лейкоцитоз, · 10 ⁹ :								
< 100	29	11	Референтное	–	0,019	Референтное	–	0,995
≥ 100	24	16	2,443	1,129–5,285		0,996	0,338–2,934	
Инициальное поражение ЦНС:								
нет	33	12	Референтное	–	0,004	Референтное	–	0,071
есть	19	15	2,995	1,382–6,493		2,187	0,936–5,114	
Количество бластов в 1 мкл крови на 8-е сутки терапии дексаметазоном:								
< 1000	43	21	Референтное	–	0,096	Референтное	–	0,993
≥ 1000	7	6	2,131	0,856–5,304		0,996	0,364–2,722	
Выявление МОБ в ТН4:								
отсутствие	31	7	Референтное	–	0,001	Референтное	–	0,001
наличие	22	20	7,181	3,002–17,177		7,326	2,378–22,565	

различных этапах терапии не показало самостоятельной прогностической значимости. Выявленные различия не были связаны с чувствительностью метода, определяемой по величине абсолютной экспрессии гена *ABL*, а скорее всего отражали реальное распределение опухолевых клеток в различных компартментах. Использование ПК вместо КМ для мониторинга МОБ при ОЛЛ у детей 1-го года жизни нецелесообразно. В то же время сохранение МОБ в ТН4 в КМ является независимым прогностически неблагоприятным фактором при терапии ОЛЛ у детей 1-го года жизни по протоколу MLL-Baby.

ЛИТЕРАТУРА

- Biondi A., Cimino G., Pieters R., Pui C.-H. Biological and therapeutic aspects of infant leukemia. *Blood*. 2000; 96(1): 24–33.
- Pui C.-H., Carroll W., Meshinchi S., Arceci R. Biology, risk stratification, and therapy of pediatric acute leukemias: an update. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29(5): 551–65.
- Borkhardt A., Wuchter C., Viehmann S., Pils S., Teigler-Schlegel A., Stanulla M. et al. Infant acute lymphoblastic leukemia - combined cytogenetic, immunophenotypic and molecular analysis of 77 cases. *Leukemia*. 2002; 16(9): 1685–90.
- Chessells J., Harrison C., Kempski H., Webb D., Wheatley K., Harm I. et al. Clinical features, cytogenetics and outcome in acute lymphoblastic and myeloid leukaemia of infancy: report from the MRC Childhood Leukaemia working party. *Leukemia*. 2002; 16(5): 776–84.
- Emerenciano M., Agudelo Arias D., Coser V., Brito de G., Macedo Silva M., Pombo-de-Oliveira M. Molecular cytogenetic findings of acute leukemia included in the Brazilian Collaborative Study Group of Infant acute leukemia. *Pediatr. Blood Cancer*. 2006; 47(5): 549–54.
- Pieters R., Schrappe M., Lorenzo de P., Harm I., De Rossi G., Felice M. et al. A treatment protocol for infants younger than 1 year with acute lymphoblastic leukaemia (Interfant-99): an observational study and a multicentre randomised trial. *Lancet*. 2007; 370: 240–50.
- Tomizawa D., Koh K., Sato T., Kinukawa N., Morimoto A., Isoyama K. et al. Outcome of risk-based therapy for infant acute lymphoblastic leukemia with or without an MLL gene rearrangement, with emphasis on late effects: a final report of two consecutive studies, MLL96 and MLL98, of the Japan Infant Leukemia Study Group. *Leukemia*. 2007; 22(11): 2258–63.
- Цаур Г. А., Попов А. М., Алейникова О. В., Бойченко Э. Г., Вержбицкая Т. Ю., Волочник Е. В. и др. Характеристика перестроек 11q23 (MLL) у детей первого года жизни с острым лимфобластным лейкозом. *Онкогематология*. 2011; 3: 57–64.
- Цаур Г. А., Плеханова О. М., Гиндина Т. Л., Ольшанская Ю. В., Попов А. М., Волочник Е. В. и др. Применение метода флуоресцентной гибридизации in situ для выявления перестроек гена MLL при острых лейкозах у детей первого года жизни. *Медицинская генетика*. 2012; 7: 35–45.
- Aricò M., Valsecchi M.-G., Camitta B., Schrappe M., Chessells J., Baruchel A. et al. Outcome of treatment in children with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2000; 342(14): 998–1006.
- Nagayama L., Tomizawa D., Koh K., Nagatoshi Y., Hotta N., Kishimoto T. et al. Infants with acute lymphoblastic leukemia and a germline MLL gene are highly curable with use of chemotherapy alone: results from the Japan Infant Leukemia Study Group. *Blood*. 2006; 107(12): 4663–5.
- Цаур Г. А., Флейшман Е. В., Попов А. М., Сокова О. И., Алейникова О. В., Бойченко Э. Г. и др. Цитогенетическая и молекулярно-

- генетическая характеристика острых лейкозов у детей первого года жизни. Клиническая онкогематология: фундаментальные исследования в клинической практике. 2011; 4(2): 134–41
13. Ferster A., Bertrand Y., Benoit Y., Boilletot A., Behar C., Marguerite G. et al. Improved survival for acute lymphoblastic leukaemia in infancy: the experience of EORTC-Childhood Leukaemia Cooperative Group. *Br. J. Haematol.* 1994; 86(2): 284–90.
 14. Silverman L., McLean T., Gelber R., Donnelly M., Gilliland D., Tarbell N. et al. Intensified therapy for infants with acute lymphoblastic leukemia: results from the Dana-Farber Cancer Institute Consortium. *Cancer.* 1997; 80(12): 2285–95.
 15. Reaman G., Spoto R., Sensel M., Lange B., Feusner J., Heerema N. et al. Treatment outcome and prognostic factors for infants with acute lymphoblastic leukemia treated on two consecutive trials of the Children's Cancer Group. *J. Clin. Oncol.* 1999; 17(2): 445–55.
 16. Dördelmann M., Reiter A., Borkhardt A., Ludwig W.-D., Götz N., Viehmann S. et al. Prednisone response is the strongest predictor of treatment outcome in infant acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 1999; 94(4): 1209–17.
 17. Dongen van J., Seriu T., Panzer-Gruemayer R., Biondi A., Pongers-Willems M., Corral L. et al. Prognostic value of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia in childhood. *Lancet.* 1998; 352: 1731–8.
 18. Dworzak M. N., Froschl G., Printz D., Mann G., Pötschger U., Mühlegger N. et al. Prognostic significance and modalities of flow cytometric minimal residual disease detection in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2002; 99(6): 1952–8.
 19. Gabert J., Beillard E., Velden van der V., Bi W., Grimwade D., Pallisaard N. et al. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia – A Europe Against Cancer Program Leukemia. 2003; 17(12): 2318–57.
 20. Campana D. Minimal residual disease studies in acute leukaemia. *Am. J. Clin. Pathol.* 2004; 122: S47–S57.
 21. Flohr T., Schrauder A., Cazzaniga G., Panzer-Gruemayer R., Velden van der V., Fischer S. et al. Minimal residual disease-directed risk stratification using real-time quantitative PCR analysis of immunoglobulin and T-cell receptor gene rearrangements in the international multicenter trial AIEOP-BFM ALL 2000 for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 2008; 22(4): 771–82.
 22. Borowitz M., Devidas M., Hunger S., Bowman W., Carroll A., Carroll W. 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.
 23. Brueggemann M., Schrauder A., Raff T., Pfeifer H., Dworzak M., Ottmann O. et al. Standardized MRD quantification in European ALL trials: proceedings of the second international symposium on MRD assessment in Kiel, Germany, 18–20 September 2008. *Leukemia.* 2010; 24(3): 521–35.
 24. Coustan-Smith E., Sancho J., Hancock M., Razzouk B., Ribeiro R., Rivera G. et al. Use of peripheral blood instead of bone marrow to monitor residual disease in children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2002; 100(7): 2399–402.
 25. Velden van der V., Jacobs D., Wijkhuijs A., Comans-Bitter W., Willemse M., Hahlen K. et al. Minimal residual disease levels in bone marrow and peripheral blood are comparable in children with T cell acute lymphoblastic leukemia (ALL), but not in precursor-B-ALL. *Leukemia.* 2002; 16(8): 1432–6.
 26. Schwarz A., Stanulla M., Cario G., Flohr T., Sutton R., Mörücke A. et al. Quantification of free total plasma DNA and minimal residual disease detection in the plasma of children with acute lymphoblastic leukemia. *Ann. Hematol.* 2009; 88(9): 897–905.
 27. Cheng S.-H., Lau K.-M., Li C.-K., Chan N.-P., Ip R.-K., Cheng C.-K. et al. Minimal residual disease-based risk stratification in Chinese childhood acute lymphoblastic leukemia by flow cytometry and plasma DNA quantitative polymerase chain reaction. *PLoS One.* 2013; 8(7): e69467.
 28. Fechina L., Shorikov E., Tsaour G., Saveliev L., Popov A., Aleinikova O. et al. Contribution of all-trans retinoic acid to improved early relapse-free outcome in infant acute lymphoblastic leukemia comparing to the chemotherapy alone. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts).* 2007; 110(11): 832A.
 29. Fechina L., Shorikov E., Strenova O., Khlebnikova O., Vyatkin I., Vakhonina L. et al. Does ATRA confirm to play a role in the better relapse free survival of infants with acute lymphoblastic leukemia? *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts).* 2011; 118(21): Abstract 1515.
 30. Цаур Г. А., Попов А. М., Наседкина Т. В., Капенник О. В., Кустанович А. М., Алейникова О. В. и соавт. Прогностическое значение минимальной остаточной болезни, определенной путем выявления химерных транскриптов у детей первого года жизни, больных острым лимфобластным лейкозом, получающих терапию по протоколу MLL-Baby. *Гематология и трансфузиология.* 2012; 57(4): 12–22.
 31. Borkhardt F., Repp R., Haupt E., Brettreich S., Buchen U., Gossen R. et al. Molecular analysis of MLL/AF4 recombination in infant acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 1994; 8(4): 549–53.
 32. Pallisaard N., Hokland P., Riishoj D., Pedersen B., Jorgensen P. Multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction for simultaneous screening of 29 translocations and chromosomal aberrations in acute leukemia. *Blood.* 1998; 92(2): 574–88.
 33. Dongen van J., Macintyre E., Gabert J., Delabesse E., Rossi V., Saglio G. et al. Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. *Leukemia.* 1999; 13(12): 1901–28.
 34. Цаур Г. А., Друй А. Е., Попов А. М., Семенихина Е. Р., Ригер Т. О., Иванова А. С. и соавт. Возможность использования микроструйных биочипов для оценки качества и количества РНК у детей с онкологическими и онкогематологическими заболеваниями. *Вестник уральской медицинской академической науки.* 2011; 4: 107–11.
 35. Jansen M., Velden van der V., Dongen van J. Efficient and easy detection of MLL-AF4, MLL-AF9 and MLL-ENL fusion gene transcripts by multiplex real-time quantitative RT-PCR in TaqMan and LightCyc. *Leukemia.* 2005; 19(11): 2016.
 36. Цаур Г. А., Наседкина Т. В., Попов А. М., Капенник О. В., Колодовников А. Г., Ригер Т. О. и соавт. Время достижения молекулярной ремиссии как фактор прогноза у детей первого года жизни острым лимфобластным лейкозом. *Онкогематология.* 2010; 2: 46–54.
 37. Hansson F., Toporski J., Månsson R., Johansson B., Norén-Nyström U., Jacobsen S. et al. Exit of pediatric pre-B acute lymphoblastic leukaemia cells from the bone marrow to the peripheral blood is not associated with cell maturation or alterations in gene expression. *Mol. Cancer.* 2008; 7: 67.
 38. Bacarani M., Deininger M., Rosti G., Hochhaus A., Soverini S., Apperley J. et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood.* 2013; 122(6): 872–84.
 39. Khair G., Monson J., Greenman J. Epithelial molecular markers in the peripheral blood of patients with colorectal cancer. *Dis. Colon. Rectum.* 2007; 50(8): 1188–203.
 40. Romero-Laorden N., Olmos D., Fehn T., Garcia-Donas J., Diaz-Padilla I. Circulating and disseminated tumor cells in ovarian cancer: a systematic review. *Gynecol. Oncol.* 2014; 133(3): 632–9.
 41. Yáñez Y., Grau E., Oltra S., Cañete A., Martínez F., Orellana C. et al. Minimal disease detection in peripheral blood and bone marrow from patients with non-metastatic neuroblastoma. *J. Cancer. Res. Oncol.* 2013(8): 1263–72.
 42. Coustan-Smith E., Sandlund J., Perkins S., Chen H., Chang M., Abromowitch M. et al. Minimal disseminated disease in childhood T-cell lymphoblastic lymphoma: a report from the children's oncology group. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27(21): 3533–9.
 43. Simonsen A., Sørensen C., Ebbesen L., Bødker J., Bentzen H., Nyvold C. SOX11 as a minimal residual disease marker for Mantle cell lymphoma. *Leuk. Res.* 2014; 38(8): 918–24.
 44. Damm-Welk C., Mussolin L., Zimmermann M., Pillon M., Klapper W., Oschlies I. et al. Early assessment of minimal residual disease identifies patients at very high relapse risk in NPM-ALK-positive anaplastic large-cell lymphoma. *Blood.* 2014; 123(3): 334–7.
 45. Korthals M., Sehnke N., Kronenwett R., Schroeder T., Strapatsas T., Kobbe G. et al. Molecular monitoring of minimal residual disease in the peripheral blood of patients with multiple myeloma. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2013; 19(7): 1109–15.
 46. Magyarosy E., Varga N., Tim@ar J., R@as@o E. Follow-up of minimal residual disease in acute childhood lymphoblastic leukemia by

- WT1 gene expression in the peripheral blood: the Hungarian experience. *Pediatr. Hematol. Oncol.* 2003; 20(1): 65–74.
47. Brisco M., Sykes P., Hughes E., Dolman G., Neoh S.-H., Peng L.-M. et al. Monitoring minimal residual disease in peripheral blood in B-lineage acute lymphoblastic leukaemia. *Br. J. Haematol.* 1997; 99(2): 314–9.
 48. Rhee van F., Marks D., Lin F., Szydlo R., Hochhaus A., Treleaven J. et al. Quantification of residual disease in Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia: comparison of blood and bone marrow. *Leukemia.* 1995; 9(2): 329–35.
 49. Martin H., Atta J., Bruecher J., Eisner S., Schardt C., Stadler M. et al. In patients with BCR-ABL-positive ALL in CR peripheral blood contains less residual disease than bone marrow: implications for autologous BMT. *Ann. Hematol.* 1994; 68(2): 85–7.
 50. Brisco M., Sykes P., Hughes E., Story C., Rice M., Schwarzer A. et al. Molecular relapse can be detected in blood in a sensitive and timely fashion in B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 2001; 15(11): 1801–2.
 51. Volejnikova J., Mejstrikova E., Valova T., Reznickova L., Hodonska L., Mihal V. et al. Minimal residual disease in peripheral blood at day 15 identifies a subgroup of childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia with superior prognosis. *Haematologica.* 2011; 96(12): 1815–21.
 52. Scheuring U., Pfeifer H., Wassmann B., Brück P., Gehrke B., Petershofen E. et al. Serial minimal residual disease (MRD) analysis as a predictor of response duration in Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia (Ph + ALL) during imatinib treatment. *Leukemia.* 2003; 17(9): 1700–6.
-
- REFERENCES
1. Biondi A., Cimino G., Pieters R., Pui C.-H. Biological and therapeutic aspects of infant leukemia. *Blood.* 2000; 96(1): 24–33.
 2. Pui C.-H., Carroll W., Meshinchi S., Arceci R. Biology, risk stratification, and therapy of pediatric acute leukemias: an update. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29(5): 551–65.
 3. Borkhardt A., Wuchter C., Viehmann S., Pils S., Teigler-Schlegel A., Stanulla M. et al. Infant acute lymphoblastic leukemia – combined cytogenetic, immunophenotypic and molecular analysis of 77 cases. *Leukemia.* 2002; 16(9): 1685–90.
 4. Chessells J., Harrison C., Kempki H., Webb D., Wheatley K., Harm I. et al. Clinical features, cytogenetics and outcome in acute lymphoblastic and myeloid leukaemia of infancy: report from the MRC Childhood Leukaemia working party. *Leukemia.* 2002; 16(5): 776–84.
 5. Emerenciano M., Agudelo Arias D., Coser V., Brito de G., Macedo Silva M., Pombo-de-Oliveira M. Molecular cytogenetic findings of acute leukemia included in the Brazilian Collaborative Study Group of Infant acute leukemia. *Pediatr. Blood Cancer.* 2006; 47(5): 549–54.
 6. Pieters R., Schrappe M., Lorenzo de P., Harm I., De Rossi G., Felice M. et al. A treatment protocol for infants younger than 1 year with acute lymphoblastic leukaemia (Interfant-99): an observational study and a multicentre randomised trial. *Lancet.* 2007; 370: 240–50.
 7. Tomizawa D., Koh K., Sato T., Kinukawa N., Morimoto A., Itoyama K. et al. Outcome of risk-based therapy for infant acute lymphoblastic leukemia with or without an MLL gene rearrangement, with emphasis on late effects: a final report of two consecutive studies, MLL96 and MLL98, of the Japan Infant Leukemia Study Group. *Leukemia.* 2007; 22(11): 2258–63.
 8. Tsaur G. A., Popov A. M., Aleinikova O. V., Boychenko E. G., Verzhbitskaya T. Yu., Volochnik E. V. et al. Detection of llq23 (MLL) rearrangements in infant acute lymphoblastic leukemia. *Oncogematologia.* 2011; 3: 57–64. (in Russian)
 9. Tsaur G. A., Plekhanova O. M., Gindina T. L., Olshanskaya Yu. V., Popov A. M., Volochnik E. V. et al. Detection of MLL gene rearrangements in infants under 12 month of age with acute leukemias by fluorescence in-situ hybridization. *Meditimkaya genetika.* 2012; 7: 35–45. (in Russian)
 10. Aricò M., Valsecchi M.-G., Camitta B., Schrappe M., Chessells J., Baruchel A. et al. Outcome of treatment in children with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2000; 342(14): 998–1006.
 11. Nagayama L., Tomizawa D., Koh K., Nagatoshi Y., Hotta N., Kishimoto T. et al. Infants with acute lymphoblastic leukemia and a germline MLL gene are highly curable with use of chemotherapy alone: results from the Japan Infant Leukemia Study Group. *Blood.* 2006; 107(12): 4663–5.
 12. Tsaur G. A., Fleischman E. V., Popov A. M., Sokova O. I., Aleinikova O. V., Boychenko E. G. et al. Cytogenetics and molecular genetics of infant acute leukemias. *Klinicheskaja onkogematologija: fundamental'nye issledovaniya v klinicheskoy praktike.* 2011; 4(2): 134–41. (in Russian)
 13. Ferster A., Bertrand Y., Benoit Y., Boilletot A., Behar C., Marguerite G. et al. Improved survival for acute lymphoblastic leukaemia in infancy: the experience of EORTC-Childhood Leukaemia Cooperative Group. *Br. J. Haematol.* 1994; 86(2): 284–90.
 14. Silverman L., McLean T., Gelber R., Donnelly M., Gilliland D., Tarbell N. et al. Intensified therapy for infants with acute lymphoblastic leukemia: results from the Dana-Farber Cancer Institute Consortium. *Cancer.* 1997; 80(12): 2285–95.
 15. Reaman G., Spoto R., Sensel M., Lange B., Feusner J., Heerema N. et al. Treatment outcome and prognostic factors for infants with acute lymphoblastic leukemia treated on two consecutive trials of the Children's Cancer Group. *J. Clin. Oncol.* 1999; 17(2): 445–55.
 16. Dördelmann M., Reiter A., Borkhardt A., Ludwig W.-D., Götz N., Viehmann S. et al. Prednisone response is the strongest predictor of treatment outcome in infant acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 1999; 94(4): 1209–17.
 17. Dongen van J., Seriu T., Panzer-Gruemayer R., Biondi A., Pongers-Willems M., Corral L. et al. Prognostic value of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia in childhood. *Lancet.* 1998; 352: 1731–8.
 18. Dworzak M. N., Froschl G., Printz D., Mann G., Pötschger U., Mühlegger N. et al. Prognostic significance and modalities of flow cytometric minimal residual disease detection in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2002; 99(6): 1952–8.
 19. Gabert J., Beillard E., Velden van der V., Bi W., Grimwade D., Pallisaard N. et al. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia - A Europe Against Cancer Program Leukemia. 2003; 17(12): 2318–57.
 20. Campana D. Minimal residual disease studies in acute leukaemia. *Am. J. Clin. Pathol.* 2004; 122: S47–S57.
 21. Flohr T., Schrauder A., Cazzaniga G., Panzer-Gruemayer R., Velden van der V., Fischer S. et al. Minimal residual disease-directed risk stratification using real-time quantitative PCR analysis of immunoglobulin and T-cell receptor gene rearrangements in the international multicenter trial AIEOP-BFM ALL 2000 for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 2008; 22(4): 771–82.
 22. Borowitz M., Devidas M., Hunger S., Bowman W., Carroll A., Carroll W. 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.
 23. Brueggemann M., Schrauder A., Raff T., Pfeifer H., Dworzak M., Ottmann O. et al. Standardized MRD quantification in European ALL trials: proceedings of the second international symposium on MRD assessment in Kiel, Germany, 18–20 September 2008. *Leukemia.* 2010; 24(3): 521–35.
 24. Coustan-Smith E., Sancho J., Hancock M., Razzouk B., Ribeiro R., Rivera G. et al. Use of peripheral blood instead of bone marrow to monitor residual disease in children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2002; 100(7): 2399–402.
 25. Velden van der V., Jacobs D., Wijkhuijs A., Comans-Bitter W., Willems M., Hahlen K. et al. Minimal residual disease levels in bone marrow and peripheral blood are comparable in children with T cell acute lymphoblastic leukemia (ALL), but not in precursor-B-ALL. *Leukemia.* 2002; 16(8): 1432–6.
 26. Schwarz A., Stanulla M., Cario G., Flohr T., Sutton R., Mörcke A. et al. Quantification of free total plasma DNA and minimal residual disease detection in the plasma of children with acute lymphoblastic leukemia. *Ann. Hematol.* 2009; 88(9): 897–905.
 27. Cheng S.-H., Lau K.-M., Li C.-K., Chan N.-P., Ip R.-K., Cheng C.-K. et al. Minimal residual disease-based risk stratification in Chinese

- childhood acute lymphoblastic leukemia by flow cytometry and plasma DNA quantitative polymerase chain reaction. *PLoS One*. 2013; 8(7): e69467.
28. Fechina L., Shorikov E., Tsauro G., Saveliev L., Popov A., Aleinikova O. et al. Contribution of all-trans retinoic acid to improved early relapse-free outcome in infant acute lymphoblastic leukemia comparing to the chemotherapy alone. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*. 2007; 110(11): 832A.
 29. Fechina L., Shorikov E., Strenova O., Khlebnikova O., Vyatkin I., Vakhonina L. et al. Does ATRA confirm to play a role in the better relapse free survival of infants with acute lymphoblastic leukemia? *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*. 2011; 118(21): Abstract 1515.
 30. Tsauro G. A., Popov A. M., Nasedkina T. V., Kalennik O. V., Kustanovich A. M., Aleinikova O. V. et al. Prognostic significance of minimal residual disease detected by PCR for fusion gene transcripts in infant acute lymphoblastic leukemia treated by MLL-baby protocol. *Gematologiya i transfiziologiya*. 2012; 57(4): 12–22. (in Russian)
 31. Borkhardt F., Repp R., Haupt E., Brettreich S., Buchen U., Gossen R. et al. Molecular analysis of MLL/AF4 recombination in infant acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 1994; 8(4): 549–53.
 32. Pallisgaard N., Hokland P., Riisshoj D., Pedersen B., Jorgensen P. Multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction for simultaneous screening of 29 translocations and chromosomal aberrations in acute leukemia. *Blood*. 1998; 92(2): 574–88.
 33. Dongen van J., Macintyre E., Gabert J., Delabesse E., Rossi V., Saglio G. et al. Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. *Leukemia*. 1999; 13(12): 1901–28.
 34. Tsauro G. A., Druy A. E., Popov A. M., Semenikhina E. R., Riger T. O., Ivanova A. S. et al. Microfluidic biochips for RNA quantity and quality evaluation in patients with oncological disorders. *Vestnik ural'skoi medicinskoi akademicheskoi nauki*. 2011; 4: 107–11. (in Russian)
 35. Jansen M., Velden van der V., Dongen van J. Efficient and easy detection of MLL-AF4, MLL-AF9 and MLL-ENL fusion gene transcripts by multiplex real-time quantitative RT-PCR in TaqMan and LightCyc. *Leukemia*. 2005; 19(11): 2016.
 36. Tsauro G. A., Nasedkina T. V., Popov A. M., Kalennik O. V., Solodovnikov A. G., Riger T. O. et al. Prediction of outcome in infants acute lymphoblastic leukemia by time to achievement of molecular remission. *Oncogematologiya*. 2010; 2: 46–54. (in Russian)
 37. Hansson F., Toporski J., Månsson R., Johansson B., Norén-Nyström U., Jacobsen S. et al. Exit of pediatric pre-B acute lymphoblastic leukaemia cells from the bone marrow to the peripheral blood is not associated with cell maturation or alterations in gene expression. *Mol. Cancer*. 2008; 7: 67.
 38. Baccarani M., Deininger M., Rosti G., Hochhaus A., Soverini S., Apperley J. et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood*. 2013; 122(6): 872–84.
 39. Khair G., Monson J., Greenman J. Epithelial molecular markers in the peripheral blood of patients with colorectal cancer. *Dis. Colon. Rectum*. 2007; 50(8): 1188–203.
 40. Romero-Laorden N., Olmos D., Fehn T., Garcia-Donas J., Diaz-Padilla I. Circulating and disseminated tumor cells in ovarian cancer: a systematic review. *Gynecol. Oncol.* 2014; 133(3): 632–9.
 41. Yáñez Y., Grau E., Oltra S., Cañete A., Martínez F., Orellana C. et al. Minimal disease detection in peripheral blood and bone marrow from patients with non-metastatic neuroblastoma. *J. Cancer. Res. Oncol.* 2013(8): 1263–72.
 42. Coustan-Smith E., Sandlund J., Perkins S., Chen H., Chang M., Abromowitch M. et al. Minimal disseminated disease in childhood T-cell lymphoblastic lymphoma: a report from the children's oncology group. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27(21): 3533–9.
 43. Simonsen A., Sørensen C., Ebbesen L., Bødker J., Bentzen H., Nyvold C. SOX11 as a minimal residual disease marker for Mantle cell lymphoma. *Leuk. Res.* 2014; 38(8): 918–24.
 44. Damm-Welk C., Mussolin L., Zimmermann M., Pillon M., Klapper W., Oschlies I. et al. Early assessment of minimal residual disease identifies patients at very high relapse risk in NPM-ALK-positive anaplastic large-cell lymphoma. *Blood*. 2014; 123(3): 334–7.
 45. Korthals M., Sehnke N., Kronenwett R., Schroeder T., Strapatsas T., Kobbe G. et al. Molecular monitoring of minimal residual disease in the peripheral blood of patients with multiple myeloma. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2013; 19(7): 1109–15.
 46. Magyarosy E., Varga N., Timár J., Rásó E. Follow-up of minimal residual disease in acute childhood lymphoblastic leukemia by WT1 gene expression in the peripheral blood: the Hungarian experience. *Pediatr. Hematol. Oncol.* 2003; 20(1): 65–74.
 47. Brisco M., Sykes P., Hughes E., Dolman G., Neoh S.-H., Peng L.-M. et al. Monitoring minimal residual disease in peripheral blood in B-lineage acute lymphoblastic leukaemia. *Br. J. Haematol.* 1997; 99(2): 314–9.
 48. Rhee van F., Marks D., Lin F., Szydlo R., Hochhaus A., Treleaven J. et al. Quantification of residual disease in Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia: comparison of blood and bone marrow. *Leukemia*. 1995; 9(2): 329–35.
 49. Martin H., Atta J., Bruecher J., Eisner S., Schardt C., Stadler M. et al. In patients with BCR-ABL-positive ALL in CR peripheral blood contains less residual disease than bone marrow: implications for autologous BMT. *Ann. Hematol.* 1994; 68(2): 85–7.
 50. Brisco M., Sykes P., Hughes E., Story C., Rice M., Schwarzer A. et al. Molecular relapse can be detected in blood in a sensitive and timely fashion in B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 2001; 15(11): 1801–2.
 51. Volejnikova J., Mejstrikova E., Valova T., Reznickova L., Hodonska L., Mihal V. et al. Minimal residual disease in peripheral blood at day 15 identifies a subgroup of childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia with superior prognosis. *Haematologica*. 2011; 96(12): 1815–21.
 52. Scheuring U., Pfeifer H., Wassmann B., Brück P., Gehrke B., Petershofen E. et al. Serial minimal residual disease (MRD) analysis as a predictor of response duration in Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia (Ph + ALL) during imatinib treatment. *Leukemia*. 2003; 17(9): 1700–6.

Поступила 21.10.14

Received 21.10.14