

**Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр онкологии
имени Н.Н. Блохина»
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

На правах рукописи

ШЕРВАШИДZE МЕРИ АЛЕКСЕЕВНА

**КЛИНИЧЕСКОЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
МИНИМАЛЬНОЙ ОСТАТОЧНОЙ БОЛЕЗНИ У ДЕТЕЙ
С В-ЛИНЕЙНЫМ ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ**

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук
Валиев Тимур Теймуразович

Москва – 2024 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
ГЛАВА 2. ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ, МЕТОДОВ ОБСЛЕДОВАНИЯ И ЛЕЧЕНИЯ.....	37
2.1. Характеристика пациентов.....	37
2.3. Методы лечения	47
2.4. Профилактические мероприятия и сопроводительная терапия	57
2.5. Оценка ответа на лечение.....	58
2.6. Статистическая обработка данных.....	60
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МИНИМАЛЬНОЙ ОСТАТОЧНОЙ БОЛЕЗНИ КАК ФАКТОРА РЕСТРАТИФИКАЦИИ ПРИ В-ЛИНЕЙНОМ ОСТРОМ ЛИМФОБЛАСТНОМ ЛЕЙКОЗЕ	61
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ ДЕТЕЙ С В-ЛИНЕЙНЫМ ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ С УЧЕТОМ МИНИМАЛЬНОЙ ОСТАТОЧНОЙ БОЛЕЗНИ	73
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	92
ВЫВОДЫ	96
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	98
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	99
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	101

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы и степень её разработанности

Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) представляет собой наиболее частое злокачественное заболевание у детей и составляет 80% от всех лейкозий (Schrappe M., 2003). Среди морфо-иммунологических вариантов ОЛЛ превалирует лейкоз из В-линейных предшественников – 80–85%.

Современные протоколы лечения ОЛЛ являются весьма эффективными и позволяют достичь 5-летнюю безрецидивную выживаемость у детей в 85% случаев, но остается 15% больных, у которых развивается рецидив заболевания. Одной из возможных причин рецидива ОЛЛ является персистенция устойчивых к химиотерапии субклонов опухоли [9].

Прогнозирование вероятности рецидива ОЛЛ, сопоставление клинических, морфологических, иммунологических и цитогенетических характеристик опухоли, стало основой выделения прогностических факторов и разработки риск-ориентированной терапии.

По мере совершенствования способов обнаружения опухолевой популяции клеток, стало возможным определить 1 опухолевую клетку на 10^4 – 10^8 ядродержащие клеток костного мозга. Методы проточной цитометрии и полимеразной цепной реакции заняли прочное место среди диагностических методик при ОЛЛ (Тупицын Н. Н., Campana D., 2016).

Результатом использования высокочувствительных методов стало обнаружение популяции бластных клеток, которая находится за пределами возможностей светооптического уровня диагностики – минимальной остаточной болезни (МОБ), персистенция которой коррелирует с вероятностью развития рецидива ОЛЛ.

В ходе исследования возможностей методов детекции МОБ, стало понятно, что наиболее надежные корреляты получены при исследовании В-линейного ОЛЛ, для которого отработаны комбинации иммунологических маркеров,

позволяющие проводить высокоточные исследования МОБ (Dworzak M., 2002; Coustan-Smith E., 2006).

Немецкая группа по лечению острых лейкозов BFM (Berlin-Frankfurt-Munster) одна из первых в мире внедрила прогностический критерий МОБ в протокол ALL-IC BFM 2009. В России определение МОБ было включено в отечественный протокол ALL-MB 2015, по которому вероятность многолетней бессобытийной выживаемости (БСВ) составляет 78%. Протоколы группы BFM являются одними из наиболее эффективных и позволяют получить многолетнюю БСВ у 85%, а общую выживаемость (ОВ) у 91% пациентов.

Высокая эффективность лечения на протоколах группы BFM достигается за счет применения интенсивной химиотерапии, требующей проведения лекарственного мониторинга цитостатических препаратов и большого объема сопроводительной терапии, что доступно не во всех клиниках России.

Не менее значимой проблемой для внедрения современных МОБ-ориентированных протоколов лечения ОЛЛ является отсутствие в большинстве клиник возможности оценки МОБ, соответствующей мировым стандартам. В связи с данными причинами отечественный опыт лечения ОЛЛ по протоколам группы BFM весьма ограничен, а с учетом внедрения в большинстве клиник России протокола группы MB с начала 2000-х годов результаты и опыт проведения протоколов ALL-IC BFM 2002/2009 сконцентрированы в нескольких центрах.

Протокол ALL-IC BFM 2009 предполагает стратификацию больных на прогностические группы риска с учетом клинико-морфологических параметров, а также МОБ-статуса на 15-й и 33-й дни терапии, тогда как роль МОБ на постиндукционном этапе лечения также может иметь важное прогностическое значение.

В связи с вышеизложенным, анализ отечественного опыта оценки эффективности терапии по протоколу ALL-IC BFM 2009, с учетом МОБ-статуса у больных В-линейным ОЛЛ, а также определение прогностического влияния МОБ-

статуса на постиндукционном этапе лечения (78-й день терапии) является актуальным и важным с научно-практических позиций.

Цель исследования

Определить прогностическое значение стратификации В-линейного ОЛЛ, на основании МОБ-статуса для повышения эффективности лечения по программе ALL-IC BFM 2009.

Задачи исследования

1. Проанализировать динамические изменения МОБ методом проточной цитометрии на этапе индукции ремиссии (15-й и 33-й дни) программы ALL-IC BFM 2009 при В-линейном ОЛЛ у детей.

2. Определить корреляцию между морфологическим ответом костного мозга и значением МОБ на 15-й и 33-й дни индукции ремиссии.

3. Изучить частоту рестратификации групп риска у больных В-линейным ОЛЛ на основании результатов исследования МОБ.

4. Исследовать роль МОБ на постиндукционном этапе терапии (78-й день) как прогностического фактора у больных В-линейным ОЛЛ.

5. Оценить результаты лечения детей с В-линейным ОЛЛ в прогностических группах риска в зависимости от стратификации на группы риска с учета МОБ-статуса.

Научная новизна

Впервые в России на большом клиническом материале представлена диагностическая ценность исследования МОБ при проведении протокола ALL-IC BFM 2009. МОБ-статус оказался важным фактором прогноза при лечении В-линейного ОЛЛ у детей.

Проведен комплексный сравнительный анализ цитологического исследования костного мозга и проточной цитометрии на 15-й и 33-й дни лечения. Персистенция МОБ стала показанием для рестратификации групп риска и выделения группы больных, которым было необходимо интенсифицировать терапию для снижения риска рецидива.

Впервые в отечественной литературе представлены данные, свидетельствующие о прогностическом влиянии МОБ при В-линейном ОЛЛ не только на этапах индукции ремиссии (15-й и 33-й дни лечения), но и на постиндукционном этапе – 78-й день терапии в рамках протокола ALL-IC BFM 2009.

Теоретическая и практическая значимость

В диссертационной работе убедительно показана необходимость исследования аберрантных опухолевых фенотипов при В-линейном ОЛЛ методом проточной цитометрии. Обнаружение МОБ диктует необходимость своевременной интенсификации лечения за счет перевода больного в более высокую группу риска.

Важным результатом, полученным в работе, стало прогностическое влияние МОБ на 78-й день терапии на показатели выживаемости больных. Данный факт теоретически обосновывает возможную необходимость дальнейшей интенсификации терапии за счет включения таргетных препаратов (биспецифических анти-CD19/CD3 антител) для максимальной эрадикации опухолевого клона и повышения выживаемости больных.

Уровень МОБ оказался критерием персонифицированного лечения при В-линейном ОЛЛ у детей, который способствовал в оптимальные сроки рестратификации больного по группе риска и достижению наилучшего терапевтического эффекта.

Методология и методы и исследования

Для решения поставленных в диссертационном исследовании задач в анализ было включено 117 больных в возрасте $5,9 \pm 2,7$ лет с впервые установленным диагнозом ОЛЛ. Всем пациентам диагностика и лечение ОЛЛ проводились с января 2010 года по апрель 2019 года в отделении химиотерапии гемобластозов НИИ ДОГ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России. Анализ выживаемости проведен на 01.01.2021.

Терапия всем больным проводилась по международному протоколу ALL-IC BFM 2009. Анализ эффективности программной терапии оценивался на основании морфо-иммунологического исследования костного мозга на 15-й, 33-й и 78-й дни терапии. Методы цитологической и иммунологической диагностики были стандартными. Анализируемая панель антител включала до 20 маркеров, окрашивание производилось методом прямой иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител, меченных флюорохромными метками. Для статистической обработки все данные о пациентах и результатах их лечения были формализованы с помощью специально разработанной клинико-лабораторной базы данных. Статистический анализ проводился с использованием пакета компьютерных программ SPSS 21.0 for Windows.

Положения, выносимые на защиту

1. Частота достижения МОБ-негативного статуса увеличивается по мере проведения программного лечения при В-линейном ОЛЛ от 15-го к 78-му дню терапии по протоколу ALL-IC BFM 2009.

2. Анализ цитологической и иммунологической ремиссии при В-линейном ОЛЛ показал, что частота МОБ-негативного статуса статистически выше при цитологическом М-1 ответе по костному мозгу.

3. В случаях М-2 и М-3 ответов по костному мозгу, у 13–40% больных МОБ-статус отрицательный, что отражает присутствие регенераторной популяции неопухолевых лимфобластов.

4. При достижении полной клинико-гематологической ремиссии, но МОБ-позитивном статусе необходимо интенсифицировать дальнейшую терапию.

5. Рестратификация больных в более высокую прогностическую группу риска позволяет повысить результаты лечения больных В-линейным ОЛЛ.

6. Динамика элиминации опухолевого клона и сроки достижения МОБ-негативного статуса являются важными факторами прогноза для детей с В-линейным ОЛЛ.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, направлению исследований: п.2. Исследования на молекулярном, клеточном и органном уровнях этиологии и патогенеза злокачественных опухолей, основанные на современных достижениях ряда естественных наук (генетики, молекулярной биологии, морфологии, иммунологии, биохимии, биофизики и др.); п.6. Изучение на молекулярном, клеточном и органном уровнях особенностей возникновения и развития онкологических заболеваний в детском и подростковом возрасте. Разработка и совершенствование методов диагностики, лечения и профилактики в области педиатрической онкологии; п.10. Оценка эффективности противоопухолевого лечения на основе анализа отдаленных результатов.

Степень достоверности и апробация результатов

Исследование проведено на базе отделения химиотерапии гемобластозов НИИ детской онкологии и гематологии имени академика РАМН Л.А. Дурнова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России. Достаточная

для анализа результатов выборка больных, адекватные поставленным задачам лабораторные методы исследования, достаточный для анализа онкологических результатов период наблюдения за больными, детальный анализ исходов лечения, наряду с применением адекватных современных методов статистической обработки данных, свидетельствуют о достоверности полученных результатов.

Апробация диссертации состоялась на совместной научной конференции с участием всех отделений научно-исследовательского института детской онкологии и гематологии имени академика РАМН Л.А.Дурнова, лаборатории иммунологии гемопоэза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, клиничко-диагностической лаборатории, отделения функциональной диагностики ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, кафедры онкологии факультета усовершенствования врачей Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедры онкологии Государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования Российская медицинская академия последиplomного образования Министерства здравоохранения Российской Федерации, состоявшейся 16 февраля 2023 года.

Основные положения диссертации доложены на всероссийских и международных конференциях: XVIII Съезд педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» 17–19 февраля 2017 года, г. Москва; IV Петербургский международный онкологический форум «Белые ночи 2018» 5–8 июля 2018 года, г. Санкт-Петербург; XI Съезд онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии, 23–25 апреля 2020 года, г. Москва (онлайн); I Объединенный конгресс НОДГО и РОДО «Актуальные проблемы и перспективы развития детской онкологии и гематологии в Российской Федерации – 2020» 23–25 ноября 2020 года, г. Москва; II Объединенный конгресс НОДГО и РОДО «Актуальные проблемы и перспективы развития детской онкологии и гематологии в Российской Федерации», 25–27 ноября 2021 года, г. Москва.

Публикации по теме диссертации

Основные результаты диссертационного исследования представлены в 14 печатных работах, в том числе 13 в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных результатов диссертационных исследований.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) представляет собой гетерогенную группу опухолей из предшественников Т- и В- клеток, различных по мифологическим, иммунологическим и молекулярно-биологическим характеристикам [13, 85, 119].

В 2018 году в России диагностировано 1840 новых случаев ОЛЛ среди взрослого и детского населения. В детском возрасте ОЛЛ является наиболее частой злокачественной опухолью, а среди всех лейкозов на его долю приходится до 80% случаев [3]. Острый лимфобластный лейкоз из В-линейных предшественников составляет 85% и является самым частым иммунологическим подвариантом ОЛЛ [4].

По мере совершенствования методов диагностики произошло глубокое изучение лейкозогенеза на морфологическом, иммунологическом, цитогенетическом и молекулярно-биологическом уровнях, сформировалось более детальное понимание субмикроскопических механизмов опухолевой трансформации клетки-предшественницы лимфопоэза [22, 47, 57]. Полученные данные позволили заключить, что процесс лейкозогенеза при ОЛЛ является многоступенчатым и происходит в результате генетических, эпигенетических и молекулярных изменений в бластных клетках. Не менее важным выводом фундаментальной лейкозологии стало положение о том, что ОЛЛ представляет собой биологически и клинически гетерогенное заболевание, при котором множественные генетические aberrации приводят к развитию нескольких биологически различных подтипов лейкоза [8, 24, 58, 80].

Большой научно-практический интерес представляют исследования, подтверждающие внутриутробные канцерогенные события при ОЛЛ у детей [26, 30, 63]. Косвенно об этом свидетельствуют результаты изучения клинико-генетических особенностей ОЛЛ у близнецов раннего возраста, у которых конкордантность составила более 50%, что позволяет с высокой долей

вероятности предположить возникновение первичного внутриутробного генетического события, не связанного с наследственной предрасположенностью [27, 37].

Уже при светооптическом исследовании бластных клеток при ОЛЛ стало понятно, что ОЛЛ неоднородная группа опухолей и первые попытки классификации были основаны на морфо-цитохимических характеристиках бластной клетки (реакции с миелопероксидазой или Суданом черным, а также с неспецифической эстеразой и гликогеном). Франко-Американо-Британская (FAB) классификация на основании цитоморфологических признаков позволила выделить следующие варианты ОЛЛ: L1, L2 и L3. Но, бесспорно, выделяемые таким образом варианты ОЛЛ с позиций современных представлений могут быть неточными, например, L2 вариант ОЛЛ может быть на светооптическом уровне неотличим от M1- варианта острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) и только положительная цитохимическая реакция бластных клеток с миелопероксидазой при ОМЛ является дифференциально-диагностическим критерием. Кроме того, при M0- и M7-вариантах ОМЛ, реакция на миелопероксидазу может быть отрицательной, что требует проведения иммунофенотипирования бластной популяции клеток. Еще один диагностический аспект, который следует учитывать в клинической работе, – это сочетание вариантов ОЛЛ: L1/L2 и L2/L1. Для уточнения морфо-цитохимических особенностей бластов ведется подсчет на 100 бластных клеток. При количестве микроформ от 75 до 90%, диагностируется L1/L2 вариант, при количестве микроформ от 50 до 75% – L2/L1 вариант. В клинической практике у большинства пациентов встречается именно сочетание морфологических вариантов [2, 4].

Одна из первых иммунологических классификаций острых лейкозов была предложена в 1995 году Европейской группой иммунодиагностики лейкозов. На основании «иммунологического портрета» бластов были обозначены критерии ОМЛ, ОЛЛ (из T- и B-линейных предшественников) и бифенотипического лейкоза [21]. Также приведены дифференциально-диагностические критерии для бифенотипического лейкоза и ОМЛ с aberrантной экспрессией лимфоидных

антигенов, а также ОЛЛ с aberrантной экспрессией миелоидных антигенов. Тем не менее, и иммунологическая классификация имеет ряд недостатков. Например, в ряде сложных диагностических случаев один и тот же вариант острого лейкоза может быть отнесен в несколько категорий. Так, случаи ОМЛ М2-вариант с транслокацией t(8;21), одним врачом будут классифицироваться как ОМЛ миеломоноцитарного происхождения, а другой отнесет его к ОЛЛ с экспрессией CD19, в зависимости от наличия или отсутствия aberrантной экспрессии антигена CD19.

Около 85% случаев ОЛЛ имеют В-линейную природу, о чем можно судить на основании экспрессии HLA-DR, TdT, CD34, CD19, CD20, CD22, CD24 и CD79a. Наиболее ранние маркеры, свидетельствующие о В-линейной направленности, – CD19, CD22 (цитоплазма) и CD79a. Положительная реакция на любые 2 из этих трех маркеров позволяет диагностировать про-В иммунологический подвариант ОЛЛ (пример иммунофенотипического «портрета» про-В ОЛЛ: HLA-DR+, TdT+, CD34+, CD19+, cytCD22+, CD79a+). Присутствие CD10 антигена (CALLA) характерно для «common» (пре-пре-В) подварианта ОЛЛ. При дополнительной экспрессии цитоплазматических IgM, наряду с HLA-DR, TdT, CD34 (редко), CD10, CD19, CD20 (редко), CD22, CD79a определяется пре-В ОЛЛ.

Около 15% случаев ОЛЛ составляет Т-линейный ОЛЛ, для бластных клеток которого характерна экспрессия CD1a, CD2, CD3 (мембрана и цитоплазма), CD4, CD5, CD7 и CD8. Из наиболее ранних маркеров, свидетельствующих о Т-линейной дифференцировке, следует выделить CD2, CD5 и CD7, но ни один из них не является абсолютно специфичным, так что однозначный диагноз Т-ОЛЛ опирается на обнаружение мембранного/ цитоплазматического CD3.

У 5% больных диагностируются либо бифенотипические, либо недифференцированные ОЛЛ. В случаях недифференцированных лейкозов не выявляется экспрессия поверхностных и цитоплазматических антигенов, ассоциированных с В-, Т- и миелоидной дифференцировкой. Возможна экспрессия бластными клетками CD34, CD38, CD45, CD71, HLA-DR.

На основании иммунологической гетерогенности ОЛЛ стало возможным выделение факторов, определяющих прогноз заболевания. Так, долгое время считалось, что Т-линейный ОЛЛ является прогностически менее благоприятным, чем

В-линейный, но разработанный группой BFM (Berlin-Frankfurt-Munster) дифференцированный подход в лечении, с учетом иммунофенотипа бластных клеток (больные Т-линейным ОЛЛ в протоколе М получают метотрексат в дозе 5000 мг/м², а В-линейным – 2000 мг/м²) позволил нивелировать неблагоприятное влияние Т-линейного иммунофенотипа на показатели выживаемости пациентов. Более детальные характеристики иммунофенотипа ОЛЛ, отражающие этапы лимфоидной дифференцировки (пре-пре-В, пре-В, про-В, пре-Т и про-Т) в настоящее время не являются достоверно подтвержденными факторами прогноза и не вошли в современные риск-стратифицирующие критерии протоколов терапии [87, 113].

Всемирная организация здравоохранения в 2016 году разработала классификацию, в основе которой лежит комплексный подход к диагностике ОЛЛ, учитывающий морфо-цитохимические, иммунологические, цитогенетические и молекулярно-биологические особенности бластных клеток. В соответствии с данной классификацией определены критерии В-лимфобластных лейкозов/лимфом из клеток-предшественников не специфицированных, В-лимфобластных лейкозов/лимфом с неслучайными цитогенетическими аномалиями и Т-лимфобластных лейкозов/лимфом из клеток-предшественников. К неслучайным цитогенетическим аномалиям при В-лимфобластных лейкозах/лимфомах из клеток-предшественников относят:

- t(9;22)(q34.1;q11.2); *BCR-ABL1*;
- t(v;11q23.3); *KMT2A (MLL)-rearranged*;
- t(12;21)(p13.2;q22.1); *ETV6-RUNX1*;
- t(1;19)(q23;p13.3); *TCF3-PBX1*;
- t(5;14)(q31.1;q32.1); *IGH-IL3*;
- iAMP21;

- *BCR-ABL1*-like;
- гиподиплоидия;
- гипердиплоидия.

Выявляемые при ОЛЛ цитогенетические события являются прогностически значимыми и входят в критерии групп риска современных протоколов лечения (ALL-IC BFM 2002/2009, COG AALL 08B1, DCOG ALL-10, SJCRH Total Therapy XVI). При анализе числа хромосом в бластных клетках было показано, что в 42% случаев определяется псевдодиплоидия, когда при нормальном количестве хромосом (46) определяются различные структурные аномалии. Количество хромосом более 50 (высокая гипердиплоидия) определяется у 27% больных. Лишь у 8% пациентов определяется диплоидный набор хромосом без каких-либо иных аномалий. В 15% число хромосом в бластных клетках составляет от 47 до 50 (гипердиплоидный набор), а у 6% больных ОЛЛ для бластных клеток характерен гиподиплоидный кариотип (менее 46 хромосом).

Цитогенетический анализ основан на выдвинутой Boveri гипотезе в соответствии с которой злокачественный фенотип опухолевых клеток является результатом аномального хромосомного кариотипа [110]. Фактом, подтверждающим данную гипотезу, является то, что у больных с пре-B или пре-пре-B иммуноподвариантом ОЛЛ наиболее часто встречается транслокация $t(12;21)$ с участием гена TEL-AML 1 (22%), что приводит к «слиянию» транскрипта между ETV6 и RUNX1. Следует отметить, что транслокация $t(12; 21)$ является прогностически благоприятной [19].

Дети, больные ОЛЛ в возрасте до года имеют плохой прогноз, в 80% случаев у них выявляется транслокация с участием гена MLL, расположенного в 11q23. MLL может участвовать и в других генных абберациях, но $t(4; 11)(MLL / AF4)$ является достаточно распространенной при ОЛЛ в младенческом возрасте [16]. Наиболее прогностически значимые цитогенетические аномалии представлены в таблице 1 [6].

Одной из наиболее изученных структурных хромосомных аномалий при ОЛЛ является транслокация $t(9;22)$, при которой ABL-протоонкоген

транслоцируется с 9-й хромосомы на 22-ю в район BCR гена, в результате чего образуется химерный транскрипт BCR-ABL. Эта транслокация определяется лишь у 5% детей с ОЛЛ. Исторически, наличие филадельфийской хромосомы при ОЛЛ ассоциировалось с плохим прогнозом и несмотря на, агрессивную полихимиотерапию выживаемость больных не превышала 40%. С включением в программную полихимиотерапию ингибиторов тирозинкиназ (иматиниба мезилата, дазатиниба) общая выживаемость больных Ph + ОЛЛ превысила 65% [49, 105].

Таблица 1 – Прогностическое значение цитогенетических аномалий при остром лимфобластном лейкозе

<i>Цитогенетические изменения</i>	<i>Прогноз</i>
t (12;21)(p13;q22) <i>ETV6-RUNX1</i>	Дети – хороший прогноз
t (11;q23) <i>KMT2A(MLL)</i>	Дети/взрослые – плохой прогноз
t (4;11)(q21;q23) <i>MLL-MLLT3</i>	Новорожденные – очень плохой прогноз
t (1;19)(q23;p13.3) <i>TCF3-PBX1</i>	Дети – промежуточный прогноз, выше риск ЦНС рецидива
t(9;22)(q34;q21) <i>BCR-ABL1</i>	Дети/взрослые – плохой прогноз
iAMP21	Дети, взрослые – плохой прогноз
t(17;19)(q22;p13.3)(<i>TCF3-HLF</i>)	Дети, взрослые – плохой прогноз
t(12p13) <i>ZNF384</i>	Прогноз неизвестен
Гипердиплоидность (> 50 хромосом)	Дети – хороший прогноз
Гиподиплоидность (< 45 хромосом)	Дети, взрослые – очень плохой прогноз

Но если возникновение транслокации t(9;22) лежит в основе развития Ph + ОЛЛ, то существуют инициальные генетические синдромы у детей, способствующие развитию ОЛЛ. Например, синдромом Дауна ассоциирован с высоким риском развития В-линейного ОЛЛ, при котором результаты лечения больных были хуже, чем в группе пациентов без синдрома Дауна.

Тем не менее, в настоящее время благодаря современной полихимиотерапии и сопроводительному лечению удалось повысить выживаемость пациентов до 75% [9, 27].

В настоящее время, благодаря использованию риск-адаптированных протоколов показатели выживаемости детей с ОЛЛ превысили 90%, но до получения столь высоких результатов лечения должна была пройти длительная эволюция терапевтических подходов [86].

История лечения ОЛЛ началась в конце 40-х годов XX века, когда по мере изучения биологических особенностей лейкозной клетки, ученые инициировали интенсивный поиск путей улучшения состояния больных. В 1948 году Farber и соавторы описали «временную ремиссию», вызванную аминоптерином (метотрексатом), относящимся к группе препаратов-антагонистов фолиевой кислоты, у пяти детей с острым лейкозом [48]. В 1952 году Burchenal и соавторы продемонстрировали противолейкемический эффект 6-меркаптопурина [28]. Это открытие было подтверждено в 1961 году в работах Frei и соавторов, которые применяли комбинацию 6-меркаптопурина и метотрексата для лечения ОЛЛ и получили общую 2-летнюю выживаемость у 20% больных [53]. Антилейкемическое действие гидрокортизона и адренкортикотропного гормона при ОЛЛ у детей было убедительно показано в 1950-х годах в работах Pearson и Farber [69, 78]. Однако, несмотря на появление в клинической практике нескольких новых химиопрепаратов, ОЛЛ для большинства пациентов по-прежнему оставался фатальным заболеванием. Для решения этой проблемы Pinkel D. и его коллеги в клинике St. Jude в 1962 году предложили новый лечебный подход («тотальная терапия») для ОЛЛ: индукцию ремиссии, облучение ЦНС и интратекальное введение метотрексата, интенсификационную (консолидационную) и поддерживающую терапию [82]. Предложенная инновационная схема терапии (Total Therapy Study V., 1967–1968) оказалась весьма эффективной, длительная общая выживаемость была отмечена у половины из 35 пациентов, включённых в исследование. Полученный успех и понимание

возможности излечения ОЛЛ стимулировали проведение аналогичных клинических испытаний во всем мире [79, 106, 116].

Международная группа Berlin-Frankfurt-Munster (BFM) разработала программу, в которую была включена фаза повторной индукции – Протокол II (по существу, повторение инициальной индукционной терапии) [61]. В это же время Sallan и соавторы в онкологической клинике Dana-Farber в индукционный курс при ОЛЛ включили L-аспарагиназу [95].

Помимо системного лекарственного воздействия на опухолевую популяцию клеток, в 1970-80-е годы нерешенным оставался вопрос оптимальной профилактики и лечения нейролейкоза, применяемая с этой целью лучевая терапия (ЛТ) сопровождалась большим количеством осложнений и побочных эффектов. Данный факт диктовал необходимость поиска альтернативных методов профилактики и лечения нейролейкоза, в результате чего был предложен «триплет» для интратекального введения. В состав «триплета» входили метотрексат, гидрокортизон и цитарабин. Метотрексат, вводимый внутривенно в дозах, превышающих 1000 мг/м^2 , способен проникать через гематоэнцефалический барьер и оказывать профилактическое и лечебное действие при нейролейкозе [15]. В 1980-х годах Vlauer и соавторы показали необходимость дозирования препаратов для эндолюмбального введения, основываясь не на площади поверхности тела, а с учетом возраста пациента [24]. Интратекальная терапия наряду с высокодозным метотрексатом, проникающим через гематоэнцефалический барьер, обеспечила эффективную профилактику ЦНС-поражения при ОЛЛ у детей и способствовала снижению суммарных очаговых доз ЛТ. В результате включения ЦНС-ориентированных подходов в протоколы терапии ОЛЛ было отмечено снижение частоты комбинированных и изолированных рецидивов [115].

Важным этапом в совершенствовании программ терапии ОЛЛ стало обнаружение дозозависимого эффекта метотрексата, который коррелировал с результатами лечения. Это открытие стало основой рандомизированного исследования, результаты которого показали, что индивидуальное назначение

метотрексата в высоких дозах, тенипозид и цитарабина, с учетом переносимости лечения, может повысить результаты выживаемости больных. Полученные данные подтвердили принцип «персонализированной дозировки» в лечении ОЛЛ. Кроме того, было показано, что некоторые пациенты не были излечены не из-за первичной резистентности лейкоза, а в связи с воздействием на бластные клетки субоптимальных концентраций химиопрепаратов [52]. Не менее важным условием достижения выздоровления больных ОЛЛ стало строгое соблюдение интервалов введения химиопрепаратов. Биологические и кинетические особенности опухолевой клетки объяснили важность терапевтического тайминга, направленного на максимально быструю эрадикацию лейкозного клона и предотвращение формирования резистентных к лечению опухолевых субклонов.

В 1980-е годы стало понятно, что для получения достоверных данных по определению факторов прогноза и оценки эффективности терапии ОЛЛ необходимо проведение исследований на большой группе больных, что возможно в рамках мультицентровых кооперированных групп [6]. Подобное изменение идеологии проведения исследований способствовало обобщению и анализу большого объема данных, что делало выводы, получаемые в ходе исследования, статистически значимыми. Кроме того, унификация программ лечения ОЛЛ способствовала созданию единых условий в организации лечебного процесса и стандартизации исследований. Все это привело к повышению выживаемости детей с ОЛЛ, которая 80-е годы XX века достигла 70% [61, 85].

Протоколы одной из ведущих мировых исследовательских групп по лечению ОЛЛ у детей – ВФМ, в числе первых стали использоваться в нашей стране с начала 1990-х годов. Основная идеология протоколов группы ВФМ – скорейшая редукция популяции бластных клеток для предупреждения развития лекарственной резистентности [6]. Результаты исследований группы ВФМ показали, что ранний ответ на лечение, в частности, на преднизолон, определяемый по абсолютному числу бластов в периферической крови на 8-й день, после 7 дней приема преднизолона и 1 интратекального введения метотрексата, является важным независимым фактором прогноза. Благодаря

высокой доступности анализа, определение бластов в периферической крови, как показателя ответа на лечение было включено в подавляющее большинство протоколов терапии ОЛЛ [6]. Полученные достижения в терапии ОЛЛ у детей заставили задуматься о возможности снижения интенсивности лечения, с учетом факторов прогноза и определяемых на их основе прогностических групп риска. Так, в протоколе ALL-BFM 90 оказалось оправданным снижение суммарной очаговой дозы краниального облучения до 12 Гр при условии использования высокодозного метотрексата. Модификации программного лечения с учетом прогностической группы риска наряду с совершенствованием подходов сопроводительной терапии позволили в 1990-е годы получить бессобытийную выживаемость (БСВ) при ОЛЛ у детей 79,6% [81,84, 99, 109].

Новым этапом в разработке риск-стратифицирующих критериев стало определение числа бластных клеток в костном мозге на 15-й, а затем 33–36-й дни программной терапии [6]. Стало очевидным, что при уровне бластов в костном мозге более 5% на контрольные точки оценки ответа прогноз хуже.

По мере совершенствования способов выявления бластной популяции клеток и появления в арсенале более чувствительных методов (проточная цитофлуориметрия и полимеразная цепная реакция) с 1991 года многие исследовательские группы (AIEOP, BFM, DCLSG, EORTC) начали оценивать ответ на терапию с помощью обнаружения реаранжировок генов TCR методом ПЦР. Результаты показали, что уровень минимальной остаточной болезни (МОБ), определяемой на контрольных точках программной терапии может быть статистически значимым фактором прогноза [56, 73]. Основным недостатком такого подхода была существенная материально-техническая нагрузка при использовании у большого количества больных.

В соответствии с терапевтическими протоколами групп AIEOP и BFM (1998) стратификация больных на прогностические группы риска проводится с учетом ответа на преднизолон на 8-й день терапии и уровня МОБ на 5-й и 12-й неделях лечения, при этом, такие инициальные прогностические факторы, как возраст больного, лейкоцитоз и иммунофенотип бластных клеток не учитывались.

Полученные результаты достоверно показали и впоследствии в многолетней практической работе было подтверждено, что пол больного, расовая принадлежность, поражение ЦНС, Т-линейный иммунофенотип ОЛЛ не имеют прогностической значимости при проведении дифференцированной риск-адаптированной терапии [36, 104].

В 2000-х годах применение ингибитора тирозинкиназ иматиниба мезилата значительно улучшило выживаемость больных с Ph + ОЛЛ. Использование новых методов стратификации на прогностические группы риска, с учетом иммунологических и цитогенетических характеристик бластных клеток, ответа на лечение и определение уровня МОБ, позволили максимально оптимизировать терапию для каждого больного [96, 103, 117].

Пилотная версия протокола AIEOP-BFM ALL 2000 стартовала летом 2000 года, одной из ключевых задач исследования была оценка возможности стратификации больных на прогностические группы риска с учетом ответа на лечение, а также уменьшение токсичности путем регулирования интенсивности терапии. Поскольку исследование предполагало длительный сбор данных, другие члены I-BFM-SG разработали пробную версию протокола ALL-IC BFM 2002, с аналогичной системой стратификации на группы риска с учетом ответа на лечение, но без необходимости использования высокочувствительных методов определения МОБ. Одним из выводов в ходе проведения протокола стало положение о том, что сочетание оценки ответа на 8-й, 15-й и 33-й день может быть стратифицирующим критерием, определяющим интенсивность лечения. Такой подход позволил обобщить результаты, полученные по двум программам (AIEOP-BFM ALL 2000 и ALL-IC BFM 2002) [110].

Следовательно, как показывает исторический опыт, определение факторов прогноза в выборе тактики терапии ОЛЛ позволило значительно повысить выживаемость больных.

Основные достижения в лечении ОЛЛ у детей [7,86] представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Успехи в терапии острого лимфобластного лейкоза у детей XX–XXI веков

<i>Годы</i>	<i>Достижения терапии</i>
1948	«Временная ремиссия» вызванная аминоптерином
1971	Комбинированная химиотерапия и эффективная ЦНС-направленная терапия излечивают приблизительно 50% больных
1981	Введение протокола реиндукции улучшает выживаемость
1982	Инtrateкальное применение «триплетов» (метотрексат, гидрокортизон и цитарабин) способно эффективно заменить краниальное облучение у некоторых групп больных
1983	Еженедельное введение L-аспарагиназы после достижения ремиссии улучшает выживаемость
1991	Дексаметазон более эффективен, чем преднизон, в предотвращении ЦНС-рецидивов
1990-е	Применение метотрексата в дозе 5000 мг/м ² и L-аспарагиназы на этапе консолидации улучшает результаты при T-линейном ОЛЛ
2000-е	Интенсивная риск-адаптированная терапия позволяет получить многолетнюю общую выживаемость у 90% детей с ОЛЛ. Нивелировано неблагоприятное прогностическое значение T-линейного иммунофенотипа на показатели выживаемости при ОЛЛ.
2009	Иматиниб мезилат улучшает результаты лечения при Ph + ОЛЛ. Эффективная системная и инtrateкальная химиотерапия может быть альтернативой профилактическому облучению ЦНС у некоторых групп пациентов
2005–2010	Минимальная остаточная болезнь как фактор стратификации на прогностические группы риска
2015	Использование блинатумомаба в лечении B-линейного ОЛЛ у детей.

Несмотря на значительный прогресс в понимании биологии ОЛЛ, за последние 40 лет к стандартной химиотерапии не было добавлено практически ни одного уникального, принципиально нового лекарственного средства. В основном клинические исследования были сфокусированы на совершенствовании лечебных подходов с использованием уже известных химиотерапевтических препаратов,

детализации прогностических факторов и подборе оптимальной риск – ориентированной терапии для различных групп больных. Полученные результаты демонстрируют, что большинство современных программ позволяет добиться высокого уровня выживаемости детей с различными вариантами ОЛЛ [1, 6, 45, 70, 79, 81, 84, 96, 99, 108] (Таблица 3).

Таблица 3 – Показатели выживаемости больных острым лимфобластным лейкозом при лечении по современным протоколам

<i>Название протокола</i>	<i>БСВ, %</i>	<i>Источник данных</i>
CCSG L 95-14	78,5	[75]
DFCI ALL 95-01	79	[108]
AIEOP-2000	75,9	[102]
POG 2001	73	[104]
ALL-MB 2002	78,3	[1]
CCG 2002	76	[104]
ALL-IC BFM 2002	82,5	[44]
UKALL 2003	87,3	[114]
COALL 07	83,5	[100]
NOPHO ALL 2008	85,1	[111]
DCLSG	82,6	[65]
<i>Примечание – Срок наблюдения от 5 до 10 лет</i>		

Следовательно, большинство современных риск-адаптированных протоколов лечения позволяет получить высокие показатели многолетней выживаемости больных. И несмотря на существование различных химиотерапевтических программ и большой прогресс в лечении ОЛЛ, цель всех протоколов одна – максимальная редукция опухолевого клона при минимальной токсичности лечения. В настоящее время проводится уточнение факторов прогноза и поиск новых стратифицирующих критериев, основанных на МОБ, что позволяет продолжить разработку индивидуализирующих стратегий терапии

ОЛЛ. Примером МОБ-ориентированного стратифицирующего терапевтического подхода является протокол ALL-IC BFM 2009, в котором оценка ответа на лечение проводится на основании результатов уровня МОБ на 15-й и 33-й дни, в сочетании с цитологической оценкой миелограммы [7].

Определение МОБ – это мировой стандарт при оценке ответа на лечение и прогноза заболевания. В связи с тем, что морфологически бластные клетки могут быть неотличимы от нормальных гемопоэтических клеток-предшественников, необходимо выделение лейкемической популяции клеток на основании аберрантного иммунофенотипа и/или обнаружения опухоль-специфических транскриптов (*BCR-ABL1*, *ETV6-RUNX1*, *TCF3-PBX1*). Основными методами определения МОБ являются проточная цитометрия (ПЦ) и полимеразная цепная реакция (ПЦР). Основные характеристики этих методов, а также достоинства и недостатки представлены в таблице 4.

Химерный транскрипт *BCR-ABL* является важным патогенетическим и диагностическим маркером Ph + ОЛЛ. Обнаружение *BCR-ABL* с помощью ПЦР в режиме реального времени (RQ-PCR) имеет значение не только для диагностических целей, но и для количественного мониторинга МОБ [44, 68]. В ряде исследований было показано, что оценка уровня МОБ в костном мозге пациентов с Ph + ОЛЛ, с помощью RQ-PCR после индукции и консолидации ремиссии, является значимым индикатором прогноза [18, 27, 34].

Преимущества использования RQ-PCR для оценки МОБ при Ph + ОЛЛ включают высокую чувствительность, скорость выполнения анализа, а также его относительно низкую стоимость. Тем не менее, описаны различные технологические аспекты, которые могут повлиять на результаты RQ-PCR анализа *BCR-ABL* транскриптов. Для данной методики, особое значение имеет качество образца, поскольку недостаточное количество клеток и/или длительная транспортировка биоматериала, могут значительно повлиять на результат анализа.

Таблица 4 – Основные характеристики методов проточной цитометрии и ПЦР при оценке минимальной остаточной болезни

Характеристика	Метод		
	ПЦР-анализ реаранжировок генов Ig и TCR	ПЦР-анализ BCR-ABL транскриптов	Проточная цитометрия
Чувствительность	ПЦР в режиме реального времени: 10^{-4} – 10^{-5}	10^{-4} – 10^{-6}	3-4-цветная: 10^{-3} – 10^{-4} ; жб-9-цветная: 10^{-4} – 10^{-5} (зависит от клеточности материала)
Применение	В-линейный ОЛЛ: 90–95% Т-линейный ОЛЛ: 90–95%	Ph ⁺ ОЛЛ (5–8% случаев среди детей с В-линейным ОЛЛ, 30–35% среди взрослых с В-линейным ОЛЛ)	В-линейный ОЛЛ: 80–95% Т-линейный ОЛЛ: 90–95% зависит так же от количества цветов
Преимущества	– высокая чувствительность, – достигнут высокий уровень стандартизации, – рекомендованный метод стратификации в различных протоколах, – наибольшее количество опубликованных данных, на которые можно опираться при выборе тактики лечения, – возможность применения в большинстве случаев ОЛЛ – стабильность ДНК	– высокая чувствительность, – стабильность мишени на протяжении всего протокола лечения, – высокая скорость выполнения, – относительная дешевизна	– применение в большинстве случаев ОЛЛ, – высокая скорость выполнения, – количественный метод, – дополнительная информация о доброкачественной популяции клеток, – дополнительная информация о злокачественных клетках, – всё более стандартизируется в Европе
Недостатки	– длительность выполнения, – на этапе первичной диагностики требуется выделение пациент-специфического диагностического клона, – потенциальная нестабильность мишеней (феномен клональной эволюции), – для интерпретации результатов требуется высокая квалификация, – относительная дороговизна	– применим только к Ph ⁺ пациентам, – нестабильность РНК, – необходимость стандартизации, – риск ложноположительного результата из-за примесей	– изменения иммунофенотипа, – увеличение пула предшественников В-клеток в процессе регенерации, – низкая клеточность исследуемых образцов во время/после индукции, – относительная дороговизна (зависит от количества маркёров/цветов) – ограниченная чувствительность/применимость при использовании 3-4 цветного аппарата, – ≥ 6-цветный аппарат: для интерпретации требуются высокая квалификация и опыт по чувствительности и стандартизации анализа

С клинической точки зрения, максимально возможная чувствительность имеет первостепенное значение, но, как и любая ПЦР-методика, она несет в себе определенный процент ложноположительных результатов, возникающих например, из-за перекрестного загрязнения образцов [40]. Несмотря на то что, ПЦР является высокочувствительным методом для выявления химерного транскрипта *BCR-ABL*, главным ограничивающим фактором является отсутствие этих мишеней в большинстве случаев ОЛЛ [66].

Следовательно, подобная методика не применима в случае необходимости стратификации большого числа пациентов. Однако, для больных с наличием данного транскрипта, ПЦР-анализ *BCR-ABL* является наиболее предпочтительным методом определения МОБ. Кроме мониторинга уровня *BCR-ABL1*, методом ПЦР возможно определение транскриптов *MLL-AFF1*, *TCF3-PBX1* и *ETV6-RUNX1*, которые характерны для ОЛЛ.

Значительно чаще проводится ПЦР для оценки реаранжировок генов Ig и TCR. Узловые области перестроенных генов Ig и TCR являются уникальными по своей структуре и могут использоваться в качестве клон-специфических мишеней у большинства больных В-линейным ОЛЛ [17, 40, 43, 62]. Клон-специфическая Ig/TCR ПЦР достигает чувствительности 10^{-4} – 10^{-5} , что требует высокой точности в стандартизации метода по идентификации последовательностей нуклеотидов соединительных областей генов Ig и TCR в каждом конкретном случае ОЛЛ, так как эти последовательности, необходимы для создания клон-специфических праймеров. К сожалению, необходимая точность часто недостижима вне крупных исследовательских лабораторий [33, 59]. Одним из главных достоинств метода количественной ПЦР является использование в качестве аналитического образца ДНК, которая весьма устойчива даже в случае длительного времени транспортировки биоматериала. Кроме того, данный метод применим для подавляющего большинства В- и Т-линейных ОЛЛ [74, 109]. Чувствительность метода может быть точно рассчитана для каждой целевой области (участка гена) и в настоящее время, как правило, несколько выше, чем при использовании ПЦ для оценки МОБ. Однако и этот метод имеет ряд недостатков, одним из которых

является возникновение дополнительных генетических событий в ходе клональной эволюции ОЛЛ, развивающейся в ходе противоопухолевого лечения. Возможны варианты клональной эволюции, когда минимальный опухолевый субклон, существовавший в дебюте заболевания, становится преобладающим в ходе проводимой терапии. Подобные особенности феномена опухолевой прогрессии при ОЛЛ могут объяснять ложноотрицательные результаты ПЦР [37, 96, 112]. Кроме того, персистенция субклонов, существующих в первоначальном ОЛЛ, может привести к завышению или занижению значений МОБ. Поэтому для большей точности предпочтительно иметь две генные мишени Ig/TCR для надежного обнаружения МОБ. Также в большинстве исследований рекомендуется параллельно проводить контроль уровня МОБ методом ПЦ и ПЦР для получения более достоверных результатов, поскольку нельзя полностью исключить ложноположительный результат. Например, при массовом восстановлении нормальных лимфоидных клеток-предшественников возможен очень низкий уровень неспецифической амплификации [78].

Определение МОБ методом ПЦ в настоящее время наиболее распространено в нашей стране. Известно, что лейкоэмические лимфоциты отличаются от физиологических лимфоидных клеток-предшественников по качественному и количественному характеру экспрессии антигенов. Кроме того, обнаружение незрелых фенотипов на клетках вне их нормальных тканей (например, тимуса) может быть использовано, в частности, при диагностике T-линейного ОЛЛ. Такие ассоциированные с лейкозом иммунофенотипы присутствуют в подавляющем большинстве случаев заболевания, и обнаруживаются при ПЦ с использованием по крайней мере 6-8 маркеров [38]. Различия в экспрессии антигенов между нормальными и лейкоэмическими клетками при ПЦ представлены на рисунке 1.

Точечные диаграммы демонстрируют окрашивание нормальных мононуклеаров костного мозга (ВМ) и клеток от пациентов с T- (верхняя панель) и B-линейным ОЛЛ (средняя и нижняя панели) с CD3 PE и anti-TdT FITC, CD19 PE и CD34 PerCP, и CD10 PE, и CD38 FITC, соответственно. В пунктирных

прямоугольниках обозначены области, которые чисты в нормальных образцах костного мозга. Показано, что в 3 случаях ОЛЛ на момент постановки диагноза, большинство бластных клеток попали в эти области. Остаточные лейкозные клетки были обнаружены у всех 3 пациентов во время клиничко-гематологической ремиссии, через 6 недель после установления диагноза (панель справа).

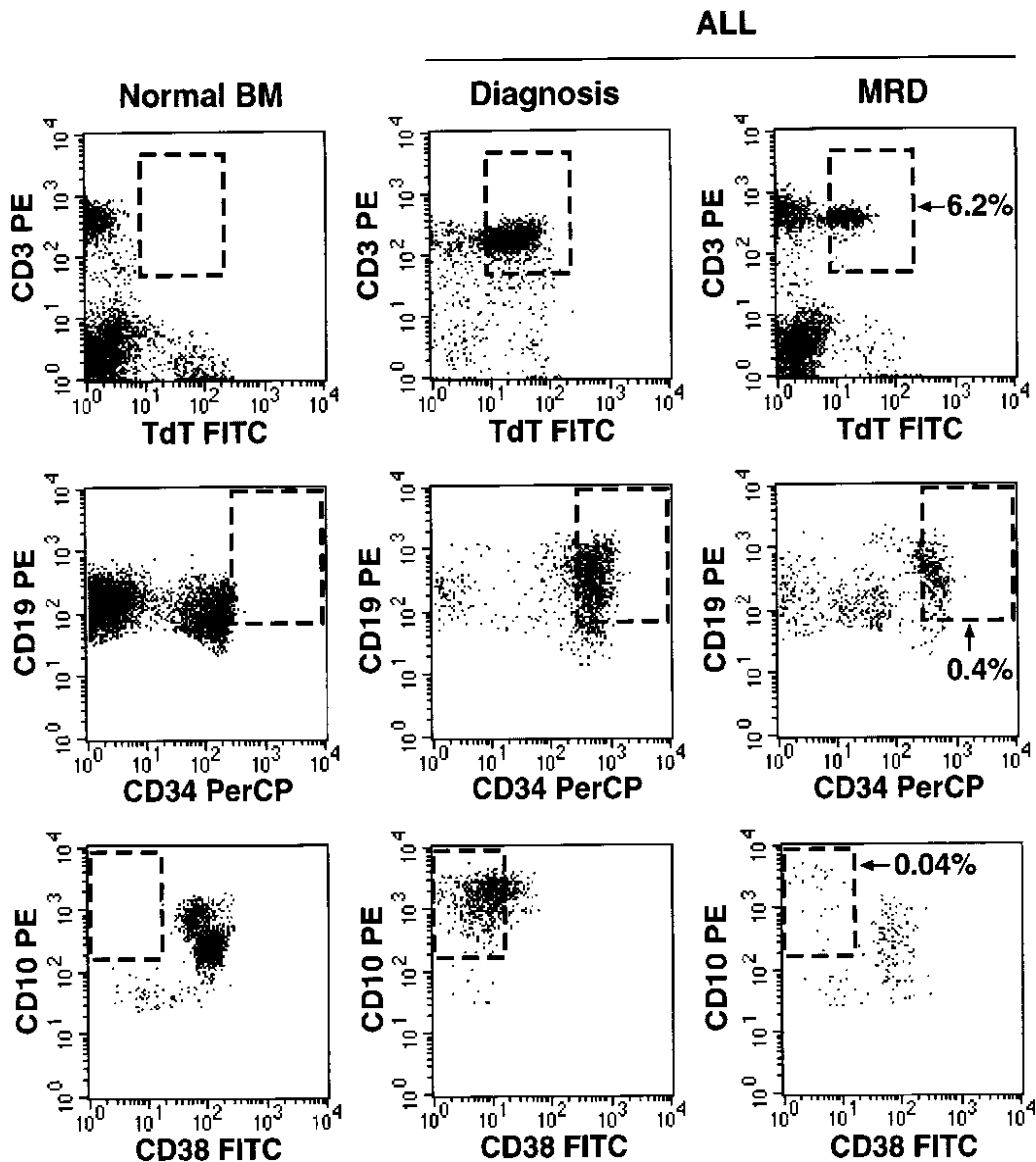


Рисунок 1 – Иммунологические различия в экспрессии антигенов между нормальными и лейкоэмическими клетками (Campana, Coustan-Smith, 2000)

Данная методика существует уже более 20 лет. При ее появлении использовались двух- и трехцветные техники [20, 29, 95, 101]. Подобный подход в настоящее время позволяет добиться чувствительности 10^{-3} – 10^{-4} , что примерно на

один порядок меньше, чем у молекулярных методов. Проточная цитометрия не позволяет определить МОБ-статус на уровне одной клетки и для того, чтобы результат был однозначно трактован необходимо исследование определенного количества клеток с аналогичной лейкозной характеристикой [30, 55, 60]. Затем при анализе образца, лейкозные клетки сравниваются напрямую с другими клетками в пробе без необходимости использования внешних калибраторов. Внедрение четырех-, а затем и восьми-цветных ПЦ-исследований, увеличило чувствительность и специфичность метода, и позволило проводить одновременное определение расширенных фенотипов на уровне одной клетки [23, 46].

Последующее появление новых стандартизованных панелей антител, инновации в области флуорохромии, а также новые средства программного обеспечения, позволяющие оптимизировать сбор данных и автоматическое распознавание образов привело к тому, что в настоящее время многоцветная ПЦ занимает важное место среди методик определения МОБ [35, 88, 91, 104]. Главное преимущество ПЦ – высокая скорость проведения анализа и получения результата, что крайне важно, когда результаты МОБ требуются для быстрой коррекции плана терапии [64, 107]. Кроме того, ПЦ позволяет определить мишени для использования таргетных препаратов (CD19, CD20, CD22, CD52) [30, 37, 71, 92]. Наиболее актуальной задачей в области проточно-цитометрической иммунодиагностики МОБ представляется необходимость дальнейшей разработки и совершенствования стандартизованных международных критериев [10, 29, 38, 51,87,90].

При включении МОБ-статуса в прогностические критерии групп риска каждого конкретного протокола необходимо определение порогового значения МОБ с учетом метода ее оценки (ПЦ и/или ПЦР), режима терапии, стратифицирующих критериев и целей протокола лечения [39, 90, 118]. Пороговое значение МОБ, используемое в большинстве исследований как позитивный статус, составляет 0,01% [20, 37, 62]. В работе D. Vhojwani и соавт. проведен анализ показателей бессобытийной выживаемости 2143 пациентов с В-

линейным ОЛЛ в зависимости от уровня МОБ в периферической крови на 8-й день терапии. В группе пациентов с уровнем МОБ $\leq 0,01\%$ 5-летняя БСВ оказалась $90 \pm 2\%$, а при уровне МОБ $> 10\%$ этот показатель составил $54 \pm 7\%$ [23].

В исследовании L. V. Silverman и соавт. проведено сравнение МОБ в костном мозге на 15-й день (данные ПЦ), результатов цитоморфологического исследования костного мозга и ПЦР-анализа МОБ в конце индукционной терапии (33-й день) и на этапе консолидации (78-й день). Уровень МОБ на 15-й день лечения достоверно коррелировал с риском рецидива ОЛЛ. Так, при МОБ $< 0,1\%$ на 15-й день рецидивы отмечены у $8 \pm 1,7\%$ больных В-линейным ОЛЛ и $3,3 \pm 3,3\%$ Т-линейным ОЛЛ [109]. Достижение раннего МОБ-негативного статуса было констатировано у $43\text{--}45,5\%$ больных В-линейным ОЛЛ, 34% Т-ОЛЛ и ассоциировалось с хорошим прогнозом в дальнейшем, что отражает высокую чувствительность лейкемических клеток к проводимому противоопухолевому лечению. При Т- и В-линейном ОЛЛ была выделена отдельная группа высокого риска с уровнем МОБ $\geq 10\%$ на 15-й день, где случаи рецидива в первые 5 лет составили $45,5 \pm 6,8\%$ при В-линейном ОЛЛ и $55,6 \pm 11,7\%$ у больных Т-ОЛЛ [13]. По результатам исследования I-BFM вероятность развития рецидива при МОБ $> 0,1\%$ как на 15-й, так и на 33-й день лечения оказалась 75% [108].

Анализ корреляции сроков достижения МОБ-негативного статуса (МОБ $< 0,01\%$) и выявляемых цитогенетических aberrаций ОЛЛ показал, что МОБ-негативный статус к 15-му дню терапии возможно получить у $55\text{--}65\%$ больных ОЛЛ с гипердиплоидией (> 50), *ETV6-RUNX1*, *TCF3-PBX1*. Практически не было больных ОЛЛ с ранним МОБ-негативным статусом при обнаружении *BCR-ABL*, *ETP-ALL*, *IKZF1 del*. По мере продолжения программного лечения, к 6-й неделе терапии МОБ-негативный статус был отмечен в $80\text{--}90\%$ случаев ОЛЛ с гипердиплоидией (> 50), *ETV6-RUNX1*, *TCF3-PBX1*, тогда как при наличии *BCR-ABL*, *ETP-ALL* лишь в $15\text{--}30\%$ [50].

При лечении ОЛЛ по протоколам группы ВФМ в Чехии была проведена оценка МОБ методом ПЦР в периферической крови на 15-й день. У 35 (44,9%) из 78 больных были получен МОБ-негативный статус (менее 10^{-4}) и в этой группе

больных безрецидивная выживаемость (БРВ) составила 100%. Аналогичные данные были получены при оценке МОБ-статуса в крови и на 8-й день терапии, когда при МОБ-негативном статусе рецидивы не были зафиксированы, однако эта группа пациентов была существенно меньше. Полученные данные позволили установить 15-й день в качестве контрольной точки по информативности уровня МОБ при проведении терапии по программе VFM [25, 28, 54, 102].

В объединенном исследовании групп AIEOP и VFM у пациентов с впервые диагностированным ОЛЛ, использовали уровень МОБ для стратификации групп риска. Оценку МОБ проводили методом ПЦР у 3184 пациентов с В-линейным ОЛЛ и 464 пациентов с Т-ОЛЛ. Все больные получили одинаковую химиотерапию в первые 9 недель лечения. Была выявлена существенная разница в показателях БСВ, в зависимости от МОБ-статуса на 33 и 78 дни терапии. При В-линейном ОЛЛ 5-летняя БСВ составила $92,3 \pm 0,9\%$ для группы стандартного риска, $77,6 \pm 1,3\%$ для группы среднего риска и $50,1 \pm 4,1\%$ для группы высокого риска. В случаях Т-линейного ОЛЛ аналогичный показатель оказался $93,0 \pm 3,0\%$, $80,6 \pm 2,3\%$ и $49,8 \pm 5,1\%$ для стандартной, средней и высокой групп риска соответственно. Показано, что при ОЛЛ из ранних Т-клеток-предшественников достижение МОБ-негативного статуса происходило медленнее, что стало показанием для перевода таких больных в группу с максимально интенсивной программой терапии. Среди пациентов с В-линейным ОЛЛ неблагоприятное значение персистенции МОБ отмечено даже при наличии таких факторов как *TEL/AML1*⁺ и гиперплоидного набора хромосом. В рамках данного исследования были сделаны важные выводы о том, что МОБ-статус на 33-й день терапии является более информативным фактором для В-линейного ОЛЛ, тогда как уровень МОБ на 78-й день – для Т-линейного ОЛЛ; персистенция МОБ при В-линейном ОЛЛ коррелировала с риском костномозгового рецидива, тогда как при Т-ОЛЛ – костномозгового и экстрамедуллярного; все пациенты с уровнем МОБ > 10% (по данным ПЦ) на 15-й день терапии должны быть отнесены к группе высокого риска и продолжать лечение по «блоковой» программе; все больные В-линейным ОЛЛ с уровнем МОБ > 0,1% на 33-й день терапии и с МОБ-

позитивным статусом на 78-й день лечения должны быть рестратифицированы в группу высокого риска; при В-линейном ОЛЛ с уровнем МОБ $< 0,1\%$ на 15-й день оправдан перевод больных в группу стандартного риска, если по данным ПЦР (при наличии хотя бы 1 высокоинформативной диагностической мишени) результат составляет менее 10^{-4} на 33-й день, и на 78-й день результат также отрицательный [40].

В исследовании Aghia Sophia' Children's Hospital in Athens, Greece проведен ретроспективный анализ результатов исследования МОБ методом проточной цитометрии у 133 детей с ОЛЛ на 15-й и 33-й дни терапии. Пятилетняя БРВ для всей группы составила $87,4 \pm 3,2\%$, при этом у пациентов со значениями МОБ $> 0,1\%$ на 15-й день – $79,6 \pm 5,2\%$, тогда как у пациентов с низким либо отрицательным МОБ ($< 0,1\%$) – $97,3 \pm 2,7\%$ ($p = 0,004$). На 33-й день терапии пациенты со значениями МОБ $> 0,1\%$ демонстрировали 5-летнюю БСВ $60,0 \pm 12,8\%$ по сравнению с $91,3 \pm 3,0\%$ для больных с МОБ $< 0,1\%$ ($p < 0,001$). Если МОБ-позитивный статус регистрировался на 15-й день, но к 33-му дню индукционного лечения становился негативным, то 5-летняя БСВ была $85,8 \pm 5,5\%$, тогда как при МОБ-позитивном статусе и на 15-й, и на 33-й день – $65,9 \pm 10,6\%$ (МОБ-позитивным считался показатель $> 0,01\%$) [9].

Доказанное значимое влияние МОБ на показатели выживаемости больных ОЛЛ стало основанием для рестратификации и раннего перевода пациентов в группу более высокого риска. В ряде исследований подтверждено, что у больных рестратифицированных в группу высокого риска при МОБ $\geq 10^{-4}$ на момент окончания индукции, 5-летние БСВ и ОВ были лучше, чем в стандартной группе ($89,6\%$ против $82,8\%$ и $92,9\%$ против $88,9\%$, соответственно). Возможно, при сохранении МОБ-позитивного статуса ($\geq 1\%$) к 42-му дню терапии улучшение показателей выживаемости произойдет при проведении аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) [12, 42, 46].

В тоже время МОБ может использоваться для выявления больных с низким риском развития рецидива. У таких пациентов оправдано проведение менее интенсивной (а значит и менее токсичной) терапии. При ранней элиминации

опухолевого клона и достижении МОБ-негативного статуса возможно снижение интенсивности последующей терапии без ухудшения показателей выживаемости больных. Так, в исследовании UK ALL 2003 проведена случайная выборка пациентов с неопределяемой МОБ на 11-й неделе, которым в дальнейшем проводился один ($n = 260$) или два ($n = 261$) курса отсроченной интенсификации. Не было выявлено значимых различий в 5-летней БСВ между группами, получавшими один – 94,5%, или два курса отсроченной интенсификации – 95,5%, ($p = 0,99$). Результатом исследования стал важный ввод о возможности дезэскалации химиотерапии при ранней элиминации МОБ без снижения БСВ [45].

В работах Conter и соавт. (Children Oncology Group) было показано, что достижение МОБ-негативного статуса к окончанию индукции ремиссии является достоверным независимым благоприятным прогностическим фактором. Дополнительное определение уровня МОБ после выхода в ремиссию проводилось в нескольких клинических исследованиях (в том числе AIEOP-BFM ALL 2000), где все пациенты с уровнем МОБ $\geq 10^{-3}$ на 78-й день, были отнесены к группе высокого риска [40].

В связи с доказанной прогностической ролью МОБ, использование ее как риск-стратифицирующего критерия в настоящее время изучается во многих мультицентровых протоколах по всему миру [5, 13, 72, 76, 83]. Модификации прогностических групп риска, с учетом МОБ-статуса, в соответствии с критериями ведущих исследовательских групп представлены в таблице 5.

Следует отметить, что к факторам группы высокого риска в протоколе AIEOP-BFM ALL 2009 отнесены: плохой ответ на преднизолон, отсутствие цитоморфологической ремиссии на 33-й день терапии, наличие *MLL-AF4*, транслокации $t(4;11)$ или гиподиплоидия < 45 хромосом.

Таблица 5 – МОБ-ориентированные критерии прогностических групп при остром лимфобластном лейкозе у детей

Протокол	Точка контроля	Группы риска		
		стандартный	средний	высокий
АЕОР-BFM ALL, 2009	15-й, 33-й, 78-й дни	<p>– МОБ негативный статус на 33-й и 78-й дни (ПЦР) и отсутствие факторов группы высокого риска;</p> <p>– МОБ < 0,1% на 15-й день (проточная цитомерия) и не определяется с помощью ПЦР</p>	все клинические ситуации, не включенные в группу высокого и стандартного риска	<p>– факторы группы высокого риска, либо МОБ $\geq 10\%$ на 15-й день (проточная цитомерия), либо МОБ $\geq 0,05\%$ на 78-й день (ПЦР);</p> <p>– при В-линейном ОЛЛ на 33-й день МОБ $\geq 0,05\%$ и на 78-й день МОБ-позитивный статус, но менее 0,05% (ПЦР)</p>
COG AALL, 08B1	8-й, 29-й дни	<p>низкий</p> <p>благоприятная цитогенетика, нет неблагоприятных факторов и МОБ < 0,01% на 8-й день, МОБ < 0,01% на 29-й день</p>	<p>промежуточный</p> <p>благоприятная цитогенетика, нет неблагоприятных факторов и МОБ $\geq 0,01\%$ на 8-й день, МОБ < 0,01% на 29-й день</p> <p>прогностически нейтральная цитогенетика, нет неблагоприятных факторов и МОБ < 1% на 8-й день, МОБ < 0,01% на 29-й день</p>	<p>высокий</p> <p>– благоприятная цитогенетика, нет неблагоприятных факторов и МОБ $\geq 0,01\%$ на 29-й день;</p> <p>– нейтральная цитогенетика, нет неблагоприятных факторов и МОБ $\geq 1\%$ на 8-й день, МОБ < 0,01% на 29-й день.</p> <p><i>Очень высокий риск</i></p> <p>– наличие неблагоприятных факторов, нейтральная цитогенетика, МОБ $\geq 0,01\%$ на 29-й день;</p> <p>– возраст 13 лет и старше</p>
DCOG ALL-10	33-й, 79-й дни	<p>стандартный</p> <p>отсутствие неблагоприятных факторов, МОБ на 33-й и 79-й день не определяется (ПЦР)</p>	все клинические ситуации, не включенные в группы высокого и стандартного риска	наличие неблагоприятных факторов МОБ $\geq 0,05\%$ на 33-й и 79-й день терапии (ПЦР)
UKALL, 2011	29-й день, 14-я неделя	<p>низкий</p> <p>МОБ < 0,005% на 29-й день</p>	промежуточный	<p>высокий</p> <p>МОБ $\geq 0,5\%$ на 14-й неделе терапии</p>
SJCRH Total Therapy XVI	15-й, 42-й дни, 15-я неделя	<p>низкий</p> <p>благоприятные факторы, МОБ < 1% на 15-й день и МОБ < 0,01% на 42-й день</p>	<p>средний</p> <p>благоприятные факторы, МОБ $\geq 1\%$ на 15-й день и МОБ < 1% на 42-й день. Неблагоприятные факторы и МОБ < 1% на 42-й день</p>	МОБ $\geq 1\%$ на 42-й день, МОБ $\geq 0,1\%$ на 15-й неделе терапии

В протоколе COG AALL 08B1 неблагоприятные факторы включают ЦНС-статус 3 (поражение головного мозга и/или оболочек мозга по данным МРТ; клинично-инструментальные изменения, подтверждающие поражение черепно-мозговых нервов; цитоз в ликворе >5 кл/мкл и большинство клеток бластные), поражение яичек, гиподиплоидия < 44 хромосом, индекс ДНК $< 0,81$, амплификации внутри хромосомы 21, М-3 ($>25\%$ бластов) ответ по костному мозгу на 29-й день, обнаружение *BCR-ABL* и реаранжировок *MLL*. К благоприятным генетическим факторам относят сочетание трисомий 4 и 10 хромосом или обнаружение *ETV6-RUNX1*.

В исследовании DCOG ALL-10 неблагоприятными факторами считались *MLL-AF4*-реаранжировки, плохой ответ на преднизолон, ЦНС-статус 3, поражение яичек и отсутствие полной цитологической ремиссии по костному мозгу на 33-й день лечения.

В протоколе UKALL 2011 к неблагоприятным факторам были отнесены *MLL*-реаранжировки, гиподиплоидия < 39 хромосом, транслокация $t(17;19)(q23;p13)$ и амплификации внутри хромосомы 21.

SJCRH Total Therapy XVI протокол определял благоприятными следующие факторы: обнаружение *ETV6-RUNX1*, индекс ДНК $\geq 1,16$, а неблагоприятные факторы включали ЦНС-статус 3, поражение яичек, *BCR-ABL1*, *E2A-PBX1*, *MLL*-реаранжировки и гиподиплоидия < 44 хромосом.

Следовательно, современные протоколы лечения ОЛЛ у детей не предполагают единых точек контроля МОБ, а также крайне гетерогенны по используемым методам оценки МОБ. При обнаружении *BCR-ABL1*, *E2A-PBX1*, *MLL* большинство исследователей склоняются к использованию ПЦР для определения МОБ, тогда как aberrантный иммунофенотип успешно выявляется современными методами проточной цитометрии. Оценка МОБ на 15-й и 33-й дни не вызывает сомнений, тогда как персистенция МОБ на постиндукционном этапе терапии, возможно, станет обоснованием применения блинатумомаба или алло-ТГСК [77]. Также оценка МОБ

может использоваться в качестве инструмента мониторинга ремиссии, для лучшего контроля за пациентами с высоким риском рецидива. Однако, необходимость оценки МОБ на момент окончания лечения дискуссионна [38, 82, 95, 101, 106].

Таким образом, совершенствование программ терапии ОЛЛ у детей прошло длительный путь от редких частичных ремиссий до выздоровления подавляющего большинства больных. Основа успешного лечения ОЛЛ – строгое соблюдение принципов протокола терапии и несмотря на большое количество высокоэффективных программ лечения, все они состоят из индукции ремиссии, консолидации, интенсификации и поддерживающей терапии. Цель любого протокола состоит в том, чтобы с помощью индукционной терапии добиться максимальной эрадикации лейкозных клеток (достичь полной ремиссии), а затем на этапах консолидации и интенсификации сохранить и закрепить это состояние последующей терапией [11, 32, 39, 41, 100]. Реализация принципов протокола строится на основании выделения прогностических групп риска с учетом клинических, молекулярно-биологических, цитогенетических и иммунологических особенностей ОЛЛ [14, 31, 57, 88]. Но если инициальные характеристики опухолевого клона важны для выбора первичной прогностической группы риска, то мониторинг ответа на лечение лежит в основе рестратификации и перевода больных в терапевтическую группу, требующую более интенсивного лечения. Рестратификация в более высокую группу риска необходима при неудовлетворительном ответе на проводимое лечение, свидетельствующем о признаках рефрактерности ОЛЛ. Уровень МОБ позволяет максимально точно оценить персистенцию опухолевого клона и вовремя интенсифицировать терапию [6, 64, 67, 79, 103]. Определение МОБ в настоящее время стало одним из значимых диагностических инструментов для оценки эффективности проводимой терапии ОЛЛ и несет в себе огромный, еще не до конца раскрытый диагностический потенциал, требующий продолжения изучения в клинической практике [66, 89].

ГЛАВА 2. ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ, МЕТОДОВ ОБСЛЕДОВАНИЯ И ЛЕЧЕНИЯ

2.1. Характеристика пациентов

В исследование были включены 117 больных, с впервые установленным диагнозом В-линейного ОЛЛ. Диагностика и лечение по протоколу ALL-IC BFM 2009 проводились на базе НИИ ДОГ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России в период с января 2010 года по апрель 2019 года. Результаты терапии оценивались на 01.01.2021 года.

Критерии включения пациентов в исследование:

1. Возраст на момент постановки диагноза от 0 до 18 лет.
2. Диагноз В-линейный ОЛЛ подтверждённый на основании клинических данных, анализов периферической крови, результатов морфологического, цитохимического, цитогенетического и иммунологического исследований бластных клеток костного мозга.
3. Отсутствие предшествовавшей химиотерапии до включения в исследование.
4. Наличие информированного согласия родителей/законных представителей пациента на лечение.

Критерии исключения пациентов из исследования:

1. ОЛЛ как вторая злокачественная опухоль.
2. В-ОЛЛ (пациенты с морфологическим вариантом FAB L3)
3. Получение химиотерапии по другим программам до включения в исследование.
4. Отказ родителей или законных представителей пациента от включения в исследование.

Наблюдаемые дети были в возрасте от 9 месяцев до 17 лет. Средний возраст больных составил $5,9 \pm 2,7$ лет. Мальчиков было 54 (46%), девочек 63 (54%). Соотношение по полу в исследуемой группе составило 1 : 1 (Рисунок 2).

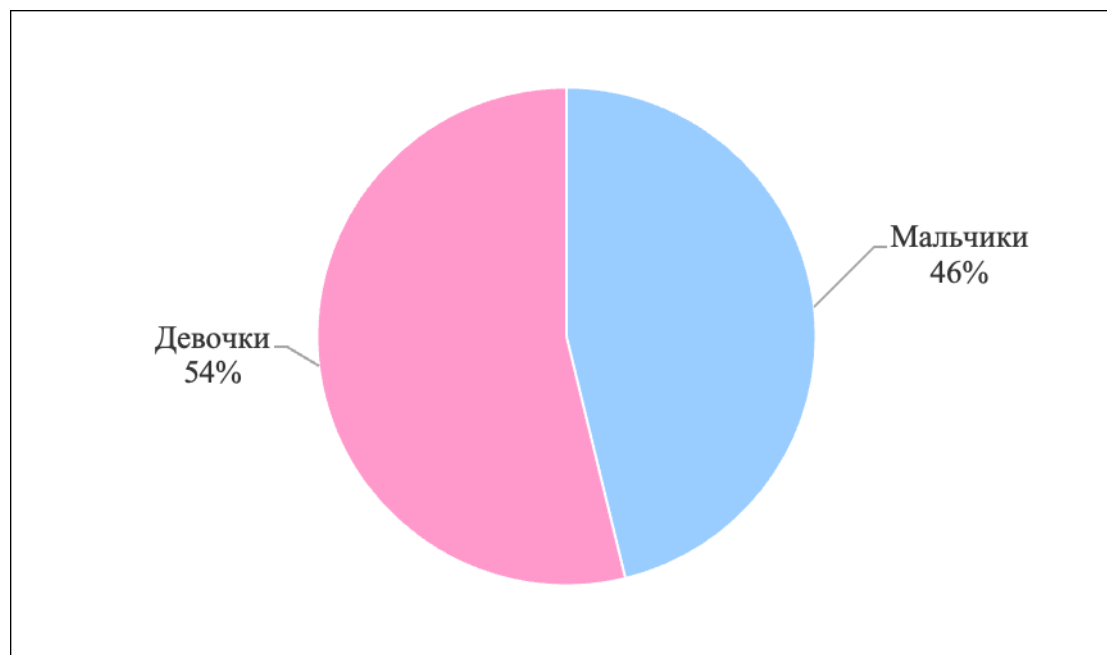


Рисунок 2 – Распределение по полу больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом, получивших лечение по протоколу ALL-IC BFM 2009

В соответствии с принятыми критериями протокола ALL-IC BFM 2009 все пациенты были распределены на 3 возрастные группы. Больше число пациентов (67%) отмечено в группе 1–6 лет (Рисунок 3).

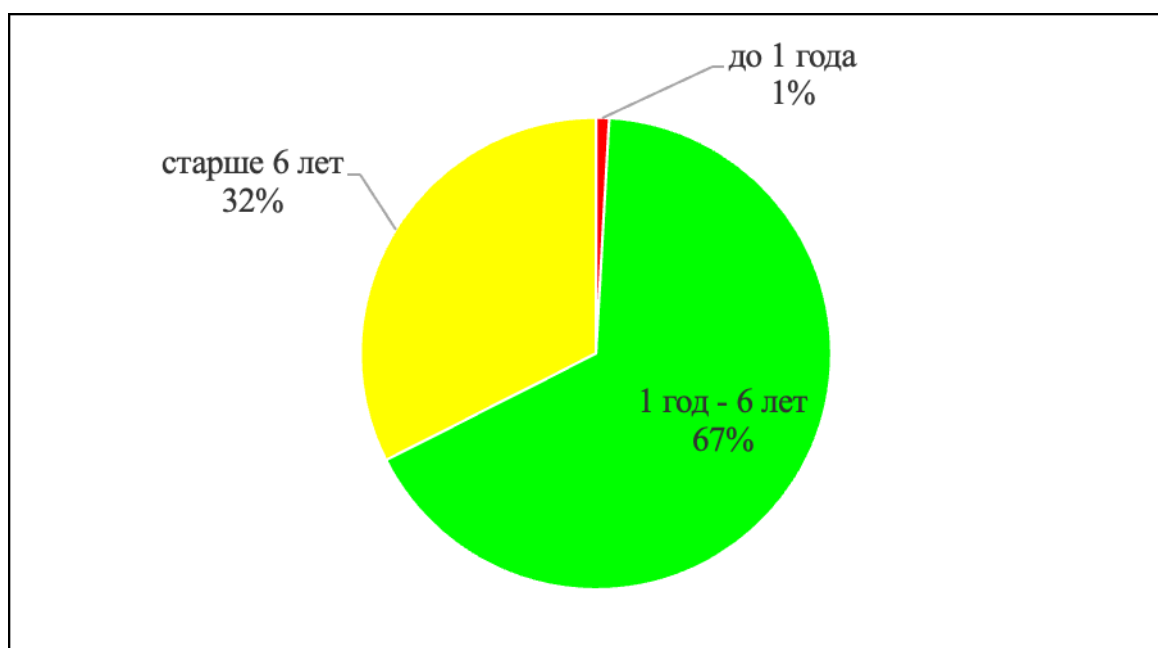


Рисунок 3 – Распределение по возрасту больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом, получивших лечение по протоколу ALL-IC BFM 2009

Всем больным проводился клинический физикальный осмотр.

Повышение температуры тела при манифестации заболевания до фебрильных цифр отмечалось только у 23 (19,7%) пациентов, основной пул больных в анамнезе имел субфебрилитет 68 (58,1%) или нормальную температуру тела 26 (22,2%).

Увеличение печени было выявлено у 85 (72,6%) из 117, а увеличение селезенки – у 56 (47,9%) пациентов. Геморрагический синдром при первичном обращении отмечен в 75 (64,1%) случаях (Таблица 6).

Таблица 6 – Клиническая характеристика пациентов, включенных в исследование

<i>Характеристика</i>	<i>Количество пациентов, n (%)</i>
Температура тела	
фебрилитет	19,7% (23)
субфебрилитет	58,1% (68)
афебрилитет	22,2% (26)

Геморрагический синдром выражен	75 (64,1)
не выражен	42 (35,9)
Анемический синдром выражен	101 (86,3)
не выражен	16 (13,7)
Органомегалия гепатомегалия	85 (72,6)
спленомегалия	56 (47,9)

В соответствии с FAB-классификацией лейкоэмические бласты при В-линейном ОЛЛ были представлены двумя морфологическими вариантами.

В подавляющем большинстве случаев был отмечен L2 вариант – 114 (97%), только у 3 (3%) больных был L1 морфологический вариант (Рисунок 4).

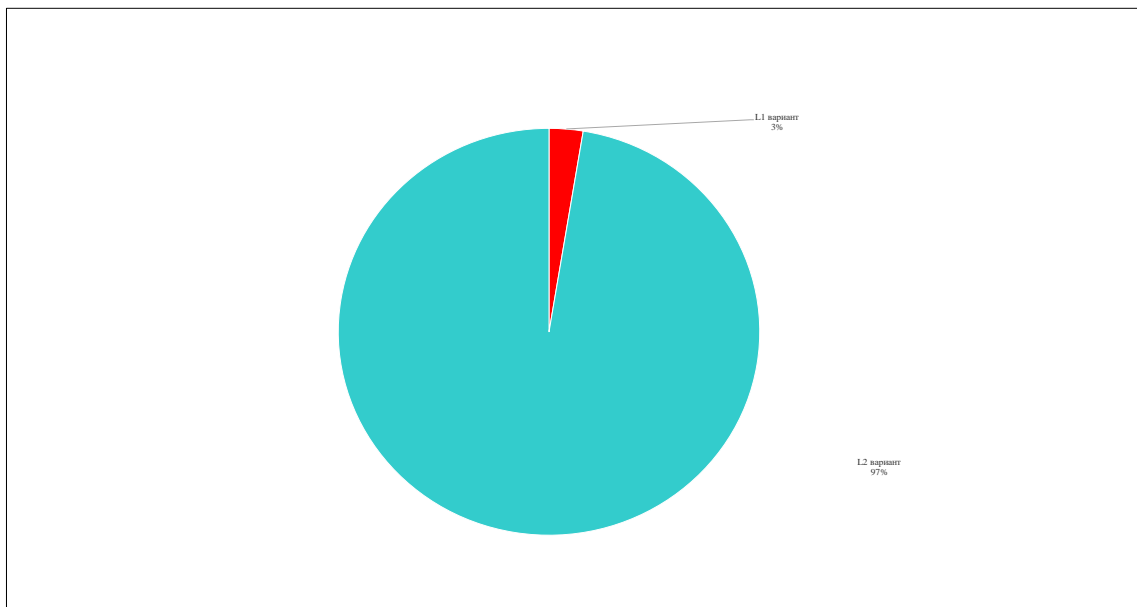


Рисунок 4 – Цитохимическая характеристика лейкоэмических бластов больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом

При оценке распределения пациентов с В-линейным ОЛЛ по иммуноподварианту, у большинства больных 109 (93%) был диагностирован относительно благоприятный пре-пре В (ВII) иммуноподвариант и у 6 (5%) детей – про-В (ВI) вариант, которые ассоциированы с неблагоприятным прогнозом (Рисунок 5).

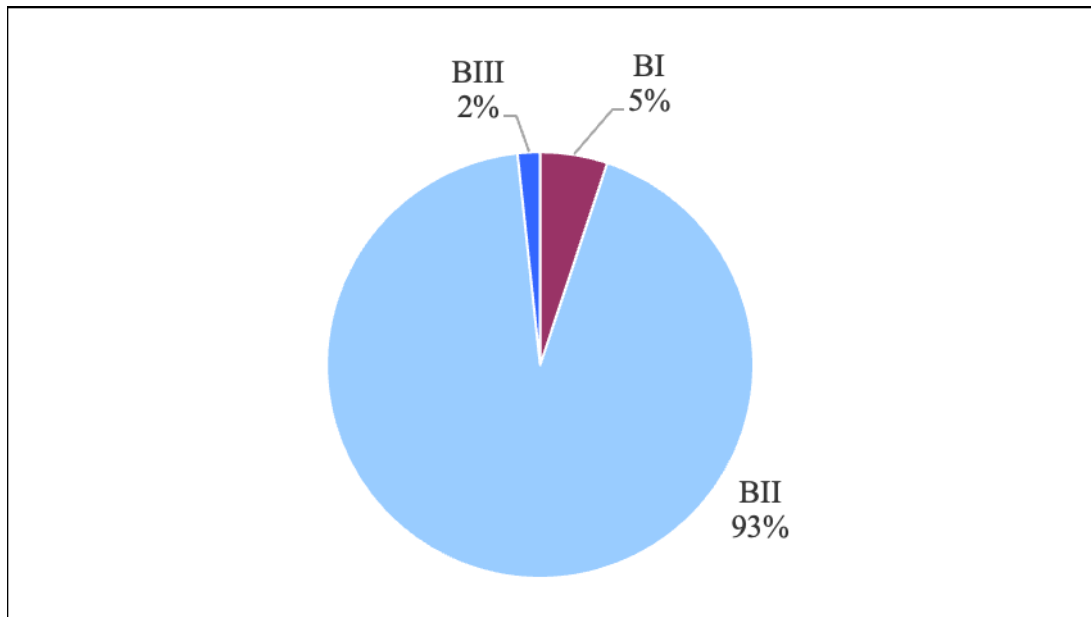


Рисунок 5 – Распределение по иммуноподварианту больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом, получивших лечение по протоколу ALL-IC BFM 2009

Цитогенетическое исследование костного мозга проведено 43 (36,7%) пациентам, из них у 17 (39,5%) отмечался гипердиплоидный кариотип, у 24 (55,8%) – нормальный кариотип и у 2 (4,7%) гиподиплоидный кариотип, являющийся фактором неблагоприятного прогноза (Рисунок 6).

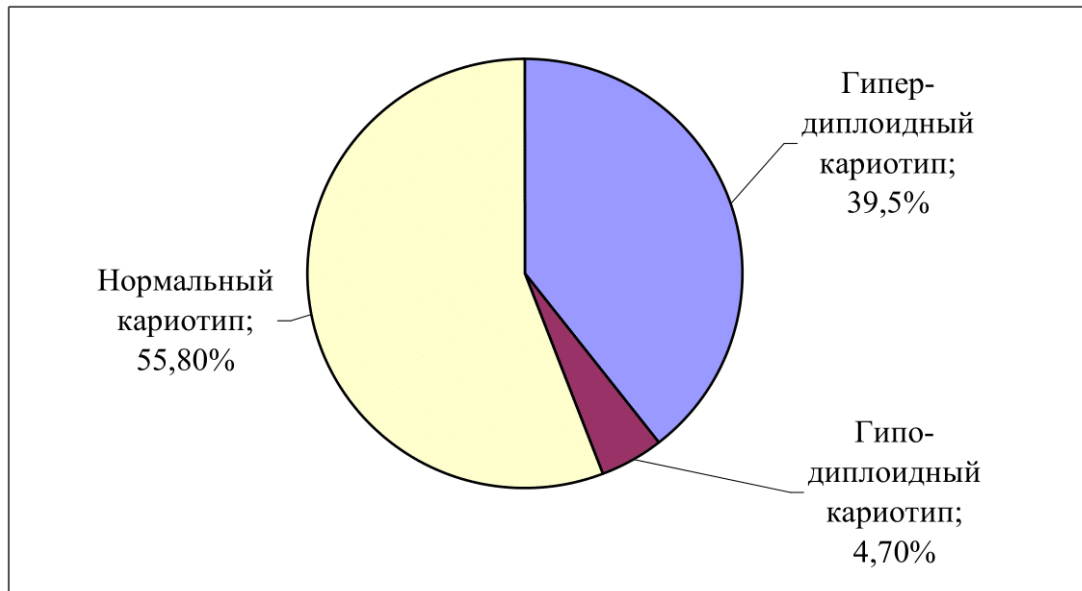


Рисунок 6 – Характеристика кариотипа при В-линейном остром лимфобластном лейкозе у больных, получивших лечение по протоколу ALL-IC BFM 2009

При цитогенетическом исследовании лейкемических бластов, прогностически значимые хромосомные транслокации были выявлены у 12 (27,9%) пациентов (Таблица 7).

Таблица 7 – Аномалии кариотипа при В-линейном остром лимфобластном лейкозе у детей (n = 43)

Кариотип	Частота, абс.	Кариотип
45-50XX	1	45-50XX
45XX,t(12;21)	1	45XX,t(12;21)
45XY,del(1)(p13q32),dic(9;17)(p13;p11)/46XY	1	45XY,del(1)(p13q32),dic(9;17)(p13;p11)/46XY
46XX	6	46XX
46XY, amp.RUNX1	1	2,3
46XY(13)	1	2,3
46XY[19]/47, XY + 17[1]	1	2,3
47XX,trisomia8,der14	1	2,3

47XY+21	1	2,3
50-58XX	1	2,3
50-59XY	1	2,3
52-56XX	1	2,3
52XX	1	2,3
54XX	2	4,6
54XY	2	4,6
55X(+X)Y,+4,+6,+10,+14,+17,+18,+21,+21	1	2,3
55X(+X)Y,+4,+6,+10,+14,+17,+18,+21,+21 -11	1	2,3
56-58XX	1	2,3
56XX,+4,+4,+8	1	2,3
56XY	1	2,3
57-58XY	1	2,3
t(11;19)	1	2,3
t(12;21)	5	11,6
t(12;22)	1	2,3
t(4;11)(q21;q23)	1	2,3
t(9;22)	3	6,9

Стратифицирующие транслокации [t(4;11) и t(9;22)], относящие больного изначально в группу высокого риска, определялись у 4 (9,3%) пациентов.

2.2. Методы исследования

Диагноз В-линейного ОЛЛ устанавливался с учетом морфологических, цитохимических, иммунологических и цитогенетических характеристик бластных клеток костного мозга. Морфологические особенности бластных клеток оценивались по мазкам пунктатов костного мозга, окрашенных по Романовскому–Гимзе.

Определение морфологического варианта осуществлялось по общепринятым критериям международной классификации FAB.

Лейкозные клетки экспрессировали комбинации иммунологических маркеров, которые можно использовать для отличия их от нормальных гемопоэтических клеток-предшественников. Эти лейкоз-представляющие иммунофенотипы могут быть сгруппированы в 3 категории.

В первую группу входили иммунофенотипы, которые экспрессируются в ходе нормального развития лимфоидной клетки, а также иммунофенотипы Т-линейного ОЛЛ, которые, в норме никогда не обнаруживаются вне тимуса.

Вторую группу составили белки, которые экспрессируются в случае хромосомных точечных мутаций – *BCR-ABL1*, *ETV6-RUNX1* или *TCF3-PBX1*. Несмотря на то, что данная группа маркёров очень удобна, благодаря высокой специфичности для лейкоза, использование ее для исследований ограничивается малым количеством подходящих для проточной цитофлуориметрии антител.

Третья группа представлена маркёрами, экспрессируемыми нормальными лимфоидными клетками в ходе лимфопоэза, но обнаруживаемыми в аномальной комбинации в лейкозных клетках. Эти фенотипы названы «асинхронными» или «аберрантными». Они представляют самую широкую группу доступную для мониторинга МОБ с помощью проточной цитометрии.

Исследование иммунофенотипа бластных клеток костного мозга проводилось в лаборатории иммунологии гемопоэза централизованного клинико-лабораторного отдела ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (зав. лабораторией – д.м.н., профессор Н. Н. Тупицын).

Исследование МОБ у больных В-линейным ОЛЛ выполнялось методом многопараметровой проточной цитометрии на 15-й, 33-й и 78-й дни лечения. Анализируемая панель антител включала до 20 маркеров, окрашивание производилось методом прямой иммунофлуоресценции с использованием моноклональных антител, меченных флюорохромными метками (FITC, PE, PE-cy5.5,

Per-CP, APC, APC-H7, V450, V500) производства Beckman Coulter, Beckton Dickinson и ООО «Сорбент». Анализ выполнялся на проточных цитометрах Epiх MCL-XL (Beckman Coulter) и FACS-Canto II (Beckton Dickinson). Оценка проточно-цитометрических файлов велась с использованием программного обеспечения FCS Express v.3

У 73 (62,4%) пациентов иммунофенотипирование проводилось в соответствии со стандартизованными 8-цветными диагностическими протоколами европейского консорциума по проточной цитометрии EuroFlow (Таблица 8). Для остальных 44 (37,6%) больных использовалась 3- и 4-цветная цитометрия.

Таблица 8 – Панель EuroFlow 2008

№	Флуорохромы – антигены							
	<i>FITC</i>	<i>PE</i>	<i>PerCP-cy5.5</i>	<i>Pe-cy7</i>	<i>APC</i>	<i>APC-H7</i>	<i>V450</i>	<i>V500</i>
A LOT								
1	cyMPO	CD79a	CD34	CD19	CD7	SmCD3	CyCD3	CD45
Уточняющая панель В-линейных ОЛЛ (BCP-ALL)								
1	CD58	CD66c	CD34	CD19	CD10	CD38	CD20	CD45
2	cyIgM	CD33	CD34	CD19	CD117+sIgM	sIg-λ	sIg-κ	CD45
3	NuTdT	CD13	CD34	CD19	CD22	CD24	CD9	CD45
4	CD15+CD65	NG2	CD34	CD19	CD123	CD81	CD21	CD45

В качестве основного критерия aberrантности опухолевых В-лимфоцитов оценивались антигены CD58 и CD38. Aberrантный иммунофенотип в отношении данного сочетания антигенов характеризовался гиперэкспрессией CD58 (CD58++) и слабой экспрессией CD38 или её отсутствием (CD38low/-). В случае отсутствия aberrантности по данному сочетанию антигенов были оценены дополнительные маркеры aberrантности: CD66c, CD13, CD33, CD9, CD81, CD123.

Критерии aberrантности В-лимфоцитов для дальнейшего мониторинга МОБ были отобраны для каждого больного на этапе первичной диагностики. Каждый пунктат КМ при диагностике МОБ был охарактеризован морфо-иммунологически. Для иммунологической оценки количества клеток МОБ использованы персонализированные критерии aberrантности В-лимфоцитов в соответствии с данными первичного иммунофенотипа опухоли.

МОБ-статус считался позитивным при выявлении остаточной популяции лейкоэмических клеток в количестве $\geq 0,01\%$ среди миелокариоцитов; негативным – $<0,01\%$.

Всем пациентам перед началом терапии и в процессе лечения проводилось обследование, включавшее общий клинический и биохимический анализы крови, цитологическое и биохимическое исследования ликвора, коагулограмму, общий анализ мочи, выявление антител к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ), гепатитам В и С, бледной трепонеме методом иммуноферментного анализа (ИФА).

С целью уточнения экстрамедуллярной распространенности лейкоэмического процесса, а также состояния органов и систем перед началом программного лечения пациентам проводился комплекс лучевых диагностических исследований. Рентгенография и/или компьютерная томография (КТ) органов грудной клетки для оценки состояния органов средостения и легочной ткани (100%). Также всем пациентам (100%) проводилось ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости, периферических лимфатических узлов, малого таза, у мальчиков ввиду возможного поражения, дополнительно оценивалось состояние яичек.

Перед началом каждого этапа программной терапии всем больным выполнялась электрокардиография (ЭКГ) и ЭХО-кардиография (ЭХО-КГ) с целью оценки функционального состояния сердечной мышцы. Для выявления поражения центральной нервной системы (ЦНС) всем пациентам выполнялось цитологическое исследование ликвора. При наличии ЦНС-поражения дополнительно проводилась магнитно-резонансная томография (МРТ) головного мозга.

2.3. Методы лечения

Стратификация пациентов на прогностические группы риска соответствовала критериями протокола ALL-IC BFM 2009:

Группа стандартного риска:

- менее 1×10^9 /л бластных клеток в периферической крови на 8-й день лечения;
- и возраст от 1 года до 6 лет;
- и первичный лейкоцитоз менее 20×10^9 /л;
- и уровень МОБ на 15-й день $< 0,1\%$ или ответ по костному мозгу М-1/М-2 на 15-й день;
- и ответ по костному мозгу М-1 на 33-й день.

Должны быть соблюдены все критерии.

Группа высокого риска:

- группа среднего риска и уровень МОБ 10% и более или ответ по костному мозгу М-3 на 15-й день;
- группа стандартного риска и уровень МОБ 10% и более;
- более 1×10^9 /л бластных клеток в периферической крови на 8-й день лечения;
- ответ по костному мозгу М-2 или М-3 на 33-й день лечения;
- транслокация t (9;22) [BCR/ABL] или t (4;11) [MLL/AF4];
- гиподиплоидия < 45 хромосом.

Достаточно одного из перечисленных критериев.

Группа среднего риска:

- все больные, не вошедшие в группу стандартного или высокого риска.

Цитологические критерии ответа по костному мозгу:

- М-1 – менее 5% бластов в костном мозге;
- М-2 – бластов в костном мозге $\geq 5 - < 25\%$;
- М-3 – количество бластов в костном мозге 25% и более.

В соответствии с критериями группы ВФМ к стандартному риску изначально отнесен 41 (35%) пациент, тогда как большинство больных было стратифицировано в группу среднего риска – 71 (60,7%) и к высокому – 5 (4,3%) пациентов (Рисунок 7).

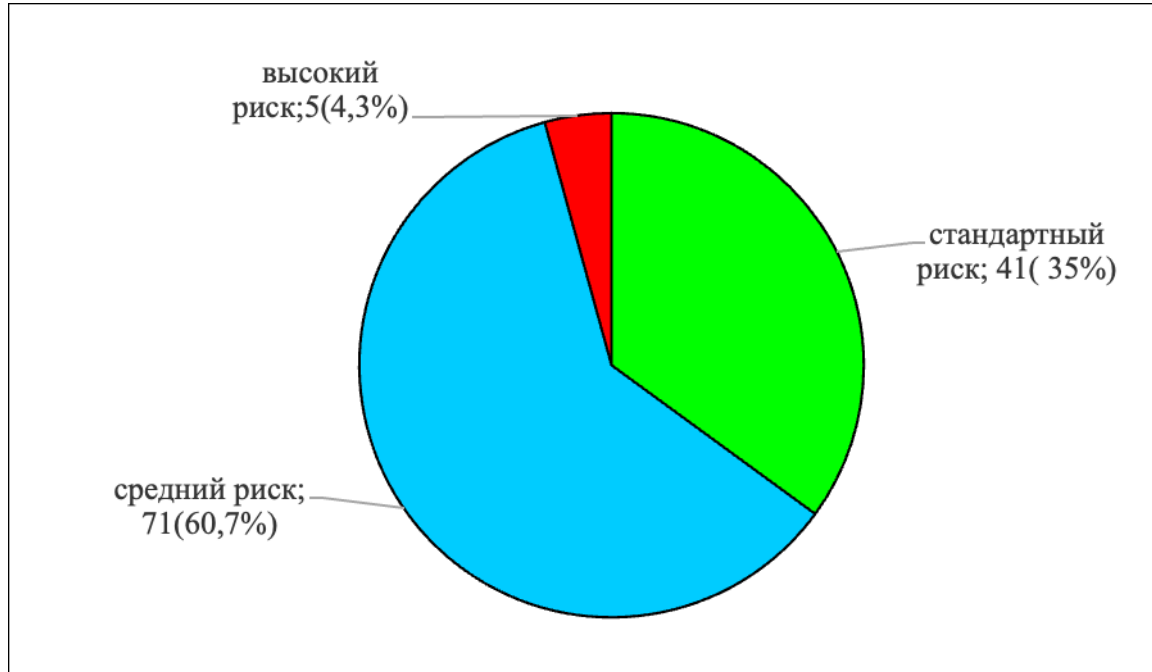


Рисунок 7 – Распределение больных, лечившихся по протоколу ALL-IC ВФМ 2009, по начальным группам риска

Для оценки начального поражения ЦНС использовались следующие критерии:
ЦНС – СТАТУС 1 (ЦНС1) (отрицательный):

- нет клинических симптомов лейкемического поражения ЦНС (в т.ч. черепно-мозговых нервов);
- отсутствие бластных клеток в ликворе.

ЦНС – СТАТУС 2 (ЦНС2) (отрицательный):

- обнаружение в ликворе клеток (цитоз $\leq 5 \times 10^9$ /л) напоминающих бластные на фоне эритроцитов в соотношении эритроцитов (RBC) : лейкоциты (WBC) $\leq 100 : 1$, в препарате, приготовленном на цитоспине, пункцию нельзя считать травматичной и/или контаминированной;

– обнаружение в ликворе лимфобластов на фоне примеси крови в соотношении RBC : WBC > 100 : 1, в препарате, приготовленном на цитоспине, пункция травматичная и/или контаминированная;

– при первичном лейкоцитозе > 5×10^9 /л травматичная спинномозговая пункция сочетается с примесью крови.

ЦНС – СТАТУС 3 (ЦНС3) (положительный):

– выраженные изменения в головном мозге и/или оболочках мозга по данным МРТ/КТ;

– патология со стороны черепно-мозговых нервов даже без обнаружения бластных клеток в ликворе и изменений на МРТ/КТ;

– нет данных за лейкемическое поражение глазного дна (нет бластных клеток, нормальная МРТ/КТ);

– не травматичная спинно-мозговая пункция с цитозом ликвора > 5×10^9 /л и большее количество бластных клеток в препарате, приготовленном на цитоспине.

Диагноз «нейролейкоз» при «контаминации» ликвора кровью основывался:

– на цитоз ликвора > 5×10^9 /л + большое количество бластных клеток (цитоспин) + RBC:WBC \leq 100:1 (цитоспин);

– на цитоз ликвора > 5×10^9 /л + процент бластных клеток в ликворе выше чем в периферической крови.

В соответствии с критериями стратификации на прогностические группы риска, лечение проводилось по риск-адаптированному протоколу ALL-IC BFM 2009, состоящему из индукции ремиссии, консолидации, интенсификации и поддерживающей терапии (Рисунок 8).

Стандартная группа риска (n = 41).

Больным из стандартной группы риска проводилась индукция ремиссии Protocol I (состоящий из двух фаз). Длительность первой фазы (А) составила 33 дня. С 36 дня лечения начиналась фаза В индукции ремиссии (Таблица 9).

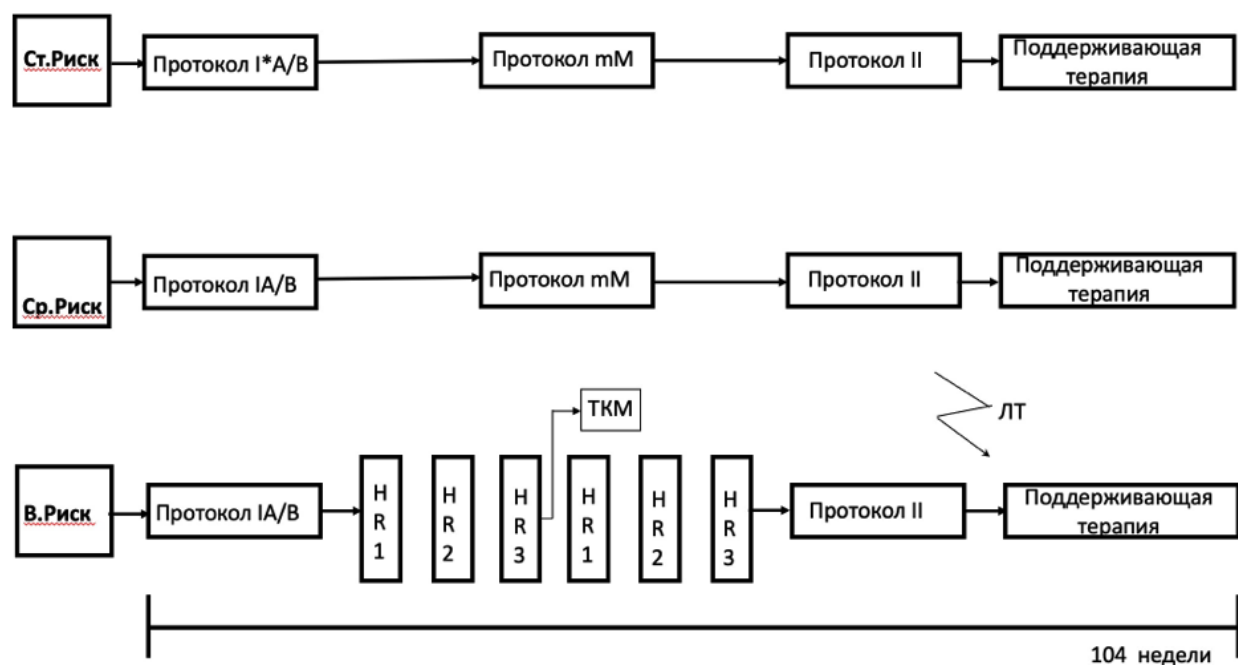


Рисунок 8 – Схема протокола ALL-IC BFM 2009 для В-линейного острого лимфобластного лейкоза

Таблица 9 – Protocol I

	Препарат	Дозировка	Путь введения	Дни введения
Фаза А	Винкристин	1,5 мг/м ² /д	в/в стр.	8, 15, 22, 29
	Даунорубицин	30 мг/м ² /д	в/в кап.	8, 15
	L-аспарагиназа ²	5000 ЕД/м ² /д	в/в кап.	12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33
	Преднизолон ¹	60 мг/м ² /д	внутри	1–33
Фаза В	Циклофосфамид	1000 мг/м ² /д	в/в кап.	36, 64
	Цитарабин	75 мг/м ² /д	в/в стр.	38–41, 45–48, 52–55, 59–62
	б-меркаптопурин	60 мг/м ² /д	внутри	36–63

Примечание – ¹ – Начиная с 25%-й дозы с увеличением (50–75–100%), до расчетной дозы ориентируясь на клинический ответ (уменьшение бластоза в периферической крови и сокращение органов), а также лабораторные показатели (мочевина, креатинин, мочевая кислота, электролиты, фосфаты) и адекватность диуреза; ² – при возникновении аллергических реакции; L-аспарагиназа заменялась на ПЭГ-аспарагиназу в дозе 2500 ЕД/м² (максимальная доза 3750 ЕД.), в/в кап.

Необходимыми условиями для начала второй фазы являлось количество лейкоцитов более $2 \times 10^9/\text{л}$, абсолютное число гранулоцитов более $0,5 \times 10^9/\text{л}$, тромбоцитов более $50 \times 10^9/\text{л}$ по данным общего анализа периферической крови.

С целью профилактики поражения ЦНС больным, вводился метотрексат эндолюмбально, в дозах в зависимости от возраста в 1-й, 12-й, 33-й, 45-й, 59-й дни химиотерапии по протоколу (Таблица 10).

Таблица 10 – Дозы метотрексата для эндолюмбального введения в зависимости от возраста пациента

Возраст, годы	Метотрексат, мг
< 1	6
1–2	8
2–3	10
> 3	12

При инициальном нейролейкозе или подозрении на лейкемическое поражение ЦНС проводились дополнительные люмбальные пункции с интратекальным введением метотрексата на 18-й и 27-й дни. При лейкемическом поражении ЦНС (ЦНС-статус 3), которое подтверждалось клинически и/или морфологически и/или по результатам МРТ/КТ вводились интратекально 3 препарата, в возрастной дозировке (Таблица 11).

Таблица 11 – Дозы химиопрепаратов для эндолюмбального введения при поражении центральной нервной системы, в зависимости от возраста пациента

Возраст, годы	Метотрексат, мг	Цитарабин, мг	Преднизолон, мг
< 1	6	16	4
1–2	8	20	6
2–3	10	26	8
> 3	12	30	10

Через две недели от окончания индукции начиналась терапия консолидации ремиссии – протокол mM (длительностью 56 дней) (Таблица 12).

Таблица 12 – Protocol mM

Препарат	Дозировка	Путь введения	Дни введения
Метотрексат	2000мг/м ² /д	в/в кап.	8, 22, 36, 50
6-меркаптопурин	25мг/м ² /д	внутри	1-56

Для начала проведения терапии, необходимо было выполнение следующих критериев:

- достижение цитоморфологической ремиссии (устанавливалась по данным костномозговой пункции);
- отсутствие у больного тяжелых инфекционных осложнений;
- нормализация биохимических показатели крови (АЛТ/АСТ \leq 5 возрастных норм, билирубин \leq 3 возрастных норм, уровень креатинина в пределах возрастной нормы);
- восстановление гематологических показателей (в анализе периферической крови количество лейкоцитов более $1,5 \times 10^9$ /л, абсолютное число гранулоцитов более $0,5 \times 10^9$ /л тромбоцитов более 50×10^9 /л).

Определение концентрации метотрексата в крови проводилось на 42-й, 48-й и 54-й часы от начала введения, нетоксичным считался уровень менее 0,25 мкмоль/л. Введение метотрексата сопровождалось пре- и постгидратацией с раствором гидрокарбоната натрия 5%, а также введением фолината кальция (лейковорин) в дозе 15 мг/м² на 42-й час от начала инфузии метотрексата и до достижения нетоксичной концентрации в крови, в режиме каждые 6 часов внутривенно струйно.

Эндолюмбальное введение метотрексата в возрастной дозе осуществлялось через 1 час от начала инфузии метотрексата на 8-й, 22-й, 36-й, 50-й дни соответственно (Таблица 5).

Через две недели от окончания курса консолидации и восстановления абсолютного числа гранулоцитов более $1,0 \times 10^9/\text{л}$ и тромбоцитов более $100 \times 10^9/\text{л}$ больным проводился курс реиндукции Protocol II (Таблица 8), длительностью 49 дней (Таблица 13).

Таблица 13 – Protocol II

	Препарат	Дозировка	Путь введения	Дни введения
Фаза А	Винкристин	1,5 мг/м ² /д	в/в стр.	8, 15, 22, 29
	Доксорубицин	30 мг/м ² /д	в/в кап.	8, 15, 22, 29
	Л-аспарагиназа	10000 ЕД/м ² /д	в/в кап.	8, 11, 15
	Дексаметазон	10 мг/м ² /д	внутри	1–21
Фаза В	Циклофосфамид	1000 мг/м ² /д	в/в кап.	36
	Цитарабин	75 мг/м ² /д	в/в стр.	38–41, 45–48
	6-меркаптопурин	60 мг/м ² /д	внутри	36–49

Л-аспарагиназа использовалась в том случае, если в протоколе I не было проявлений гиперчувствительности, однако вероятность аллергических реакций на этом этапе возрастает на 30%. Также, как и в первом курсе полихимиотерапии при гиперчувствительности проводилась замена Л-аспарагиназы на ПЭГ-аспарагиназу в дозе 2500 ЕД/м² в/в капельно, 1 раз.

Доза дексаметазона с 22-го дня уменьшалась каждые 3 дня вплоть до отмены за 9 дней, с целью снижения вероятности возникновения «синдрома отмены».

Эндолюмбальное введение метотрексата в возрастной дозе на 1-й и 18-й день осуществлялось при наличии нейролейкоза (Таблица 5).

После восстановления показателей периферической крови до уровня лейкоцитов более $2 \times 10^9/\text{л}$ и тромбоцитов более $50 \pm 10^9/\text{л}$ начиналась вторая фаза консолидации. Метотрексат вводился эндолюмбально в возрастной дозе в день начала каждого блока цитарабина (38-й и 45-й дни).

Больным с ЦНС статусом 3 после протокола II проводилась с лечебной целью лучевая терапия на головной мозг, детям старше 2 лет – СОД 18 Гр, детям от 1 года до 2 лет СОД 12 Гр.

Следующим этапом программной терапии являлось поддерживающее лечение, которое начиналось через 2 недели от окончания интенсивного этапа протокола (Таблица 14).

Таблица 14 – Поддерживающая терапия

Препарат	Дозировка	Путь введения	Дни введения
Метотрексат	20 мг/м ² /д	внутрь	один раз в неделю
б-меркаптопурин	50 мг/м ² /д	внутрь	ежедневно

Продолжительность поддерживающей терапии рассчитывалась с учетом того, что общая длительность лечения (интенсивного и поддерживающего) составляет 104 недели (24 месяца).

Всем больным с ЦНС 1/2 статусом, не получавшим лучевую терапию, во время поддерживающего лечения (на 4-й, 8-й, 12-й, 16-й неделях терапии) интратекально вводился метотрексат в возрастной дозе.

Средняя группа риска (n = 71)

Больным средней группы риска проводился курс индукции, такой же, как и в группе стандартного риска. Ключевым отличием от программы стандартного риска являлось дополнительное введение даунорубицина на 22-й, 29-й дни индукционного курса (Protocol IA). Консолидация и реиндукция терапии для группы среднего риска соответствовала таковой при стандартном риске. Также идентичными были сроки, условия и объёмы проведения лучевой и поддерживающей терапии.

Высокая группа риска (n = 5)

Больным отнесённым к высокой группе риска изначально или исходя из ответа на терапию на 8-й и/или 15-й и/или 33-й дни индукции, после окончания первого протокола (аналогичного группе среднего риска) проводилась терапия консолидации ремиссии, 6 блоками высокодозной химиотерапии (HR-1, HR-2, HR-3, HR-1, HR-2, HR-3) с двухнедельными перерывами от последнего (6-го дня) дня каждого блока (Таблицы 15–17).

Таблица 15 – Блок HR-1

Препарат	Дозировка	Путь введения	Дни введения
Дексаметазон	20 мг/м ²	внутрь	1–5
Винкристин	1,5 мг/м ²	в/в стр.	1, 6
Метотрексат	5000 мг/м ²	в/в кап.	1
Циклофосфамид	200 мг/м ²	в/в кап.	2–4
Цитарабин	2000 мг/м ²	в/в кап.	5
L-аспарагиназа	25000 ЕД/м ²	в/в кап.	6, 11

Таблица 16 – Блок HR-2

Препарат	Дозировка	Путь введения	Дни введения
Дексаметазон	20 мг/м ²	внутрь	1–5
Винкристин	1,5 мг/м ²	в/в стр.	1, 6
Метотрексат	5000 мг/м ²	в/в кап.	1
Ифосфамид	800 мг/м ²	в/в кап.	2–4
Цитарабин	2000 мг/м ²	в/в кап.	5
L-аспарагиназа	25000 ЕД/м ²	в/в кап.	6, 11
Даунорубицин	30 мг/м ²	в/в кап.	5

Таблица 17 – Блок HR-3

Препарат	Дозировка	Путь введения	Дни введения
Дексаметазон	20 мг/м ²	внутрь	1–5
Этопозид	100 мг/м ²	в/в кап.	3–5
Цитарабин	2000 мг/м ²	в/в кап.	1, 2
L-аспарагиназа	25000 ЕД/м ²	в/в кап.	6, 11

Определение концентрации метотрексата и сопроводительная терапия, соответствовала таковой на протоколе mM.

Введение циклофосфамида сопровождалось применением уропротекторов (уромитексан) из расчета 1:1. Весь период ПХТ сопровождался гидратацией

3000 мл/м²/сутки. Также, как и на протоколе индукции при аллергических реакция на L-аспарагиназу проводилась ее замена на ПЭГ-аспарагиназу в дозе 2500 ЕД/м².

Инtrateкальное введение трех препаратов (метотрексат, цитарабин и преднизолон) в возрастной дозе осуществлялось через 1 час от начала инфузии метотрексата в 1-й день блока (Таблица 6).

Блок HR-2 (Таблица 16) начинался через 2 недели от 6-го дня блока HR-1 при соблюдении следующих условия:

- отсутствие тяжелых инфекционных осложнений;
- уровень креатинина в пределах возрастной нормы;
- уровень АЛТ/АСТ менее 5 возрастных норм;
- уровень общего билирубина менее 3 возрастных норм;
- количество гранулоцитов более $0,2 \times 10^9$ /л;
- тромбоцитов более 50×10^9 /л в периферической крови.

Введение ифосфамида сопровождалось применением уромитексана, из расчета 400 мг/м² (3 введения). Весь период ПХТ сопровождался гидратацией 3000 мл/м²/сутки. Также, как и на предыдущем блоке при аллергических реакция на L-аспарагиназу проводилась ее замена на ПЭГ-аспарагиназу в дозе 2500 ЕД/м².

Инtrateкальное введение (метотрексат/цитарабин/преднизолон) в возрастной дозе осуществлялось через 1 час от начала инфузии метотрексата в 1-й день блока (Таблица 16). При ЦНС статусе 3 на 5-й день блока ПХТ проводилось повторное эндолюмбальное введение трех препаратов.

Блок HR-3 начинался через 2 недели от 6-го дня блока HR-2 при соблюдении условия (аналогичных требованиям для начала блока HR-2) (Таблица 17).

На фоне введения высокодозного цитарабина проводилась сопроводительная терапия с целью снижения токсичности. Витамин В6 – 120 мг/м² два введения в сутки, капли глазные с дексаметазоном 1% три введения в сутки. Проводилась гидратация 3000 мл/м²/сутки в течение периода ПХТ и двух-трех дней после ее

окончания. Инtrateкальное введение трех препаратов (метотрексат/цитарабин/преднизолон) в возрастной дозе осуществлялось в 5-й день блока (Таблица 6).

Также при аллергических реакция на L-аспарагиназу проводилась ее замена на ПЭГ-аспарагиназу в дозе 2500 ЕД/м².

Далее блоки консолидации последовательно повторялись (HR-1, HR-2, HR-3). В первый день каждого блока проводилась костномозговая пункция для оценки эффективности лечения. По окончании блоков консолидации и восстановлении нормальных показателей периферической крови, больным проводился курс реиндукции (Protocol II) аналогичный таковому для стандартной и средней групп риска. В дополнении к химиотерапии перед началом поддерживающего лечения проводилась лучевая профилактика (детям старше 1 года при ЦНС статусе 1 и 2) 12 Гр или лечение поражения ЦНС больным с ЦНС статусом 3 (детям старше 2 лет) – СОД 18 Гр, детям от 1 года до 2 лет – СОД 12 Гр.

Через 2 недели от окончания интенсивной терапии, при условии удовлетворительного общего состояния, отсутствии инфекционных осложнений и восстановлении кроветворения, начиналась поддерживающая терапия (метотрексат 20 мг/м² внутрь, один раз в неделю и 6-меркаптопурин 50 мг/м²/сут внутрь ежедневно).

Общая продолжительность лечения от начала индукции до окончания поддерживающего лечения составляла 24 месяца (104 недели).

2.4. Профилактические мероприятия и сопроводительная терапия

С первого дня лечения всем больным проводилась профилактика пневмоцистой пневмонии препаратом ко-тримоксазол [сульфаметоксазол + триметоприм] (5 мг/кг по триметоприму). Профилактика развития стоматита проводилась путем регулярной ежедневной обработки слизистой ротовой полости растворами антисептиков (местамидин, хлоргексидин) с первого дня проведения режима ПХТ и до полного восстановления показателей гемопоэза.

Во время ПХТ пациенты получали инфузионную терапию кристаллоидами из расчета 3000 мл/м²/сутки с поддержкой адекватного диуреза путем назначения петлевых диуретиков (фуросемид). Проведение режима ПХТ сопровождалось антиэметической профилактикой (ондансетрон, апрепитант).

Во время периода аплазии костного мозга пациенты получали заместительные трансфузии человеческого иммуноглобулина, альбумина, совместимых по АВО-системе компонентов крови (свежезамороженная плазма, эритроцитная взвесь, тромбоконцентрат, криопреципитат) по показаниям, частичное или полное парентеральное питание, инфузионную терапию.

При развитии инфекционных осложнений проводилась системная противомикробная терапия.

Назначение антибактериальных и противогрибковых препаратов было эмпирическим, с последующей коррекцией по результатам микробиологических исследований биологического материала пациента с определением чувствительности микроорганизмов к антибактериальным и противогрибковым препаратам. Противовирусная профилактика проводилась в соответствии с данными лабораторной диагностики вирусного статуса.

2.5. Оценка ответа на лечение

На 33-й день от начала лечения проводилась оценка ответа на терапию соответственно следующим критериям:

Полная ремиссия (CR):

- цитологический ответ М-1 по костному мозгу: менее 5% бластов в костном мозге, нормальная или несколько сниженная клеточность, с признаками восстановления кроветворения;
- отсутствие лейкоэмических инфильтратов/образований при клиническом и инструментальном обследовании;
- отсутствие бластных клеток в ликворе.

Уровень МОБ менее 0,01% на 33-й день терапии расценивался как достижение иммунологической ремиссии.

Если CR не была достигнута к 33-му дню, то состояние костного мозга оценивалось перед 1-м блоком HR-1 (либо перед протоколом mM) и 1-м блоком HR-2.

Смерть в индукции расценивалась как летальный исход в течение терапии индукции, до начала этапа консолидации.

Смертью в состоянии полной ремиссии считалась смерть, наступившая по различным причинам после достижения клинико-гематологической ремиссии, при отсутствии признаков лейкоза.

Рефрактерное течение констатировалось при отсутствии полной ремиссии после завершения двух фаз индукционной терапии.

Изолированный костномозговой рецидив регистрировался в случае появления 25% и более бластов в костном мозге после ранее достигнутой клинико-гематологической ремиссии без признаков экстрамедуллярной лейкемической инфильтрации.

Изолированный экстрамедуллярный рецидив констатировали при наличии клинических экстрамедуллярных проявлений лейкоза и отсутствии лейкемической инфильтрации костного мозга (< 5% лимфобластов).

Комбинированный костномозговой рецидив диагностировался в случаях с доказанной экстрамедуллярной лейкемической инфильтрацией при наличии более 5% лимфобластов в костном мозге.

Нейрорецидив диагностировали при содержании минимум 5 лейкоцитов в 1 мкл ликвора и достоверном наличии лимфобластов и/или наличии МРТ/КТ-признаков поражения ЦНС.

Тестикулярный рецидив устанавливали клинически и подтверждали биопсией пораженного и контрлатерального яичка.

В зависимости от сроков возникновения рецидивы В-линейного ОЛЛ разделяются на поздний, ранний и очень ранний (Таблица 18).

Таблица 18 – Характеристика рецидивов острого лимфобластного лейкоза по времени возникновения

Время возникновения	После первичного диагноза	После окончания первичной терапии
Поздний	≥ 30 месяцев	≥ 6 месяцев
Ранний	$\geq 18-30$ месяцев	< 6 месяцев
Очень ранний	< 18 месяцев	< 6 месяцев

2.6. Статистическая обработка данных

Оценка параметрических данных проводилась посредством сравнения средних величин с использованием коэффициента Стьюдента. Разница считалась статистически значимой при $p < 0,05$.

Непараметрические данные сравнивались при помощи построения таблиц сопряженности по критерию χ^2 Пирсона и точному критерию Фишера для сравнения групп с малыми выборками. Разница в группах считалась статистически значимой при $p < 0,05$.

Оценка выживаемости больных проводилась при помощи построения кривых по методу Kaplan – Meier. В данном исследовании изучалась безрецидивная выживаемость (БРВ), бессобытийная выживаемость (БСВ) и общая выживаемость (ОВ). Сравнение кривых выживаемости проводилось по методу long-rank. Разница между кривыми считалась статистически значимой при $p < 0,05$.

БРВ – определялась от момента констатации ремиссии до момента возникновения рецидива (оценивалась у больных в полной ремиссии).

БСВ – от начала лечения до момента прекращения ремиссии не зависимо от причины.

ОВ – от начала лечения до окончания исследования (01.01.2021) или смерти больного.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МИНИМАЛЬНОЙ ОСТАТОЧНОЙ БОЛЕЗНИ КАК ФАКТОРА РЕСТРАТИФИКАЦИИ ПРИ В-ЛИНЕЙНОМ ОСТРОМ ЛИМФОБЛАСТНОМ ЛЕЙКОЗЕ

Инициальное распределение по прогностическим группам риска 117 больных, включенных в исследование, проводилось в соответствии с критериями протокола ALL-IC BFM 2009 и учитывало возраст, уровень лейкоцитов в общем анализе крови и цитогенетические aberrации. Наибольшее число больных – 71 (60,7%) составили группу среднего риска, почти в два раза меньше – 41 (35%) группу стандартного риска и 5 (4,3%) вошли в группу высокого риска (Рисунок 9).

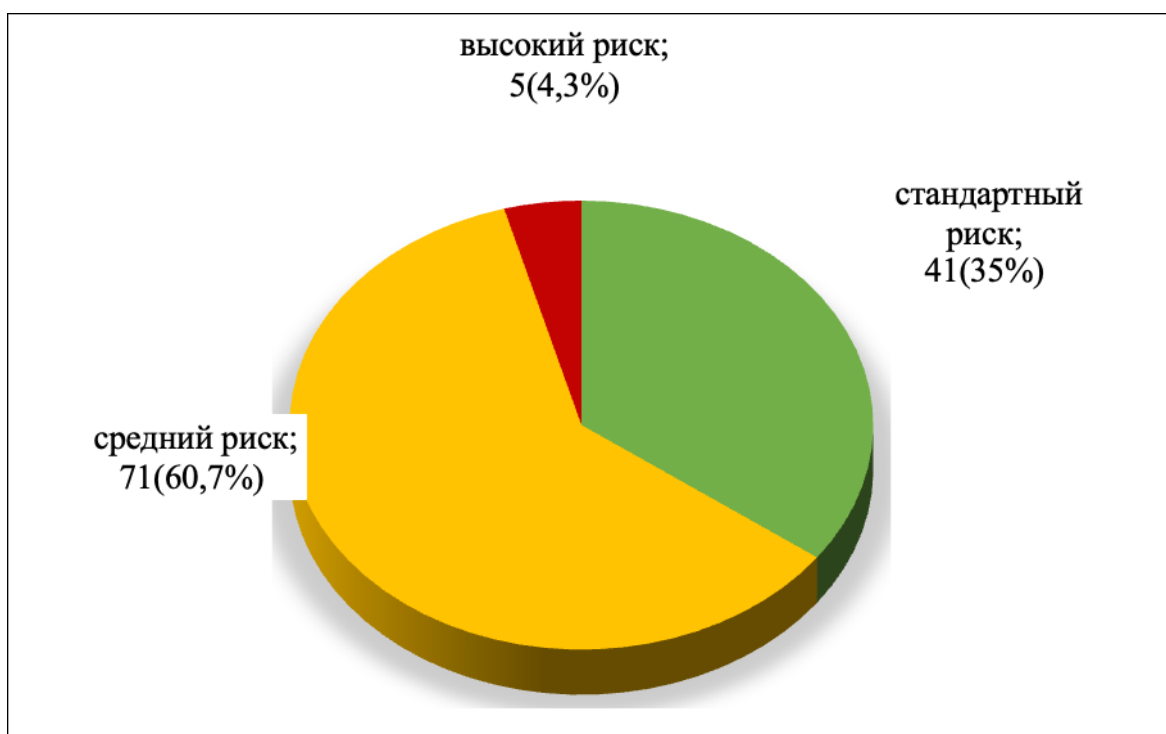


Рисунок 9 – Инициальные группы риска больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом

Первой контрольной точкой ответа на терапию В-линейного ОЛЛ является 8-й день индукции ремиссии. Уровень бластов менее 1×10^9 /л периферической крови

расценивался как «хороший ответ», 1×10^9 /л и более – как «плохой ответ». Данный этап протокола ALL-IC BFM 2009 является определяющим для последующей стратификации больных на прогностические группы риска. Так, при «плохом ответе» пациенты переводились в группу высокого риска. В соответствии с этим, «хороший ответ» наблюдался у 110 (94%) больных, «плохой» – у 7 (6%) пациентов. При оценки корреляции между инициальными группами риска и ответом больных на терапию на 8-й день лечения, показано что все больные из инициальной группы стандартного риска (41 пациент) продемонстрировали «хороший ответ», в группе среднего риска у большинства 65 (91,5%) был отмечен «хороший ответ», у 6 (8,5%) – «плохой ответ». В группе высокого риска у 4 пациентов – «хороший ответ» и у 1 – «плохой ответ» (количество больных в инициальной группе высокого риска было 5) ($p = 0,07$).

После оценки ответа на преднизолон на 8-й день терапии группы риска изменились следующим образом: группа стандартного риска – 41 (35%) пациент, среднего – 65 (55,6 %) и в группу высокого риска вошло 11 (9,4%) пациентов (Рисунок 10).

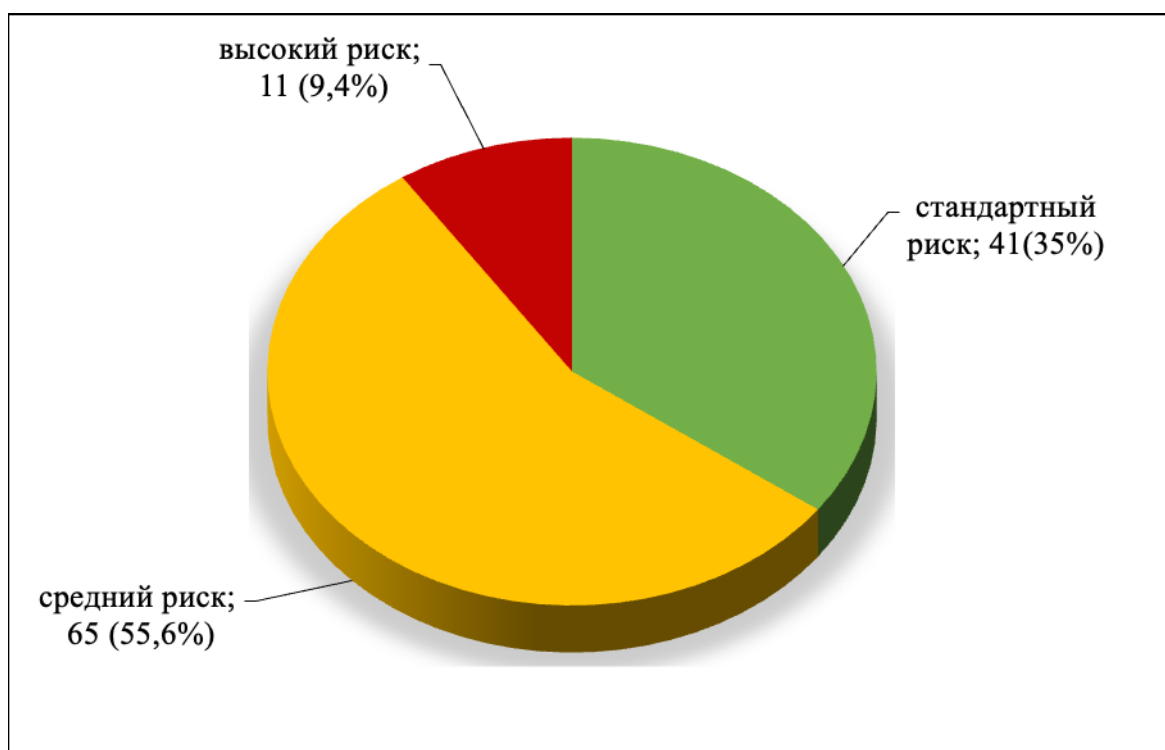


Рисунок 10 – Распределение на группы риска, больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом в зависимости от ответа на 8-й день терапии

Следовательно, с учетом ответа на 8-й день терапии, почти в два раза увеличилось число больных в группе высокого риска, тогда как количество больных в стандартной группе риска не изменилось (Таблица 19).

Таблица 19 – Рестратификация больных по группам риска с учетом ответа на 8-й день терапии

Инициальные группы риска	Группы риска на 8-й день терапии
Стандартный риск 41 (35%)	Стандартный риск 41 (35%)
Средний риск 71 (60,7%)	Средний риск 65 (55,6%)
Высокий риск 5 (4,3%)	Высокий риск 11 (9,4%)

Следующей контрольной точкой оценки ответа на лечение является 15-й день, на который проводится цитологическое и иммунологическое исследования костного

мозга. Цитологическое исследование костного мозга на 15-й день терапии проведено 116 (99,1%) больным. Анализ МОБ на 15-й день выполнен 113 (96,5%) пациентам, (1 больной умер на этапе индукции ремиссии, у 3 пациентов уровень МОБ не определялся по техническим причинам). В группе стандартного риска большинство детей – 26 (66,7%) были с МОБ менее 0,1%; у 12 (30,8%) больных МОБ составляла от 0,1 до 10% и у 1 (2,6%) пациента – более 10%. У больных группы высокого риска уровень МОБ ниже 0,1% отмечался у 3 (33,4%), от 0,1 до 10% – 6 (66,6%). В группе среднего риска 25 (39%) детей были с МОБ менее 0,1%; у 30 (46,9%) больных МОБ от 0,1 и до 10% и 9 (14,1%) пациентов имели МОБ 10% и более (Таблица 20).

Таблица 20 – Распределение на группы риска, больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом в зависимости от уровня МОБ на 15-й день терапии

Уровень МОБ	Риск		
	стандартный	средний	высокий
< 0,1%	26 (66,7%)	25 (39%)	3 (33,4%)
0,1–10%	12 (30,8%)	30 (46,9%)	6 (66,6%)
≥ 10%	1 (2,6%)	9 (14,1%)	0 (0%)

Следовательно, наиболее высокая частота МОБ < 0,1% на 15-й день терапии отмечена в группе больных стандартного риска (66,7%), тогда как в группах среднего и высокого риска данный показатель оказался в 2 раза ниже ($p < 0,05$).

Уровень МОБ < 0,01% (негативный статус) к 15-му дню лечения отмечен у 13 (11,5%) больных, тогда как у 100 (88,5%) пациентов определялся МОБ-позитивный статус (Рисунок 11).

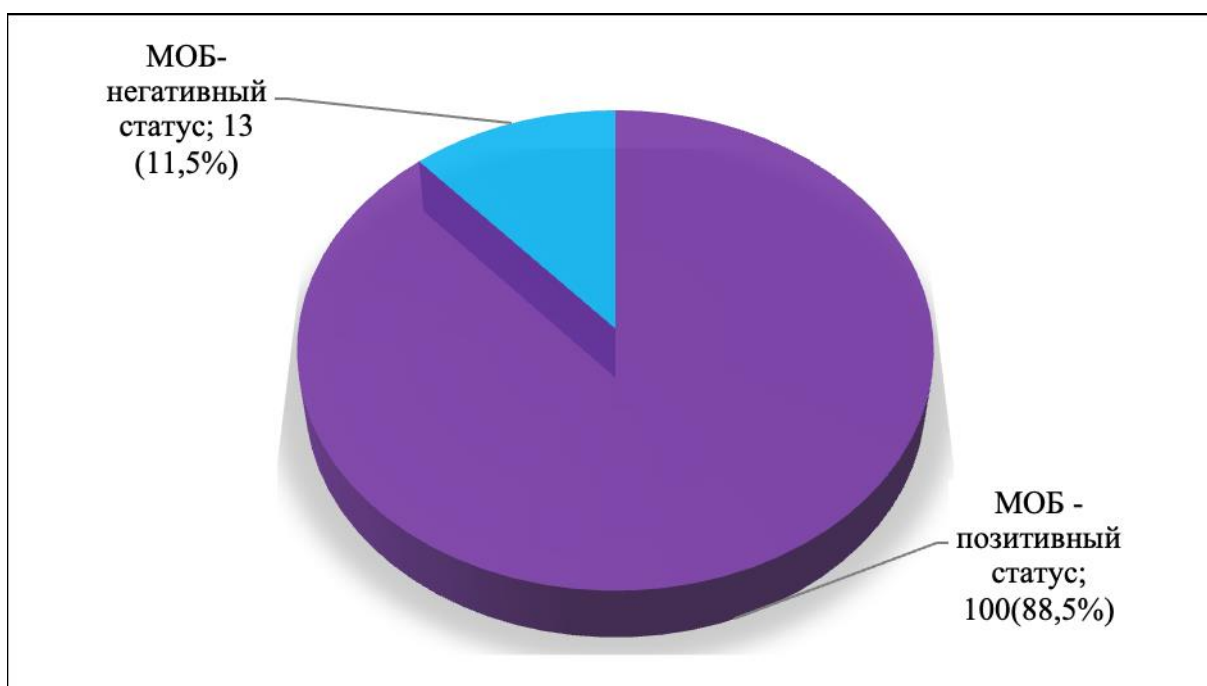


Рисунок 11 – Распределение больных с В-линейным острым лимфобластным лейкозом по МОБ-статусу на 15-й день терапии

При цитологической оценке ответа по костному мозгу на 15-й день терапии получены следующие данные: в группе стандартного риска ответ М-1 зафиксирован у 36 (90%), у 4 (10%) больных – М-2, М-3-ответа не было. В группе среднего риска у 49 (75,4%) пациентов был отмечен ответ М-1, у 13 (20%) – М-2 и у 3 (4,3%) больных достигнут ответ М-3. В группе высокого риска у 5 (45,5%) больных отмечен ответ М-1, у 3 (27,3%) детей – М-2, и 3 (27,3%) – ответ М-3 (Таблица 21).

Таблица 21 – Распределение больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом по группам риска в зависимости от цитологического ответа на 15-й день терапии

Цитологический ответ	Риск		
	стандартный	средний	высокий
М-1	36 (90%)	49 (75,4%)	5 (45,5%)
М-2	4 (10%)	13 (20%)	3 (27,3%)
М-3	0 (0%)	3 (4,6%)	3 (27,3%)

Следовательно, у большинства (90 %) больных из группы стандартного и среднего (75,4%) риска на 15-й день терапии отмечен М-1-ответ по костному мозгу. В ходе выполнения работы проведено сопоставление цитологического и иммунологического ответов по костному мозгу на 15-й день терапии (Таблица 22).

Таблица 22 – Цитологический и иммунологический ответы по костному мозгу на 15-й день терапии

М-ответ	МОБ-статус		
	МОБ менее 0,1%	МОБ от 0,1 до 10%	МОБ более 10%
М-1	52 (96%)	35 (73%)	1 (8,3%)
М-2	2 (4%)	11 (23%)	7 (58,4%)
М-3	0 (0%)	2 (4%)	4 (33,3%)

Полученные результаты позволили рестратифицировать 8 пациентов из группы стандартного риска с ответом М-1 и уровнями МОБ от 0,1 до 10%, в группу среднего риска. Из группы среднего риска 7 пациентов с ответом М-2 и 1 больной с ответом

М-1 и уровнем МОБ 10% и более были рестратифицированы в группу высокого риска.

Соответственно, с учетом цитологических и иммунологических данных на 8-й и 15-й дни терапии рестратификация на прогностические группы риска оказалась следующей: стандартный риск – 25 (22%) пациентов, средний – 70 (60 %) и высокий – 21 (18%) (Рисунок 12).

Продолжая терапию по протоколу ALL-IC BFM 2009, на 33-й день индукции всем пациентам проводилась повторная морфо-иммунологическая оценка ответа по костному мозгу. Исследование пунктата костного мозга выполнено у 115 (98,3%) пациентов (2 случая индукционной смерти к 33-му дню). Оценка МОБ на 15-й день

проводилась 113 (96,6%) из 117 пациентов, включенных в исследование (у 2 пациентов уровень МОБ по техническим причинам определить не удалось).

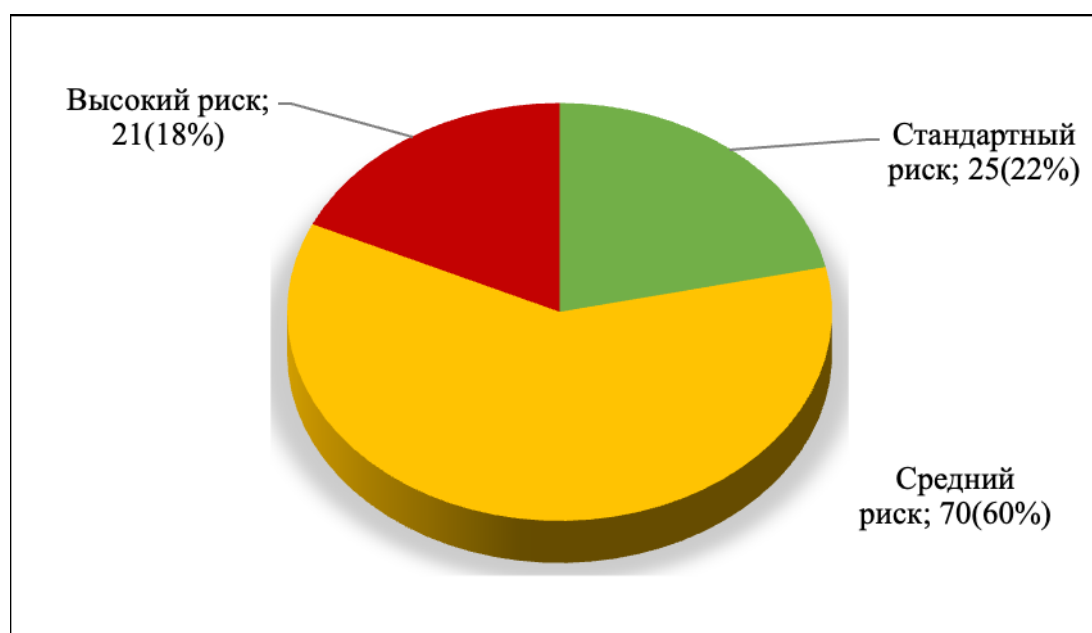


Рисунок 12 – Распределение пациентов с В-линейным острым лимфобластным лейкозом по группам риска на 15-й день терапии с учетом рестратификации

По данным миелограммы было выявлено следующее: в группе стандартного риска ответ М-1 зафиксирован у 23 (92%), у 2(8%) – М-2. В группе среднего риска у 68 (98,4%) пациентов был отмечен ответ М-1, у 1 (1,4%) – ответ М-2. В группе высокого риска в 19 (90,5%) случаях достигнут ответ М-1, у 2 (9,5%) детей – М-2. Ни в одной из групп ответа М-3 на 33-й день терапии не выявлено (Таблица 23).

В связи с субоптимальным цитологическим ответом (М-2) на 33-й день терапии, 2 пациента из группы стандартного риска были рестратифицированы в группу среднего риска. Пациенты из средней и высокой групп продолжили программное лечение в своих когортах, без изменения тактики.

Таблица 23 – Распределение больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом на группы риска в зависимости от цитологического ответа по костному мозгу на 33-й день терапии

Цитологический ответ	Риск		
	стандартный	средний	высокий
М-1	23 (92%)	68 (98,4%)	19 (90,5%)
М-2	4 (10%)	1 (1,4%)	2 (9,5%)
М-3	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

Иммунологическое исследование костного мозга показало, что в группе стандартного риска 22 (88%) ребенка были с МОБ менее 0,1%; у 3 (12%) больных МОБ составлял от 0,1 и до 10%. В группе среднего риска 63 (88%) пациента были с МОБ менее 0,1%; у 5 (7,4%) больных – МОБ от 0,1 и до 10%. Пациентов с МОБ 10% и более в группах стандартного и среднего риска не было. В группе высокого риска уровень МОБ ниже 0,1% отмечался у 11 (55%) больных, от 0,1 до 10% – у 6 (30%) и уровень МОБ 10% и более у 3 (15%) пациентов (Таблица 24).

Таблица 24 – Распределение больных В-линейным ОЛЛ на группы риска в зависимости от уровня МОБ на 33-й день терапии

Уровень МОБ	Риск		
	стандартный	средний	высокий
< 0,1%	22 (88%)	63 (92,6%)	11 (55%)
0,1–10%	3 (12%)	5 (7,4 %)	6 (30%)
≥ 10%	0 (0%)	0 (0%)	3 (15%)

Представленные в таблице 8 данные демонстрируют, что к 33-му дню терапии большинство больных 75 (64,1%) сохраняли МОБ-положительный статус, у 38 (32,5%) пациентов определялся МОБ-негативный статус (Рисунок 13).

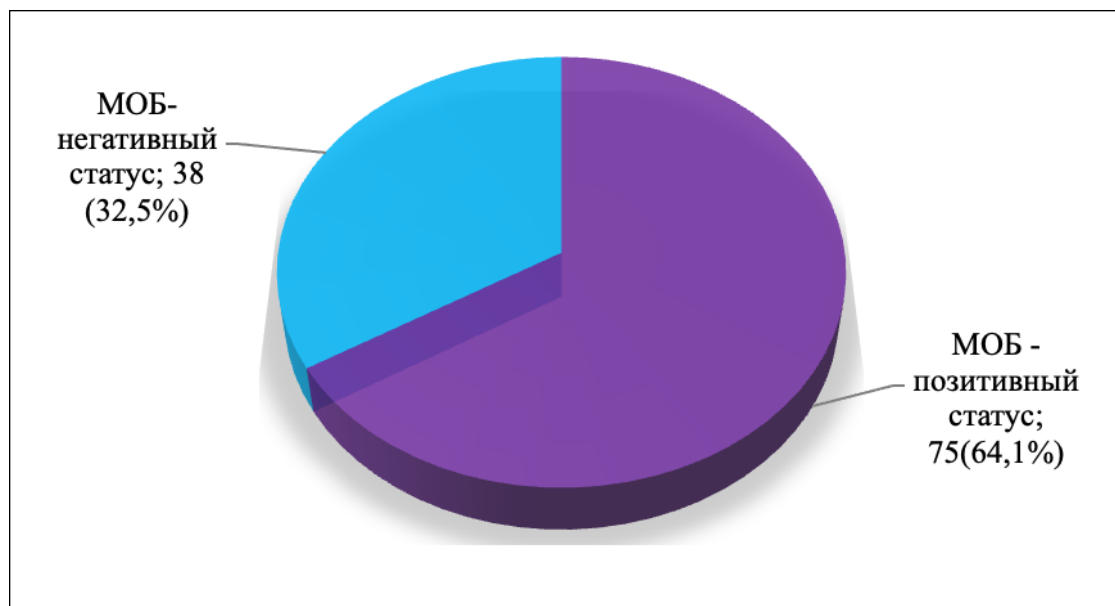


Рисунок 13 – Распределение больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом по МОБ-статусу на 33-й день терапии

С учетом морфо-иммунологического ответа на 33-й день терапии больные были стратифицированы следующим образом: в группу стандартного риска вошло 23 (19,7%) пациента, в группу среднего риска – 71 (60,7 %) и в группу высокого риска – 21 (17,9%) пациент (Рисунок 14).

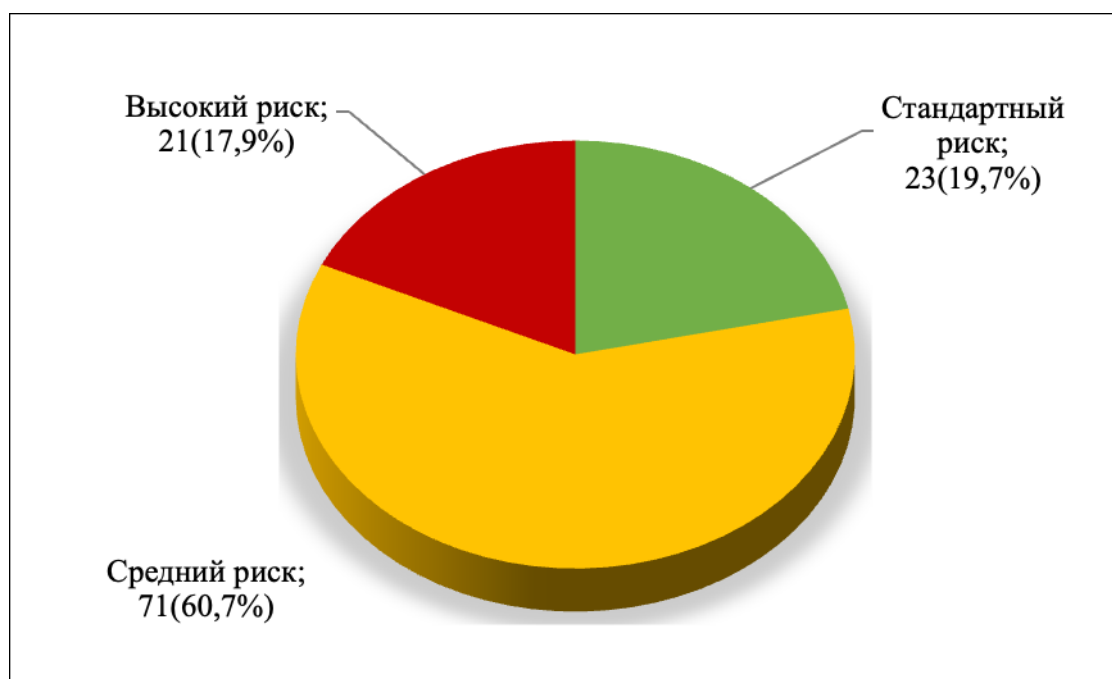


Рисунок 14 – Распределение пациентов В-линейным ОЛЛ по группам риска на 33-й день терапии после стратификации, с учетом рестратификации

Анализируя МОБ-статус в ходе лечения на контрольных точках индукции и в пост-индукционном периоде, отмечена выраженная динамика в эрадикации опухолевого клона. Так, если на 15-й день у большинства больных 101 (88,6%) МОБ-статус был позитивным, то к 33-му дню терапии больных с МОБ-позитивным статусом было уже 75 (66,4%), а к 78-му дню – 20 (27,4%) (Рисунок 15).

При оценке корреляции между цитологическим ответом по костному мозгу и МОБ-статусом на 78-й день терапии, оказалось, что большинство больных 47 (86,8%), достигших негативного уровня МОБ, имели М-1-ответ, 7 (13,2%) пациентов демонстрировали М2-ответ. Единственный пациент с М-3-ответом был МОБ-позитивным (Рисунок 16).

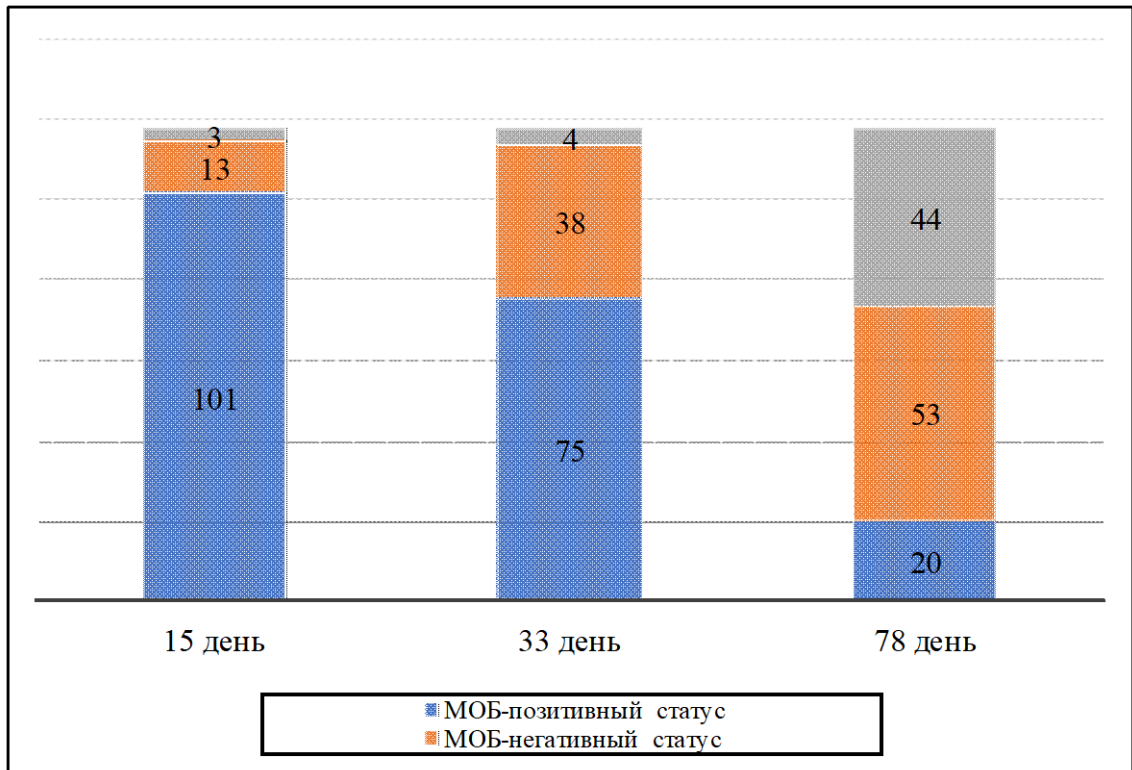


Рисунок 15 – Распределение больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом по МОБ-статусу на 15-й, 33-й и 78-й дни терапии

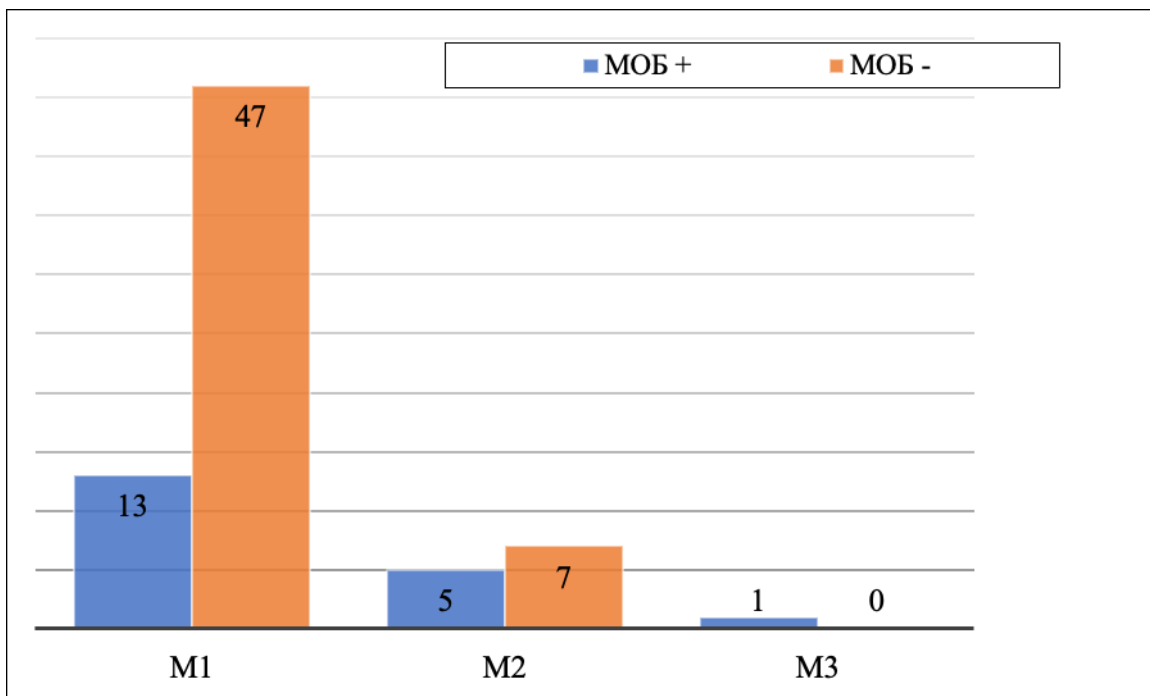


Рисунок 16 – Распределение больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом по МОБ-статусу и цитологическому ответу по костному мозгу на 78-й день терапии

Таким образом, комплексный подход к стратификации больных В-линейным ОЛЛ, основанный на морфо-иммунологических данных костного мозга, позволяет более точно подойти к выделению прогностических групп риска. Полученные нами данные, показали, что если к 15-му дню терапии лишь небольшое (9%) число больных достигали МОБ-негативного статуса, то последующая терапия в рестратифицированных группах позволила увеличить это число в 3 раза (29%) к 33-му дню лечения. Кроме того, определение МОБ позволило выявить группу больных с ответом М-1 и М-2 на 15-й день, высокий уровень МОБ у которых свидетельствует о необходимости интенсификации терапии, за счет перевода больного в группу более высокого риска. Частота рестратификации на основании МОБ-статуса составляла 11,5%. Без использования МОБ эти больные получили бы менее интенсивное лечение и, следовательно, с большей вероятностью развили рецидив заболевания. В связи с тем, что малое количество больных достигает МОБ-негативного статуса к 150-му дню терапии, вероятно, анализируя скорость и уровень снижения МОБ в дальнейшем можно будет выделить группу «истинно» неблагоприятного риска для которых необходима более ранняя интенсификация терапии.

У больных с МОБ-позитивным статусом к 78-му дню лечения, возможно, следует провести дополнительную рестратификацию на прогностические группы риска и интенсифицировать последующее лечение. А в той группе больных, где дальнейшее повышение доз химиопрепаратов невозможно, интенсификацию осуществить за счет включения таргетных препаратов (например, блинатумомаба).

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ ДЕТЕЙ С В-ЛИНЕЙНЫМ ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ С УЧЕТОМ МИНИМАЛЬНОЙ ОСТАТОЧНОЙ БОЛЕЗНИ

Для оценки эффективности терапии В-линейного ОЛЛ по протоколу ALL-IC BFM 2009 была проанализирована частота достижения ремиссии, а также показатели бессобытийной, безрецидивной и общей выживаемости 117 больных, включенных в исследование.

У больных, получавших лечение по протоколу ALL-IC BFM 2009, полной клинико-гематологической ремиссии достигли 110 (94%), 5 (4,3%) – не достигли ремиссии к окончанию индукции (Таблица 25).

Таблица 25 – Частота достижения полной клинико-гематологической ремиссии на 33-й день терапии

Гематологическая ремиссия	Количество больных
Достигнута	110 (94%)
Не достигнута	5 (4,3%)
Не оценивался статус на 33-й день	2 (1,7%)

Следует отметить, что из 5 пациентов, не достигших полной клинико-гематологической ремиссии к 33-му дню терапии, у 3 она была отмечена на 78-й день, еще у одного пациента клинико-гематологическая ремиссия получена перед началом второго высокодозного блока (больной из группы высокого риска).

Пятилетняя бессобытийная выживаемость для всей группы больных ОЛЛ, включенных в исследование, составила 79,0(4,3)% (средний срок наблюдения 79,8±2,3 месяца) (Рисунок 17).

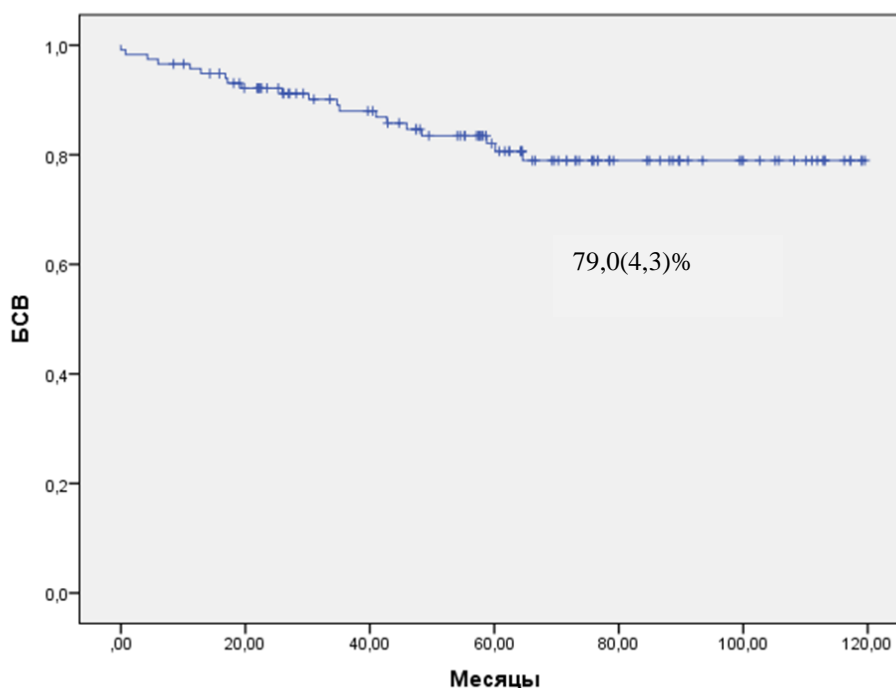


Рисунок 17 – БСВ детей с В-линейным острым лимфобластным лейкозом, получивших лечение по протоколу ALL-IC BFM 2009

Наиболее частыми событиями (13,7%) явились рецидивы ОЛЛ, реже (5,9%) отмечалось прогрессирование заболевания на фоне лечения, случаи индукционной летальности составили 1,7% и вторая опухоль (острый миелоидный лейкоз) развилась у 1 больного через 1,5 года после завершения программного лечения. Событий, обусловленных отказом законных представителей пациента от лечения не было. Структура событий, отмеченных при проведении протокола ALL-IC BFM 2009 представлена в таблице 26.

Таблица 26 – Структура событий при лечении детей с В-линейным острым лимфобластным лейкозом

Событие	Количество пациентов, абс (%)
Рецидив	16 (13,7%)
Прогрессирование	7 (5,9%)

Продолжение таблицы 26

Индукционная летальность	2 (1,7%)
Вторая опухоль	1 (0,9%)
Отказ от лечения	0 (0%)
Всего	26 (22,2%)

Пятилетняя БРВ составила 84,3(4,2)% (средний срок наблюдения 79,8±2,3 месяца) (Рисунок 18).

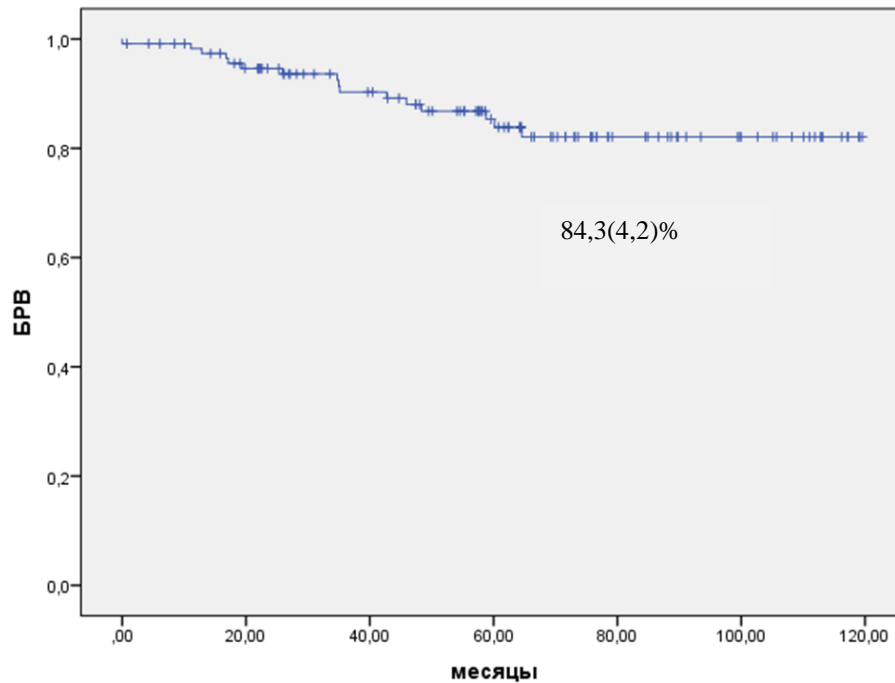


Рисунок 18 – БРВ детей с В-линейным острым лимфобластным лейкозом, получивших лечение по протоколу ALL-IC BFM 2009

Из 117 пациентов, включенных в исследование, рецидивы отмечены у 16 (13,7%), из которых 1 (0,9%) очень ранний, 9 (7,7%) ранних и 6 (5,1%) поздних (Таблица 27).

Таблица 27 – Распределение рецидивов по локализации

Локализация	Количество пациентов, абс (%)
Изолированный костномозговой	12 (10,2%)
Комбинированный (костномозговой + ЦНС)	3 (2,6%)
Комбинированный (костномозговой +кожа)	1 (0,9%)
Всего	16 (13,7%)

Среди отмеченных рецидивов наиболее часто встречался изолированный костномозговой (10,2%), реже (2,6%) – комбинированный, представляющий сочетание костномозгового и ЦНС. Случаев изолированного ЦНС-рецидива, тестикулярного, а также комбинированного (с вовлечением костного мозга и яичек) не было.

Пятилетняя ОВ составила 91,4(3,4)%. (средний срок наблюдения 76,5±2,7 месяца) (Рисунок 19).

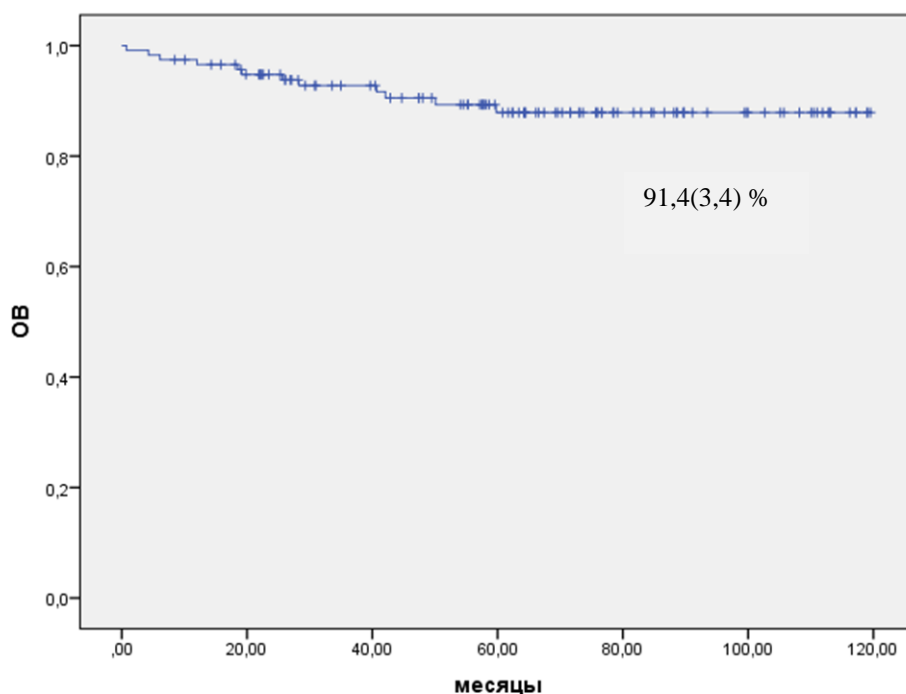


Рисунок 19 – ОВ детей с В-линейным острым лимфобластным лейкозом, получивших лечение по протоколу ALL-IC BFM 2009

При проведении протокола ALL-IC BFM 2009 отмечено 10 (8,5%) летальных исходов, из которых 7 (5,9%) были результатом прогрессирования ОЛЛ, 2 (1,7%) случая – инфекционные осложнения на этапе индукции и 1 (0,9%) эпизод – вторая опухоль.

При анализе общей, бессобытийной и безрецидивной выживаемости больных с учетом их распределения по инициальным группам риска, были получены следующие результаты: для группы высокого риска БРВ, БСВ и ОВ составила 100%, для группы стандартного риска БСВ была 79,6(7,2)%, БРВ 85,9(6,7)% и ОВ 88,8(5,5)%. В группе среднего риска БСВ – 77,4(5,7) %, БРВ – 79,1(5,6) %, ОВ оказалась 89,6(4,4) % ($p = 0,59$, $p = 0,44$ и $p = 0,7$ соответственно) (Рисунки 20–22).

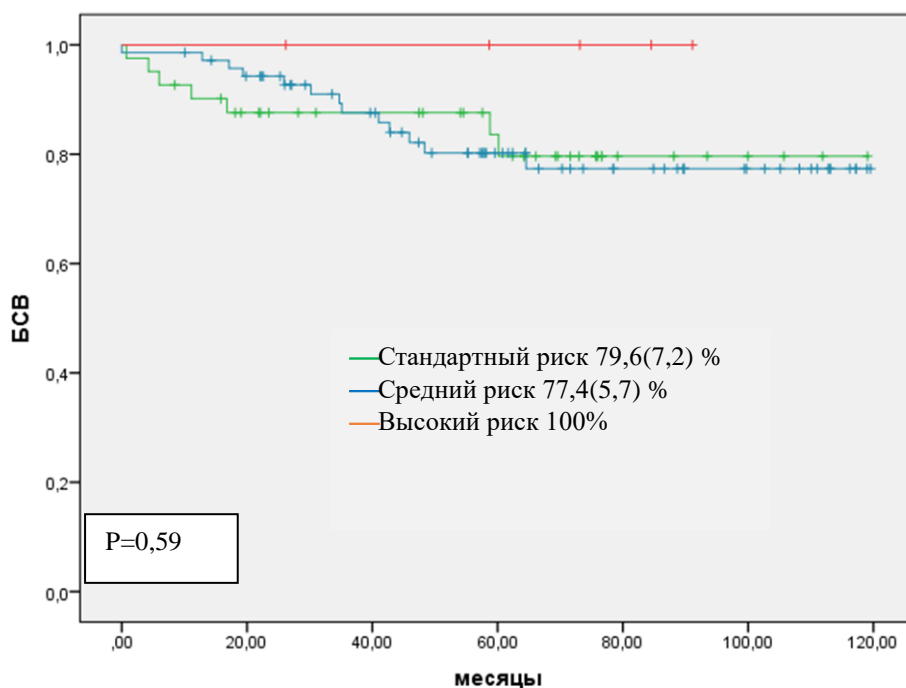


Рисунок 20 – БСВ больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом в инициальных группах риска

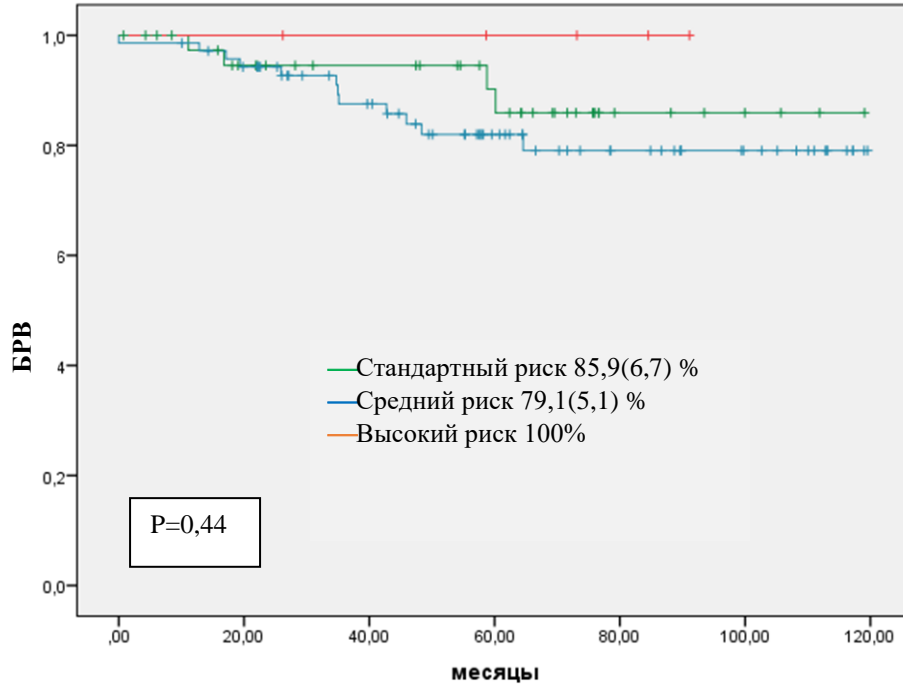


Рисунок 21 – БРВ больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом в инициальных группах риска

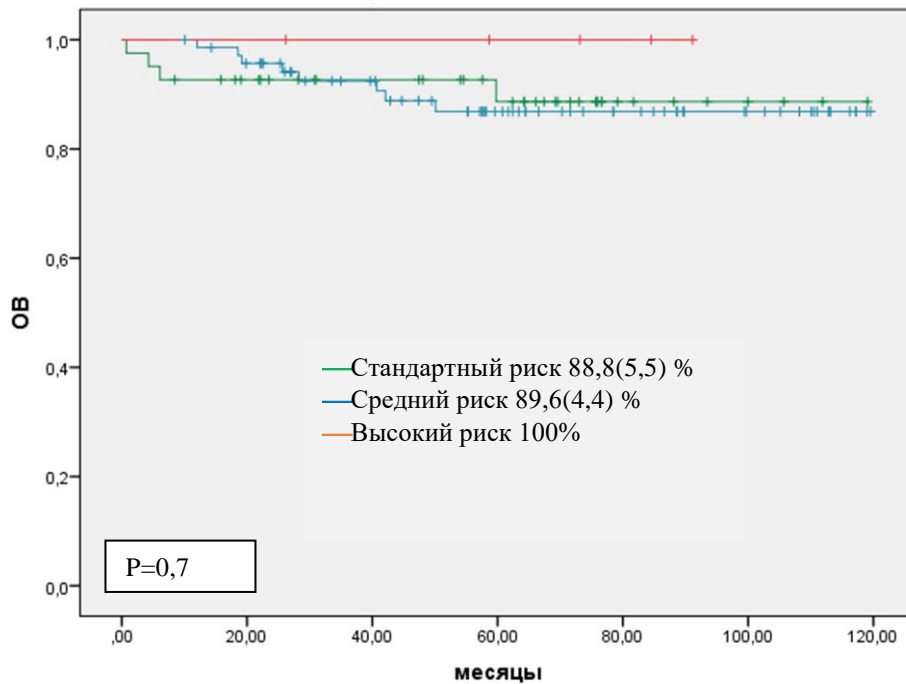


Рисунок 22 – ОВ больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом в инициальных группах риска

При оценке влияния на показатели выживаемости ответа на терапию на 8-й день, выявлено, что у больных с «хорошим ответом» на преднизолон БСВ составила 78,7(4,5) %, БРВ – 82(4,4) % и ОВ – 88,3(3,4) %. У детей с «плохим ответом» показатели выживаемости статистически не различались: БСВ была 80,7(17,9) %, БРВ – 80(17,9) %, ОВ – 80(17,9) % ($p=0,8$, $p=0,98$ и $p=0,76$, соответственно) (Рисунки 23–25).

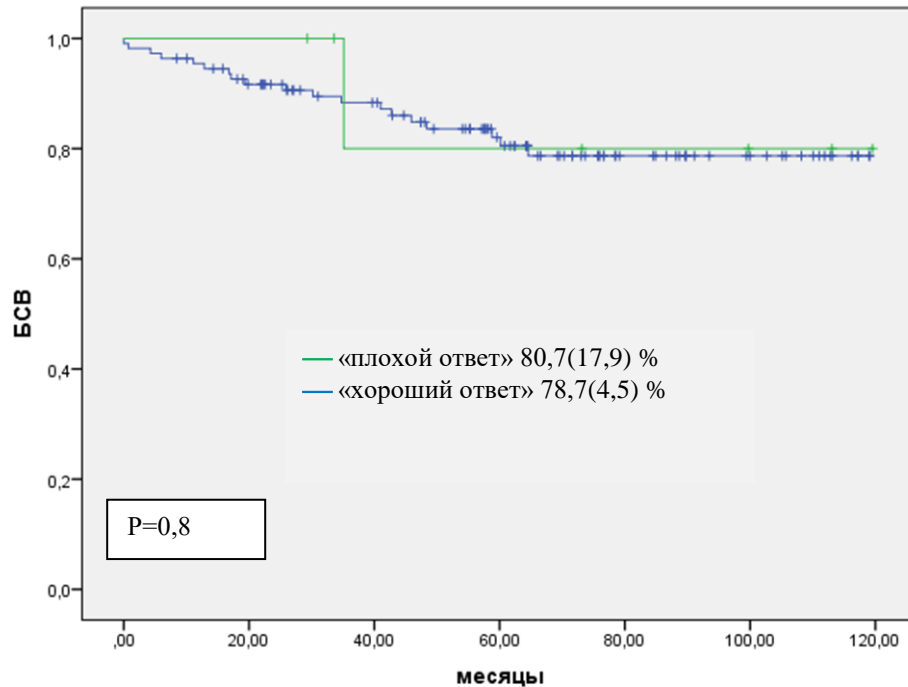


Рисунок 23 – БСВ больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом в зависимости от ответа на преднизолон на 8-й день терапии

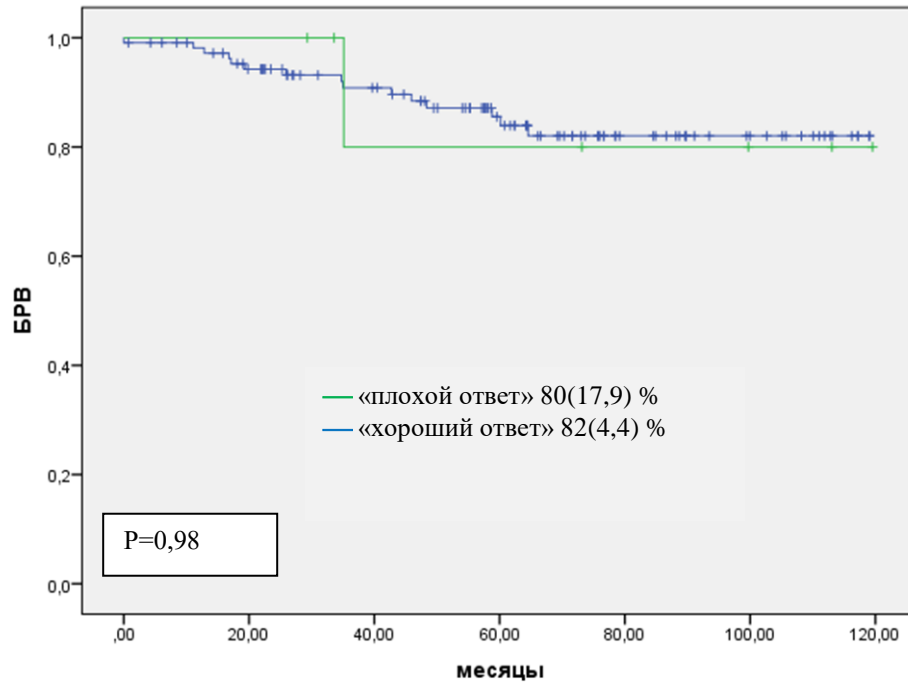


Рисунок 24 – БРВ больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом в зависимости от ответа на преднизолон на 8-й день терапии

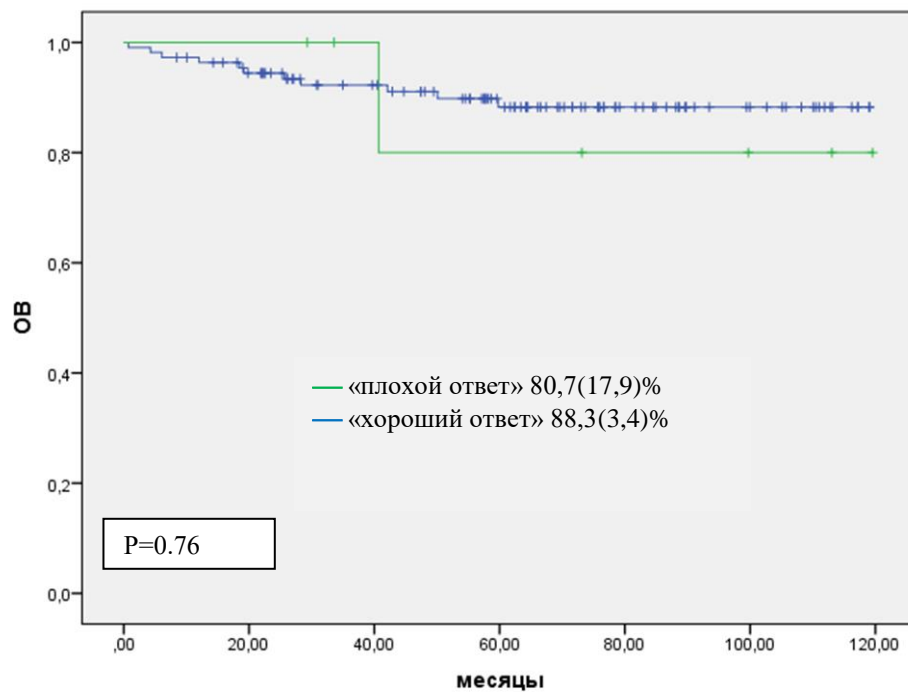


Рисунок 25 – ОВ больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом в зависимости от ответа на преднизолон на 8-й день терапии

При анализе общей, бессобытийной и безрецидивной выживаемости больных с учетом стратификации по группам риска на 15-й день терапии (включая результаты МОБ-статуса), оказалось, что, БРВ, БСВ и ОВ для группы стандартного риска (СтР) составила 100%. Среди пациентов группы среднего риска (СрР) БСВ была 79,2(5,9)% (средний срок наблюдения 76,5±2,7 месяца), БРВ – 80,4(5,8)%, (средний срок наблюдения 78,2±2,3 месяца) и ОВ – 88,8(4,5)%, (средний срок наблюдения 79,8±2,3 месяца). У больных из группы высокого риска 5-летняя БСВ составила 64,6(12,1)%, БРВ – 73,4 (11,9)% и ОВ – 78,2(9,8)% (Рисунки 26–28).

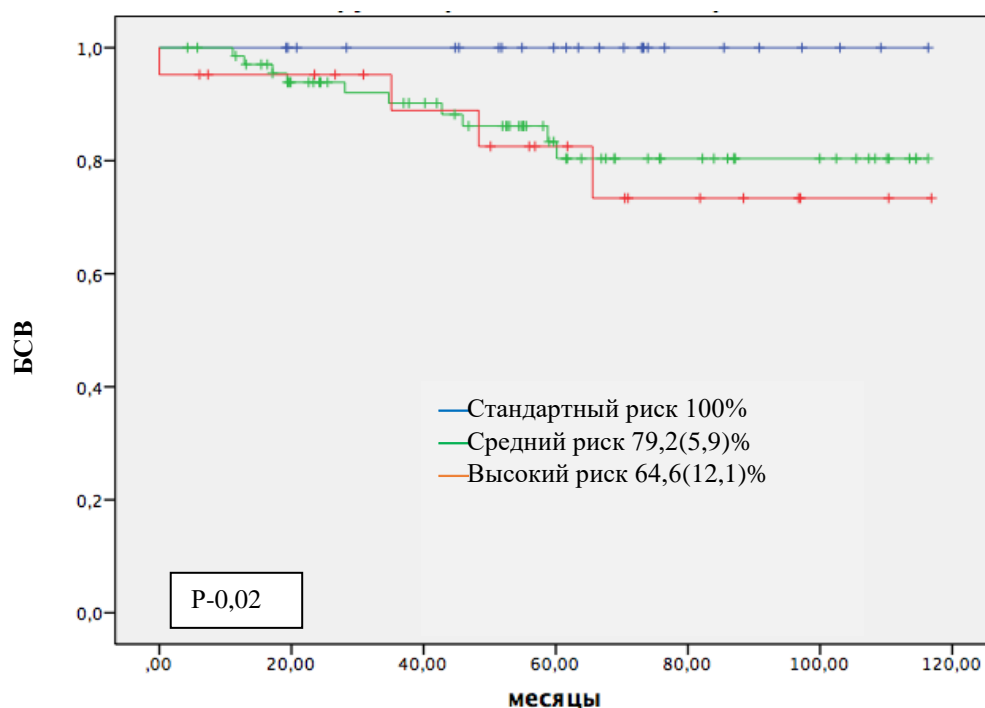


Рисунок 26 – БСВ больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом с учетом группы риска на 15-й день терапии

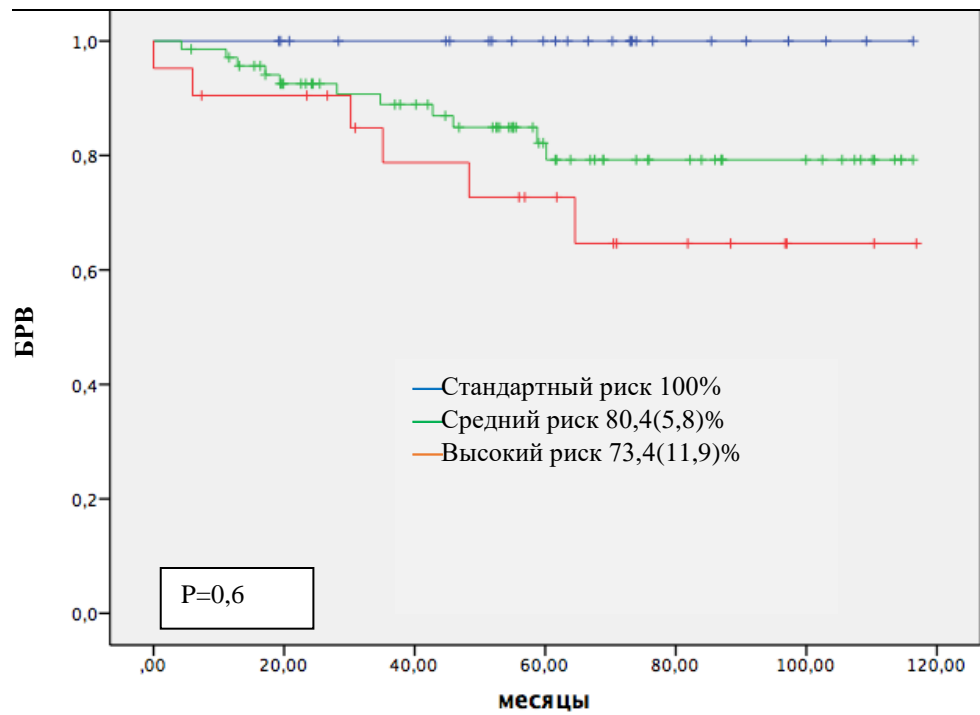


Рисунок 27 – БРВ больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом с учетом группы риска на 15-й день терапии

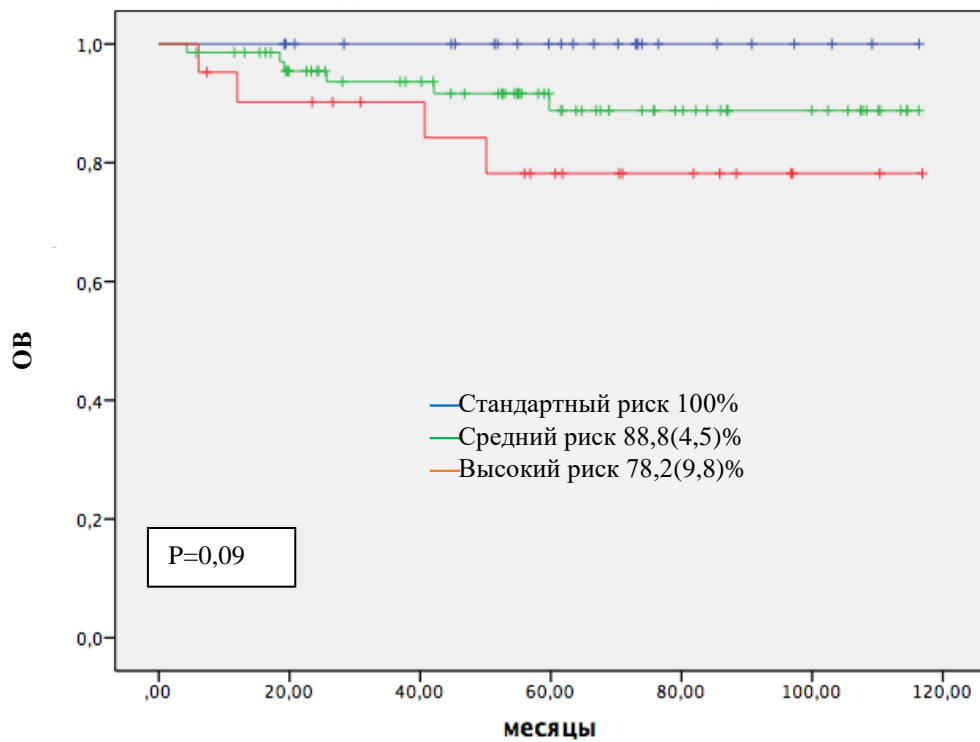


Рисунок 28 – ОВ больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом с учетом группы риска на 15-й день терапии

При оценке распределения больных по группам риска на 33-й день терапии (с учетом МОБ-статуса), оказалось, что, БРВ, БСВ и ОВ для группы стандартного риска также составили 100%. Для пациентов группы среднего риска БСВ оказалась 76,4(6,2)%, БРВ – 93,3(4,8)% и ОВ – 88,8(4,5)%. У больных из группы высокого риска БСВ была наиболее низкой – 64,6(12,1)% (средний срок наблюдения 76,5±2,7 месяца) БРВ – 88,9(12,3)% (средний срок наблюдения 78,2±2,3 месяца) и ОВ – 78,2(9,8)% (средний срок наблюдения 79,8±2,3 месяца) (Рисунки 29-31).

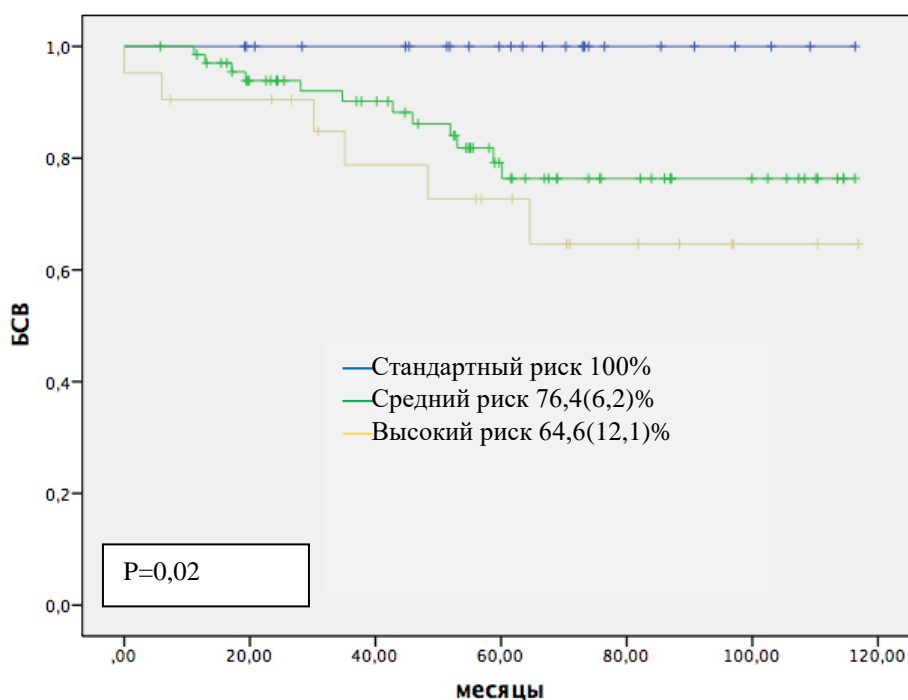


Рисунок 29 – БСВ больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом с учетом группы риска на 33-й день терапии

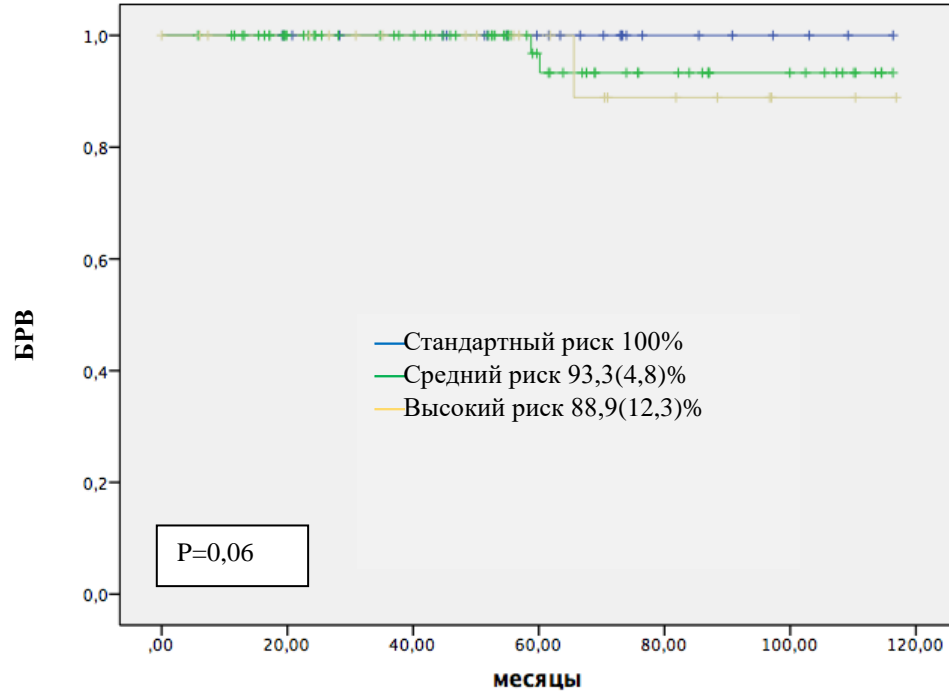


Рисунок 30 – БРВ больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом с учетом группы риска на 33-й день терапии

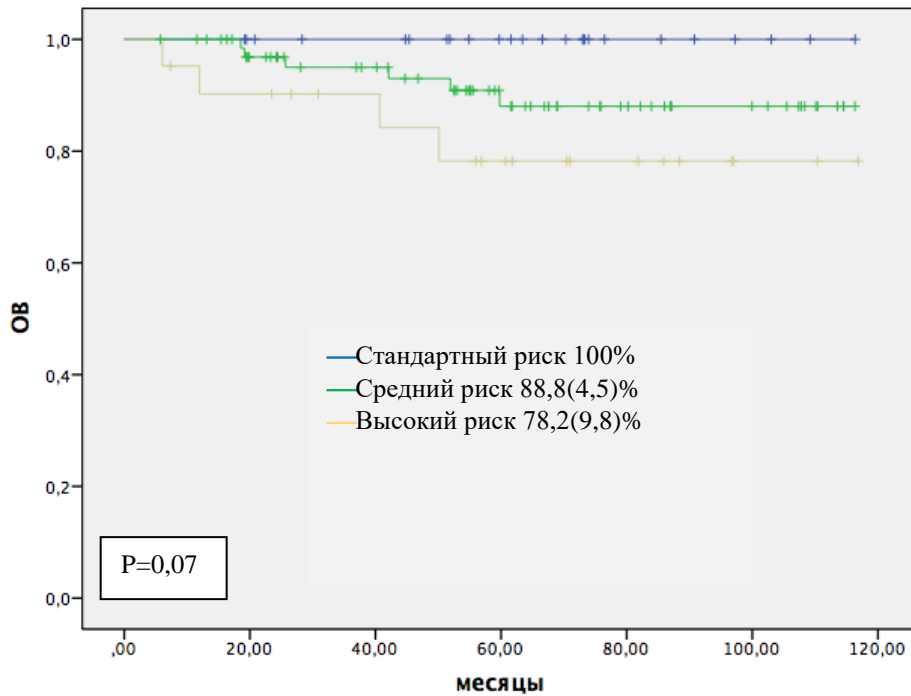


Рисунок 31 – ОВ больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом с учетом группы риска на 33-й день терапии

При анализе выживаемости в группе больных, которым проводилась оценка МОБ на постиндукционном этапе лечения (78-й день) оказалось, что 5-летняя БСВ и БРВ в группе стандартного риска, независимо от МОБ-статуса составила 100%. Для средней группы риска 5-летняя БСВ и БРВ у больных с МОБ-положительным статусом к 78-му дню терапии была 62,5(5,2)%, у пациентов с МОБ-негативным статусом – 94,2(4,0)%. Среди больных группы высокого риска 5-летняя БСВ при МОБ-положительном статусе – 53,3(24,8)%, БРВ – 66,7(27,2)%, у пациентов же с МОБ-негативным статусом БСВ и БРВ составили 100% (Рисунки 32–35).

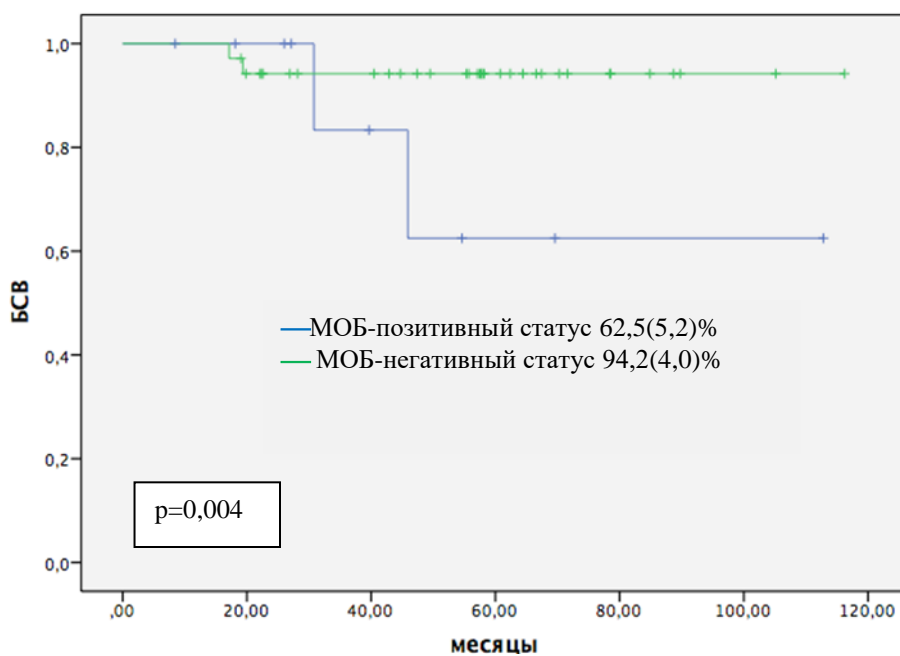


Рисунок 32 – БСВ больных В-линейным ОЛЛ средней группы риска в зависимости от уровня МОБ на 78-й день терапии

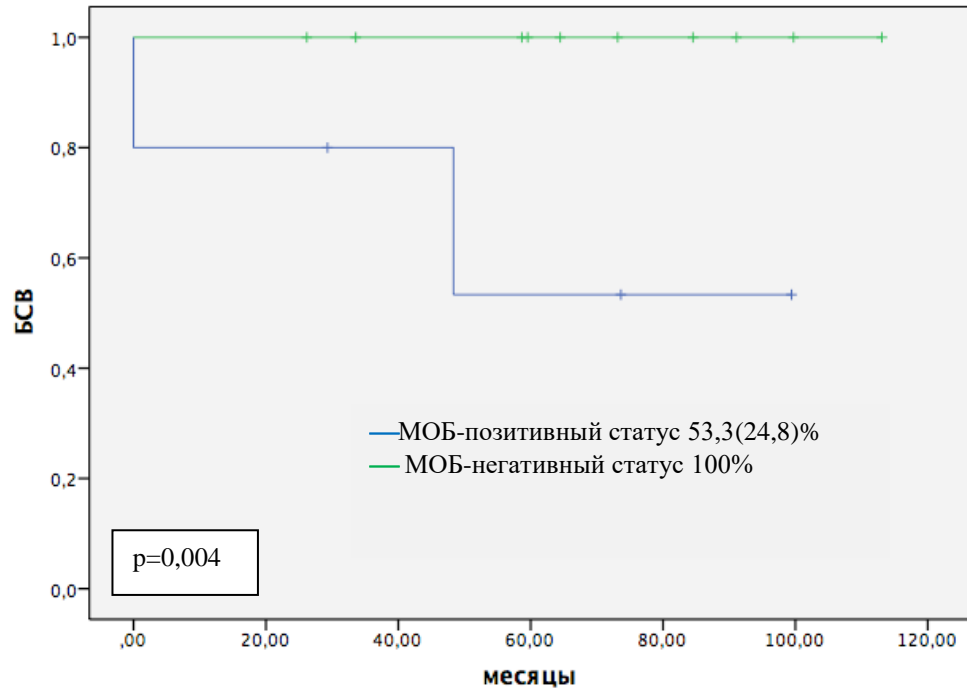


Рисунок 33 – БСВ больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом высокой группы риска в зависимости от уровня МОБ на 78-й день терапии

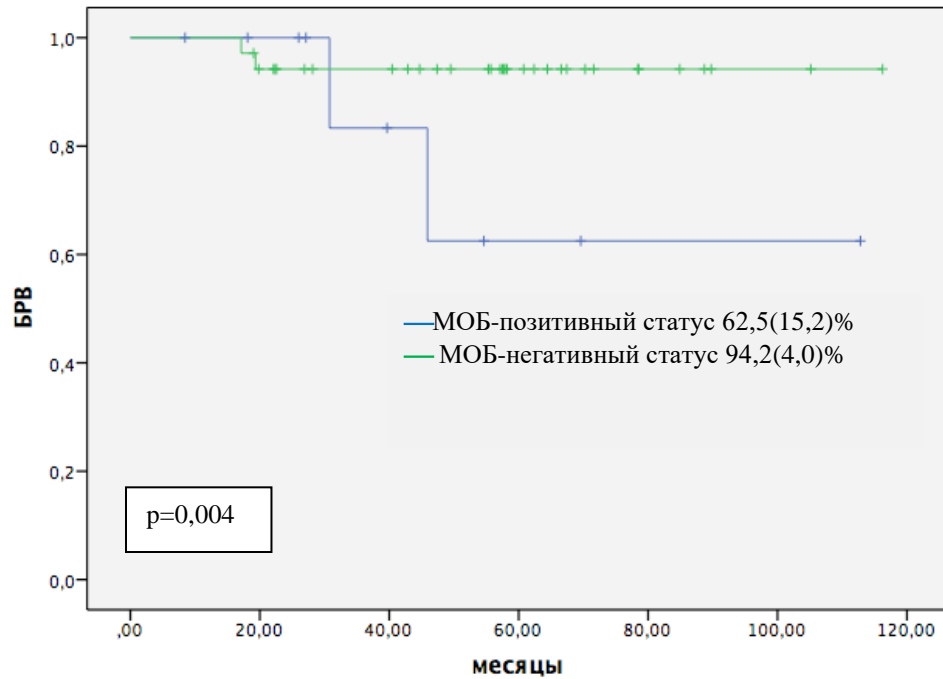


Рисунок 34 – BRV больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом средней группы риска в зависимости от уровня МОБ на 78-й день терапии

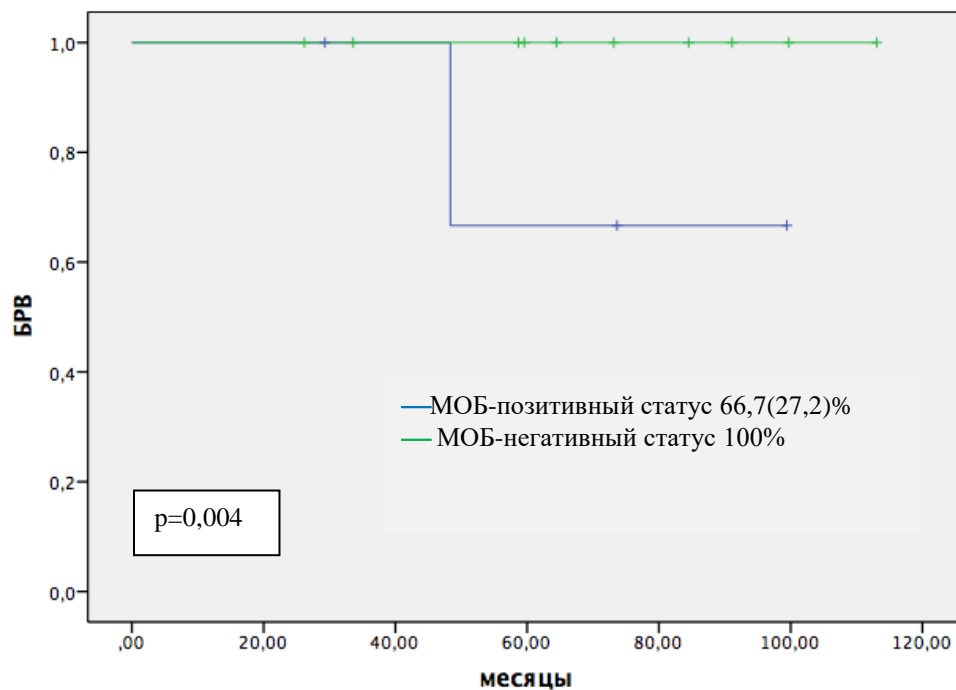


Рисунок 35 – БРВ больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом высокой группы риска в зависимости от уровня МОБ на 78-й день терапии

При оценке показателей выживаемости всех больных ОЛЛ, включенных в исследование, не зависимо от прогностической группы риска, а только с учетом МОБ-статуса на 78-й день терапии, 5-летняя ОВ для пациентов с МОБ-положительным статусом была 88,4(7,8)%, с МОБ-негативным – 95,8(2,9)% ($p = 0,2$). БРВ при МОБ-положительном статусе – 68,2(11,9)%, при МОБ-негативном – 87,8(4,4)% ($p = 0,02$). БСВ при сохранении МОБ-положительного статуса на 78-й день терапии составила 66,2(13,1)%, МОБ-негативного – 89,9(5)% ($p = 0,02$) (Рисунки 36–38).

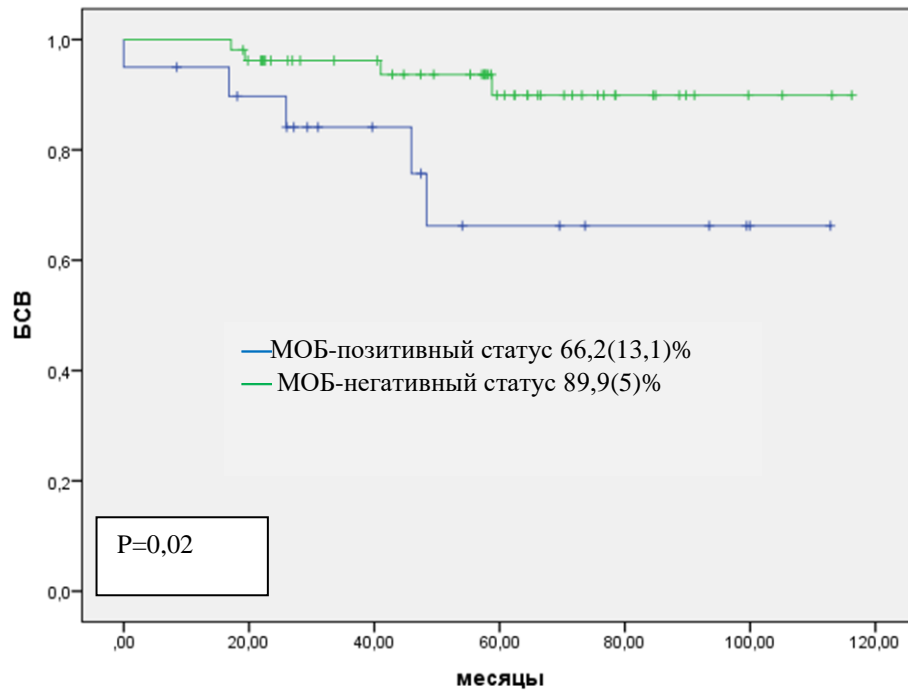


Рисунок 36 – БСВ больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом в зависимости от МОБ-статуса на 78-й день терапии

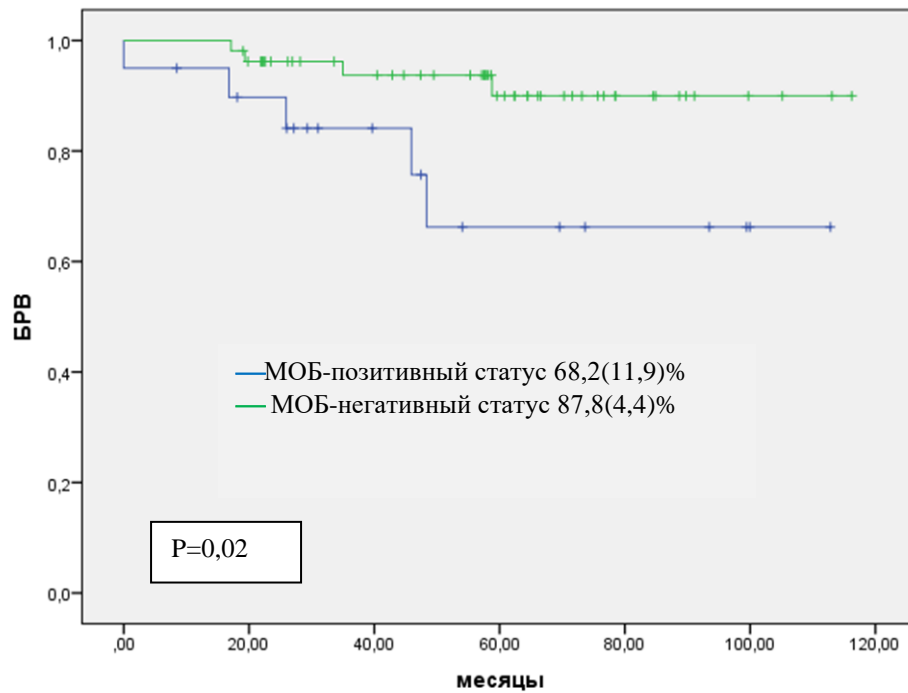


Рисунок 37 – БРВ больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом в зависимости от МОБ-статуса на 78-й день терапии

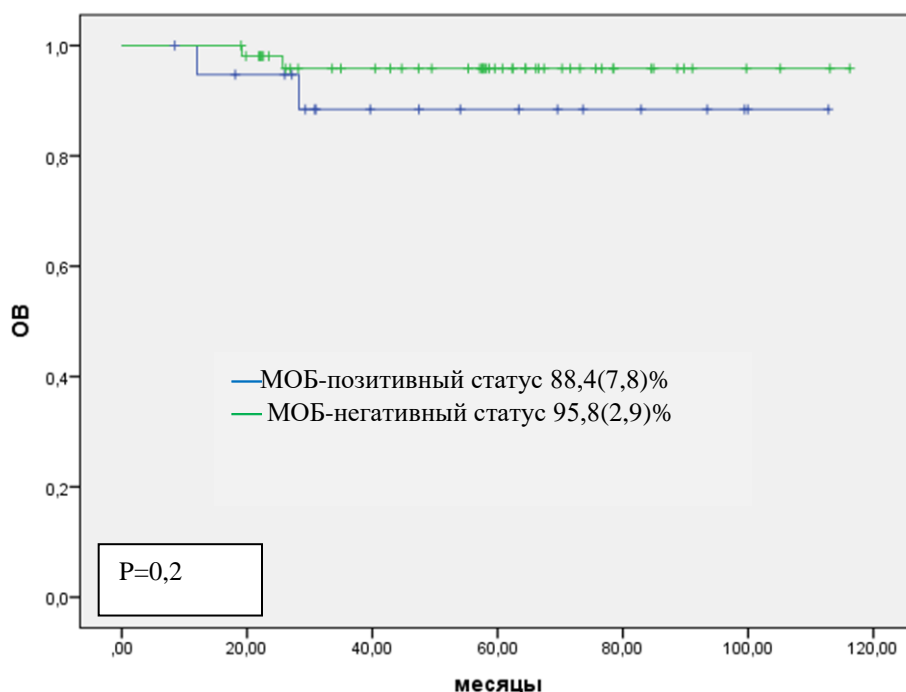


Рисунок 38 – ОВ больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом в зависимости от МОБ-статуса на 78-й день терапии

Результаты исследования прогностического влияния МОБ-статуса на 78-й день на выживаемость больных показали, что статистически значимо ниже показатели 5-летней БСВ и БРВ в группе больных, у которых сохраняется персистенция МОБ к 78-му дню лечения – 66,2(13,1)% и 68,2(11,9)% соответственно, тогда как при достижении МОБ-негативного статуса эти показатели оказались выше – 89,9(5)% и 87,8(4,4)% ($p = 0,02$). Тем не менее, при анализе показателей ОВ достоверных данных не получено, хотя при МОБ-негативном статусе ОВ оказалась на 7% выше, чем при МОБ-положительном – 95,8(2,9)% и 88,4(7,8)% ($p = 0,2$).

Таким образом, лечение детей по протоколу ALL-IC BFM 2009 является эффективным, позволяющим добиться 5-летней ОВ у 91,4(3,4)% больных. Рецидивы отмечены у 16 (13,7%) и были представлены ранними (7,7%) и поздними (5,1%). Сверхранный рецидив произошел у 1 (0,9%) больного. Как правило, рецидивы были костномозговыми (10,2%), тогда как комбинированные встречались в 3 раза реже – 0,9–2,6%. В результате 5-летняя БРВ составила 86,3(4,2)%.

Показатель индукционной летальности оказался весьма небольшим и составил 1,7%, что соответствует ведущим мировым клиникам.

Особенностью протокола ALL-IC BFM 2009 является распределение больных на прогностические группы риска с учетом инициальных характеристик ОЛЛ и далее в зависимости от редукции опухолевого клона на 8-й, 15-й и 33-й дни терапии. Так, инициально к высокой группе риска было отнесено 5 больных, у которых БРВ, БСВ и ОВ при проведении интенсивной программы лечения составили 100%, для группы стандартного риска ($n = 41$) БСВ была $79,6 \pm 7,2\%$, БРВ – $85,9 \pm 6,7\%$ и ОВ – $88,8 \pm 5,5\%$. В группе среднего риска ($n = 71$) БСВ – $77,4 \pm 5,7\%$, БРВ – $79,1 \pm 5,6\%$ и ОВ оказалась $89,6 \pm 4,4\%$ ($p = 0,004$).

По мере оценке ответа на лечение на 8-й день терапии (абсолютное число бластных клеток в периферической крови), на 15-й и 33-й дни (цитологическое и иммунологическое исследования костного мозга) проводилась рестратификация больных на прогностические группы риска с целью максимально ранней интенсификации терапии для снижения риска рецидива или рефрактерного течения ОЛЛ.

К 33-му дню терапии в группе стандартного риска осталось 23 (19,7%) пациента, в группе среднего риска – 71 (60,7 %) и в группу высокого риска вошел 21 (17,9%) пациент. При анализе показателей выживаемости больных, с учетом прогностических групп риска на 33-й день лечения оказалось, что в группе стандартного риска все (100%) больные живы. В группе пациентов среднего риска 5-летняя БСВ составила $76,4(6,2)\%$, БРВ – $93,3(4,8)\%$ и ОВ – $88,8(4,5)\%$. При наиболее неблагоприятной (высокой) группе риска 5-летняя БСВ была наиболее низкой – $64,6(12,1)\%$, БРВ – $88,9(12,3)\%$ и ОВ – $78,2(9,8)\%$ ($p = 0,02$).

Персистенция МОБ на постиндукционном этапе терапии не является рестратифицирующим фактором, но в настоящем исследовании проанализировано прогностическое влияние МОБ-статуса на показатели выживаемости больных. Так, независимо от МОБ-статуса на 78-й день, все больные группы стандартного риска

живы, тогда как в группах среднего и высокого риска были получены статистически значимые различия. При персистенции МОБ к 78-му дню терапии в группе больных среднего риска 5-летние БСВ и БРВ оказались 62,5(15,2)%, а при отсутствии МОБ – 94,2(4,0)%. В группе больных высокого риска 5-летняя БСВ при МОБ-положительном статусе – 53,3(24,8)%, БРВ – 66,7(27,2)%, у пациентов же с МОБ-отрицательным статусом БСВ и БРВ составили 100% ($p = 0,004$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Среди злокачественных новообразований детского возраста острые лейкозы находятся на первом месте, а среди лейкозов острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) встречается наиболее часто. По мере изучения лейкемогенеза на морфологическом, иммунологическом, цитогенетическом и молекулярно-биологическом уровнях стало понятно, что ОЛЛ представляет собой гетерогенную группу опухолей, различных по клиническим и лабораторным характеристикам, а также ответу на терапию.

Основу лечения ОЛЛ составляют протоколы химиотерапии, которые с годами дополнялись новыми препаратами и методами диагностики. Достижения фундаментальной онкологии уточнили факторы прогноза при ОЛЛ и к существующим клинико-лабораторным критериям (возраст, инициальный лейкоцитоз, цитологический ответ на лечение на 8-й, 15-й и 33-й дни терапии) добавились цитогенетические [$t(9;22)$ и $t(4;11)$] и молекулярные факторы прогноза (*BCR-ABL1* и *MLL-AF4*). Детальная характеристика опухолевого клона с иммуно-биологических позиций и с учетом ответа на лечения стала основой современной риск-ориентированной концепции лечения ОЛЛ.

Протоколы лечения, разработанные группами ВФМ (Berlin-Frankfurt-Munster), COG, CCG, NOPHO, UKALL позволяют получить многолетнюю бессобытийную выживаемость (БСВ) у 76–87,3% больных. И дальнейшее совершенствование протоколов терапии направлено на оптимизацию программ сопроводительного лечения, уточнение риск-стратифицирующих критериев и снижение отдаленных последствий терапии. В связи с появлением методов оценки остаточной опухолевой популяции клеток, находящихся за пределами светооптического уровня диагностики (минимальной остаточной болезни – МОБ), критерий МОБ вошел в современные программы терапии ОЛЛ. В одном из наиболее эффективных протоколов ALL-IC ВФМ 2009 оценка МОБ предусмотрена на 15-й и 33-й дни индукции ремиссии.

Полученные данные об элиминации МОБ на контрольных точках лечения позволяют своевременно интенсифицировать программу терапии, препятствуя формированию резистентности опухолевых клеток. В-линейный ОЛЛ является вариантом ОЛЛ, для которого разработаны точные критерии МОБ при использовании проточной цитометрии (ПЦ). Именно оценка МОБ методом ПЦ рекомендована протоколом группы ВФМ, равно как и в других современных протоколах.

Отечественный опыт лечения ОЛЛ по протоколам, рекомендованным группой ВФМ, весьма ограничен, что обусловлено необходимостью проведения интенсивной химиотерапии, лекарственного мониторинга метотрексата и большого объема сопроводительной терапии. Тем не менее, высокая эффективность лечения оправдывает затраченные ресурсы.

В настоящем диссертационном исследовании проведена оценка эффективности терапии В-линейного ОЛЛ у детей по протоколу ALL-IC ВФМ 2009, с учетом рестратифицирующего влияния МОБ. Оценена частота рестратификации больных в рамках прогностических групп риска в зависимости от сроков элиминации МОБ, а также определено прогностическое влияние МОБ на постиндукционном этапе терапии на показатели выживаемости больных.

Частота достижения МОБ-негативного статуса на первой контрольной точке протокола ALL-IC ВФМ 2009 (15-й день терапии) составила 9%. МОБ-позитивный статус в сочетании с цитологическим ответом по костному мозгу (М-2/М-3) расценены как недостаточные и заставили рестратифицировать больных из группы стандартного риска в группу среднего, а из средней – в высокую группу риска с более интенсивным лечением. Подобный подход оказался оправданным и на второй контрольной точке эффективности проводимого лечения (33-й день) количество больных с МОБ-негативным статусом увеличилось в 3 раза и достигло 29%. Не менее значимы оказались результаты, которые свидетельствовали о персистенции МОБ у больных, находившихся в полной клинико-гематологической ремиссии, что также потребовало интенсификации терапии и перевода больных в более высокую

группу риска. Частота рестратификации на основании МОБ-статуса составляла 11,5%. Без использования МОБ эти больные получили бы менее интенсивное лечение и, следовательно, с большей вероятностью развили рецидив заболевания. Так как малое количество больных достигает МОБ-негативного статуса к 15-му дню терапии, предположительно анализируя скорость и уровень снижения МОБ в дальнейшем можно будет выделить группу «истинно» неблагоприятного риска для которых необходима более ранняя интенсификация терапии.

При оценке эффективности риск-ориентированной стратегии терапии по протоколу ALL-IC BFM 2009 оказалось, что 5-летняя ОВ больных составила 91,4(3,4)%. Рецидивы отмечены у 16 (13,7%), в результате 5-летняя БРВ оказалась 86,3(4,2)%. Показатель индукционной летальности соответствовал ведущим мировым клиникам – 1,7%.

По мере оценке ответа на лечение на 8-й день терапии (абсолютное число бластных клеток в периферической крови), на 15-й и 33-й дни (цитологическое и иммунологическое исследования костного мозга) проводилась рестратификация больных на прогностические группы риска с целью максимально ранней интенсификации терапии для снижения риска рецидива или рефрактерного течения ОЛЛ. При анализе показателей выживаемости больных, с учетом прогностических групп риска на 33-й день лечения оказалось, что в группе стандартного риска все (100%) больные живы. В группе пациентов среднего риска 5-летняя БСВ составила 76,4(6,2)%, БРВ – 93,3(4,8)% и ОВ – 88,8(4,50)%. При наиболее неблагоприятной (высокой) группе риска 5-летняя БСВ была наиболее низкой – 64,6(12,1)%, БРВ – 88,9(12,3)% и ОВ – 78,2(9,8)% ($p = 0,02$).

Персистенция МОБ на постиндукционном этапе терапии не является рестратифицирующим фактором, но в настоящем исследовании проанализировано прогностическое влияние МОБ-статуса на показатели выживаемости больных. Так, независимо от МОБ-статуса на 78-й день, все больные группы стандартного риска живы, тогда как в группах среднего и высокого риска были получены статистически

значимые различия. При персистенции МОБ к 78-му дню терапии в группе больных среднего риска 5-летние БСВ и БРВ оказались 62,5(15,2)%, а при отсутствии МОБ – 94,2(4,0)%. В группе больных высокого риска 5-летняя БСВ при МОБ-положительном статусе – 53,3(24,8)%, БРВ – 66,7(27,2)%, у пациентов же с МОБ-отрицательным статусом БСВ и БРВ составили 100% ($p = 0,004$).

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что больные переведенные благодаря МОБ на более интенсивную терапию, показали лучшую общую выживаемость.

Таким образом, протокол ALL-IC BFM 2009 является высокоэффективной риск-ориентированной программой терапии ОЛЛ у детей, позволяющий получить многолетнюю общую выживаемость у подавляющего числа больных. У больных с МОБ-положительным статусом к 78-му дню лечения, возможно, следует провести дополнительную рестратификацию на прогностические группы риска и интенсифицировать последующее лечение. А в той группе больных, где дальнейшее повышение доз химиопрепаратов невозможно, интенсификацию осуществить за счет включения таргетных препаратов (например, блинатумомаба).

ВЫВОДЫ

1. При лечении больных В-линейным острым лимфобластным лейкозом по протоколу ALL IC-BFM 2009 на 15-й день индукции ремиссии 9% пациентов достигли МОБ-негативного статуса. У 91% пациентов определялся МОБ-позитивный статус. К 33-му дню лечения отрицательный МОБ-статус достигнут у 29% больных, 71% оставался в МОБ-позитивном статусе.

2. В результате проведения корреляционного анализа между морфологическим ответом по костному мозгу и уровнем МОБ на 15-й день индукции, было установлено, что при ответе М-1 МОБ составила $< 0,1\%$ в 56% случаях, уровень МОБ от 0,1 до 10% был у 40,6% детей и $\text{МОБ} \geq 10\%$ – у 2,9% больных. Из пациентов с ответом М-2 в 13,3% случаях $\text{МОБ} < 0,1\%$ – у 46,7% – от 0,1 до 10% и у 40% детей $\text{МОБ} \geq 10\%$. Среди больных с ответом М-3 – 60% с $\text{МОБ} \geq 10\%$, 40% – с уровнем от 0,1 до 10% ($p < 0,05$).

3. При сопоставлении уровня МОБ и морфологического ответа на 33-й день у 87,7% больного с ответом М-1 уровень $\text{МОБ} < 0,1\%$, уровень МОБ от 0,1 до 10% был у 11,1 % детей и $\text{МОБ} \geq 10\%$ только у 1,2% пациента. Ответ М-2 наблюдался у 80% пациентов с уровнем МОБ менее 0,1%, и у 20% больных отмечен уровень МОБ более 10%, больных с ответом М-3 не было ($p = 0,02$). Следовательно, можно считать, что оценка МОБ позволяет выявить группу больных, в полной клинико-гематологической ремиссии с необходимостью дальнейшей интенсификации терапии.

4. Исследование МОБ на 15-й и 33-й день индукции позволило перевести 12,3% пациентов из группы среднего риска в группу высокого риска, а также 19,5% пациентов из группы стандартного риска в группу среднего. Определение МОБ позволило выявить группу больных с ответом М-1 и М-2 на 15-й день, высокий уровень МОБ которых свидетельствует о необходимости интенсификации терапии.

5. Оценка уровня МОБ и сроки достижения МОБ-негативного статуса являются важными факторами прогноза для больных острым лимфобластным

лейкозом. Использование МОБ в качестве инструмента стратификации определило критерии группы «истинного» стандартного риска, 5-летняя бессобытийная выживаемость в которой составила 100%.

6. МОБ-ориентированная система стратификации больных на прогностические группы риска позволила получить 5-летнюю общую выживаемость у 88,8(4,5)% пациентов В-линейным острым лимфобластным лейкозом группы среднего риска, 78,2(9,8)% – высокого и 100% – стандартного риска при проведении терапии по протоколу ALL IC-BFM 2009.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Оценка морфологического и иммунологического ответов по костному мозгу при лечении В-линейного ОЛЛ должна проводиться одновременно, поскольку позволяет наиболее полно охарактеризовать статус ремиссии.

2. Мониторинг МОБ-статуса в динамике, позволяет наряду с инициальными прогностическими характеристиками оценивать ответ на проводимое лечение и своевременно проводить динамическую рестратификацию больных на прогностические группы риска.

3. Проведение риск-адаптированной терапии В-линейного ОЛЛ по протоколу ALL-IC BFM 2009 с учетом уровня МОБ является оптимальной современной стратегией в лечении ОЛЛ у детей.

4. Персистенция МОБ на постиндукционном этапе терапии не является рестратифицирующим фактором, но имеет прогностическое значение в развитии рецидива во всех группах риска В-линейного ОЛЛ.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

6МП – 6-меркаптопурин

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

БРВ – безрецидивная выживаемость

БСВ – бессобытийная выживаемость

ВР – высокий риск

ВХТ – высокодозная химиотерапия

ДНК – дезоксирибонуклеиновые кислота

КМ – костный мозг

КТ – компьютерная томография

ЛТ – лучевая терапия

МОБ – минимальная остаточная болезнь

МРТ – магнитно-резонансная томография

ОВ – общая выживаемость

ОЛЛ – острый лимфобластный лейкоз

ОМЛ – острый миелоидный лейкоз

ПЦ – проточная цитометрия

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РНК – рибонуклеиновая кислота

СЗП – свежезамороженная плазма

СОД – суммарная очаговая доза

СР – средний риск

СтР – стандартный риск

ТГСК – трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

ТМП – триметоприм

УЗИ – ультразвуковое исследование

ЦНС – центральная нервная система

ЭКГ – электрокардиография

ЭХО-КГ – эхокардиография

ALL – Acute Lymphoblastic Leukemia

AIEOP – Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediatrica

BFM – Berlin-Frankfurt-Munster

BM – bone marrow

CCG – Children's Cancer Group

CCSG – Children's Cancer Study Group

CD – cluster of differentiation

COALL – Cooperative Study Group for Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia

CR – complete remission

DCLSG – Dutch Childhood Leukemia Study Group

DCOG – Dutch Childhood Oncology Group

DFCI – Dana-Farber Cancer Institute

EORTC – European Organization for Research and Treatment of Cancer

FAB – French – American – British classification of leukemia

FISH – fluorescence in situ hybridization

HR – high risk

MB – Moscow Berlin

NOPHO – Nordic Society of Pediatric Hematology/Oncology

POG – Pediatric Oncology Group

RBC – red blood cell

RQ-PCR – Real-Time Quantitative Polymerase Chain Reaction

SJCRH – St Jude Children's Research Hospital

UKALL – United Kingdom Acute lymphoblastic leukemia

WBC – white blood cell

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бойченко, Э. Г. Сравнительный анализ результатов химиотерапии острого лимфобластного лейкоза у детей по программам ALL-MB-2002 и COALL-St. Petersburg-92 / Э. Г. Бойченко, М. Б. Белогурова, Ю. В. Румянцева [и др.] // Онкогематология. – 2010. – № 2. – С. 25–35.
2. Зуховицкая, Е. В. Острые лимфобластные лейкозы / Е. В. Зуховицкая, А. Т. Фиясь // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2015. – № 3 (51). – С. 12–17.
3. Каприн, А. Д. Злокачественные новообразования в России в 2013 году (заболеваемость и смертность) / А. Д. Каприн, В. В. Старинский, Г. В. Петрова. – Москва, 2015. – 249 с.
4. Лейкозы у детей / под. ред. Г. Л. Менткевич, С. А. Маякова. – Москва : Практическая медицина, 2009. – 384 с.
5. Савва, Н. Н. Прогностическое значение минимальной остаточной болезни для безрецидивной выживаемости детей с острым лимфобластным лейкозом на протоколе ОЛЛ-МБ-2002 (однофакторный и многофакторный анализ) / Н. Н. Савва, О. В. Красько, М. В. Белевцев [и др.] // Онкогематология. – 2009. – № 2. – С. 17–21.
6. Шервашидзе М.А., Валиев Т.Т. Совершенствование программ терапии острого лимфобластного лейкоза у детей: акцент на минимальную остаточную болезнь // Онкогематология. – 2020. – № 15(3). – С. 12-26.
7. Шервашидзе М.А. Современные иммунологические критерии стратификации групп риска острого лимфобластного лейкоза из предшественников В-клеток у детей. / М.А. Шервашидзе, Т.Т. Валиев, Н.А. Батманова [и др.] // Современная онкология. – 2020. – № 21 (4). – С. 22-26.
8. Alvarnas, J. C. Acute lymphoblastic leukemia / J. C. Alvarnas, P. A. Brown, P. Aoun [et al.] // Journal of the National Comprehensive Cancer Network: JNCCN. – 2012. – Vol. 10, N 7. – P. 858–914.

9. Ampatzidou, M. Prognostic significance of flow cytometry MRD log reduction during induction treatment of childhood ALL / M. Ampatzidou, G. Paterakis, V. Vasdekis [et al.] // *Leukemia & Lymphoma*. – 2019. – Vol. 60, N 1. – P. 258–261.

10. An, Q. Recent perspectives of pediatric leukemia – an update / Q. An, C.-H. Fan, S.-M. Xu // *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. – 2017. – Vol. 24, 4 Suppl. – P. 31–36.

11. Arico, M. Acute lymphoblastic leukemia and Down syndrome: Presenting features and treatment outcome in the experience of the Italian Association of Pediatric Hematology and Oncology (AIEOP) / M. Arico, O. Ziino, M.G. Valsecchi [et al.] // *Cancer*. – 2008. – Vol. 113, N 3. – P. 515–521.

12. Athale, U. H. Minimal Residual Disease and Childhood Leukemia: Standard of Care Recommendations From the Pediatric Oncology Group of Ontario MRD Working Group: Pediatric Leukemia MRD Standard of Care Indications / U. H. Athale [et al.] // *Pediatric Blood & Cancer*. – 2016. – N 6 (63). – P. 973–982.

13. Attarbaschi, A. Minimal residual disease-based treatment is adequate for relapse-prone childhood acute lymphoblastic leukemia with an intrachromosomal amplification of chromosome 21: the experience of the ALL-BFM 2000 trial / A. Attarbaschi, E.R. Panzer-Grümayer, G. Mann [et al.] // *Klinische Padiatrie*. – 2014. – Vol. 226, N 6-7. – P. 338–343.

14. Badell, I. Long-term results of two consecutive trials in childhood acute lymphoblastic leukaemia performed by the Spanish Cooperative Group for Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Group (SHOP) from 1989 to 1998 / I. Badell [et al.] // *Clinical and Translational Oncology*. – 2008. – N 2 (10). – P. 117–124.

15. Bain, E. J. *Leukaemia Diagnosis* / E. J. Bain. – 4th Edition. – John Wiley & Sons, 2010.

16. Balduzzi, A. The Value of Minimal Residual Disease (and Diamonds). // *Biology of blood and marrow transplantation* : / A. Balduzzi // *Journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. – 2016.

17. Balsom, W. R. Intellectual function in long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: Protective effect of pre-irradiation methotrexate a childrens cancer study group study / W. R. Balsom [et al.] // *Medical and Pediatric Oncology*. –1991. – N 6 (19). – P. 486–492.

18. Bardini, M. DNA copy-number abnormalities do not occur in infant ALL with t(4;11)/MLL-AF4 / M. Bardini, R. Spinelli, S. Bungaro [et al.] // *Leukemia*. – 2010. – Jan. – N 24 (1). – P. 169–176.

19. Bartram, C. R. Acute lymphoblastic leukemia in children: treatment planning via minimal residual disease assessment / C. R. Bartram [et al.] // *Deutsches Arzteblatt International*. – 2012. – N 40 (109). – P. 652–658.

20. Bassan, R. A systematic literature review and meta-analysis of minimal residual disease as a prognostic indicator in adult B-cell acute lymphoblastic leukemia / R. Bassan, M. Brüggemann, H. S. Radcliffe [et al.] // *Haematologica*. – 2019. – N 104. – P. 2028–2039.

21. Becker, M. The t(12;21)(p13;q22) in Pediatric B-Acute Lymphoblastic Leukemia: An Update / M. Becker, K. Liu, C.A. Tirado // *Journal of the Association of Genetic Technologists*. – 2017. – N 3 (43). – P. 99–109.

22. Beldjord, K. Oncogenetics and minimal residual disease are independent outcome predictors in adult patients with acute lymphoblastic leukemia / K. Beldjord, S. Chevret, V. Asnafi [et al.] // *Blood*. – 2014. – Vol. 123, N 24. – P. 3739–3749.

23. Bene, M. Proposals for the immunological classification of acute leukemias: European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL) / M. Bene, G. Castoldi, W. Knapp [et al.] // *Leukemia* – 1995. – Vol. 9, N 10. – P. 1783–1786.

24. Béné, M.C. Leukemia diagnosis: today and tomorrow / M.C. Béné [et al.] // *European Journal of Haematology*. – 2015. – N 4 (95). – P. 365–373.

25. Bhojwani, D. Biology of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia / D. Bhojwani, J.J. Yang, C.-H. Pui // *Pediatric Clinics of North America*. – 2015. – N 1 (62). – P. 47–60.

26. Bleyer, W. A. Central Nervous System Leukemia / W. A. Bleyer // *Pediatric Clinics of North America*. – 1988. – Vol. 35, N 4. – P. 789–814.

27. Borowitz, M. J. Prognostic significance of minimal residual disease in high risk B-ALL: a report from Children's Oncology Group study AALL0232 / M. J. Borowitz [et al.] // *Blood*. – 2015. – N 8 (126). – P. 964–971.

28. Brüggemann, M. Standardized MRD quantification in European ALL trials: proceedings of the Second International Symposium on MRD assessment in Kiel, Germany, 18–20 September 2008 / M. Brüggemann, A. Schrauder, T. Raff [et al.] // *Leukemia*. – 2010. – 24. – P. 521–535.

29. Buitenkamp, T. D. Acute lymphoblastic leukemia in children with Down syndrome: a retrospective analysis from the Ponte di Legno study group / T. D. Buitenkamp, S. Izraeli, M. Zimmermann [et al.] // *Blood*. – 2014. – Vol. 123, N 1. – P. 70–77.

30. Burchenal, J. H. The effects of the folic acid antagonists and 2,6-diaminopurine on neoplastic disease, with special reference to acute leukemia / J. H. Burchenal, D. A. Karnofsky, E.M. Kingsley-Pillers [et al.] // *Cancer*. – 1951. – Vol. 4, N 3. – P. 549–569.

31. Campana, D. Role of minimal residual disease monitoring in adult and pediatric acute lymphoblastic leukemia / D. Campana // *Hematologyoncology clinics of North America*. – 2009. – Vol. 23, N 5. – P. 1083–1098.

32. Campana, D. Minimal residual disease monitoring in childhood acute lymphoblastic leukemia / D. Campana // *Current Opinion in Hematology*. – 2012. – N 4 (19). – P. 313–318.

33. Carroll, W. L. Clinical and Laboratory Biology of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia / W. L. Carroll, E. A. Raetz // *The Journal of Pediatrics*. – 2012. – Vol. 160, N 1. – P. 10–18.

34. Cazzaniga, G. Results of minimal residual disease (MRD) evaluation and MRD-based treatment stratification in childhood ALL / G. Cazzaniga, E. dAniello, L. Corral,

A. Biondi // *Best Practice & Research: Clinical Rheumatology*. – 2002. – Vol. 15. – P. 623–638.

35. Chen, X. Monitoring minimal residual disease in acute leukemia: Technical challenges and interpretive complexities / X. Chen, B. L. Wood // *Blood Reviews*. – 2017. – Vol. 31, N 2. – P. 63–75.

36. Chen, X. How do we measure MRD in ALL and how should measurements affect decisions. Re: Treatment and prognosis? / X. Chen, B. L. Wood // *Best Practice & Research Clinical Haematology*. – 2017. – N 3 (30). – P. 237–248.

37. Cheng, S.-H. Minimal residual disease-based risk stratification in chinese childhood acute lymphoblastic leukemia by flow cytometry and plasma DNA quantitative polymerase chain reaction / S.-H. Cheng, K.-M. Lau, C.-K. Li [et al.] // *PLoS ONE*. – 2013. – Vol. 8, N 7. – e69467.

38. Conter, V. Childhood high-risk acute lymphoblastic leukemia in first remission: results after chemotherapy or transplant from the AIEOP ALL 2000 study / V. Conter [et al.] // *Blood*. – 2014. – N 10 (123). – P. 1470–1478.

39. Cooper, S. L. Treatment of pediatric acute lymphoblastic leukemia / S. L. Cooper, P. A. Brown // *Pediatric Clinics of North America*. – 2015. – Vol. 62, N 1. – P. 61–73.

40. Coustan-Smith, E. New markers for minimal residual disease detection in acute lymphoblastic leukemia / E. Coustan-Smith, G. Song, C. Clark [et al.] // *Blood*. – 2011. – Vol. 117, N 23. – P. 6267–6276.

41. Demidowicz, E. Outcome of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia: Sixty Years of Progress / E. Demidowicz, M. Pogorzala, M. Lecka [et al.] // *Anticancer Research*. – 2019. – Vol. 39, N 9. – P. 5203–5207.

42. Denys, B. Improved flow cytometric detection of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia / B. Denys [et al.] // *Leukemia*. – 2013. – N 3 (27). – P. 635–641.

43. Douamba, S. Les leucémies aiguës lymphoblastiques de l'enfant à Ouagadougou (Burkina Faso): résultats de la prise en charge selon le protocole du Groupe Franco-Africain d'Oncologie Pédiatrique 2005 / S. Douamba [et al.] // Pan African Medical Journal. – 2018. – 29. – P. 44.

44. Eapen, M. Relapsed acute lymphoblastic leukemia: Is it crucial to achieve molecular remission prior to transplant? / M. Eapen // Best Practice & Research. Clinical Haematology. – 2017. – Vol. 30, N 4. – P. 317–319.

45. Eckert, C. Minimal residual disease after induction is the strongest predictor of prognosis in intermediate risk relapsed acute lymphoblastic leukaemia – long-term results of trial ALL-REZ BFM P95/96 / C. Eckert, A. von Stackelberg, K. Seeger [et al.] // European Journal of Cancer (Oxford, England: 1990). – 2013. – Vol. 49, N 6. – P. 1346–1355.

46. Eckert, C. Monitoring minimal residual disease in children with high-risk relapses of acute lymphoblastic leukemia: prognostic relevance of early and late assessment / C. Eckert, N. Hagedorn, L. Sramkova [et al.] // Leukemia. – 2015. – 29. – P. 1648–1655.

47. Eiser, C. Prospective evaluation of quality of life in children treated in UKALL 2003 for acute lymphoblastic leukaemia: A cohort study / C. Eiser, C.B. Stride, A. Vora [et al.] // Pediatric Blood & Cancer. – 2017. – Vol. 64, N 11. – e26615.

48. Elorza, I. Relationship between minimal residual disease measured by multiparametric flow cytometry prior to allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and outcome in children with acute lymphoblastic leukemia / I. Elorza, C. Palacio, J. L. Dapena [et al.] // Haematologica. – 2010. – Vol. 95, N 6. – P. 936–941.

49. Faderl, S. Adult acute lymphoblastic leukemia: Concepts and strategies / S. Faderl, S. O'Brien, C. H. Pui [et al.] // Cancer. – 2010. – Vol. 116, N 5. – P. 1165–1176.

50. Farber, S. Temporary Remissions in Acute Leukemia in Children Produced by Folic Acid Antagonist, 4-Aminopteroyl-Glutamic Acid (Aminopterin) / S. Farber,

L.K. Diamond, R.D. Mercer [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 1948. – Vol. 2380. N 23. – P. 787–793.

51. Fielding, A. K. UKALLXII/ECOG2993: addition of imatinib to a standard treatment regimen enhances long-term outcomes in Philadelphia positive acute lymphoblastic leukemia / A. K. Fielding, J. M. Rowe, G. Buck [et al.] // *Blood*. – 2014. – Vol. 123, N 6. – P. 843–850.

52. Flohr, T. 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 / T. Flohr [et al.] // *Leukemia*. – 2008. – Vol. 22, N 4. – P. 771–782.

53. Fossat, C. Methodological aspects of minimal residual disease assessment by flow cytometry in acute lymphoblastic leukemia: A French multicenter study: Mrd Assessment by Flow Cytometry in all / C. Fossat [et al.] // *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*. – 2014. – C. n/a–n/a.

54. Frei, E. High dose methotrexate with leucovorin rescue. Rationale and spectrum of antitumor activity / E. Frei, R.H. Blum, S. W. Pitman [et al.] // *The American Journal of Medicine*. – 1980. – Vol. 68, N 3. – P. 370–376.

55. Frei, E. Studies of Sequential and Combination Antimetabolite Therapy in Acute Leukemia: 6-Mercaptopurine and Methotrexate / E. Frei, E. J. Freireich, E. A. Gehan [et al.] // *Blood*. – 1961. – Vol. 18. – P. 431–454.

56. Fronkova, E. Minimal residual disease (MRD) analysis in the non-MRD-based ALL IC-BFM 2002 protocol for childhood ALL: is it possible to avoid MRD testing? / E. Fronkova, E. Mejstrikova, S. Avigad [et al.] // *Leukemia*. – 2008. – Vol. 22, N 5. – P. 989–997.

57. Gaipa, G. Detection of minimal residual disease in pediatric acute lymphoblastic leukemia: MRD in Pediatric ALL / G. Gaipa [et al.] // *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*. – 2013. – N 6 (84). – P. 359–369.

58. Garand, R. Flow cytometry and IG/TCR quantitative PCR for minimal residual disease quantitation in acute lymphoblastic leukemia: a French multicenter prospective study on behalf of the FRALLE, EORTC and GRAALL / R. Garand, K. Beldjord, H. Cave [et al.] // *Leukemia*. – 2013. – Vol. 27, N 2. – P. 370–376.

59. Garcia-Manero, G. Epigenetics of Acute Lymphocytic Leukemia / G. Garcia-Manero, H. Yang, S.-Q. Kuang [et al.] // *Seminars in Hematology*. – 2009. – Vol. 46, N 1. – P. 24–32.

60. Graux, C. Biology of acute lymphoblastic leukemia (ALL): Clinical and therapeutic relevance / C. Graux // *Transfusion and Apheresis Science*. – 2011. – Vol. 44, N 2. – P. 183–189.

61. Guo, D.-D. Clinical significance of dynamic monitoring the minimal residual disease in childhood B-lineage acute lymphoblastic leukemia by multiparameter flow cytometry / D.-D. Guo [et al.] // *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. – 2012. – Vol. 20, N 6. – P. 1346–1351.

62. Gupta, S. Flow-cytometric vs. -morphologic assessment of remission in childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Oncology Group (COG) / S. Gupta, M. Devidas, M.L. Loh [et al.] // *Leukemia*. – 2018. – Jun 1. – Vol. 32, N 6. – P. 1370–1379.

63. Henze, G. Ergebnisse der Studie BFM 76/79 zur Behandlung der akuten Lymphoblastischen Leukämie bei Kindern und Jugendlichen / G. Henze. – 1981. – P. 10.

64. Hoelzer, D. Monitoring and managing minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia / D. Hoelzer // *American Society of Clinical Oncology Educational Book*. American Society of Clinical Oncology. Meeting. – 2013. – P. 290–293.

65. Iacobucci, I. Genetic Basis of Acute Lymphoblastic Leukemia / I. Iacobucci, C.G. Mullighan // *Journal of American Clinical Oncology*. – 2017. – Vol. 35, N 9. – P. 975–983.

66. Ikoma, M.R.V. Proposal for the standardization of flow cytometry protocols to detect minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia / M.R.V. Ikoma [et al.] // *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. – 2015. – N 6 (37). – P. 406–413.

67. Kamps, W. A. Long-term follow-up of Dutch Childhood Leukemia Study Group (DCLSG) protocols for children with acute lymphoblastic leukemia, 1984–1991 / W. A. Kamps, A. J. P. Veerman, E. R. van Wering [et al.]. // *Leukemia*. – 2000. – Vol. 14, N 12. – P. 2240-2246.

68. Kandeel, E. Role of Minimal Residual Disease in the Clinical Course of T cell Acute Lymphoblastic Leukemia in Pediatric Patients / E. Kandeel [et al.] // *Journal of Leukemia*. – 2019. – N 01 (07).

69. Karsa, M. Improving the Identification of High Risk Precursor B Acute Lymphoblastic Leukemia Patients with Earlier Quantification of Minimal Residual Disease / M. Karsa, L. Dalla Pozza, N. C.Venn [et al.] // *PLoS ONE*. – 2013. – 8. – e76455.

70. Koehler, R. Molecular genetic detection of minimal residual disease (MRD) in children with acute lymphoblastic leukemia / R. Koehler, C. R. Bartram // *Klinische Padiatrie*. – 2013. – Vol. 225, suppl. 1. – S./40–44.

71. Landing, B.H. Effects of acth and cortisone on the adrenals and pituitaries of children with acute leukemia* / B.H. Landing, D. Feriozi // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. – 1954. – N 8 (14). – P. 910–921.

72. Möricke, A. Long-term results of five consecutive trials in childhood acute lymphoblastic leukemia performed by the ALL-BFM study group from 1981 to 2000 / A. Möricke, M. Zimmermann, A. Reiter [et al.] // *Leukemia*. – 2010. – Vol. 24, N 2. – P. 265–284.

73. Nagorsen, D. Blinatumomab: A historical perspective / D. Nagorsen, P. Kufer, P.A. Baeuerle [et al.] // *Pharmacology & Therapeutics*. – 2012. – Vol. 136, N 3. – P. 334–342.

74. N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center [и др.]. Evaluation of Minimal Residual Disease in B-Lineage Acute Lymphoblastic Leukemia Using EuroFlow Approaches // *Clinical oncohematology*. – 2017. – N 2 (10). – P. 158–168.

75. van der Velden, V. H. Analysis of minimal residual disease by Ig/TCR gene rearrangements: guidelines for interpretation of real-time quantitative PCR data / V. H. van der Velden, G. Cazzaniga, A. Schrauder // *Leukemia*. – 2007. – Vol. 21, N 4. – P. 604–611.

76. on behalf of the European Study Group on MRD detection in ALL (ESG-MRD-ALL) [et al.]. Analysis of minimal residual disease by Ig/TCR gene rearrangements: guidelines for interpretation of real-time quantitative PCR data // *Leukemia*. – 2007. – № 4 (21). – P. 604–611.

77. on behalf of Tokyo Children's Cancer Study Group, Tokyo, Japan [et al.]. Long-term results of Tokyo Children's Cancer Study Group trials for childhood acute lymphoblastic leukemia, 1984–1999 // *Leukemia*. – 2010. – N 2 (24). – P. 383–396.

78. Ontario, H. Q. Health Quality Ontario (HQO) / H. Q. Ontario // *Ontario Health Technology Assessment Series*. – 2015. – N 8 (16). – P. 1–83.

79. Paganin, M. Postinduction Minimal Residual Disease Monitoring by Polymerase Chain Reaction in Children With Acute Lymphoblastic Leukemia / M. Paganin [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2014. – N 31 (32). – P. 3553–3558.

80. Pearson, O. H. Acth- and cortisone-induced regression of lymphoid tumors in man. A preliminary report / O. H. Pearson, L. P. Eliel, R. W. Rawson [et al.] // *Cancer*. – 1949. – Nov. – Vol 2, N 6. – P. 943–945.

81. Pieters, R. Successful Therapy Reduction and Intensification for Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Based on Minimal Residual Disease Monitoring: Study ALL10 From the Dutch Childhood Oncology Group / R. Pieters [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2016. – Aug. – Vol 34, N 22. – P. 2591–2601.

82. Pieters, R. Biology and Treatment of Acute Lymphoblastic Leukemia / R. Pieters, W. L. Carroll // Hematology/Oncology Clinics of North America. – 2010. – N 1 (24). – P. 1–18.

83. Pilon, M. Long-term results of AIEOP-8805 protocol for acute B-cell lymphoblastic leukemia of childhood / M. Pilon, M. Aricò, G. Basso [et al.] // Pediatric Blood & Cancer. – 2011. – Vol. 56, N 4. – C. 544–550.

84. Pinkel D. Five-Year Follow-Up of «Total Therapy» of Childhood Lymphocytic Leukemia / D. Pinkel // JAMA. – 1971 Apr 26. – Vol. 4 (216). – P. 648–652.

85. Popov, A. M. Results of external quality control study in flow cytometric acute lymphoblastic leukemia diagnostics / A. M. Popov, T. Yu. Verzhbitskaya, E. E. Zueva [et al.] // Oncohematology. – 2016. – Vol. 11, № 3. – C. 68–75.

86. Pshonkin, A. V. Treatment of acute lymphoblastic leukemia in adolescents and young adults: the experience of the Moscow-Berlin / A. V. Pshonkin, Yu. V. Rummyantseva, D. V. Litvinov [et al.] // Russian Journal of Children Hematology and Oncology. – 2016. – Vol. 3, N 1. – C. 35–43.

87. Pui, C.-H. Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Progress Through Collaboration / C.-H. Pui [et al.] // Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology. – 2015. – Vol. 33, N 27. – C. 2938–2948.

88. Pui, C.-H. A 50-Year Journey to Cure Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia / C.-H. Pui, W. E. Evans // Seminars in Hematology. – 2013. – Vol. 50, N 3. – C. 185–196.

89. Ratei, R. Lineage classification of childhood acute lymphoblastic leukemia according to the EGIL recommendations: results of the ALL-BFM 2000 trial / R. Ratei, R. Schabath, L. Karawajew [et al.] // Klinische Padiatrie. – 2013. – Vol. 225. – Suppl 1. – P. S34–39.

90. Rawstron, A. C. A complementary role of multiparameter flow cytometry and high-throughput sequencing for minimal residual disease detection in chronic lymphocytic

leukemia: an European Research Initiative on CLL study / A. C. Rawstron, C. Fazi, A. Agathangelidis [et al.] // *Leukemia*. – 2016. – Vol. 30, N 4. – P. 929–936.

91. Reiter, M. Automated flow cytometric MRD assessment in childhood acute B-Lymphoblastic leukemia using supervised machine learning / M. Reiter, M. Diem, A. Schumich [et al.] // *Cytometry Part A*. – 2019. – Vol. 95, N 9. – P. 966–975.

92. Roberts, K. G. Outcomes of children with BCR-ABL1-like acute lymphoblastic leukemia treated with risk-directed therapy based on the levels of minimal residual disease / K. G. Roberts, D. Pei, D. Campana [et al.] // *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*. – 2014. – Vol. 32, N 27. – P. 3012–3020.

93. Rocha, J. M. C. Current strategies for the detection of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia / J. M. C. Rocha [et al.] // *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*. – 2016. – Vol. 8. – P. 2016024.

94. Ryan, J. Minimal residual disease detection in childhood acute lymphoblastic leukaemia patients at multiple time-points reveals high levels of concordance between molecular and immunophenotypic approaches / J. Ryan [et al.] // *British Journal of Haematology*. – 2009. – Vol. 144, N 1. – P. 107–115.

95. Sallan, S. E. Influence of Intensive Asparaginase in the Treatment of Childhood Non-T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia / S. E. Sallan [et al.] // 1983. – Vol. 43. – P. 8.

96. Sancho, J.-M. Results of the PETHEMA ALL-96 trial in elderly patients with Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia / J.-M. Sancho [et al.] // *European Journal of Haematology*. – 2007 Feb. – Vol. 2 (78). – P. 102–110.

97. Sarrawi, T.H. End of therapy minimal residual disease (MRD) measurement in children with ALL does not predict relapse / T.H. Sarrawi [et al.] // *Hematology/Oncology and Stem Cell Therapy*. – 2018. – Vol. 11, N 1. – P. 41–43.

98. Schmiegelow, K. Post-induction residual leukemia in childhood acute lymphoblastic leukemia quantified by PCR correlates with in vitro prednisolone resistance

/ K. Schmiegelow, C. Nyvold, J. Seyfarth [et al.] // *Leukemia*. – 2001. – Vol. 15, N 7. – P. 1066–1071.

99. Schmiegelow, K. Long-term results of NOPHO ALL-92 and ALL-2000 studies of childhood acute lymphoblastic leukemia / K. Schmiegelow, E. Forestier, M. Hellebostad [et al.] // *Leukemia*. – 2010. – Vol. 24, N 2. – P. 345–354.

100. Schramm, F. Results of CoALL 07-03 study childhood ALL based on combined risk assessment by in vivo and in vitro pharmacosensitivity / F. Schramm, U. Zur Stadt, M. Zimmermann [et al.] // *Blood Advances*. – 2019. – Vol. 3, N 22. – P. 3688–3699.

101. Schrappe, M. Long-term results of four consecutive trials in childhood ALL performed by the ALL-BFM study group from 1981 to 1995 / M. Schrappe, A. Reiter, M. Zimmermann [et al.] // *Leukemia*. – 2000. – Vol. 14, N 12. – P. 2205–2222.

102. Schrappe, M. Late MRD response determines relapse risk overall and in subsets of childhood T-cell ALL: results of the AIEOP-BFM-ALL 2000 study / M. Schrappe, M. G. Valsecchi, C. R. Bartram [et al.] // *Blood*. – 2011. – Vol. 118, N 8. – P. 2077–2084.

103. Schrappe, M. Reduced-Intensity Delayed Intensification in Standard-Risk Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia Defined by Undetectable Minimal Residual Disease: Results of an International Randomized Trial (AIEOP-BFM ALL 2000) / M. Schrappe [et al.] // *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*. – 2017. – JCO2017744946.

104. Schultz, K. R. Risk- and response-based classification of childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a combined analysis of prognostic markers from the Pediatric Oncology Group (POG) and Children's Cancer Group (CCG) / K. R. Schultz, D. J. Pullen, H. N. Sather [et al.] // *Blood*. – 2007. – Vol. 109, N 3. – P. 926–935.

105. Schultz, K. R. Improved Early Event-Free Survival With Imatinib in Philadelphia Chromosome-Positive Acute Lymphoblastic Leukemia: A Children's Oncology Group Study / K. R. Schultz, W. P. Bowman, A. Aledo [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2009. – Vol. 27, N 31. – P. 5175–5181.

106. Seyfarth, J. Post-induction residual disease in translocation t(12;21)-positive childhood ALL / J. Seyfarth [et al.] // *Medical and Pediatric Oncology*. – 2003. – Vol. 40, N 2. – P. 82–87.

107. Shaver, A. C. B-ALL minimal residual disease flow cytometry: An application of a novel method for optimization of a single-tube model / A. C. Shaver [et al.] // *American Journal of Clinical Pathology*. – 2015. – Vol. 143, N 5. – P. 716–724.

108. Silverman, L. B. Long-term results of Dana-Farber Cancer Institute ALL Consortium protocols for children with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia (1985–2000) / L. B. Silverman, K. E. Stevenson, J. E. O'Brien [et al.] // *Leukemia*. – 2010. – Vol. 24, N 2. – P. 320–334.

109. Stary, J. Intensive chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia: results of the randomized intercontinental trial ALL IC-BFM 2002 / J. Stary, M. Zimmermann, M. Campbell [et al.] // *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*. – 2014. – Vol. 32, N 3. – P. 174–184.

110. Starý, J. New biological and genetic classification and therapeutically relevant categories in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia / J. Starý, J. Zuna, M. Zaliova // *F1000Research*. – 2018. – Vol. 7. – P. 1569.

111. Toft, N. Results of NOPHO ALL2008 treatment for patients aged 1–45 years with acute lymphoblastic leukemia / N. Toft [et al.] // *Leukemia*. – 2018. – Vol. 32, N 3. – P. 606–615.

112. Van der Velden, V. H. J. Optimization of PCR-based minimal residual disease diagnostics for childhood acute lymphoblastic leukemia in a multi-center setting / V. H. J. van der Velden, E. R. Panzer-Grümayer, G. Cazzaniga [et al.] // *Leukemia*. – 2007. – Vol. 21, N 4. – P. 706–713.

113. Volejnikova, J. Treatment and prognosis of childhood acute lymphoblastic leukemia on protocols ALL-BFM 90, 95 and ALL IC-BFM 2002: a retrospective single-center study from Olomouc, Czech Republic / J. Volejnikova [et al.] // *Neoplasma*. – 2016. – Vol. 63, N 3. – P. 456–461.

114. Vora, A. Augmented post-remission therapy for a minimal residual disease-defined high-risk subgroup of children and young people with clinical standard-risk and intermediate-risk acute lymphoblastic leukaemia (UKALL 2003): a randomised controlled trial / A. Vora [et al.] // *The Lancet Oncology*. – 2014. – Vol. 15, N 8. – P. 809–818.

115. Wilejto, M. Treatment of young children with CNS-positive acute lymphoblastic leukemia without cranial radiotherapy / M. Wilejto, G. Di Giuseppe, J. Hitzler [et al.] // *Pediatric Blood & Cancer*. – 2015. – Vol. 62, N 11. – P. 1881–1885.

116. Winkel, M. L. T. Prospective Study on Incidence, Risk Factors, and Long-Term Outcome of Osteonecrosis in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia / M. L. T. Winkel, R. Pieters, W.C .J. Hop [et al.]. // *Journal of Clinical Oncology*. – 2011. – Vol. 29, N 31. – P. 4143–4150.

117. Zhang, M. Minimal Residual Disease at First Achievement of Complete Remission Predicts Outcome in Adult Patients with Philadelphia Chromosome-Negative Acute Lymphoblastic Leukemia / M. Zhang [et al.] // *PLOS ONE*. – 2016. – Vol. 11, N 10. – e0163599.

118. Zhou, J. Quantitative analysis of minimal residual disease predicts relapse in children with B-lineage acute lymphoblastic leukemia in DFCI ALL Consortium Protocol 95-01 / J. Zhou, M. A. Goldwasser, A. Li [et al.] // *Blood*. – 2007. – Vol. 110, N 5. – P. 1607–1611.

119. Zhou, J. Biology of acute lymphoblastic leukemia (ALL): Clinical and therapeutic relevance / J. Zhou [et al.] // *Blood*. – 2015. – Vol. 46, N 1. – P. 8–13.