

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИНИМАЛЬНОЙ ИЗМЕРИМОЙ ОСТАТОЧНОЙ БОЛЕЗНИ У ВЗРОСЛЫХ БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ ЛЕЙКОЗАМИ

Гальцева И. В.<sup>\*</sup>, Давыдова Ю. О., Паровичникова Е. Н.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Россия

## РЕЗЮМЕ

**Введение.** Минимальная остаточная болезнь (МОБ) — это небольшое количество опухолевых клеток, которые могут вызвать развитие рецидива после достижения клинико-гематологической ремиссии заболевания.

**Цель:** проанализировать прогностическую значимость определения МОБ в разных протоколах терапии острых лейкозов.

**Основные сведения.** Обнаружение МОБ имеет высокую прогностическую ценность при острых лимфобластных и миелоидных лейкозах. Количественная оценка остаточных опухолевых клеток используется для стратификации больных на группы риска, отличающиеся по прогнозу развития рецидива. Исходя из данных стратификации больных (в том числе из величины МОБ в определенных контрольных точках), возможно изменение терапевтической тактики, например выполнение трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. Таким образом, определение МОБ при острых лейкозах стало обязательным направлением научно-клинических исследований.

**Ключевые слова:** минимальная остаточная болезнь, измеримая остаточная болезнь, многоцветная проточная цитометрия, полимеразная цепная реакция, острые лимфобластные лейкозы, острые миелоидные лейкозы

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование:** исследование не имело спонсорской поддержки.

**Для цитирования:** Гальцева И.В., Давыдова Ю.О., Паровичникова Е.Н. Определение минимальной измеримой остаточной болезни у взрослых больных острыми лейкозами. Гематология и трансфузиология. 2020; 65(4): 460–472. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2020-65-4-460-472>

# DETECTION OF MEASURABLE RESIDUAL DISEASE IN ADULTS WITH ACUTE LEUKAEMIA

Galtseva I. V. \*, Davydova Y. O., Parovichnikova E. N.

National Research Center for Hematology, 125167, Moscow, Russian Federation

## ABSTRACT

**Introduction.** Measurable residual disease (MRD) is a residual amount of malignant cells able to invoke relapse after complete haematological remission.

**Aim.** Analysis of the MRD prognostic value in various treatment protocols for acute leukaemia.

**Main findings.** MRD is a good prognostic indicator in lymphoblastic and myeloid leukaemia. Quantification of residual tumour cells is used for patient risk stratification according to the relapse prognosis. Stratification data, including MRD estimates at check points, may impact therapy choice, such as transplantation of allogeneic haematopoietic stem cells. Therefore, MRD estimation in acute leukaemia has become mandatory in clinical trial and research.

**Keywords:** minimal residual disease, measurable residual disease, multicolour flow cytometry, polymerase chain reaction, acute lymphoblastic leukaemia, acute myeloid leukaemia

**Conflict of interest:** the authors declare no conflict of interest.

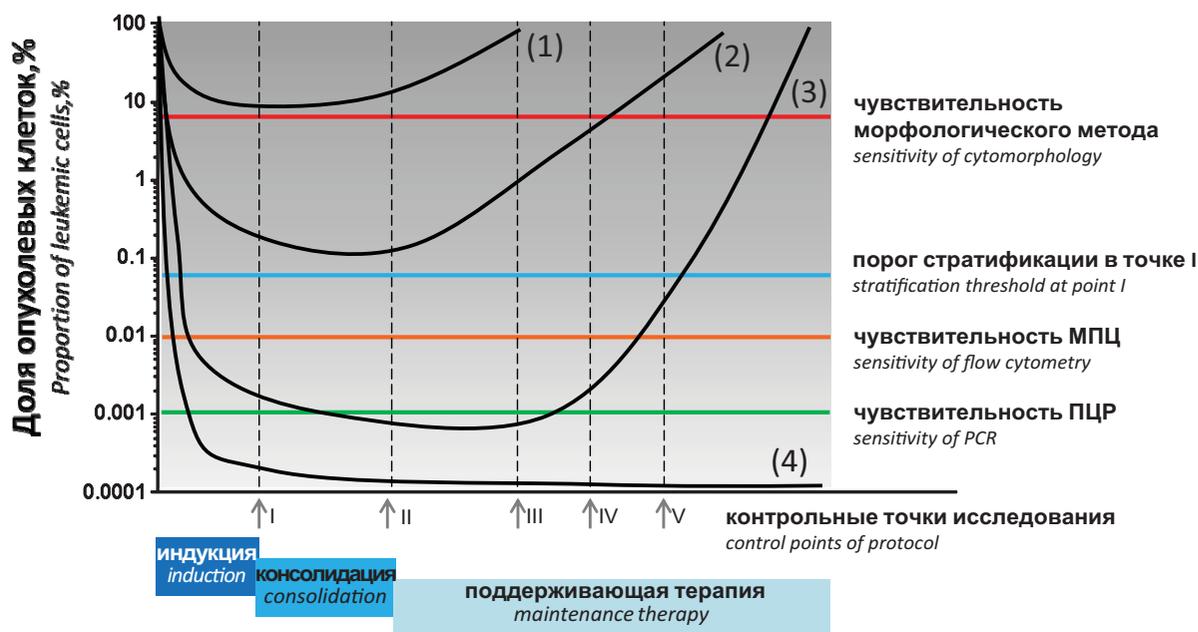
**Financial disclosure:** the study had no sponsorship.

**For citation:** Galtseva I.V., Davydova Y.O., Parovichnikova E.N. Detection of measurable residual disease in adults with acute leukaemia. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (*Gematologiya i transfuziologiya*). 2020; 65(4): 460–472 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2020-65-4-460-472>

## Введение

Острые лейкозы — это заболевания, обусловленные клональной пролиферацией в костном мозге (КМ) клеток-предшественниц. С появлением новых протоколов лечения, таргетных и клеточных препаратов, применяемых в терапии этих заболеваний, удалось значительно увеличить продолжительность жизни больных острыми лимфобластными лейкозами (ОЛЛ) и острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ). Внедрение в практику новых подходов к терапии привело к тому, что полной ремиссии (ПР) на ранних этапах терапии достигают большинство больных. ПР характеризуется количеством бластных клеток, обнаруживаемых при исследовании пунктата КМ, менее 5 %, при условии нормального эритропоэза, гранулоцитопоэза и мегакариоцитопоэза, количестве нейтрофилов в периферической крови не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$  и тромбоцитов — не менее и  $100 \times 10^9/\text{л}$ , при отсут-

ствии экстрамедуллярных очагов лейкоемического поражения [1, 2]. Однако несмотря на достижение ПР, на разных сроках после окончания лечения у многих больных развиваются рецидивы, которые могут быть обусловлены персистенцией минимальной остаточной болезни (МОБ). МОБ называют популяцию опухолевых клеток, невыявляемую цитологическим методом, но которая может быть обнаружена чувствительными методами, такими как полимеразная цепная реакция (ПЦР) и многоцветная проточная цитометрия (МПЦ), у больных в состоянии ПР. Термин «МОБ» в настоящее время заменяется термином «измеримая остаточная болезнь» [3]. Величина МОБ может быть дана в относительном выражении или процентном. Например, МОБ равная  $10^{-3}$  (или 0,1 %) означает, что на тысячу нормальных клеток приходится одна опухолевая.



**Рисунок 1.** Динамика количества опухолевых клеток в процессе терапии  
**Figure 1.** Tumour cell count dynamics in therapy

На рисунке 1 отображена динамика редукции доли опухолевых клеток у 4 больных острыми лейкозами, получающих терапию в рамках конкретного протокола. Морфологическую ремиссию констатируют, если доля бластных клеток в пунктате КМ не превышает 5 %. В конце индукции (точка I) у больного 1 морфологической ремиссии нет, а у больных 2, 3 и 4 она достигнута. Для этих больных целесообразно провести исследование МОБ, однако возникает вопрос — когда и каким методом.

Существует две тактики исследования МОБ: 1) оценка ответа на начальном этапе терапии для определения МОБ-ассоциированных групп риска; 2) последующий мониторинг МОБ у больных, у которых достигнута ПР, для обнаружения МОБ-рецидива и предсказания развития гематологического рецидива. Показано, что начальная кинетика редукции опухолевой массы имеет большую прогностическую значимость [4]. Величину остаточного опухолевого клона измеряют на ранних этапах терапии (например, +15 день), порой и до подтверждения ПР. Быстрый клиренс опухолевой массы и достижение МОБ-негативного статуса в ходе ранних этапов лечения ассоциируются с благоприятным прогнозом, тогда как персистенция МОБ при проведении терапии является неблагоприятным признаком.

В протоколе терапии острых лейкозов предусмотрено определение МОБ в конце индукции методом МПЦ. Например, на рисунке 1 это соответствует точке I, чувствительность метода составляет 0,01 %. Такое раннее определение МОБ часто проводится в протоколах терапии для детей. У больного 2 МОБ обнаруживается и составляет 0,11 %, а больные 3 и 4 имеют МОБ-негативный статус (так как количество

остаточных клеток ниже предела чувствительности МПЦ). Впоследствии у больного 2 зафиксирован ранний рецидив, у больного 3 — поздний, а у больного 4 сохраняется ремиссия. Кроме того, рассчитывается количественный порог стратификации на этих точках: если у больного в данной точке терапии значение МОБ будет больше этого порога, то он относится к группе неблагоприятного прогноза. На рисунке 1 порог стратификации составляет 0,05 %, следовательно, больной 2 относится к группе неблагоприятного прогноза.

Длительный мониторинг МОБ на более отдаленных этапах терапии проводится у больных, у которых достигнуты ПР и МОБ-негативный статус. На рисунке 1 у больных 3 и 4 МОБ не выявилась в точке I (конец индукции), и им проведен дальнейший мониторинг в точке II (конец консолидации), а также точках III, IV и V поддерживающей терапии. У больного 4 сохраняется МОБ-негативный статус в течение всего периода. У больного 3 обнаружена МОБ в количестве 0,012 % в точке V, что предшествовало развитию морфологического рецидива (рис. 1).

Однако длительный мониторинг МОБ на отдаленных этапах (через год и более после начала терапии) сопряжен с определенными трудностями. Технологии поиска МОБ являются трудоемкими и дорогостоящими. Кроме того, отсутствие МОБ на отдаленных этапах терапии не является гарантией того, что рецидив в дальнейшем не разовьется [5]. Детекция МОБ может производиться разными методами, которые имеют свои особенности. Например, на рисунке 1 указаны методы МПЦ и ПЦР. Метод ПЦР более чувствителен, чем МПЦ, поэтому и на рисунке 1 чувствительность МПЦ представлена как 0,01 %, а ПЦР — 0,001 %.

## Чувствительность методов определения МОБ

Аналитическая чувствительность любого лабораторного метода — это наименьшее количество вещества (наименьшая концентрация), которое можно обнаружить этим методом [6]. Применительно к детекции МОБ чувствительность метода можно описать как минимальное количество опухолевых клеток, которое можно обнаружить с помощью данного метода. МОБ-негативность не означает, что опухолевых клеток нет вообще, и достигнуто полное отсутствие опухолевых клеток у больного. МОБ-негативность означает, что в образце не найдено опухолевых клеток при указанной чувствительности метода, и что опухолевые клетки могут персистировать, но в меньшем, чем чувствительность метода количестве. Поэтому и происходит смена понятия «минимальная остаточная болезнь» на термин «измеримая остаточная болезнь». Чувствительность метода определения МОБ может быть подсчитана в относительном выражении или процентном. Например, чувствительность  $10^{-4}$  (или 0,01 %) означает, что возможно определить наличие 1 опухолевой клетки среди 10 000 нормальных клеток. Именно такая чувствительность требуется в большинстве протоколов терапии острых лейкозов [7].

Нарастает тенденция к внедрению в практику все более чувствительных методов, которые позволяют обнаружить меньшие количества опухолевых клеток. Например, секвенирование нового поколения (next generation sequencing, NGS) и проточная цитометрия следующего поколения (next generation flow, NGF) позволяют достичь чувствительности  $10^{-7}$  (или 0,00001 %), т. е. найти одну опухолевую клетку на 10 млн нормальных [8–10]. Такие методы требуют высокой клеточности анализируемого образца: если клеток в образце всего 100 тысяч, чувствительности  $10^{-7}$  достичь невозможно. С этим связаны сложности определения МОБ на ранних этапах терапии, когда нередко у больных наблюдается аплазия [7]. Детекция МОБ более чувствительными методами имеет свои преимущества. Например, на рисунке 1 ПЦР как более чувствительный метод позволил обнаружить опухолевые клетки в количестве 0,0011 % у больного 3 в точке I, тогда как результат обнаружения МОБ методом МПЦ — негативный. С другой стороны, это не имеет значения, т. к. пороговым количеством опухолевых клеток, на основании которого происходит стратификация больных в этом протоколе, является 0,05 % (рис. 1). Это означает, что детекция крайне низкого количества опухолевых клеток высокочувствительным методом должна быть клинически обоснована.

## Прогностическая значимость МОБ. Пороговые значения МОБ

В разных протоколах приняты разные пороговые значения МОБ в зависимости от контрольной точки исследования, а также применяемого метода (МПЦ

или ПЦР). Эти пороговые значения позволяют провести стратификацию больных на группы риска. Обычно определение МОБ для этого проводят на начальных этапах терапии (индукции или консолидации ремиссии), где в пределах одного протокола больные с быстрым клиренсом МОБ имеют более благоприятный прогноз, чем больные с медленным клиренсом и высокими значениями МОБ в контрольных точках.

Чтобы оценить влияние количественных показателей МОБ в конкретной точке протокола на частоту рецидивов, используют анализ выживаемости. По результатам такого анализа рассчитывают оптимальные пороговые значения МОБ, по которым можно выделить группы пациентов с разным риском развития рецидивов. В таблице 1 суммированы данные по пороговым значениям МОБ, полученные в разных исследованиях.

Раннее определение количественных показателей МОБ и ранняя стратификация пациентов имеют свои преимущества. В протоколе терапии ОЛЛ для детей и подростков AIEOP-BFM ALL 2000 (NCT00613457) [25] исследование МОБ проводилось на 33-й и 78-й день терапии методом ПЦР, однако экспериментально МОБ оценивалась и на 15-й день методом МПЦ у 830 больных. По результатам исследования выявлено три группы больных: с количеством МОБ на 15-й день  $< 0,1$  % (42 % от всей когорты больных); с МОБ от 0,1 до 10 % (47 % больных) и более 10 % (11 % больных). Пятилетняя кумулятивная вероятность рецидива у них составила 7,5, 17,5 и 47,2 % соответственно [16].

Эти данные были учтены в последующем исследовании AIEOP-BFM ALL 2009 (EudraCT Number: 2007-004270-43) [26], в котором проводилась рандомизация больных с целью изучения корректировки терапии в зависимости и от значения МОБ в том числе. У больных, не относящихся к высокому риску, с количеством опухолевых клеток в костном мозге  $< 0,1$  %, определенном на 15-й день терапии методом МПЦ, проводилась редукция дозы даунорубицина на 50 %. У больных группы высокого риска, т. е. если МОБ методом ПЦР была  $> 10^{-3}$  на 33-й день и осталась позитивной на 12-й неделе, и/или если на 15-й день МОБ методом МПЦ была более 10 %, использовали терапевтическую тактику удлинения приема PEG-L-аспарагиназы [26].

Еще одним примером целесообразности раннего определения МОБ может служить исследование результатов терапии ОЛЛ у детей и подростков ALL-REZ BFM 2002 (NCT00114348) [27]. Согласно данному протоколу, больным с МОБ менее  $10^{-3}$  в конце индукции (неделя 5), проводилась стандартная консолидация и поддерживающая терапия, а трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) рекомендуется только при наличии совместимого родственного донора. Если же значение МОБ в конце индукции составляет  $10^{-3}$  и более, то больному

**Таблица 1.** Пороговые значения минимальной остаточной болезни по данным разных исследований  
**Table 1.** Minimal residual disease cut-offs reported in published sources

Протокол, авторы Protocol/authors	Метод Method	Контрольная точка Control point	Порог Cut-off	Выживаемость Survival rate
<b>Острые лимфобластные лейкозы</b> Acute lymphoblastic leukaemia				
<b>AALL0232, М. J. Borowitz и соавт. [11]</b> AALL0232, M. J. Borowitz et al. [11]	<b>МПЦ</b> MFC	<b>Конец индукции (день 29)</b> End of induction (day 29)	<b>0,01 %</b>	<b>5-летняя БСВ 86 ± 1 % vs 58 ± 4 %, p &lt; 0,0001</b> 5-year EFS 86 ± 1 % vs. 58 ± 4 %, p < 0.0001
<b>GMALL, N. Gökbuget и соавт. [12]</b> GMALL, N. Gökbuget et al. [12]	<b>ПЦР</b> PCR	<b>День 71 Неделя 16</b> Day 71 Week 16	<b>10<sup>-4</sup></b>	<b>Вероятность сохранения ПР день 71: 69 ± 3 % vs 42 ± 6 %, p &lt; 0,0001, неделя 16: 74 ± 3 % vs 35 ± 6 %, p &lt; 0,0001</b> Probability of CR, day 71: 69 ± 3 % vs. 42 ± 6 %, p < 0.0001, week 16: 74 ± 3 % vs. 35 ± 6 %, p < 0.0001
<b>GRAALL, K. Beldjord и соавт. [13]</b> GRAALL, K. Beldjord et al. [13].	<b>ПЦР</b> PCR	<b>Конец индукции</b> End of induction	<b>10<sup>-4</sup></b>	<b>ВРР 22,9 % vs. 60,4 %</b> PR 22.9 % vs. 60.4 %
<b>NILG-ALL09/00, R. Bassan и соавт. [14]</b> NILG-ALL09/00, R. Bassan et al. [14]	<b>ПЦР</b> PCR	<b>Неделя 16, неделя 22</b> Week 16, week 22	<b>10<sup>-4</sup></b>	<b>БРВ, медиана не достигнута vs 1,16 года, p = 0,001</b> RFS, median not reached vs. 1.16 years, p = 0.001
<b>PETHEMA ALL-AR-03, J.M. Ribera и соавт. [15]</b> PETHEMA ALL-AR-03, J.M. Ribera et al. [15]	<b>МПЦ</b> MFC	<b>Конец индукции (неделя 5–6) и конец консолидации 3 (недели 16–18)</b> End of induction (week 5–6) end of consolidation III (week 16–18)	<b>0,1 % 0,05 %</b>	<b>НД</b> ND
<b>AIEOP-BFM-ALL, G. Basso и соавт. [16]</b> AIEOP-BFM-ALL, G. Basso et al. [16]	<b>МПЦ</b> MFC	<b>День 15</b> Day 15	<b>0,1 % 10 %</b>	<b>5-летняя ВРР &lt; 0,1 %: 7,5 %; 0,1–10 %: 17,5 %; ≥ 10 %: 47,2 %</b> 5-year PR < 0.1 % : 7.5 %; 0.1–10 % : 17.5 %; ≥ 10 % : 47.2 %
<b>NOPHO-92, E. Björklund и соавт. [17]</b> NOPHO-92, E. Björklund et al. [17]	<b>МПЦ</b> MFC	<b>Индукция</b> Induction	<b>0,01 %</b>	<b>НД</b> ND
<b>Острые миелоидные лейкозы</b> Acute myeloid leukaemia				
<b>J.F. San Miguel и соавт. [18]</b> J.F. San Miguel et al. [18]	<b>МПЦ</b> MFC	<b>Индукция</b> Induction	<b>0,01 % 0,1 % 1 %</b>	<b>5-летняя ВРР: &gt; 1 % – 85 %, 0,1–1 % – 45 %; 0,01–0,1 % – 14 %; &lt; 0,01 % – 0 %</b> 5-year PR: > 1 % – 85 %; 0.1–1 % – 45 %; 0.01–0.1 % – 14 %; < 0.01 % – 0 %
<b>L. Maurillo и соавт. [19]</b> L. Maurillo et al. [19]	<b>МПЦ</b> MFC	<b>Индукция</b> Induction	<b>0,035 %</b>	<b>5-летняя БРВ: ≤ 0,035 % – 50 %; &gt; 0,035 % – 22 %; p = 0,009</b> 5-year RFS: ≤ 0.035 % – 50 %; > 0.035 % – 22 %; p = 0.009
<b>HOVON/SAKK AML 42A, M. Terwijn и соавт. [20]</b> HOVON/SAKK AML 42A, M. Terwijn et al. [20]	<b>МПЦ</b> MFC	<b>Индукция 2</b> Induction II	<b>0,1 %</b>	<b>4-летняя БРВ: ≤ 0,1 % – 52 %; &gt; 0,1 % – 23 %</b> 4-year RFS: ≤ 0.1 % – 52 %; > 0.1 % – 23 %
<b>DCOG ANLL97/MRC AML12, V.H. van der Velden и соавт. [21]</b> DCOG ANLL97/MRC AML12, V.H. van der Velden et al. [21]	<b>МПЦ</b> MFC	<b>Индукция</b> Induction	<b>0,1 % 0,5 %</b>	<b>3-летняя БРВ: &lt; 0,1 % – 85 ± 8 %; 0,1–0,5 – 64 ± 10 %; &gt; 0,5 % – 14 ± 10 %</b> 3-year RFS: < 0.1 % – 85 ± 8 %; 0.1–0.5 % – 64 ± 10 %; > 0.5 % – 14 ± 10 %
<b>S. Buonamici и соавт. [22]</b> S. Buonamici et al. [22]	<b>ПЦР</b> PCR	<b>На протяжении всей терапии</b> Throughout therapy	<b>0,12 % 0,25 %</b>	<b>&lt; 0,12 % – наибольшая вероятность устойчивой ремиссии; &gt; 0,25 % – высокая вероятность развития рецидива</b> < 0.12 % – the greatest probability of sustained remission; > 0.25 % – high probability of relapse

Протокол, авторы Protocol/authors	Метод Method	Контрольная точка Control point	Порог Cut-off	Выживаемость Survival rate
<b>D. Cilloni и соавт. [23]</b> <i>D. Cilloni et al. [23]</i>	<b>ПЦР</b> PCR	<b>Индукция</b> Induction	<b>Редукция на 2 log</b> 2-log reduction	<b>5-летняя ВРР: &lt; 2 log — 75 %; ≥ 2 log — 40 %</b> 5-year PR: <2 log — 75 %; ≥ 2 log — 40 %
<b>Т.И. Лобанова и соавт. [24]</b> <i>T.I. Lobanova et al. [24]</i>	<b>МПЦ</b> MFC	<b>Индукция 1, 2</b> Induction I, II	<b>0,01 %</b>	<b>Три группы больных: достигшие &lt; 0,01 % после индукции 1, &lt; 0,01 % после индукции 2 и &gt; 0,01 % после индукции 2. Двухлетняя БРВ составила 90, 48 и 32 % соответственно</b> Three cohorts: < 0.01 % after induction I, < 0.01 % after induction II, > 0.01 % after induction II. 2-year RFS 90, 48 and 32 % respectively

**Примечание.** ПЦР — полимеразная цепная реакция, МПЦ — многоцветная проточная цитометрия, БСВ — бессобытийная выживаемость, ПР — полная ремиссия, ВРР — вероятность развития рецидива, БРВ — безрецидивная выживаемость, НД — нет данных или количественные данные не представлены.

Note. PCR — polymerase chain reaction, MFC — multicolour flow cytometry, EFS — event-free survival, CR — complete remission, PR — probability of relapse, RFS — relapse-free survival, ND — no data or quantitative data not provided.

выполняется ТГСК от родственного или неродственного совместимого донора. Результаты лечения по этому протоколу сравнили с данными предыдущего протокола ALL-REZ BFM P95/96 [28], в котором ТГСК проводили независимо от результатов МОБ в конце индукции. В группе больных с МОБ  $\geq 10^{-3}$  вероятность бессобытийной выживаемости составила 64 % при лечении по протоколу ALL-REZ BFM 2002 и 18 % — по протоколу ALL-REZ BFM P95/96 ( $p < 0,001$ ). Прицельное выполнение ТГСК улучшило прогноз у больных с медленной редукцией опухоли [28].

Таким образом, раннее исследование МОБ способствует ранней стратификации больных на группы риска и проведению корректировки химиотерапии. С одной стороны, если у больного произошел очень быстрый клиренс опухолевой массы (и на основании величины МОБ в контрольной точке установлен благоприятный прогноз), то возможно уменьшить дозы химиотерапевтических препаратов и тем самым снизить частоту развития неблагоприятных эффектов терапии. С другой стороны, когда скорость редукции опухолевых клеток низкая, и в контрольных точках выявляется большое количество МОБ, можно провести интенсификацию терапии, рассмотреть возможность смены препаратов или проведения ТГСК.

В протоколах терапии острых лейкозов у взрослых по результатам исследования МОБ также принимаются решения об изменении терапии, но в основном в отношении проведения ТГСК, а не коррекции терапевтических доз химиопрепаратов. В испанском исследовании PETHEMA ALL-AR-03 trial (NCT00853008) [29] кандидатами для ТГСК являются только больные, у которых высокие показатели МОБ, а не все больные, относящиеся к группе высокого риска. В протоколе GMALL 07/2003 (NCT00198991) [30] при персистенции МОБ  $> 10^{-4}$  в конце консолидации решается

вопрос о ТГСК. В российском протоколе терапии Ph-негативных (Ph — Philadelphia chromosome, филадельфийская хромосома) ОЛЛ «ALL-2016» (NCT01193933) [31] сочетание начального лейкоцитоза и персистенция МОБ на 190-й день предусматривают решение вопроса о смене терапии и выполнении ТГСК.

Важным является вопрос о предтрансплантационном значении МОБ. Z. Shen и соавт. [32] провели метаанализ, включавший 21 исследование, посвященное влиянию МОБ непосредственно перед ТГСК у больных ОЛЛ. Эти исследования были опубликованы в 1998–2016 гг., а в качестве метода детекции МОБ применялись и МПЦ, и ПЦР. Анализ данных показал, что больные с МОБ-положительным статусом перед ТГСК имели более высокий риск развития рецидива, чем больные с МОБ-негативным статусом (отношение рисков (ОР) составило 3,26;  $p < 0,05$ ), а также меньшую продолжительность безрецидивной выживаемости (ОР = 2,53;  $p < 0,05$ ) и общей выживаемости (ОР = 1,98;  $p < 0,05$ ).

У больных ОМЛ наблюдается такая же закономерность: при выявлении МОБ перед ТГСК вероятность рецидива значимо выше, чем в случае отсутствия МОБ [33–35]. S. A. Buckley и соавт. [36] выполнили метаанализ, включивший 19 статей о влиянии МОБ при ОМЛ перед ТГСК, опубликованных в 2005–2016 гг. По результатам анализа, выявление МОБ перед ТГСК ассоциировано с более высоким риском развития рецидива и худшей общей выживаемостью.

Таким образом, во многих протоколах предусмотрено проведение ТГСК у больных с персистирующей МОБ на определенном этапе терапии. Однако выполнение ТГСК в МОБ-положительном статусе ассоциировано с неблагоприятным прогнозом, а именно — высоким риском рецидива в посттрансплантационном периоде. Поэтому проводится разработка терапевтических

тактик, позволяющих добиться МОБ-негативности с последующим проведением ТГСК. Например, в исследовании ALL-REZ BFM 2002 [27] больным с МОБ  $\geq 10^{-3}$  перед ТГСК были проведены интервенционные блоки химиотерапии, и в 78 % случаев произошла редукция МОБ. Однако значимого уменьшения вероятности рецидива после ТГСК не достигнуто [37]. Более перспективным представляется применение иммунотерапии. Показана эффективность применения блинатумомаба у взрослых больных В-ОЛЛ с персистирующей МОБ ( $n = 113$ ). Элиминация остаточных опухолевых клеток после 1-го цикла терапии была достигнута у 88 (78 %) больных, и 55 больным была проведена ТГСК. Медиана безрецидивной выживаемости для МОБ-негативных больных составила 23,6 месяца, для МОБ-позитивных — 12,5 месяца ( $p = 0,002$ ). Авторы пришли к выводу, что такие результаты выгодно отличаются от ранее опубликованных данных для больных с МОБ-позитивным статусом или рефрактерными ОЛЛ [38].

В некоторых протоколах терапии ОЛЛ для больных детского возраста проводится анализ МОБ на очень ранних этапах терапии. У детей больных ОЛЛ с ранней МОБ-негативностью риск развития рецидива крайне низкий, поэтому длительный мониторинг МОБ на отдаленных этапах терапии, ассоциированный с инвазивной процедурой забора КМ, у них нецелесообразен. У взрослых больных ситуация иная: даже при достижении ранней МОБ-негативности риск развития рецидива довольно высок и достигает 20–30 % [4, 12, 39].

Мониторинг МОБ после достижения больным МОБ-негативности также может быть полезен в качестве предиктивного метода обнаружения развивающегося рецидива. В исследовании N. Ретмагаји и соавт. [40] с 2003 по 2014 гг. ОЛЛ диагностировали у 647 взрослых больных, среди них МОБ-негативности, которую определяли МПЦ, достигли 536 (91 %) больных. У МОБ-негативных больных был продолжен мониторинг МОБ в ПР на отдаленных этапах терапии, и у 55 из них была обнаружена МОБ, то есть выявлен МОБ-рецидив. Медиана времени до МОБ-рецидива составила 14 месяцев (разброс от 3 до 58 месяцев). У 44 (80 %) больных в дальнейшем развился морфологический рецидив. Медиана продолжительности сохранения ПР после МОБ-рецидива составила 3 месяца (разброс: < 1–33 месяца). У 49 из 55 больных с МОБ-рецидивом до развития морфологического рецидива проводилась терапия: у 16 больных продолжили поддерживающую терапию в соответствии с протоколом, у 15 больных провели интенсифицированную терапию, у 9 больных сменили терапию и включили неларабин, блинатумомаб или ритуксимаб, и у 9 больных выполнили ТГСК. При сравнении этих терапевтических подходов не было получено достоверных отличий по общей выживаемости, однако выборки больных были небольшими [40].

Основываясь на представленных данных, целесообразно проведение оценки МОБ у взрослых больных, по крайней мере ОЛЛ, через каждые 3 месяца до конца поддерживающей терапии [4, 40, 41].

Таким образом, определение МОБ интегрировано в протоколы терапии и проводится в определенные контрольные точки определенным методом. Нельзя пороговые значения МОБ, полученные на одном протоколе, автоматически переносить на другой. При разработке нового протокола или режима химиотерапии необходимо проводить проспективные исследования и определять пороговые значения и контрольные точки, а не заимствовать их из других протоколов. Методы оценки МОБ в российских протоколах терапии острых лейкозов у взрослых представлены в таблице 2.

## Сопоставление количества бластных клеток, определенных разными методами

МОБ — это опухолевые клетки, которые можно обнаружить чувствительными методами у больных, у которых достигнута ПР, которая устанавливается при наличии в пунктате КМ менее 5 % бластных клеток. Тогда вызывает недоумение тот факт, что в протоколе AIEOP-BFM ALL 2000 [25] неблагоприятным прогностическим фактором явилась МОБ более 10 % в КМ на 15-й день, определенная методом МПЦ. В данном исследовании [16] сравнивались результаты МОБ с количеством бластных клеток, определенных морфологическим методом. Была показана хорошая корреляция между этими показателями, однако были и случаи несоответствия данных. С одной стороны, МОБ < 0,1 % была получена у 295 больных, при этом у 48 (16,3 %) из них количество бластных клеток было > 5 %, т. е. ПР фактически отсутствовала. С другой стороны, МОБ  $\geq 10$  % определялась у 76 больных, при этом у 19 (25 %) из них бластных клеток было меньше 5 %, т. е. морфологическая ремиссия была достигнута, но вероятность рецидива у них была 36,8 % [16]. Такие несоответствия данных можно объяснить:

1. Разведение КМ периферической кровью. Содержание миелокариоцитов в первой порции пунктата КМ превышает клеточность второй порции в 3 и более раза [42]. Значительная примесь крови меняет соотношение субпопуляций клеток, и доля бластных клеток не может быть точно подсчитана. Поэтому для мониторинга МОБ рекомендуется исследование первой порции КМ объемом 0,5–1 мл.

2. Неудовлетворительное качество мазков КМ, когда подсчет бластных клеток затруднен, особенно при гипоплазии КМ.

3. Интенсивное восстановление кроветворения, при котором количество бластных клеток в пунктате КМ может быть больше 5 %, а МОБ может быть очень

**Таблица 2.** Исследование минимальной остаточной болезни в российских протоколах терапии острых лейкозов у взрослых  
**Table 2.** Minimal residual disease estimation in national treatment protocols for acute leukaemia in adults

Протокол Protocol	Метод Method	Контрольные точки Control points
<b>ALL-2016 (терапия Т-ОЛЛ и В-ОЛЛ за исключением лейкоза/лимфомы Беркитта)</b> <i>ALL-2016 (therapy for T-ALL and B-ALL, excluding Burkitt's leukaemia/lymphoma)</i>	МПЦ MFC	<b>70-й день (индукция II); 133-й день (консолидация III); 190-й день (консолидация V);</b> <i>Day 70 (induction II); day 133 (consolidation III); day 190 (consolidation V)</i>
<b>Rh+ALL-2012m (терапия Rh-положительных В-ОЛЛ)</b> <i>Rh+ALL-2012m (therapy for Rh-positive B-ALL)</i>	<b>ПЦР по транскриптам, <i>bcr-abl</i> (p190 и/или p210)</b> <i>Transcript PCR, bcr-abl (p190 and/or p210)</i>	<b>70-й день (индукция II); –133-й день (консолидация II); 161-й день (перед поддерживающей терапией); периодический мониторинг каждые 3 месяца; перед ТГСК</b> <i>Day 70 (induction II); day –133 (consolidation II); day 161 (prior to maintenance therapy); monitoring every 3 months; prior to HSCT</i>
<b>Универсальный протокол 7+3, ОМЛ-2017 (терапия ОМЛ)</b> <i>Universal protocol "7+3", AML-2017 (AML therapy)</i>	<b>ПЦР / PCR, <i>RUNX1-RUNX1T1, CBFB-MYH11, NP1</i></b> <i>PCR, RUNX1-RUNX1T1, CBFB-MYH11, NPM1</i>	<b>после курса № 1; после курса № 2; перед ТГСК</b> <i>After course 1; after course 2; prior to HSCT</i>
	МПЦ MFC	
<b>mAIDA, ATRA-ATO-CT (терапия ОПЛ)</b> <i>(APL therapy)</i>	<b>ПЦР / PCR, <i>PML-RAR<math>\alpha</math></i></b>	<b>После каждого курса, мониторинг через каждые 3–6 месяцев в течение поддерживающей терапии</b> <i>After each course; monitoring every 3–6 months of maintenance therapy</i>

**Примечание.** ОЛЛ — острый лимфобластный лейкоз, МПЦ — многоцветная проточная цитометрия, ПЦР — полимеразная цепная реакция, ТГСК — трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, ОМЛ — острый миелоидный лейкоз, ОПЛ — острый промиелоцитарный лейкоз.

*Note.* ALL — acute lymphoblastic leukaemia, MFC — multicolour flow cytometry, PCR — polymerase chain reaction, HSCT — haematopoietic stem cell transplantation, AML — acute myeloid leukaemia, APL — acute promyelocytic leukaemia.

низкой или не определяться вообще. В этом случае бластные клетки, которые определяются морфологически, вероятнее всего являются нормальными гемопоэтическими предшественниками, а не опухолевыми клетками.

Детекция МОБ методом ПЦР и методом МПЦ показала большую прогностическую значимость во многих протоколах терапии острых лейкозов. Однако в рамках одного протокола обычно используют только один из этих методов. Несмотря на это, имеются данные, сравнивающие результаты МОБ, полученные одновременно разными методами. При сравнении оценки МОБ методом ПЦР и методом МПЦ обычно получают высокую сопоставимость данных (около 90 %). Лишь в небольшой группе больных положительный результат МОБ был получен только одним методом. Объяснения данного явления могут быть сведены к следующим причинам:

1) Различия в чувствительности методов. ПЦР обычно более чувствителен, чем МПЦ.

2) Некоторые опухолевые клетки проходят стадию апоптоза, при этом, так как они содержат ДНК, результат ПЦР будет положительным, а метод МПЦ, исключая их из анализа, дает отрицательный результат;

3) Смена иммунофенотипа приводит к отрицательным результатам МПЦ при положительных данных ПЦР;

4) Подбор пациент-специфичных праймеров к минорной опухолевой субпопуляции, которая элиминируется в ходе терапии, приводит к отрицательным результатам ПЦР и положительным — МПЦ [43, 44].

Несоответствия результатов можно получить и между двумя вариантами мониторинга МОБ методом ПЦР. В исследовании L. Novorkova и соавт. [45] изучали МОБ у детей с Rh+ ОЛЛ тремя методами: ПЦР с пациент-специфичными праймерами к химерному гену *BCR-ABL1* (то есть мониторируют уровень ДНК, а не РНК), к перестройкам генов иммуноглобулина/Т-клеточного рецептора (ИГ/ТКР) и к делеции гена *IKZF1*. Была отмечена хорошая корреляция между этими тремя методами у большинства больных, однако у более 20 % больных количество химерного гена *BCR-ABL1* значительно (> 1 log) превышало количество перестроенных генов ИГ/ТКР и гена *IKZF1* с делецией. Авторами [45] была проведена сортировка клеточных субпопуляций и оценена частота выявления гена *BCR-ABL1* в них с помощью метода флуоресцентной гибридизации *in situ*. Оказалось, что у больных с несоответствующими результатами ПЦР *BCR-ABL1* определялся также в зрелых В- и Т-лимфоцитах и миелоидных

клетках [45]. Аналогичные результаты были получены и в других исследованиях [46–48].

В исследовании Н. Inaba и соавт. [49] в рамках протокола AML02 (NCT00136084) [50] было получено, что практически все (308 из 311) ПЦР-негативные образцы также были МПЦ-негативны. Однако только 19 из 197 (9,6 %) ПЦР-позитивных по *RUNX1-RUNX1T1* и *CBFB-MYH11* образцов были МПЦ-позитивны. В данном исследовании только данные МПЦ имели прогностическую значимость после курсов индукции 1 и 2, тогда как результаты ПЦР такого значения не имели [49].

## Литература

1. Cheson B.D., Bennett J.M., Kopecky K.J. et al. Revised recommendations of the international working group for diagnosis, standardization of response criteria, treatment outcomes, and reporting standards for therapeutic trials in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol.* 2003; 21(24): 4642–9. DOI: 10.1200/JCO.2003.04.036.
2. Pui C.H., Campana D. New definition of remission in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 2000; 14(5): 783–5. DOI: 10.1038/sj.leu.2401780.
3. Schuurhuis G.J., Heuser M., Freeman S. et al. Minimal/measurable residual disease in AML: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood.* 2018; 131(12): 1275–91. DOI: 10.1182/blood-2017-09-801498.
4. Brüggemann M., Raff T., Kneba M. Has MRD monitoring superseded other prognostic factors in adult ALL? *Blood.* 2012; 120(23): 4470–81. DOI: 10.1182/blood-2012-06-379040.
5. Pui C.H., Pei D., Coustan-Smith E. et al. Clinical utility of sequential minimal residual disease measurements in the context of risk-based therapy in childhood acute lymphoblastic leukaemia: a prospective study. *Lancet Oncol.* 2015; 16(4): 465–74. DOI: 10.1016/S1470-2045(15)70082-3.
6. Кишкун А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013; 800.
7. Brüggemann M., Kotrova M. Minimal residual disease in adult ALL: technical aspects and implications for correct clinical interpretation. *Hematol Am Soc Hematol Educ Progr.* 2017; 2017(1): 13–21. DOI: 10.1182/asheducation-2017.1.13.
8. Ravandi F., Jorgensen J.L., Thomas D.A. et al. Detection of MRD may predict the outcome of patients with Philadelphia chromosome-positive ALL treated with tyrosine kinase inhibitors plus chemotherapy. *Blood.* 2013; 122(7): 1214–21. DOI: 10.1182/blood-2012-11-466482.
9. Zhou Y., Slack R., Jorgensen J.L. et al. The effect of peritransplant minimal residual disease in adults with acute lymphoblastic leukemia undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Lymphoma, Myeloma Leuk.* 2014; 14(4): 319–26. DOI: 10.1016/j.clml.2014.01.002.
10. Sanoja-Flores L., Paiva B., Flores-Montero J.A. et al. Next generation flow (NGF): a high sensitive technique to detect circulating peripheral blood (PB) clonal plasma cells (cPC) in patients with newly diagnosed of plasma cell neoplasms (PCN). *Blood.* 2015; 126(23): 4180. DOI: 10.1182/blood.V126.23.4180.4180.
11. Borowitz M.J., Pullen D.J., Shuster J.J. et al. Minimal residual disease detection in childhood precursor-B-cell acute lymphoblastic leukemia: relation to other risk factors. A Children's Oncology Group study. *Leukemia.* 2003; 17(8): 1566–72. DOI: 10.1038/sj.leu.2403001.
12. Gökbuget N., Kneba M., Raff T. et al. Adult patients with acute lymphoblastic leukemia and molecular failure display a poor prognosis and are candidates for

Таким образом, определение МОБ при острых лейкозах стало обязательным направлением научно-клинических исследований. Количественные значения МОБ используют для стратификации больных на группы риска по глубине ответа на терапию и прогнозирования развития рецидива. Несмотря на многочисленные исследования МОБ, необходимо учитывать, что пороговые значения МОБ, определяющие различные прогностические группы больных, применимы только в рамках того протокола, в котором они были получены.

## References

1. Cheson B.D., Bennett J.M., Kopecky K.J. et al. Revised recommendations of the international working group for diagnosis, standardization of response criteria, treatment outcomes, and reporting standards for therapeutic trials in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol.* 2003; 21(24): 4642–9. DOI: 10.1200/JCO.2003.04.036.
2. Pui C.H., Campana D. New definition of remission in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 2000; 14(5): 783–5. DOI: 10.1038/sj.leu.2401780.
3. Schuurhuis G.J., Heuser M., Freeman S. et al. Minimal/measurable residual disease in AML: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood.* 2018; 131(12): 1275–91. DOI: 10.1182/blood-2017-09-801498.
4. Brüggemann M., Raff T., Kneba M. Has MRD monitoring superseded other prognostic factors in adult ALL? *Blood.* 2012; 120(23): 4470–81. DOI: 10.1182/blood-2012-06-379040.
5. Pui C.H., Pei D., Coustan-Smith E. et al. Clinical utility of sequential minimal residual disease measurements in the context of risk-based therapy in childhood acute lymphoblastic leukaemia: a prospective study. *Lancet Oncol.* 2015; 16(4): 465–74. DOI: 10.1016/S1470-2045(15)70082-3.
6. Kishkun A.A. Laboratory diagnostic guide. Moscow: GEOTAR-Media, 2013; 800 (In Russian).
7. Brüggemann M., Kotrova M. Minimal residual disease in adult ALL: technical aspects and implications for correct clinical interpretation. *Hematol Am Soc Hematol Educ Progr.* 2017; 2017(1): 13–21. DOI: 10.1182/asheducation-2017.1.13.
8. Ravandi F., Jorgensen J.L., Thomas D.A. et al. Detection of MRD may predict the outcome of patients with Philadelphia chromosome-positive ALL treated with tyrosine kinase inhibitors plus chemotherapy. *Blood.* 2013; 122(7): 1214–21. DOI: 10.1182/blood-2012-11-466482.
9. Zhou Y., Slack R., Jorgensen J.L. et al. The effect of peritransplant minimal residual disease in adults with acute lymphoblastic leukemia undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Lymphoma, Myeloma Leuk.* 2014; 14(4): 319–26. DOI: 10.1016/j.clml.2014.01.002.
10. Sanoja-Flores L., Paiva B., Flores-Montero J.A. et al. Next generation flow (NGF): a high sensitive technique to detect circulating peripheral blood (PB) clonal plasma cells (cPC) in patients with newly diagnosed of plasma cell neoplasms (PCN). *Blood.* 2015; 126(23): 4180. DOI: 10.1182/blood.V126.23.4180.4180.
11. Borowitz M.J., Pullen D.J., Shuster J.J. et al. Minimal residual disease detection in childhood precursor-B-cell acute lymphoblastic leukemia: relation to other risk factors. A Children's Oncology Group study. *Leukemia.* 2003; 17(8): 1566–72. DOI: 10.1038/sj.leu.2403001.
12. Gökbuget N., Kneba M., Raff T. et al. Adult patients with acute lymphoblastic leukemia and molecular failure display a poor prognosis and are candidates for

- stem cell transplantation and targeted therapies. *Blood*. 2012; 120(9): 1868–76. DOI: 10.1182/blood-2011-09-377713.
13. Beldjord K., Chevret S., Asnafi V. et al. Oncogenetics and minimal residual disease are independent outcome predictors in adult patients with acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2014; 123(24): 3739–49. DOI: 10.1182/blood-2014-01-547695.
14. Bassan R., Spinelli O., Oldani E. et al. Improved risk classification for risk-specific therapy based on the molecular study of minimal residual disease (MRD) in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood*. 2009; 113(18): 4153–62. DOI: 10.1182/blood-2008-11-185132.
15. Ribera J.M., Oriol A., Morgades M. et al. Treatment of high-risk Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia in adolescents and adults according to early cytologic response and minimal residual disease after consolidation assessed by flow cytometry: final results of the PETHEMA ALL-AR-03 trial. *J Clin Oncol*. 2014; 32(15): 1595–1604. DOI: 10.1200/JCO.2013.52.2425.
16. Basso G., Veltroni M., Valsecchi M.G. et al. Risk of relapse of childhood acute lymphoblastic leukemia is predicted by flow cytometric measurement of residual disease on day 15 bone marrow. *J Clin Oncol*. 2009; 27(31): 5168–74. DOI: 10.1200/JCO.2008.20.8934.
17. Björklund E., Mazur J., Söderhäll S., Porwit-MacDonald A. Flow cytometric follow-up of minimal residual disease in bone marrow gives prognostic information in children with acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 2003; 17(1): 138–48. DOI: 10.1038/sj.leu.2402736.
18. San Miguel J.F., Vidrales M.B., López-Berges C. et al. Early immunophenotypic evaluation of minimal residual disease in acute myeloid leukemia identifies different patient risk groups and may contribute to postinduction treatment stratification. *Blood*. 2001; 98(6): 1746–51. DOI: 10.1182/blood.v98.6.1746
19. Maurillo L., Buccisano F., Del Principe M.I. et al. Toward optimization of postremission therapy for residual disease-positive patients with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2008; 26(30): 4944–51. DOI: 10.1200/JCO.2007.15.9814.
20. Terwijn M., van Putten W.L.J., Kelder A. et al. High prognostic impact of flow cytometric minimal residual disease detection in acute myeloid leukemia: data from the HOVON/SAKK AML 42A study. *J Clin Oncol*. 2013; 31(31): 3889–97. DOI: 10.1200/JCO.2012.45.9628.
21. van der Velden V.H.J., van der Sluijs-Geling A., Gibson B.E.S. et al. Clinical significance of flowcytometric minimal residual disease detection in pediatric acute myeloid leukemia patients treated according to the DCOG ANLL97/MRC AML12 protocol. *Leukemia*. 2010; 24(9): 1599–1606. DOI: 10.1038/leu.2010.153.
22. Buonamici S., Ottaviani E., Testoni N. et al. Real-time quantitation of minimal residual disease in inv(16)-positive acute myeloid leukemia may indicate risk for clinical relapse and may identify patients in a curable state. *Blood*. 2002; 99(2): 443–9. DOI: 10.1182/blood.v99.2.443.
23. Cilloni D., Renneville A., Hermitte F. et al. Real-time quantitative polymerase chain reaction detection of minimal residual disease by standardized WT1 assay to enhance risk stratification in acute myeloid leukemia: a European LeukemiaNet study. *J Clin Oncol*. 2009; 27(31): 5195–201. DOI: 10.1200/JCO.2009.22.4865.
24. Lobanova T., Parovichnikova E., Galtseva I. et al. Negative minimal residual disease status by multicolour flow cytometry after 1st course is the most predictive factor for AML patients. *HemaSphere*. 2019; 3: 477. DOI: 10.1097/O1.hs9.0000562516.06403.b0.
25. Combination Chemotherapy Based on Risk of Relapse in Treating Young Patients With Acute Lymphoblastic Leukemia (AIEOP LLA 2000). *ClinicalTrials.gov* (database of privately and publicly funded clinical studies), 2008: <https://clinicaltrials.gov/>.
- stem cell transplantation and targeted therapies. *Blood*. 2012; 120(9): 1868–76. DOI: 10.1182/blood-2011-09-377713.
13. Beldjord K., Chevret S., Asnafi V. et al. Oncogenetics and minimal residual disease are independent outcome predictors in adult patients with acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2014; 123(24): 3739–49. DOI: 10.1182/blood-2014-01-547695.
14. Bassan R., Spinelli O., Oldani E. et al. Improved risk classification for risk-specific therapy based on the molecular study of minimal residual disease (MRD) in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood*. 2009; 113(18): 4153–62. DOI: 10.1182/blood-2008-11-185132.
15. Ribera J.M., Oriol A., Morgades M. et al. Treatment of high-risk Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia in adolescents and adults according to early cytologic response and minimal residual disease after consolidation assessed by flow cytometry: final results of the PETHEMA ALL-AR-03 trial. *J Clin Oncol*. 2014; 32(15): 1595–1604. DOI: 10.1200/JCO.2013.52.2425.
16. Basso G., Veltroni M., Valsecchi M.G. et al. Risk of relapse of childhood acute lymphoblastic leukemia is predicted by flow cytometric measurement of residual disease on day 15 bone marrow. *J Clin Oncol*. 2009; 27(31): 5168–74. DOI: 10.1200/JCO.2008.20.8934.
17. Björklund E., Mazur J., Söderhäll S., Porwit-MacDonald A. Flow cytometric follow-up of minimal residual disease in bone marrow gives prognostic information in children with acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 2003; 17(1): 138–48. DOI: 10.1038/sj.leu.2402736.
18. San Miguel J.F., Vidrales M.B., López-Berges C. et al. Early immunophenotypic evaluation of minimal residual disease in acute myeloid leukemia identifies different patient risk groups and may contribute to postinduction treatment stratification. *Blood*. 2001; 98(6): 1746–51. DOI: 10.1182/blood.v98.6.1746
19. Maurillo L., Buccisano F., Del Principe M.I. et al. Toward optimization of postremission therapy for residual disease-positive patients with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2008; 26(30): 4944–51. DOI: 10.1200/JCO.2007.15.9814.
20. Terwijn M., van Putten W.L.J., Kelder A. et al. High prognostic impact of flow cytometric minimal residual disease detection in acute myeloid leukemia: data from the HOVON/SAKK AML 42A study. *J Clin Oncol*. 2013; 31(31): 3889–97. DOI: 10.1200/JCO.2012.45.9628.
21. van der Velden V.H.J., van der Sluijs-Geling A., Gibson B.E.S. et al. Clinical significance of flowcytometric minimal residual disease detection in pediatric acute myeloid leukemia patients treated according to the DCOG ANLL97/MRC AML12 protocol. *Leukemia*. 2010; 24(9): 1599–1606. DOI: 10.1038/leu.2010.153.
22. Buonamici S., Ottaviani E., Testoni N. et al. Real-time quantitation of minimal residual disease in inv(16)-positive acute myeloid leukemia may indicate risk for clinical relapse and may identify patients in a curable state. *Blood*. 2002; 99(2): 443–9. DOI: 10.1182/blood.v99.2.443.
23. Cilloni D., Renneville A., Hermitte F. et al. Real-time quantitative polymerase chain reaction detection of minimal residual disease by standardized WT1 assay to enhance risk stratification in acute myeloid leukemia: a European LeukemiaNet study. *J Clin Oncol*. 2009; 27(31): 5195–201. DOI: 10.1200/JCO.2009.22.4865.
24. Lobanova T., Parovichnikova E., Galtseva I. et al. Negative minimal residual disease status by multicolour flow cytometry after 1st course is the most predictive factor for AML patients. *HemaSphere*. 2019; 3: 477. DOI: 10.1097/O1.hs9.0000562516.06403.b0.
25. Combination Chemotherapy Based on Risk of Relapse in Treating Young Patients With Acute Lymphoblastic Leukemia (AIEOP LLA 2000). *ClinicalTrials.gov* (database of privately and publicly funded clinical studies), 2008: <https://clinicaltrials.gov/>.

26. Clinical trials AIEOP-BFM ALL 2009 (2007-004270-43). EU Clinical Trials Register, 2010: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/>.
27. ALL-REZ BFM 2002: Multi-Center Study for Children With Relapsed Acute Lymphoblastic Leukemia. ClinicalTrials.gov (database of privately and publicly funded clinical studies), 2008: <https://clinicaltrials.gov/>
28. Eckert C., von Stackelberg A., Seeger K. et al. 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. *Eur J Cancer*. 2013; 49(6): 1346–55. DOI: 10.1016/j.ejca.2012.11.010.
29. Treatment of High Risk Adult Acute Lymphoblastic Leukemia (LAL-AR/2003). ClinicalTrials.gov (database of privately and publicly funded clinical studies), 2009: <https://clinicaltrials.gov/>.
30. German Multicenter Trial for Treatment of Newly Diagnosed Acute Lymphoblastic Leukemia in Adults (07/2003). ClinicalTrials.gov (database of privately and publicly funded clinical studies), 2005: <https://clinicaltrials.gov/>.
31. Multicenter Clinical Trial for Adult Ph-negative ALL. Non-intensive But Non-interruptive Treatment. ClinicalTrials.gov (database of privately and publicly funded clinical studies), 2010: <https://clinicaltrials.gov/>.
32. Shen Z., Gu X., Mao W. et al. Influence of pre-transplant minimal residual disease on prognosis after Allo-SCT for patients with acute lymphoblastic leukemia: Systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer*. 2018; 18(1). DOI: 10.1186/s12885-018-4670-5.
33. Leung W., Pui C.H., Coustan-Smith E. et al. Detectable minimal residual disease before hematopoietic cell transplantation is prognostic but does not preclude cure for children with very-high-risk leukemia. *Blood*. 2012; 120(2): 468–72. DOI: 10.1182/blood-2012-02-409813.
34. Norkin M., Katragadda L., Zou F. et al. Minimal residual disease by either flow cytometry or cytogenetics prior to an allogeneic hematopoietic stem cell transplant is associated with poor outcome in acute myeloid leukemia. *Blood Cancer J*. 2017; 7(12): 634. DOI: 10.1038/s41408-017-0007-x.
35. Anthias C., Dignan F.L., Morilla R. et al. Pre-transplant MRD predicts outcome following reduced-intensity and myeloablative allogeneic hemopoietic SCT in AML. *Bone Marrow Transplant*. 2014; 49(5): 679–83. DOI: 10.1038/bmt.2014.9.
36. Buckley S.A., Wood B.L., Othus M. et al. Minimal residual disease prior to allogeneic hematopoietic cell transplantation in acute myeloid leukemia: a meta-analysis. *Haematologica*. 2017; 102(5): 865–73. DOI: 10.3324/haematol.2016.159343.
37. Eckert C., Chen-Santel C., Peters C. et al. Interventional intensification of chemotherapy prior to hematopoietic stem cell transplantation reduces residual leukemia but does not improve survival in children with relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2014; 124(21): 61. DOI: 10.1182/blood.v124.21.61.61.
38. Gökbüget N., Dombret H., Bonifacio M. et al. Blinatumomab for minimal residual disease in adults with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2018; 131(14): 1522–31. DOI: 10.1182/blood-2017-08-798322.
39. Brüggemann M., Raff T., Flohr T. et al. Clinical significance of minimal residual disease quantification in adult patients with standard-risk acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2006; 107(3): 1116–23. DOI: 10.1182/blood-2005-07-2708.
40. Pemmaraju N., Kantarjian H., Jorgensen J.L. et al. Significance of recurrence of minimal residual disease detected by multi-parameter flow cytometry in patients with acute lymphoblastic leukemia in morphological remission. *Am J Hematol*. 2017; 92(3): 279–85. DOI: 10.1002/ajh.24629.
41. Raff T., Gökbüget N., Lüschen S. et al. Molecular relapse in adult standard-risk ALL patients detected by prospective MRD monitoring during and after main-
26. Clinical trials AIEOP-BFM ALL 2009 (2007-004270-43). EU Clinical Trials Register, 2010: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/>.
27. ALL-REZ BFM 2002: Multi-Center Study for Children With Relapsed Acute Lymphoblastic Leukemia. ClinicalTrials.gov (database of privately and publicly funded clinical studies), 2008: <https://clinicaltrials.gov/>
28. Eckert C., von Stackelberg A., Seeger K. et al. 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. *Eur J Cancer*. 2013; 49(6): 1346–55. DOI: 10.1016/j.ejca.2012.11.010.
29. Treatment of High Risk Adult Acute Lymphoblastic Leukemia (LAL-AR/2003). ClinicalTrials.gov (database of privately and publicly funded clinical studies), 2009: <https://clinicaltrials.gov/>.
30. German Multicenter Trial for Treatment of Newly Diagnosed Acute Lymphoblastic Leukemia in Adults (07/2003). ClinicalTrials.gov (database of privately and publicly funded clinical studies), 2005: <https://clinicaltrials.gov/>.
31. Multicenter Clinical Trial for Adult Ph-negative ALL. Non-intensive But Non-interruptive Treatment. ClinicalTrials.gov (database of privately and publicly funded clinical studies), 2010: <https://clinicaltrials.gov/>.
32. Shen Z., Gu X., Mao W. et al. Influence of pre-transplant minimal residual disease on prognosis after Allo-SCT for patients with acute lymphoblastic leukemia: Systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer*. 2018; 18(1). DOI: 10.1186/s12885-018-4670-5.
33. Leung W., Pui C.H., Coustan-Smith E. et al. Detectable minimal residual disease before hematopoietic cell transplantation is prognostic but does not preclude cure for children with very-high-risk leukemia. *Blood*. 2012; 120(2): 468–72. DOI: 10.1182/blood-2012-02-409813.
34. Norkin M., Katragadda L., Zou F. et al. Minimal residual disease by either flow cytometry or cytogenetics prior to an allogeneic hematopoietic stem cell transplant is associated with poor outcome in acute myeloid leukemia. *Blood Cancer J*. 2017; 7(12): 634. DOI: 10.1038/s41408-017-0007-x.
35. Anthias C., Dignan F.L., Morilla R. et al. Pre-transplant MRD predicts outcome following reduced-intensity and myeloablative allogeneic hemopoietic SCT in AML. *Bone Marrow Transplant*. 2014; 49(5): 679–83. DOI: 10.1038/bmt.2014.9.
36. Buckley S.A., Wood B.L., Othus M. et al. Minimal residual disease prior to allogeneic hematopoietic cell transplantation in acute myeloid leukemia: a meta-analysis. *Haematologica*. 2017; 102(5): 865–73. DOI: 10.3324/haematol.2016.159343.
37. Eckert C., Chen-Santel C., Peters C. et al. Interventional intensification of chemotherapy prior to hematopoietic stem cell transplantation reduces residual leukemia but does not improve survival in children with relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2014; 124(21): 61. DOI: 10.1182/blood.v124.21.61.61.
38. Gökbüget N., Dombret H., Bonifacio M. et al. Blinatumomab for minimal residual disease in adults with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2018; 131(14): 1522–31. DOI: 10.1182/blood-2017-08-798322.
39. Brüggemann M., Raff T., Flohr T. et al. Clinical significance of minimal residual disease quantification in adult patients with standard-risk acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2006; 107(3): 1116–23. DOI: 10.1182/blood-2005-07-2708.
40. Pemmaraju N., Kantarjian H., Jorgensen J.L. et al. Significance of recurrence of minimal residual disease detected by multi-parameter flow cytometry in patients with acute lymphoblastic leukemia in morphological remission. *Am J Hematol*. 2017; 92(3): 279–85. DOI: 10.1002/ajh.24629.
41. Raff T., Gökbüget N., Lüschen S. et al. Molecular relapse in adult standard-risk ALL patients detected by prospective MRD monitoring during and after main-

- tenance treatment: Data from the GMALL 06/99 and 07/03 trials. *Blood*. 2007; 109(3): 910–5. DOI: 10.1182/blood-2006-07-037093.
42. Drovkov M., Popova N., Davydova Y. et al. Preanalytical phase in flow cytometric evaluation of bone marrow. *ESCCA 2017 Abstract book*:112.
43. Neale G.A.M., Coustan-Smith E., Stow P. et al. Comparative analysis of flow cytometry and polymerase chain reaction for the detection of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 2004; 18(5): 934–8. DOI: 10.1038/sj.leu.2403348.
44. Thörn I., Forestier E., Botling J. et al. Minimal residual disease assessment in childhood acute lymphoblastic leukaemia: a Swedish multi-centre study comparing real-time polymerase chain reaction and multicolour flow cytometry. *Br J Haematol*. 2011; 152(6): 743–53. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2010.08456.x.
45. Hovorkova L., Zaliova M., Venn N.C. et al. Monitoring of childhood ALL using BCR-ABL1 genomic breakpoints identifies a subgroup with CML-like biology. *Blood*. 2017; 129(20): 2771–81. DOI: 10.1182/blood-2016-11-749978.
46. Nagel I., Bartels M., Duell J. et al. Hematopoietic stem cell involvement in BCR-ABL1-positive ALL as a potential mechanism of resistance to blinatumomab therapy. *Blood*. 2017; 130(18): 2027–31. DOI: 10.1182/blood-2017-05-782888.
47. Cazzaniga G., de Lorenzo P., Alten J. et al. Predictive value of minimal residual disease in philadelphia-chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia treated with imatinib in the European intergroup study of post-induction treatment of Philadelphia-chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia, based on immunoglobulin/T-cell receptor and BCR/ABL1 methodologies. *Haematologica*. 2018; 103(1): 107–15. DOI: 10.3324/haematol.2017.176917.
48. Schenk T.M., Keyhani A., Bottcher S. et al. Multilineage involvement of Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 1998; 12(5): 666–74. DOI: 10.1038/sj.leu.2400986.
49. Inaba H., Coustan-Smith E., Cao X. et al. Comparative analysis of different approaches to measure treatment response in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2012; 30(29): 3625–32. DOI: 10.1200/JCO.2011.41.5323.
50. Treatment of Patients With Newly Diagnosed Acute Myeloid Leukemia or Myelodysplasia. *ClinicalTrials.gov* (database of privately and publicly funded clinical studies), 2005: <https://clinicaltrials.gov/>.

### Информация об авторах

**Гальцева Ирина Владимировна\***, кандидат медицинских наук, заведующая научно-клинической лабораторией иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
e-mail: [irinagaltseva@gmail.com](mailto:irinagaltseva@gmail.com)  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8490-6066>

**Давыдова Юлия Олеговна**, врач клинической лабораторной диагностики научно-клинической лаборатории иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
e-mail: [davydova.y@blood.ru](mailto:davydova.y@blood.ru)  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5932-0285>

### Information about the authors

**Irina V. Galtseva\***, Cand. Sci. (Med.), Head of the Scientific and Clinical Laboratory for Immunophenotyping of Blood and Bone Marrow Cells, National Research Center for Hematology,  
e-mail: [irinagaltseva@gmail.com](mailto:irinagaltseva@gmail.com)  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8490-6066>

**Yulia O. Davydova**, Physician (clinical diagnostics), Scientific and Clinical Laboratory for Immunophenotyping of Blood and Bone Marrow Cells, National Research Center for Hematology,  
e-mail: [davydova.y@blood.ru](mailto:davydova.y@blood.ru)  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5932-0285>

**Паровичникова Елена Николаевна**, доктор медицинских наук, заведующая отделом химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
e-mail: parovichnikova.e@blood.ru  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6177-3566>

**Elena N. Parovichnikova**, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Chemotherapy for Hemoblastoses, Hematopoietic Depressions and BMT, National Research Center for Hematology,  
e-mail: parovichnikova.e@blood.ru  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6177-3566>

**\* Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 01.02.2020

Принята в печать: 27.10.2020

**\* Corresponding author**

Received 01 Feb 2020

Accepted 27 Oct 2020

---