

Использование комбинации цитогенетических факторов риска и молекулярно-генетических показателей, выявляемых методом множественной лигазно-зависимой амплификации зондов, для прогнозирования исходов лечения острого лимфобластного лейкоза из В-линейных предшественников у детей не дает существенных преимуществ по сравнению с изолированной оценкой делеций в гене *IKZF1*

Г.А. Цаур¹⁻⁴, А.Е. Друй^{2,5}, А.Г. Солодовников^{2,4}, А.М. Попов⁵, А.П. Шапочник⁶, Л.В. Вахонина^{1,2},
А.А. Власова¹, О.Р. Аракаев^{1,2}, Т.О. Ригер^{1,2}, Т.Ю. Вержбицкая^{1,2}, Ю.В. Ольшевская⁵,
Е.В. Шориков⁷, С.В. Цвиренко^{1,4}, Л.И. Савельев^{1,2,4}, Л.Г. Фечина^{1,2}

¹ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1»; Россия, 620149, Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32;

²ГБУЗ СО «Центр организации специализированных видов медицинской помощи «Институт медицинских клеточных технологий»; Россия, 620026, Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22, корп. А; ³ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН»; Россия, 620049, Екатеринбург, ул. Первомайская, 106; ⁴ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России; Россия, 620030, Екатеринбург, ул. Репина, 3; ⁵ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1; ⁶ГБУЗ «Оренбургский областной клинический онкологический диспансер»; Россия, 460021, Оренбург, просп. Гагарина, 11;

⁷ООО «ПЭТ-Технолджи»; Россия, 620905, Екатеринбург, ул. Соболева, 29, стр. 8

Контактные данные: Григорий Анатольевич Цаур tsaur@mail.ru

Целью работы являлась оценка прогностического значения комбинации цитогенетических и молекулярно-генетических показателей, выявляемых методом множественной лигазно-зависимой амплификации зондов (Multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA) у 142 детей с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ). В группу низкого генетического риска (НГР) вошли 114 пациентов с транслокацией $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$ или высокой гипердиплоидией с отсутствием делеций генов *IKZF1*, *PAX5*, *ETV6*, *RB1*, *BTG1*, *EBF1*, *CDKN2A/2B* и в псевдоаутосомном регионе *PAR1*, или с единичными делециями генов *ETV6/PAX5/BTG1*, или наличием делеций гена *ETV6* с одной дополнительной делецией *BTG1/PAX5/CDKN2A/B*. Всех остальных пациентов ($n = 28$) относили к группе высокого генетического риска (ВГР). Пациенты ВГР были достоверно старше ($p = 0,015$), чаще стратифицировались в группу высокого риска протокола ALL-MB-2008 ($p = 0,001$), имели высокий инициальный лейкоцитоз ($p = 0,008$), МЗ-статус костного мозга на 15-й день индукционной терапии ($p = 0,002$), отсутствие гематологической ремиссии на 36-й день ($p = 0,039$) по сравнению с группой НГР. Больные группы ВГР имели статистически значимо более низкие бессобытийную выживаемость (БСВ) ($0,59 \pm 0,11$ и $0,88 \pm 0,03$; $p = 0,0008$) и общую выживаемость (ОВ) ($0,63 \pm 0,15$ и $0,93 \pm 0,02$; $p = 0,0050$), а также более высокую кумулятивную частоту развития рецидива (КЧР) ($0,38 \pm 0,12$ и $0,06 \pm 0,02$; $p < 0,0001$) по сравнению с группой НГР. Деление на группы генетического риска сохраняло прогностическое значение и в многофакторном анализе по влиянию на БСВ (относительный риск (ОР) — 2,659; 95 % ДИ 1,047–6,755; $p = 0,040$) и КЧР (ОР — 3,864; 95 % ДИ 1,226–12,183; $p = 0,021$), но не влияло на ОВ (ОР — 1,479; 95 % ДИ 0,356–6,139; $p = 0,590$). Деление на группы генетического риска утрачивало свою прогностическую роль в группе «другие В-линейные ОЛЛ». Большинство неблагоприятных событий (9 из 10) и рецидивов (8 из 9) у пациентов группы ВГР было выявлено при наличии у них делеций *IKZF1*. Более того, все 15 пациентов с делециями *IKZF1* были отнесены нами к группе ВГР. В связи с этим при включении делеций *IKZF1* в многофакторную модель группа ВГР утрачивала свое неблагоприятное значение как по влиянию на риск неблагоприятного события (ОР — 0,696; 95 % ДИ 0,086–5,636; $p = 0,735$), так и на риск рецидива (ОР — 0,511; 95 % ДИ 0,053–4,924; $p = 0,561$), в то время как делеции *IKZF1* сохраняли свое негативное влияние и на БСВ (ОР — 4,292; 95 % ДИ 1,521–12,911; $p = 0,006$), и на риск рецидива (ОР — 9,163; 95 % ДИ 3,131–26,815; $p < 0,001$). Таким образом, использование комбинации цитогенетических групп риска и MLPA-маркеров для прогнозирования исходов лечения ВП-ОЛЛ у детей не дает существенных преимуществ по сравнению с изолированной оценкой делеций в гене *IKZF1*.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, цитогенетические группы риска, дети, прогноз, факторы риска, делеции гена *IKZF1*, MLPA

DOI: 10.17650/2311-1267-2017-5-1-34-43

Application of cytogenetic risk factors and molecular markers, assessed by multiplex ligation-dependent probe amplification for prognosis of outcome in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia do not bring any advantage over detection of isolated *IKZF1* deletion

G.A. Tsaur¹⁻⁴, A.E. Druy^{2,5}, A.G. Solodnikov^{2,4}, A.M. Popov⁵, A.P. Shapochnik⁶, L.V. Vakhonina^{1,2},
A.A. Vlasova¹, O.R. Arakaev^{1,2}, T.O. Riger^{1,2}, T.Yu. Verzhbitskaya^{1,2}, Yu.V. Olshanskaya⁵,
E.V. Shorikov⁷, S.V. Tsvirenko^{1,4}, L.I. Saveliev^{1,2,4}, L.G. Fechina^{1,2}

¹Regional Children's Clinical Hospital № 1; 32 Serafimov Deryabinoy, Yekaterinburg, 620149, Russia; ²Center for the Organization of Specialized Types of Medical Care "Research Institute of Medical Cell Technologies", 22A Karla Marksa St., Yekaterinburg, 620026, Russia; ³Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; 106 Pervomayskaya St., Yekaterinburg, 620049, Russia; ⁴Ural State Medical University, Ministry of Health of Russia; 3 Repina St., Yekaterinburg, 620030, Russia; ⁵Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia; 1 Samoy Mashela St., Moscow, 117997, Russia; ⁶Orenburg Regional Clinical Oncological Dispensary; 11 Gagarina Prosp., Orenburg, 460021, Russia; ⁷PET-Technology Ltd; 29, Bld. 8, Soboleva St., Yekaterinburg, 620905, Russia

The purpose of the current work was the estimation of prognostic significance of cytogenetic and molecular markers, assessed by multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) in 142 cases of pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia (BCP-ALL) patients. Good-risk genetic (GEN-GR) group consisted of 114 patients carrying either *ETV6*-*RUNX1* or high hyperdiploidy together with normal copy-number status for all 8 genes (*IKZF1*, *PAX5*, *ETV6*, *RB1*, *BTG1*, *EBF1*, *CDKN2A/2B* and *PAR1*) or isolated deletions affecting *ETV6*/*PAX5*/*BTG1* and *ETV6* deletions with a single additional deletion of *BTG1*/*PAX5*/*CDKN2A/2B*. All other patients ($n = 28$) were classified to genetic poor risk (GEN-PR) group. GEN-PR features were older age ($p = 0.015$), stratification to high-risk group of ALL-MB 2008 protocol ($p = 0.001$), higher initial WBC ($p = 0.008$), M3 marrow status on day 15 ($p = 0.002$) and lack of remission on day 36 ($p = 0.039$). GEN-PR patients had statistically significant lower event-free survival (EFS) (0.59 ± 0.11 vs 0.88 ± 0.03 ; $p = 0.0008$), overall survival (OS) (0.63 ± 0.15 vs 0.93 ± 0.02 ; $p = 0.0050$) and higher cumulative incidence of relapse (CIR) (0.38 ± 0.12 vs 0.06 ± 0.02 ; $p < 0.0001$) in comparison to GEN-GR patients. Genetic risk group stratification retained its negative prognostic value in multivariate analysis affecting EFS (hazard ratio (HR) – 2.659; 95 % CI 1.047–6.755; $p = 0.040$) and CIR (HR – 3.864; 95 % CI 1.226–12.183; $p = 0.021$), but did not influence OS (HR – 1.479; 95 % CI 0.356–6.139; $p = 0.590$). There was no prognostic significance of genetic risk group classifier in the "B-other ALL" group. Majority of unfavorable events (9 out of 10) and relapse (8 out of 9) in GEN-PR patients were revealed in case of *IKZF1* deletion co-occurrence. Moreover all 15 patients carrying *IKZF1* deletions were stratified to GEN-PR group. So when we added *IKZF1* deletion as extra variable in the multivariate analysis genetic risk group classification lost its prognostic significance on EFS (HR – 0.696; 95 % CI 0.086–5.636; $p = 0.735$), and CIR (HR – 0.511; 95 % CI 0.053–4.924; $p = 0.561$), while *IKZF1* deletion remained its prognostic value both to risk of unfavorable event (HR – 4.292; 95 % CI 1.521–12.911; $p = 0.006$) and risk of relapse (HR – 9.163; 95 % CI 3.131–26.815; $p < 0.001$). Thus, combination of cytogenetic risk group and MLPA markers did not bring any advantage over detection of isolated *IKZF1* deletion for the estimation of prognosis in pediatric BCP-ALL.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, cytogenetic risk group, children, prognosis, risk factors, *IKZF1* deletions, MLPA

Введение

Известно, что делеции в гене *IKZF1*, кодирующем белок IKAROS, в рамках различных терапевтических протоколов являются независимым прогностическим фактором, ведущим к ухудшению результатов лечения детей и взрослых с Ph-негативным острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ) [1–9].

Впервые связь делеций *IKZF1* с прогнозом ВП-ОЛЛ была практически одновременно описана двумя исследовательскими группами в 2007 г. [10, 11]. Также было показано, что делеции *IKZF1* выявляются у подавляющего большинства больных Ph-позитивным ОЛЛ [12, 13], и в более чем половине случаев лимфоидного бластного криза при хроническом миелоидном лейкозе [12, 14], в 40 % случаев при *BCR-ABL1*-подобном профиле экспрессии генов [15], и примерно у трети пациентов с ОЛЛ и болезнью Дауна [16]. Во всех этих случаях делеции *IKZF1* являются

независимым прогностическим фактором, связанным с неблагоприятным прогнозом заболевания.

Делеции *IKZF1* не являются единственным инициальным фактором риска ОЛЛ у детей. Начиная с середины 1980-х годов, была показана важная прогностическая роль различных структурных и количественных цитогенетических аномалий. А. Moorman et al. на основании анализа ОЛЛ у 1725 детей, получавших лечение по протоколам ALL-97/99 в рамках британской исследовательской группы UK MRC, предложили деление всех случаев ВП-ОЛЛ на 3 группы цитогенетического риска [17]. Группа низкого цитогенетического риска включает в себя больных с транслокацией $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$ и высокой гипердиплоидией (количество хромосом 51–65). Для включения в группу высокого цитогенетического риска необходимо наличие одной из следующих генетических аберраций: транслокации $t(9;22)(q34;q11)/BCR-ABL1$, $t(17;19)(q23;p13)/TCF3-HLF$, пе-

рестройки 11q23/*MLL*, околотаплоидного кариотипа (менее 30 хромосом), низкой гиподиплоидии/околотриплоидного кариотипа (30–39/66–78 хромосом), внутрихромосомной амплификации хромосомы 21 (*iAMP21*). Пациенты с любыми другими хромосомными аномалиями, а также с нормальным кариотипом были отнесены авторами в группу промежуточного риска [17]. Позднее этой же группой исследователей была предложена комбинированная классификация, одновременно учитывающая цитогенетическую группу риска и данные множественной лигазно-зависимой амплификации зондов (Multiplex ligation-dependent probe amplification, *MLPA*), учитывающими не только статус гена *IKZF1*, но и других генов, де-тектируемых в ходе одной мультиплексной реакции с использованием коммерческого набора *SALSA MLPA P335 ALL-IKZF1* (MRC-Holland, Нидерланды) [18]. В число этих генов входят следующие, связанные с развитием и пролиферацией В-клеток: *PAX5*, *ETV6*, *RB1*, *BTG1*, *EBF1*, *CDKN2A*, *CDKN2B*, *SHOX*, *CRLF2*, *CSF2RA*, *IL3RA*, *P2RY8*. Авторы разделили всех пациентов на группы. В группу низкого генетического риска (НГР) вошли больные с транслокацией *t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1* или высокой гипердиплоидией в сочетании с нормальным статусом генов (отсутствие делеций) *IKZF1*, *PAX5*, *ETV6*, *RB1*, *BTG1*, *EBF1*, *CDKN2A/2B* и в псевдоаутосомном регионе *PAR1*, либо с единичными делециями генов *ETV6/PAX5/BTG1*, либо с наличием делеций гена *ETV6* с одной дополнительной делецией *BTG1/PAX5/CDKN2A/B*. Всех остальных пациентов относили к группе высокого генетического риска (ВГР).

Пациенты группы НГР имели достоверно более высокие показатели бессобытийной (БСВ) и общей (ОВ) выживаемости, в первую очередь за счет более низкой кумулятивной частоты развития рецидивов (КЧР) при лечении по протоколам ALL-97/99 и UKALL2003 [18].

Несколько другой способ комбинации делеций *IKZF1* с молекулярно-генетическими маркерами и данными по определению минимальной остаточной болезни (МОБ) был предложен исследовательской группой AIEOP-BFM. Наихудшие результаты лечения по протоколу AIEOP-BFM ALL-2000 имели пациенты, у которых было выявлено сочетание делеций *IKZF1* с делециями одного или нескольких генов *CDKN2A*, *CDKN2B*, *PAX5*, *PAR1* при обязательном отсутствии делеций в гене *ERG*. Эта группа, имевшая статистически значимо более низкую БСВ и более высокую КЧР, получила название *IKZF1*^{плюс}. При включении в модель результатов определения МОБ на день 33 было показано, что выделение профиля *IKZF1*^{плюс} имеет прогностическое значение для пациентов высокого и промежуточного риска, но не стандартного риска [19].

Мы в своей работе выбрали первый подход – выделение генетических групп риска по А. Moorman et al. [18] – и оценили его прогностическое значение у больных, получавших лечение по протоколам группы Москва–Берлин (МВ). Ранее в нашей стране подобное исследование не проводилось.

Цель исследования – оценить прогностическое значение комбинации цитогенетической группы риска и молекулярно-генетических показателей, выявляемых методом *MLPA*, для прогнозирования исходов лечения ВП-ОЛЛ у детей, получавших терапию по протоколу ALL-MB-2008.

Материалы и методы

В исследование были включены 142 пациента с ВП-ОЛЛ, получавших лечение по протоколу ALL-MB-2008 в отделе детской онкологии и гематологии Областной детской клинической больницы № 1 (Екатеринбург) ($n = 121$) и детском онкологическом отделении Оренбургского областного клинического онкологического диспансера ($n = 21$) с апреля 2008 по октябрь 2013 г. Критериями включения в данное исследование были диагноз ВП-ОЛЛ, возраст от 1,1 года до 16 лет, а также наличие ДНК, выделенной из бластных клеток, взятых во время установления диагноза. В исследуемой группе было 75 (52,8 %) мальчиков и 67 (47,2 %) девочек в возрасте от 1,1 года до 16 лет (медиана возраста – 3,15 года). Медиана времени наблюдения составила 4,2 года. Исходя из критериев стратификации протокола ALL-MB-2008 [20] в группу стандартного риска были включены 63 (44,4 %) больных, в группу промежуточного риска – 64 (45,1 %), в группу высокого риска – 15 (10,5 %) пациентов.

Деление на группы цитогенетического риска проводили согласно рекомендациям А. Moorman et al. [17]. Группу «другие В-линейные ОЛЛ» ($n = 84$) выделяли после исключения всех неслучайных количественных (высокая гипердиплоидия, гиподиплоидия) и структурных (*t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1* *t(9;22)(q34;q11)/BCR-ABL1*, *t(1;19)(q23;p13)/TCF3-PBX1*, перестройки 11q23/*MLL*) цитогенетических аберраций.

Определение МОБ методом проточной цитометрии проведено у 119 пациентов по ранее описанной методике [21, 22] с выделением групп риска по результатам оценки на 15, 36 и 85-й дни (а для группы высокого риска – после 1-го блока интенсификации) [23].

Выявление делеций *IKZF1*, *PAX5*, *ETV6*, *RB1*, *BTG1*, *EBF1*, *CDKN2A*, *CDKN2B*, *PAR1* проводили методом *MLPA* с использованием набора *SALSA MLPA P335 ALL-IKZF1* (MRC-Holland, Нидерланды) согласно инструкции производителя. В рамках данной работы под выявлением делеции понимали только те случаи, где отсутствовали 2 и более экзона любого из исследованных генов [18]. Поскольку гены *CDKN2A* и *CDKN2B* располагаются близко друг от друга в хро-

мосомном районе 9p21.3, а к гену *CDKN2B* в наборе P335 ALL-IKZF1 имеется только 1 зонд, то для практических целей эти 2 гена мы, вслед за A. Moogman et al. [18], рассматривали их как единое целое, обозначив *CDKN2A/B*. Под делецией псевдоаутосомного региона *PAR1*, расположенного в зависимости от пола в хромосомных районах Xp22.33 и Yp11.31, понимали делеции генов *CSF2RA* и *IL3RA* при сохранении гена *CRLF2*. Делеции *PAR1* рассматривались как эквивалент наличия химерного гена *CRLF2-P2RY8*. Наличие делеций в гене *IKZF1* дополнительно подтверждали с использованием набора SALSA MLPA P202 IKZF1 (IKAROS) (MRC-Holland, Нидерланды). Подробную методику проведения и оценки результатов MLPA мы приводили в своей более ранней работе [9]. Детальные условия разделения на группы НГР и ВГР приведены на рис. 1.

Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение SAS и R-statistics. При сравнении по качественным признакам использовали критерий χ^2 с поправкой Йетса, при сравнении по количественным признакам — критерий Манна–Уитни. Результаты терапии оценивали по кривым БСВ и ОВ, построенным по методу Каплана–Майера, а также по КЧР. Для сравнения кривых использовали непараметрические критерий log-rank (для БСВ и ОВ) и критерий Грея (для КЧР). При расчете БСВ под событиями понимали рецидив, смерть вследствие любой причины как первое событие, потерю из-под наблюдения. Стандартную ошибку рассчитывали по формуле Гринвуда. Расчет относительного риска (ОР) с 95 % доверительным интервалом (ДИ) был проведен по методу пропорционального риска Кокса в однофакторной и многофакторной моделях. Многофакторный анализ проведен для значимых в однофакторном анализе показателей в зависимости от их значимости, на основании величин *p* и ОР методом последовательного исключения. Параметры сравнивали с использованием теста Вальда. Все различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Частота выявления делеций каждого из исследованных генов показана на рис. 2. Наиболее часто выявлялись делеции в генах *ETV6* (19,7 %) и *PAX5* (19,0 %). Делеции в гене *IKZF1* обнаружены у 10,6 % пациентов, в *PAR1* — у 6,3 %. Прогностическая роль изолированных делеций генов представлена в табл. 1. Статистически значимые различия БСВ зафиксированы только в зависимости от статуса *IKZF1*. Несмотря на видимые более низкие показатели БСВ у пациентов с делециями *BTG1*, *RB1*, *PAR1*, по сравнению с больными, у которых вышеуказанные делеции отсутствовали, выявленные различия не достигали границы достоверности. Отчасти это может быть связано с небольшим размером групп.

Признаки группы НГР

Цитогенетические перестройки низкого риска:

- транслокация t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1*
- высокая гипердиплоидия ($n = 51-65$)

MLPA-маркеры низкого риска:

- отсутствие делеций *IKZF1*, *PAX5*, *ETV6*, *RB1*, *BTG1*, *EBF1*, *CDKN2A/2B*, *PAR1*
- единичные делеции генов *ETV6*, *PAX5* или *BTG1*
- делеции гена *ETV6* с одной дополнительной делецией *BTG1*, *PAX5* или *CDKN2A/B*

Признаки группы ВГР

Цитогенетические перестройки высокого риска:

- транслокация t(9;22)(q34;q11)/*BCR-ABL1*
- транслокация t(17;19)(q23;p13)/*TCF3-HLF*
- перестройки 11q23/*MLL*
- околорапloidный кариотип ($n < 30$)
- низкая гиподиплоидия/околотриплоидный кариотип ($n = 30-39/66-78$)
- внутривхромосомная амплификация хромосомы 21 (*iAMP21*)

MLPA-маркеры промежуточного и высокого риска:

- любая делеция генов *IKZF1*, *PAR1*, *EBF1* или *RB1*
- любые комбинации делеций, не упомянутые выше

Пациенты классифицируются иерархически, при этом цитогенетические аномалии имеют преимущество перед данными MLPA

Genetic Good Risk Group

Cytogenetic low-risk abnormalities:

- translocation t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1*
- high hyperdiploidy ($n = 51-65$)

MLPA-markers for low risk:

- Absence of deletions *IKZF1*, *PAX5*, *ETV6*, *RB1*, *BTG1*, *EBF1*, *CDKN2A/2B*, *PAR1*
- single deletions of genes *ETV6*, *PAX5* or *BTG1*
- Deletions of gene *ETV6* with one additional deletion *BTG1*, *PAX5* or *CDKN2A/B*

Genetic Poor Risk Group

Cytogenetic high-risk abnormalities:

- translocation t(9;22)(q34;q11)/*BCR-ABL1*
- translocation t(17;19)(q23;p13)/*TCF3-HLF*
- rearrangement 11q23/*MLL*
- near-haploid karyotype ($n < 30$)
- low hypodiploidy/near triploid karyotype ($n = 30-39/66-78$)
- intrachromosomal amplification of chromosome 21 (*iAMP21*)

MLPA-markers for intermediate and high risk:

- any depletion of genes *IKZF1*, *PAR1*, *EBF1* or *RB1*
- any combination of deletions not mentioned previously

Patients are classified hierarchically, cytogenetic abnormalities have the advantage of MLPA data

Рис. 1. Условия разделения на группы генетического риска детей с ВП-ОЛЛ

Fig. 1. Definition of genetic risk groups stratification for pediatric BCP-ALL

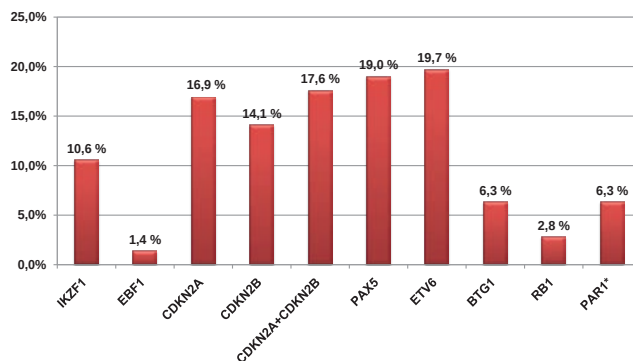


Рис. 2. Частота выявления изолированных делеций исследованных генов

Fig. 2. The incidence of isolated deletions of the evaluated genes

Таблица 1. Прогностическая роль изолированных делеций генов

Table 1. Prognostic significance of isolated gene deletions

Ген <i>Gene</i>	БСВ пациентов с делециями <i>EFS of patients with deletions</i>	БСВ пациентов без делеций <i>EFS of patients without deletions</i>	<i>p</i>
<i>IKZF1</i>	30,0	89,3	< 0,001
<i>EBF1</i>	100	82,1	0,998
<i>CDKN2A</i>	76,4	84,5	0,260
<i>CDKN2B</i>	81,8	83,5	0,876
<i>CDKN2A/B</i>	77,5	84,5	0,308
<i>PAX5</i>	78,6	84,7	0,643
<i>ETV6</i>	85,7	82,8	0,942
<i>BTG1</i>	66,7	84,6	0,117
<i>RBI</i>	50,0	83,8	0,769
<i>PAR1</i>	64,8	84,5	0,111

Примечание. Здесь и далее в таблицах жирным шрифтом выделены статистически значимые различия ($p < 0,05$).

Note. Here and in the subsequent tables statistically significant differences are marked in bold ($p < 0.05$).

В группу НГР были включены 114 пациентов, в группу ВГР – 28. Пациенты группы ВГР были достоверно старше ($p = 0,015$), чаще стратифицировались в группу высокого риска протокола ALL-MB-2008 ($p = 0,001$), имели высокий инициальный лейкоцитоз ($p = 0,008$) и более медленный ответ на лечение на 15-й ($p = 0,002$) и 36-й ($p = 0,039$) дни по сравнению с группой НГР. Более подробные данные приведены в табл. 2.

Больные группы ВГР имели статистически значимо более низкую БСВ ($0,59 \pm 0,11$ и $0,88 \pm 0,03$ соответственно; $p = 0,0008$), что было обусловлено более высокой КЧР в этой группе ($0,38 \pm 0,12$ и $0,06 \pm 0,02$ соответственно; $p < 0,0001$). ОВ была также достоверно ниже у пациентов группы ВГР по сравнению с группой НГР ($0,63 \pm 0,15$ и $0,93 \pm 0,02$ соответственно; $p = 0,0050$) (рис. 3).

Однофакторный анализ всех инициальных переменных и показателей ответа на терапию (без учета данных определения МОБ) показал, что прогностически неблагоприятными факторами, влияющими на возникновение негативных событий, являлись группа ВГР ($p = 0,001$); высокая группа риска при лечении по протоколу ALL-MB-2008 ($p < 0,001$); группа вы-

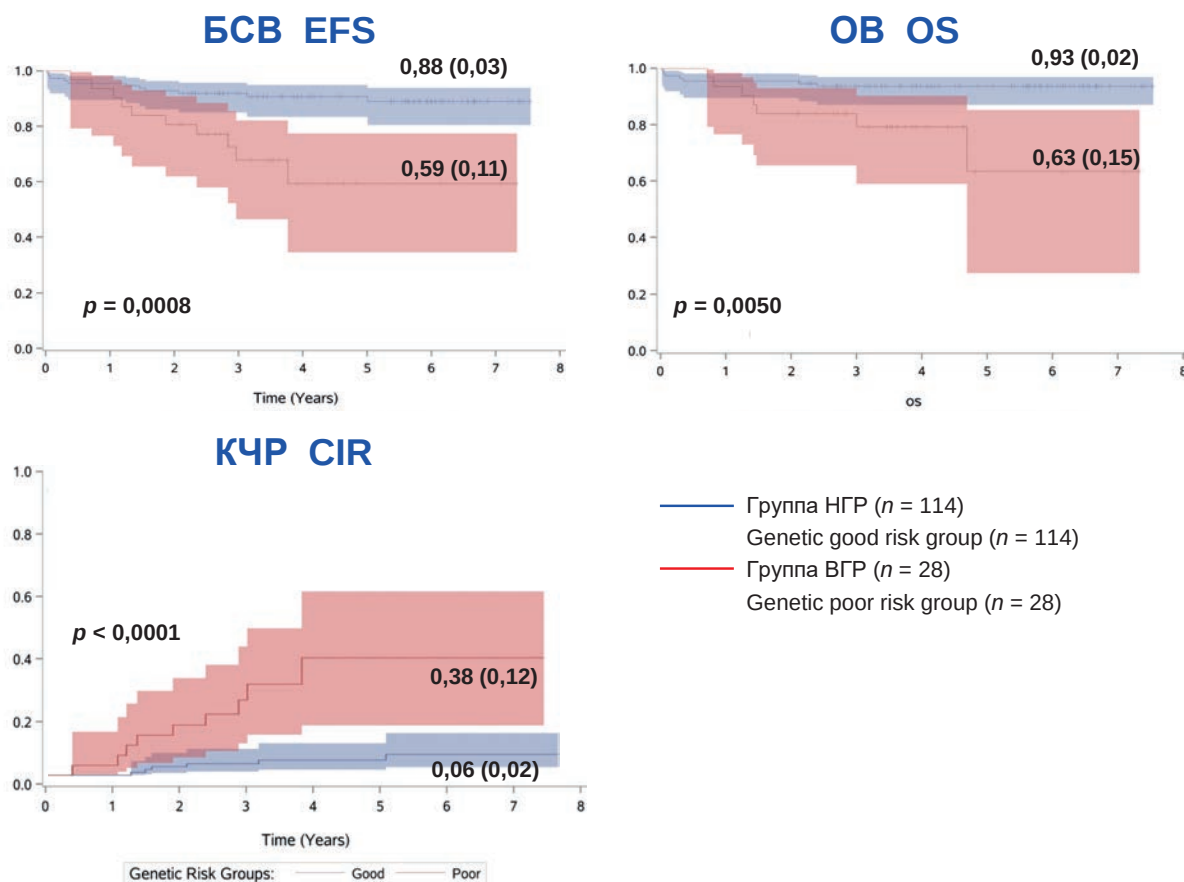


Рис. 3. Прогностическое значение разделения на группы ВГР и НГР с графическим указанием 95 % ДИ

Fig. 3. The prognostic significance of stratification into genetic good risk and genetic poor risk groups with graphical indication of 95 % CI

Таблица 2. Инициальная характеристика и ответ на терапию пациентов в зависимости от группы генетического риска

Показатель	Группа НГР (n = 114)	Группа ВГР (n = 28)	p
Медиана возраста, годы (диапазон)	3,0 (1,1–16,0)	5,8 (2,1–15,4)	0,015
Группа риска ALL-MB-2008			
стандартная (n = 63)	57 (50,0 %)	6 (21,4 %)	0,001
промежуточная (n = 64)	50 (43,9 %)	14 (50,0 %)	
высокая (n = 15)	7 (6,1 %)	8 (28,6 %)	
Инициальный лейкоцитоз $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$	17 (14,9 %)	11 (39,3 %)	0,008
Наличие нейроектоза	18 (15,8 %)	5 (17,8 %)	0,984
Более 1000 бластов в 1 мкл периферической крови на 8-й день терапии	4 (3,5 %)	4 (14,3 %)	0,079
М3-статус костного мозга на 15-й день	9 (7,9 %)	9 (32,1 %)	0,002
Отсутствие ремиссии на 36-й день	3 (2,6 %)	4 (14,3 %)	0,039
Группа высокого риска по данным МОБ*			
$\geq 10\%$ на 15-й день терапии	11 (11,7 %)	7 (31,8 %)	0,063
$\geq 0,1\%$ на 36-й день терапии	13 (13,5 %)	9 (39,1 %)	0,011
$\geq 0,01\%$ на 85-й день терапии	7 (7,6 %)	5 (21,7 %)	0,097

Примечание. * – определение МОБ на 15-й день проведено у 116 пациентов, на 36-й день – у 119, на 85-й день терапии (или после первого блока высокого риска) – у 115 больных.

сокого цитогенетического риска ($p = 0,010$); возраст старше 10 лет ($p = 0,013$); инициальный лейкоцитоз как выше $30 \times 10^9/\text{л}$ ($p = 0,001$), так и выше $50 \times 10^9/\text{л}$ ($p = 0,002$); абсолютное количество бластных клеток выше 1000 на 8-й день индукционной терапии ($p = 0,042$); М3-статус костного мозга на 15-й день индукционной терапии ($p < 0,001$); отсутствие клинико-гематологической ремиссии на 36-й день ($p < 0,001$). Результаты многофакторного анализа приведены в табл. 3. Группа ВГР достоверно снижала БСВ (ОР – 2,659; 95 % ДИ 1,047–6,755; $p = 0,040$), повышала риск рецидива (ОР – 3,864; 95 % ДИ 1,226–12,183; $p = 0,021$), но не влияла на ОВ (ОР – 1,479; 95 % ДИ 0,356–6,139; $p = 0,590$).

Поскольку МОБ методом проточной цитометрии была определена только у 119 пациентов, то мы не вклю-

Table 2. The initial characteristics and treatment response criteria of patients stratified by genetic risk group

Indicator	Low-risk group (n = 114)	High-risk group (n = 28)	p
Median age, years (range)	3.0 (1.1–16.0)	5.8 (2.1–15.4)	0.015
Risk group ALL-MB-2008			
standart (n = 63)	57 (50.0 %)	6 (21.4 %)	0.001
intermediate (n = 64)	50 (43.9 %)	14 (50.0 %)	
high (n = 15)	7 (6.1 %)	8 (28.6 %)	
Initial WBC count $\geq 50 \times 10^9/\text{l}$	17 (14.9 %)	11 (39.3 %)	0.008
The presence of CNS leukemia	18 (15.8 %)	5 (17.8 %)	0.984
More than 1000 blast cells in 1 μl of peripheral blood on the day 8 of therapy	4 (3.5 %)	4 (14.3 %)	0.079
M3-status of the bone marrow on the day 15 of induction remission	9 (7.9 %)	9 (32.1 %)	0.002
The lack of remission on the day 36 of induction remission	3 (2.6 %)	4 (14.3 %)	0.039
High risk group according to the MRD*			
$\geq 10\%$ on the day 15 of induction remission	11 (11.7 %)	7 (31.8 %)	0.063
$\geq 0.1\%$ on the day 36 of induction remission	13 (13.5 %)	9 (39.1 %)	0.011
$\geq 0.01\%$ on the day 85 of therapy	7 (7.6 %)	5 (21.7 %)	0.097

Note. * – MRD assessment on the day 15 was performed in 116 patients, on the day 36 – in 119, on the day 85 (or after the first block for high-risk group) – in 115.

чали этот показатель в общую группу анализа и провели отдельный анализ среди тех больных, которым проводилось это исследование. Величины МОБ не менее 10 % на 15-й день индукции ремиссии ($p = 0,002$), не менее 0,1 % на 36-й день ($p < 0,001$), не менее 0,01 % на 85-й день ($p < 0,001$) статистически значимо чаще выявлялись у пациентов группы ВГР. Многофакторный анализ показал, что даже в присутствии такого важного параметра, как МОБ, деление на группы генетического риска сохраняет свою статистическую значимость (табл. 4). Группа ВГР достоверно снижала БСВ (ОР – 5,811; 95 % ДИ 1,747–19,326; $p = 0,004$) и ОВ (ОР – 7,471; 95 % ДИ 1,373–40,656; $p = 0,020$), а также повышала риск рецидива (ОР – 7,062; 95 % ДИ 1,947–25,619; $p = 0,003$).

При оценке прогностической роли группы генетического риска у 84 пациентов подгруппы «другие В-линей-

Таблица 3. Многофакторный анализ прогностических показателей с учетом групп генетического риска у 141 пациента* с ВП-ОЛЛ

Показатель	ОП	95 % ДИ	p
БСВ			
группа ВГР	2,659	1,047–6,755	0,040
высокая группа риска по протоколу ALL-MB-2008	3,058	1,530–6,111	0,002
Риск развития рецидива			
группа ВГР	3,864	1,226–12,183	0,021
М3-статус костного мозга на 15-й день терапии	8,385	2,464–28,537	0,001
инициальный лейкоцитоз $\geq 30 \times 10^9/\text{л}$	3,276	1,109–9,678	0,032
ОВ			
группа ВГР	1,479	0,356–6,139	0,590
отсутствие ремиссии к 36-му дню терапии	12,372	3,379–45,304	< 0,001
инициальный лейкоцитоз $\geq 50 \times 10^9/\text{л}$	4,738	1,491–15,058	0,008

Примечание. * – 1 пациент был исключен из анализа по причине смерти в индукции, наступившей до 15-го дня.

Таблица 4. Многофакторный анализ прогностических показателей с учетом групп генетического риска и МОБ на 15, 36 и 85-й дни терапии у 115 пациентов с ВП-ОЛЛ

Показатель	ОП	95 % ДИ	p
БСВ			
группа ВГР	5,811	1,747–19,326	0,004
величина МОБ на 15-й день терапии $\geq 10 \%$	12,892	1,426–116,539	0,023
величина МОБ на 85-й день терапии $\geq 0,01 \%$	5,521	1,620–18,817	0,006
Риск развития рецидива			
группа ВГР	7,062	1,947–25,619	0,003
величина МОБ на 15-й день терапии $\geq 10 \%$	12,251	1,329–112,930	0,027
величина МОБ на 85-й день терапии $\geq 0,01 \%$	4,574	1,170–17,881	0,029
ОВ			
группа ВГР	7,471	1,373–40,656	0,020
величина МОБ на 85-й день терапии $\geq 0,01 \%$	9,080	1,926–42,810	0,005

Table 3. Multivariate analysis of prognostic factors, including genetic risk group stratification in 141 BCP-ALL patients*

Indicator	Hazard ratio	95 % CI	p
EFS			
GEN-PR group	2.659	1.047–6.755	0.040
high-risk group of ALL-MB-2008 protocol	3.058	1.530–6.111	0.002
The risk of relapse			
GEN-PR group	3.864	1.226–12.183	0.021
M3-status of the bone marrow on the day 15 of induction remission	8.385	2.464–28.537	0.001
initial WBC count $\geq 30 \times 10^9/\text{l}$	3.276	1.109–9.678	0.032
OS			
GEN-PR group	1.479	0.356–6.139	0.590
the lack of remission on the day 36 of induction remission	12.372	3.379–45.304	< 0.001
initial WBC count $\geq 50 \times 10^9/\text{l}$	4.738	1.491–15.058	0.008

Note. * – 1 patient was excluded from analysis due to death in the induction occurred before the 15th day.

Table 4. Multivariate analysis of prognostic factors, including genetic risk group stratification and MRD on the day 15, 36, 85 in 115 BCP-ALL patients

Indicator	Hazard ratio	95 % CI	p
EFS			
GEN-PR group	5.811	1.747–19.326	0.004
MRD value $\geq 10 \%$ on the day 15	12.892	1.426–116.539	0.023
MRD value $\geq 0.01 \%$ on the day 85	5.521	1.620–18.817	0.006
The risk of relapse			
GEN-PR group	7.062	1.947–25.619	0.003
MRD value $\geq 10 \%$ on the day 15	12.251	1.329–112.930	0.027
MRD value $\geq 0.01 \%$ on the day 85	4.574	1.170–17.881	0.029
OS			
GEN-PR group	7.471	1.373–40.656	0.020
MRD value $\geq 0.01 \%$ on the day 85	9.080	1.926–42.810	0.005

Таблица 5. Прогностическое значение делеций гена *IKZF1* у пациентов группы ВГР

Показатель	Группа ВГР	Делеции <i>IKZF1</i>	Отсутствие делеций <i>IKZF1</i>	<i>p</i>
Число пациентов	28	15	13	
Количество неблагоприятных событий	10	9	1	0,005
Количество рецидивов	9	7	1	0,016

Таблица 6. Многофакторный анализ прогностических показателей с учетом делеций гена *IKZF1* и групп генетического риска у 141 пациента с ВП-ОЛЛ

Показатель	ОР	95 % ДИ	<i>p</i>
БСВ			
группа ВГР	0,696	0,086–5,636	0,735
делеции гена <i>IKZF1</i>	4,292	1,521–12,111	0,006
высокая группа риска по протоколу ALL-MB-2008	2,398	1,165–4,936	0,012
Риск развития рецидива			
группа ВГР	0,511	0,053–4,924	0,561
делеции гена <i>IKZF1</i>	9,163	3,131–26,815	< 0,001
М3-статус костного мозга на 15-й день терапии	10,980	3,191–37,784	< 0,001
инициальный лейкоцитоз $\geq 30 \times 10^9/\text{л}$	4,916	1,565–15,442	0,006
ОВ			
группа ВГР	0,931	0,102–8,526	0,950
делеции гена <i>IKZF1</i>	2,557	0,237–27,594	0,439
отсутствие ремиссии к 36-му дню терапии	5,868	1,501–22,934	0,011
инициальный лейкоцитоз $\geq 30 \times 10^9/\text{л}$	4,993	1,565–15,936	0,007

ные ОЛЛ» было показано, что уже в однофакторном анализе это деление утрачивает свое значение как по влиянию на БСВ и ОВ, так и на КЧР ($p > 0,05$ во всех случаях).

Так как все случаи делеций *IKZF1* ($n = 15$) вошли в группу ВГР, то мы провели оценку прогностического значения изолированных делеций *IKZF1* у пациентов этой группы. При этом было выявлено, что подавляющее большинство неблагоприятных событий, а также рецидивов произошли именно в группе с делециями *IKZF1* (табл. 5), что было достоверно чаще, чем у пациентов группы ВГР без делеций *IKZF1*. Основываясь

Table 5. Prognostic significance of *IKZF1* gene deletions in the GEN-PR group patients

Parameter	GEN-PR group	<i>IKZF1</i> deletions	Absence of <i>IKZF1</i> deletions	<i>p</i>
Number of patients	28	15	13	
Number of unfavorable events	10	9	1	0.005
Number of relapses	9	7	1	0.016

Table 6. Multivariate analysis of prognostic factors, including *IKZF1* gene deletions and genetic risk group stratification in 141 BCP-ALL patients

Indicator	Hazard ratio	95 % CI	<i>p</i>
EFS			
GEN-PR group	0.696	0.086–5.636	0.735
<i>IKZF1</i> gene deletions	4.292	1.521–12.111	0.006
high-risk group of ALL-MB-2008 protocol	2.398	1.165–4.936	0.012
The risk of relapse			
GEN-PR group	0.511	0.053–4.924	0.561
<i>IKZF1</i> gene deletions	9.163	3.131–26.815	< 0.001
M3-status of the bone marrow on the day 15 of induction remission	10.980	3.191–37.784	< 0.001
initial WBC count $\geq 30 \times 10^9/\text{l}$	4.916	1.565–15.442	0.006
OS			
GEN-PR group	0.931	0.102–8.526	0.950
<i>IKZF1</i> gene deletions	2.557	0.237–27.594	0.439
the lack of remission on the day 36 of induction remission	5.868	1.501–22.934	0.011
initial WBC count $\geq 30 \times 10^9/\text{l}$	4.993	1.565–15.936	0.007

на полученных данных, мы провели еще одну серию многофакторного анализа в общей группе больных ($n = 142$), включив в него еще и делеции *IKZF1*. Интересно отметить, что в при этом группа ВГР утрачивала свое неблагоприятное значение как по влиянию на риск неблагоприятного события (ОР – 0,696; 95 % ДИ 0,086–5,636; $p = 0,735$), так и на риск рецидива (ОР – 0,511; 95 % ДИ 0,053–4,924; $p = 0,561$), в то время как делеции *IKZF1* сохраняли свое негативное влияние и на БСВ (ОР – 4,292; 95 % ДИ 1,521–12,111; $p = 0,006$), и на риск рецидива (ОР – 9,163; 95 % ДИ 3,131–26,815; $p < 0,001$) (табл. 6).

Обсуждение

Как мы уже отмечали ранее, делеции *IKZF1* являются важным неблагоприятным прогностическим фактором [1–9]. Однако остается не до конца ясным, почему часть пациентов с делециями *IKZF1* остаются в длительной полной продолжающейся ремиссии, в то время как у части больных без делеций развиваются рецидивы. Это подтолкнуло исследователей к более глубокому анализу, и одним из таких новых подходов стало комбинирование результатов оценки статуса гена *IKZF1* с другими цитогенетическими или молекулярно-генетическими показателями, а также данными определения МОБ [18, 19, 24].

Существует несколько технологических методов выявления делеций *IKZF1*, такие как исследование профиля однонуклеотидных полиморфизмов (SNP array) [11], флуоресцентная гибридизация *in situ*, полимеразная цепная реакция на геномной ДНК [25], MLPA [26]. Однако самым распространенным стал последний упомянутый метод — MLPA, что связано как с его технической простотой, так и с наличием коммерчески доступных наборов, которые позволяют одновременно с делециями гена *IKZF1* регистрировать делеции в других генах, статус которых включен в анализ потенциально прогностически значимых комбинаций при ОЛЛ у детей и взрослых.

Полученные нами результаты по частоте встречаемости отдельных MLPA-маркеров и прогностическому значению разделения пациентов на генетические группы риска в целом сопоставимы с данными, опубликованными А. Moorman et al. [18], однако распределение пациентов на группы ВГР и НГР несколько отличается. В нашей работе доля группы ВГР составляет почти 20 %, в то время как в упоминаемой выше работе в зависимости от протокола терапии она была 24 % (UKALL2003) и 28 % (ALL 97/99). Отчасти это может быть обусловлено тем, что не все наши пациенты были обследованы на наличие *iAMP21*, доля которой в общей популяции детей с ОЛЛ приближается к 2 % [27], отчасти — возможными этническими различиями.

Классификатор, предложенный А. Moorman et al., представляет особую ценность для пациентов промежуточной группы риска без прогностически значимых цитогенетических aberrаций [18], однако, скорее всего, в силу небольшого размера исследуемой нами группы «другие В-линейные ОЛЛ» мы не смогли подтвердить эту закономерность.

Несмотря на то, что в многофакторном анализе нами была показана независимая прогностически неблагоприятная роль группы ВГР, которая сохраняла свое негативное значение даже при включении в анализ МОБ, однако большинство рецидивов среди пациентов группы ВГР происходило при наличии у них делеций *IKZF1*. Последние также являлись независимым прогностическим фактором, мощность которого превышала деление на группы генетического риска.

Подводя итоги, хочется отметить, что, несмотря на интересные результаты, полученные нами, они нуждаются в верификации на большей когорте пациентов, предпочтительно в многоцентровом формате. Поэтому мы приглашаем к сотрудничеству всех заинтересованных специалистов, работающих в онкогематологических лабораториях, а также врачей-гематологов и детских онкологов.

Заключение

Таким образом, деление на группы генетического риска на основании комбинации цитогенетических факторов риска и молекулярно-генетических показателей, выявляемых методом MLPA, позволило прогнозировать исходы терапии у детей с ВП-ОЛЛ, однако оно утрачивало свою прогностическую значимость в группе «другие В-линейные ОЛЛ». Большинство неблагоприятных событий происходило в группе пациентов с делециями *IKZF1*, которые являлись независимым прогностическим фактором, мощность которого превышала деление на группы генетического риска.

Благодарности

Авторы выражают благодарность всем врачам и медицинским сестрам отдела детской онкологии и гематологии ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1» (Екатеринбург).

Конфликт интересов/Conflict of interests

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

Финансирование/Financing

Исследование проводилось без спонсорской поддержки.

The study was performed without external funding.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Mullighan C., Su X., Zhang J. et al.; Children's Oncology Group. Deletion of *IKZF1* and prognosis in acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2009;360(5):470–80. doi: 10.1056/NEJMoa0808253.
2. Kuiper R., Waanders E., van der Velden V. et al. *IKZF1* deletions predict relapse in uniformly treated pediatric precursor B-ALL. *Leukemia* 2010;24(7):1258–64. doi: 10.1038/leu.2010.87.
3. Olsson L., Albitar F., Castor A. et al. Cooperative genetic changes in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia with deletions or mutations of *IKZF1*. *Genes Chromosomes Cancer* 2015;54(5):315–25. doi: 10.1002/gcc.22245.
4. Boer J., van der Veer A., Rizopoulos D. et al. Prognostic value of rare *IKZF1* deletion in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: an international collaborative study. *Leukemia* 2016;30(1):32–8. doi: 10.1038/leu.2015.199.
5. Dorge P., Meissner B., Zimmermann M. et al. *IKZF1* deletion is an independent predictor of outcome in pediatric acute lymphoblastic leukemia treated according to the ALL-BFM 2000 protocol. *Haematologica* 2013;98(3):428–32. doi: 10.3324/haematol.2011.056135.
6. Chen I.M., Harvey R., Mullighan C. et al. Outcome modeling with *CRLF2*, *IKZF1*, *JAK*, and minimal residual disease in pediatric acute lymphoblastic leukemia: a Children's Oncology Group Study. *Blood* 2012;119(15):3512–22. doi: 10.1182/blood-2011-11-394221.
7. Palmi C., Valsecchi M.G., Longinotti G. et al. What is the relevance of Ikaros gene deletions as a prognostic marker in pediatric Philadelphia-negative B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia? *Haematologica* 2013;98(8):1226–31. doi: 10.3324/haematol.2012.075432.
8. Öfverholm L., Tran A.N., Heyman M. et al. Impact of *IKZF1* deletions and *PAX5* amplifications in pediatric B-cell precursor ALL treated according to NOPHO protocols. *Leukemia* 2013;27(9):1936–9. doi: 10.1038/leu.2013.92.
9. Цаур Г.А., Друй А.Е., Солодовников А.Г. и др. Делеция гена *IKZF1* – независимый прогностический фактор у детей с острым лимфобластным лейкозом из В-линейных предшественников. *Онкогематология* 2016;11(4):33–48. [Tsaur G.A., Druy A.E., Solodovnikov A.G. et al. *IKZF1* deletions are independent prognostic factor in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2016;11(4):33–48. (In Russ.)].
10. Kuiper R., Schoenmakers E., van Reijmersdal S. et al. High-resolution genomic profiling of childhood ALL reveals novel recurrent genetic lesions affecting pathways involved in lymphocyte differentiation and cell cycle progression. *Leukemia* 2007;21(6):1258–66. doi: 10.1038/sj.leu.2404691.
11. Mullighan C., Goorha S., Radtke I. et al. Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukaemia. *Nature* 2007;446(7137):758–64. doi: 10.1038/nature05690.
12. Mullighan C., Miller C., Radtke I. et al. *BCR-ABL1* lymphoblastic leukaemia is characterized by the deletion of Ikaros. *Nature* 2008;453(7191):110–4. doi: 10.1038/nature06866.
13. Martinelli G., Iacobucci I., Storlazzi C.T. et al. *IKZF1* (Ikaros) deletions in *BCR-ABL1*-positive acute lymphoblastic leukemia are associated with short disease-free survival and high rate of cumulative incidence of relapse: a GIMEMA AL WP report. *J Clin Oncol* 2009;27(31):5202–7. doi: 10.1200/JCO.2008.21.6408.
14. Nakayama H., Ishimaru F., Avitahl N. et al. Decreases in Ikaros activity correlate with blast crisis in patients with chronic myelogenous leukemia. *Cancer Res* 1999;59(16):3931–4. PMID: 10463586.
15. van der Veer A., Waanders E., Pieters R. et al. Independent prognostic value of *BCR-ABL1*-like signature and *IKZF1* deletion, but not high *CRLF2* expression, in children with B-cell precursor ALL. *Blood* 2013;122(15):2622–9. doi: 10.1182/blood-2012-10-462358.
16. Buitenkamp T., Pieters R., Gallimore N. et al. Outcome in children with Down's syndrome and acute lymphoblastic leukemia: role of *IKZF1* deletions and *CRLF2* aberrations. *Leukemia* 2012;26(10):2204–11. doi: 10.1038/leu.2012.84.
17. Moorman A., Ensor H., Richards S. et al. Prognostic effect of chromosomal abnormalities in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: results from the UK Medical Research Council ALL97/99 randomised trial. *Lancet Oncol* 2010;11(5):429–38. doi: 10.1016/S1470-2045(10)70066-8.
18. Moorman A., Enshaei A., Schwab C. et al. A novel integrated cytogenetic and genomic classification refines risk stratification in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2014;124(9):1434–44. doi: 10.1182/blood-2014-03-562918.
19. Stanulla M., Dagdan E., Zaliouva M. et al. *IKZF1*_{plus} defines a poor minimal residual disease-dependent very poor prognostic profile in pediatric B cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *JCO* [Accepted for publication].
20. Литвинов Д.В., Карелин А.Ф., Романова К.И. и др. Лечение острого лимфобластного лейкоза у детей: современные возможности и нерешенные проблемы. *Доктор.Ру* 2015;(10):30–7. [Litvinov D.V., Karelin A.F., Romanova K.I. et al. Treatment of acute lymphoblastic leukemia in children: current possibilities and unsolved problems. *Doctor.ru* 2015;(10): 30–7. (In Russ.)].
21. Цаур Г.А., Попов А.М., Фечина Л.Г., Румянцев С.А. Методические основы диагностики и мониторинга минимальной остаточной болезни при острых лейкозах у детей первого года жизни. *Онкогематология* 2016;11(1):62–74. [Tsaur G.A., Popov A.M., Fechina L.G., Rumyantsev S.A. Methodological aspects of diagnostics and minimal residual disease monitoring in infant acute leukemias. *Onkogematologia = Oncohematology* 2016;11(1):62–74. (In Russ.)].
22. Попов А.М., Вержбицкая Т.Ю., Цаур Г.А. и др. Алгоритм применения проточной цитометрии для мониторинга минимальной остаточной болезни при CD10-негативном остром лимфобластном лейкозе из В-линейных предшественников. *Вопросы диагностики в педиатрии* 2012;5:31–5. [Popov A.M., Verzhbitskaya T.Yu., Tsaur G.A. et al. Methodology of flow cytometry application for minimal residual disease monitoring in childhood CD10-negative B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Voprosy diagnostiki v pediatrii = Diagnostics in Pediatrics* 2012;5:31–5. (In Russ.)].
23. Попов А.М., Вержбицкая Т.Ю., Цаур Г.А. и др. Применение проточной цитометрии для определения минимальной остаточной болезни у детей с острым лимфобластным лейкозом, получающих терапию по протоколам со сниженной интенсивностью. *Онкогематология* 2015;10(4):44–55. [Popov A.M., Verzhbitskaya T.Yu., Tsaur G.A. et al. Flow cytometric minimal residual disease monitoring in children with acute lymphoblastic leukemia treated by regimens with reduced intensity. *Onkogematologia = Oncohematology* 2015;10(4):44–55. (In Russ.)].
24. Patel S., Mason C., Glenn M. et al. Genomic analysis of adult B-ALL identifies potential markers of shorter survival. *Leuk Res* 2017;56:44–51. doi: 10.1016/j.leukres.2017.01.034.
25. Caye A., Beldjord Kh., Mass-Malo K. et al. Breakpoint-specific multiplex polymerase chain reaction allows the detection of *IKZF1* intragenic deletions and minimal residual disease monitoring in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2013;98(4):597–601. doi: 10.3324/haematol.2012.073965.
26. Schwab C., Jones L., Morrison H. et al. Evaluation of multiplex ligation-dependent probe amplification as a method for the detection of copy number abnormalities in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 2010;49(12):1104–13. doi: 10.1002/gcc.20818.
27. Moorman A., Richards S., Robinson H. et al. Prognosis of children with acute lymphoblastic leukaemia (ALL) and intrachromosomal amplification of chromosome 21 (iAMP21). *Blood* 2007;109(6):2327–30. doi: 10.1182/blood-2006-08-040436.