

Сравнительный анализ использования полимеразной цепной реакции в режиме реального времени и автоматизированной системы GeneXpert Dx System для оценки экспрессии гена *BCR-ABL* у пациентов с хроническим миелоидным лейкозом, находящихся в большом и полном молекулярном ответе

С.А. Смирнихина¹, Г.А. Цаур^{2,6}, Е.Ю. Челышева³, Ю.А. Яковлева^{2,6}, А.В. Лавров¹, А.О. Абдуллаев³, Н.В. Бедерак⁴, О.А. Шухов³, А.Г. Солодовников^{5,6}, А.М. Попов^{2,6}, Э.П. Адильгереева¹, Л.Г. Фечина^{2,6}, А.Г. Туркина³, С.И. Куцев^{1,7}

¹ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН, Москва;

²ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1», Екатеринбург;

³ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, Москва;

⁴МБУ «Центральная городская больница № 7», Екатеринбург;

⁵ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург;

⁶ГБУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург;

⁷ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

Контакты: Сергей Иванович Куцев kutsev@mail.ru

В данной работе проанализирована возможность использования новой автоматизированной системы GeneXpert Dx System (Cepheid, США) в сравнении со стандартизованной полимеразной цепной реакцией в реальном времени (ПЦР-РВ) для определения величины экспрессии *BCR-ABL/ABL* у пациентов с хроническим миелолейкозом, достигших большого (БМО) или полного молекулярного ответа (ПМО). Сравнительный анализ, проведенный на 46 образцах пациентов, показал, что общая качественная сопоставимость двух методов составила 73,9 %. При сравнительном анализе по Бланду—Альтману выявлена высокая конкордантность количественных результатов, полученных двумя методами: 95,6 % образцов находились внутри 95 % границы согласия. Полученные нами данные свидетельствуют о более высокой чувствительности анализируемого метода по сравнению с ПЦР-РВ.

Ключевые слова: хронический миелоидный лейкоз, экспрессия гена *BCR-ABL*, автоматизированный метод GeneXpert

The comparative analysis of *BCR-ABL/ABL* detection by real-time quantitative PCR and automated GeneXpert Dx System in chronic myeloid leukemia patients with major and complete molecular response

S.A. Smirnikhina¹, G.A. Tsaur^{2,6}, E. Yu. Chelysheva³, Yu.A. Yakovleva^{2,6}, A.V. Lavrov¹, A.O. Abdullaev³, N.V. Bederak⁴, O.A. Shukhov³, A.G. Solodovnikov^{5,6}, A.M. Popov^{2,6}, E.P. Adilgereeva¹, L.G. Fechina^{2,6}, A.G. Turkina³, S.I. Kutsev^{1,7}

¹Research Center for Medical Genetics of the Russian Academy of Medical Sciences, Moscow;

²Regional Children's Hospital One, Yekaterinburg;

³Hematology Research Center, Ministry of Health of Russia, Moscow;

⁴Municipal City Hospital Seven, Yekaterinburg;

⁵Ural State Medical University, Ministry of Health of Russia, Yekaterinburg;

⁶Research Institute of Medical Cell Technologies, Yekaterinburg;

⁷Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia, Moscow

The standardized RQ-PCR is recommended for the detection of values of *BCR-ABL* transcripts and the evaluation of patients response for TKI treatment. We have investigated *BCR-ABL/ABL* value comparability in CML patients with MMR and CMR by new automated GeneXpert Dx System in comparison with manual standardized RQ-PCR. The analysis performed on 46 patients's samples showed that the total qualitative comparability of the two methods reached 73.9 %. The Bland-Altman analysis showed a high concordance of the quantitative results, obtained by two methods: 95.6 % samples were within the 95 % limits of agreement. The analysis of *BCR-ABL/ABL* expression has revealed the high sensitivity of GeneXpert Dx System in comparison with RQ-PCR.

Key words: chronic myeloid leukemia, *BCR-ABL* expression, automated GeneXpert method

В августе 2013 г. в журнале “Blood” опубликована новая версия рекомендаций European LeukemiaNet (ELN) по диагностике, лечению и мониторингу терапии хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ) [1]. В этой статье эксперты ELN дают рекомендации по

1-й и 2-й линии терапии ингибиторами тирозинкиназ (ИТК), обсуждают наиболее информативные контрольные точки терапии, наилучшие подходы к мониторингу ответа на терапию ИТК, использование и интерпретацию результатов молекулярного и цитогене-

тического исследований, рассматривают клиническое значение анализа мутаций гена *BCR-ABL*, важность мониторинга побочных эффектов и роль трансплантации костного мозга в лечении ХМЛ.

В соответствии с новыми рекомендациями ELN возрастает значение молекулярных исследований и, в частности, анализа величины экспрессии химерного гена *BCR-ABL* в периферической крови методом количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Так, по мнению экспертов, экспрессия гена *BCR-ABL* выше 10 % после 3 мес терапии ИТК свидетельствует о неблагоприятном прогнозе и после повторного молекулярного исследования предполагает переключение на 2-ю линию препаратов ИТК.

В разделе, касающемся мониторинга эффективности терапии, эксперты указывают на возможность оценки результатов терапии молекулярным и/или цитогенетическим методом. Таким образом, впервые в рекомендациях ELN недвусмысленно предлагается заменять классический цитогенетический мониторинг молекулярным с возможностью принятия по результатам последнего определенного терапевтического решения. Однако, эксперты ELN делают важное уточнение — определение большого молекулярного ответа (БМО) возможно только в стандартизованных лабораториях, применяющих конверсионный фактор и приводящих полученные результаты экспрессии *BCR-ABL* к международной шкале. Также очень важным замечанием экспертов ELN, на наш взгляд, является то, что результаты исследования методом ПЦР-РВ нередко характеризуются флуктуацией, обусловленной технологическими особенностями данного метода.

Не все авторы данной статьи разделяют постепенный, но настойчивый отказ экспертов ELN от еще недавно «золотого стандарта» диагностики и мониторинга эффективности терапии ХМЛ — цитогенетического исследования клеток костного мозга [2]. Этому есть причины, которые мы надеемся обсудить в последующих публикациях. Тем не менее, никто из авторов этой статьи не отрицает того, что стандартизованная ПЦР-РВ крайне важна для определения БМО и полного молекулярного ответа (ПМО).

Действительно, стандартизация ПЦР-РВ была важным этапом в развитии молекулярных исследований при ХМЛ. Приведение результатов всех исследований

к международной шкале (IS), основанной на определении экспрессии гена *BCR-ABL* у 30 впервые выявленных больных ХМЛ в исследовании IRIS, позволило сравнивать данные, полученные во множестве лабораторий по всему миру [3, 4]. На сегодняшний день международная шкала внедрена и в нашей стране [5, 6].

В зависимости от отношения величины экспрессии химерного транскрипта *BCR-ABL* к транскрипту нормального гена *ABL* выделяют БМО [7] и ПМО, которые на сегодняшний день рекомендовано разделять на молекулярный ответ (МО) МО^{4,0}, МО^{4,5}, МО^{5,0} [8]. Именно эти типы ответов при ХМЛ признаны клинически значимыми. Доказано, что достижение БМО является важным фактором для прогнозирования безрецидивной выживаемости при ХМЛ. ПМО (МО^{4,0}, МО^{4,5}, МО^{5,0}) в настоящее время приобретает все большее значение в связи с разработкой протоколов ведения больных ХМЛ без терапии после достижения глубокого МО и, вероятно, молекулярный мониторинг с помощью методов с высокой чувствительностью станет ключевым для определения возможности прекращения пожизненной терапии ИТК в обозримом будущем.

Характеристика типов молекулярных ответов приведена в табл. 1.

Тем не менее, очевидно, что стандартизация молекулярных лабораторий была прагматичным компромиссом между желаемым и доступным [8]. Процесс стандартизации имеет ряд хорошо известных недостатков. Во-первых, это длительный и трудоемкий процесс. Во-вторых, для проведения процедуры стандартизации необходимо наличие референс-лаборатории и, следовательно, на определенном отрезке времени стандартизация оказывается доступной для ограниченного числа молекулярных лабораторий. В-третьих, для многих лабораторий проблематично собрать необходимое для стандартизации количество образцов крови больных ХМЛ. В-четвертых, до сих пор не ясно как часто надо проводить повторную стандартизацию, так как установлено, что более чем в 50 % уже стандартизованных лабораторий конверсионный фактор оказывается нестабильным без каких-либо очевидных причин [9]. И наконец, остается открытым вопрос — что делать тем 50 % лабораторий, которые не смогли пройти стандартизацию.

С целью решения существующих проблем недавно была разработана платформа GeneXpert® Dx System

Таблица 1. Типы молекулярного ответа

Глубина МО	Уровень BCR-ABL/ABL(IS)
БМО (МО ^{3,0})	≤ 0,1 % и > 0,01 %
МО ^{4,0}	≤ 0,01 и > 0,0032 % или неопределяемый уровень BCR-ABL при количестве ABL ≥ 1,0 × 10 ⁴
МО ^{4,5}	≤ 0,0032 % и > 0,001 % или неопределяемый уровень BCR-ABL при количестве ABL ≥ 3,2 × 10 ⁴
МО ^{5,0}	≤ 0,001 % или неопределяемый уровень BCR-ABL при количестве ABL ≥ 1,0 × 10 ⁵

(“Cepheid”, США), которая представляет собой полностью автоматизированную закрытую систему [10], совмещающую внутри одного картриджа выделение РНК, обратную транскрипцию и собственно стандартизованную количественную ПЦР-РВ с представлением результатов в процентах по международной шкале. Проведенные ранее сравнительные исследования уровня экспрессии *BCR-ABL/ABL* транскрипта автоматизированным (GeneXpert) и рутинным (стандартизованная ПЦР-РВ) методами показали хороший уровень сходимости результатов [11, 12]. В то же время в ряде исследований было показано, что у пациентов, достигших БМО, уровень сходимости был заметно ниже, чем в диапазоне 0,1–10 % [13].

Целью данной работы явилась оценка сопоставимости результатов определения величины относительной экспрессии гена *BCR-ABL* автоматизированным (GeneXpert) и рутинным (ПЦР-РВ) методами у пациентов с ХМЛ, получающих терапию ИТК и достигших БМО и более глубоких типов МО.

Материалы и методы

В исследование включено 53 пациента с подтвержденным диагнозом Ph-позитивного ХМЛ и получающих терапию ИТК 1-го (иматиниб) или 2-го (нилотиниб, дазатиниб) поколения. Из них 33 пациента находились под наблюдением в ФГБУ ГНЦ МЗ РФ и 20 пациентов — в ЦГБ № 7 г. Екатеринбурга. По данным предварительного скрининга, проведенного методом ПЦР-РВ за 3–6 мес до начала исследования, у всех пациентов отмечен БМО или более глубокие типы МО. Медиана возраста составила 49,5 года (диапазон — 22–73 года). Информированное согласие на проведение диагностических исследований было получено во всех случаях.

Взятие периферической крови проводили при стандартной венопункции в 2 пробирки с ЭДТА, одна из которых использовалась для стандартизованной ПЦР-РВ, 2-я — для проведения автоматизированного анализа с использованием GeneXpert® Dx System. Транспортировку и хранение материала осуществляли при +4 °С. Образцы анализировали не позднее 48 ч после взятия материала. Стандартизованная ПЦР-РВ выполнялась на наборах «АмплиСенс Лейкоз Квант М-bcr-FRT» (ООО «Интерлабсервис», Россия) согласно инструкции производителя с последующей коррекцией полученной величины *BCR-ABL/ABL* в % по международной шкале с использованием фактора конверсии. Анализ на приборе GeneXpert Dx System (“Cepheid”, США) проводили из 200 мкл цельной крови с использованием наборов GeneXpert *BCR-ABL* Assay (“Cepheid”, США) с автоматическим пересчетом результатов в проценты по международной шкале согласно инструкции производителя. Оба набора позволяют выявлять 2 наиболее частых типа химерных транскриптов *BCR-ABL* — e13a2 (b2a2) и e14a2 (b3a2) (рис. 1).

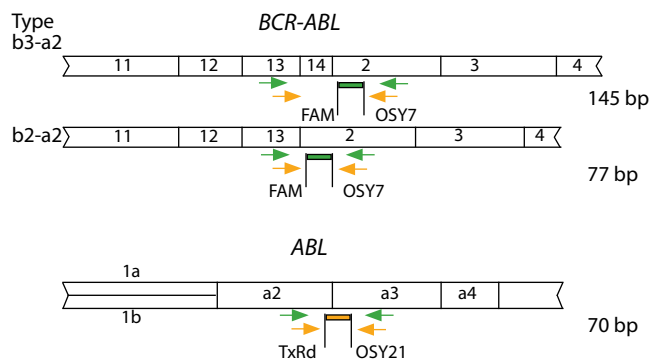


Рис. 1. Локализация праймеров для количественной ПЦР в картридже Xpert *BCR-ABL* Monitor. Зелеными стрелками обозначены праймеры для первого этапа ПЦР, желтыми — для 2-го. На рисунке указаны 2 типа гена *BCR-ABL*: b3-a2 и b2-a2. Зонд TaqMan к *BCR-ABL* (зеленые прямоугольники) имеет флуоресцентный краситель FAM и гаситель QSY7. Зонд TaqMan к *ABL* (оранжевый прямоугольник) имеет флуоресцентный краситель Texas Red и гаситель QSY21; bp — пары оснований. Цифрами в гене обозначены экзоны [14]

Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение «Statistica 8.0», «SPSS 13.0». При сравнении групп пациентов по количественным признакам применяли критерий Манна–Уитни, по качественным — χ^2 с поправкой Йетса. Различия считались достоверными при $p < 0,05$. Для графического сравнения результатов, полученных разными методами, применяли метод Бланда–Альтмана [15].

Результаты

Из 53 пациентов в дальнейший анализ были включены 46 больных ХМЛ, так как в результате проведения молекулярно-генетического исследования экспрессии гена *BCR-ABL* методом ПЦР-РВ было обнаружено, что 7 пациентов не соответствовали основному критерию включения — достижение БМО или более глубокого МО, определяемых рутинным методом стандартизованной ПЦР-РВ. Уровень экспрессии гена *BCR-ABL* у этих 7 пациентов был выше 0,1 %: диапазон значений *BCR-ABL/ABL* колебался в пределах 0,126–2,998 % по данным стандартизованной ПЦР-РВ.

В 46 образцах крови методом стандартизованной ПЦР-РВ установлено следующее: у 24 пациентов выявлена экспрессия гена *BCR-ABL* ниже 0,1 %, в 22 случаях — негативный результат. При исследовании этих же образцов крови автоматизированным методом GeneXpert Dx System экспрессия гена *BCR-ABL* выявлена в 28 случаях, отрицательный результат — у 18 пациентов с ХМЛ. Из 46 образцов экспрессия *BCR-ABL* обоими методами выявлена в 20 случаях, только GeneXpert Dx System — в 8 случаях, только стандартизованной ПЦР-РВ — в 4 случаях и еще у 14 пациентов оба метода согласованно не выявили экспрессии химерного транскрипта *BCR-ABL*.

При разделении пациентов на 3 группы — БМО, МО^{4,0-5,0} с наличием и отсутствием экспрессии химерного гена *BCR-ABL* — показано, что оба метода идентич-

Таблица 2. Распределение образцов в зависимости от глубины МО

Глубина МО	Количество образцов		Количество совпавших результатов (%)
	Стандартная ПЦР-РВ	GeneXpert Dx System	
БМО	9	10	6 из 9 (66,7 %)
МО ^{4,0-5,0} с наличием экспрессии <i>BCR-ABL</i>	15	18	8 из 15 (53,3 %)
МО ^{4,0-5,0} экспрессия <i>BCR-ABL</i> не выявлена	22	18	14 из 22 (63,6 %)
Всего	46	46	28 из 46 (60,9 %)

но распределили 60,9 % пациентов (табл. 2). При этом не было найдено достоверных различий ($p = 0,213$).

Сравнительный анализ количественных результатов, полученных 2 методами, по методу Бланда–Альтмана показал высокую сопоставимость результатов: величина диапазона 95 % границы согласия составила 0,037, а 44 (95,6 %) из 46 образцов находились внутри этой границы. Также обращает на себя внимание тот факт, что среднее значение разности между величиной экспрессии *BCR-ABL/ABL*, полученной в ходе стандартизованной ПЦР-РВ и с использованием GeneXpert, составляет всего 0,001 % (рис. 2).

В 12 случаях GeneXpert Dx System показал более высокую чувствительность по сравнению со стандартизованным методом ПЦР-РВ. Применение GeneXpert Dx System позволило выявить 8 случаев МО^{4,0-5,0} при отрицательном результате неавтоматизированного подхода. Медиана *BCR-ABL/ABL* в этой группе составила 0,004 %IS (диапазон – 0,00088–0,0074 %IS). Кроме того, с помощью GeneXpert Dx System удалось выявить 4 случая БМО, в то время как стандартизованная ПЦР-РВ показала отрицательный результат. Однако полученные обоими методами результаты были близки по значению (0,005–0,009 %IS для стандартной методики и 0,014–0,017 %IS для GeneXpert Dx System).

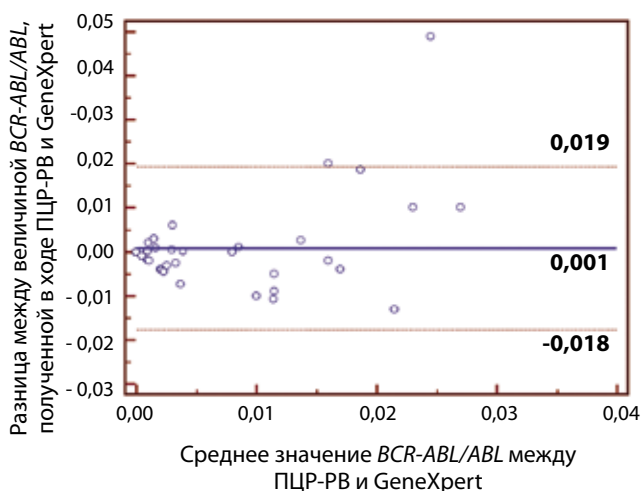


Рис. 2. Анализ сопоставимости определения величины *BCR-ABL/ABL* по методу Бланда–Альтмана. Сплошная синяя линия — среднее. В центре показано среднее, пунктир — 95 % граница согласия

Обсуждение

Первые результаты по сравнению уровней экспрессии гена *BCR-ABL*, определенных методами стандартизованной ПЦР-РВ и GeneXpert Dx System, были получены в 2007 г. в США. Всего в исследовании принимало участие 46 человек. У 26 из них обоими методами была обнаружена положительная экспрессия *BCR-ABL*; у 17 — отрицательный результат обоими методами; у 3 пациентов экспрессия *BCR-ABL* была обнаружена только методом GeneXpert Dx System. Основная причина этому, по мнению авторов, более высокая чувствительность автоматизированного метода [14].

Также в 2007 г. опубликованы результаты еще одного пилотного исследования, посвященного сравнению GeneXpert Dx System со стандартной методикой. Исследование проведено с участием 53 пациентов (39 с диагнозом ХМЛ с ПМО, 1 с Ph-положительным острым лимфобластным лейкозом и 13 здоровых доноров). У всех 13 здоровых доноров отрицательный результат был подтвержден обоими методами (100 % сходимость). Из 40 пациентов отрицательный результат стандартной методикой получен у 6, из них только у 5 больных — с помощью GeneXpert Dx System (специфичность — 95 %). У оставшихся 34 пациентов экспрессия *BCR-ABL* выявлена стандартной методикой, тогда как методом GeneXpert Dx System только у 31 из них (чувствительность — 91,2 %). В этом же исследовании при сравнении экспрессии в 10-кратных разведениях клеток было показано, что коэффициент корреляции между двумя методами составил 0,96 [16]. Следует отметить, что в обоих исследованиях не использовался фактор конверсии, позволяющий привести результаты исследований, полученных с помощью GeneXpert Dx System, к международной шкале.

В 2012 г. опубликованы результаты сравнительного исследования GeneXpert Dx System и стандартизованной ПЦР для оценки экспрессии гена *BCR-ABL* в 2 лабораториях в Испании [12]. В данном исследовании уже использовался пересчет результатов, полученных с помощью GeneXpert Dx System, в соответствии с международной шкалой. Экспрессию *BCR-ABL* определяли как в клетках крови, так и в клетках костного мозга пациентов с ХМЛ. Из 117 образцов 106 оказались положительными, что было выявлено обоими методами. Остальные 11 были отрицательными

при стандартизованной ПЦР-РВ, но положительными при исследовании с помощью GeneXpert Dx System. Корреляция между 2 методами составила 0,881. Исследование показало, что между лабораториями различий в результатах нет. Кроме того, было показано, что источник клеток для анализа (кровь или костный мозг) не влияет на корреляцию между методами.

В ходе данной работы мы сравнили метод стандартизованной ПЦР-РВ и автоматизированный метод определения экспрессии *BCR-ABL/ABL* с использованием GeneXpert Dx System, который имеет ряд достоинств: простота выполнения исследования, низкие трудозатраты [10], низкий риск контаминации [10, 14], хорошая воспроизводимость результатов [11, 12], отсутствие необходимости проведения стандартизации [12]. Выполнение исследования в течение 2 ч от момента забора крови и получение результата ПЦР в тот же день — является дополнительным преимуществом метода. При больших объемах исследований нивелируется также и такой недостаток, как относительно высокая стоимость тест-систем [11].

Полученные нами результаты свидетельствуют о хорошей качественной сопоставимости результатов выявления *BCR-ABL/ABL* между стандартизованной ПЦР-РВ и GeneXpert Dx System у наиболее значимой для молекулярного мониторинга группы пациентов с ХМЛ, достигших БМО или более глубокого МО. Данные, полученные с использованием метода Бланда—Альтмана, указывают на высокую степень сходимости полученных нами количественных результатов. Так, диапазон между 95 % границами согласия в нашей работе составил всего 0,037, тогда как только в работе J.-M. Cayella et al. он был менее 1 lg [11], а в остальных — заметно выше [12, 16].

Одним из самых важных преимуществ подхода, использованного в GeneXpert Dx System, является высокая чувствительность. Первые исследования показали, что чувствительность определения экспрессии гена *BCR-ABL* достигает 0,001 % по международной шкале [14, 16, 17]. Столь высокое значение связано с используемым методом нормализации данных — ΔCt . При этом рассчитывается разница между пороговым значением флюоресценции *BCR-ABL* и *ABL*. Максимальная разница между ними — 20, что обеспечивает

минимальное теоретически возможное измерение равное 0,0001 % *BCR-ABL/ABL*. При стандартной методике ПЦР-РВ определение экспрессии основано на подсчете количества копий, а наименьшее количество — это 1 плазида на 20 000 копий транскрипта *ABL* в тесте, поэтому минимальное теоретическое измерение не может быть ниже 0,005% [11].

Как зарубежные, так и отечественные специалисты отмечают, что ключевым вопросом в терапии больных ХМЛ является эффективная индукционная терапия, обеспечивающая быстрое снижение опухолевой массы [1, 18]. Поэтому чувствительные методы определения минимальной остаточной болезни при ХМЛ важны для более точной оценки динамики редукции опухолевого клона и выбора кандидатов для прекращения терапии ИТК. Выявленная нами с помощью GeneXpert Dx System экспрессия *BCR-ABL/ABL* в ПЦР-РВ-негативных образцах, подтверждает более высокую чувствительность GeneXpert Dx System, что делает этот метод необходимым для мониторинга пациентов с $MO^{4,0-5,0}$.

Таким образом, сравнительный анализ экспрессии гена *BCR-ABL* методом стандартизованной ПЦР-РВ и автоматизированным методом GeneXpert Dx System показал сопоставимость результатов у пациентов с ХМЛ, достигших БМО и более глубоких МО. Технология, используемая в GeneXpert Dx System, обладает большей чувствительностью и сопоставимой специфичностью, что позволяет использовать ее для определения остаточной экспрессии *BCR-ABL*. Применение данной технологии позволяет избежать необходимости стандартизации ПЦР-РВ, так как при использовании GeneXpert Dx System полученный результат автоматически приводится к международной шкале. Автоматизация таких процессов, как выделение РНК, обратная транскрипция и собственно стандартизованная количественная ПЦР-РВ, позволяет избежать технических лабораторных ошибок.

Благодарности

Работа проведена при частичной финансовой поддержке грантов МОН РФ, Соглашение № 8599 от 14.09.2012 и Соглашение № 8113 от 24.08.2012.

ЛИТЕРАТУРА

1. Baccarani M., Deininger M.W., Rosti G. et al. European LeukemiaNet Recommendations for the Management of Chronic Myeloid Leukemia: 2013. *Blood* 2013;122(6):872–84.
2. Куцев С.И. Эволюция мониторинга лечения хронического миелоидного лейкоза. *Гематол и трансфузиол* 2009;54(4):36–44.
3. Hughes T., Deininger M., Hochhaus A. et al. Monitoring CML patients responding to treatment with tyrosine kinase inhibitors — review and recommendations for ‘harmonizing’ current methodology for detecting *BCR-ABL* transcripts and kinase domain mutations and for expressing results. *Blood* 2006;108:28–37.
4. Mueller M., Cross N., Erben P. et al. Harmonization of molecular monitoring of CML therapy in Europe. *Leukemia* 2009;23:1957–63.
5. Дубина М.В., Кувва Д.А., Хомякова Т.Е. и др. Молекулярный мониторинг эффективности терапии больных хроническим миелолейкозом в России. *Совр онкол* 2010;12(4):11–7.

6. Zaritskey A., Bobrynina V., Tsaar G. et al. International Standardization of qualitative studies of *BCR-ABL* chronic myeloid leukemia patients in Russia. *Haematologica* 2012;97(Suppl 1):545.
7. Hughes T., Kaeda J., Branford S. et al. Frequency of major molecular responses to imatinib or interferon alfa plus cytarabine in newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2003;349:1423–32.
8. Cross N., White H., Mueller M. et al. Standardized definitions of molecular response in chronic myeloid leukemia. *Leukemia* 2012;26:2172–5.
9. Müller M.C., Munjal U., Erben P. et al. Stability of Conversion Factors for *BCR-ABL* Monitoring – Implications for the Frequency of Validation Rounds. *Blood* 2010;116:893.
10. Raja S., Ching J., Xi L. et al. Technology for automated, rapid, and quantitative PCR or reverse transcription-PCR clinical testing. *Clin Chem* 2005;51:882–90.
11. Cayuela J.-M., Macintyre E., Darlington M. et al. Cartridge-based automated *BCR-ABL1* mRNA quantification: solving the issues of standardization, at what cost? *Haematologica* 2011;96:664–71.
12. López-Jorge C., Gómez-Casares M., Jiménez-Velasco A. et al. Comparative study of *BCR-ABL1* quantification: Xpert assay, a feasible solution to standardization concerns. *Ann Hematol* 2012;91:1245–50.
13. Sacha T., Zawada M., Leszczyńska A. et al. Comparison of the *BCR-ABL* gene expression analysis by the GeneXpert System and standardized RQ-PCR method in three Polish Molecular Laboratories in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia treated with TKIs. *Haematologica* 2012;97(Suppl 1):286.
14. Winn-Deen E.S., Helton B., Van Atta R. et al. Development of an integrated assay for detection of *BCR-ABL* RNA. *Clinical chemistry* 2007;53(9):1593–1600.
15. Altman D., Bland J. Measurement in Medicine: the Analysis of Method Comparison Studies. *The Statistician* 1983;32:307–17.
16. Jobbagy Z., van Atta R., Murphy K.M. et al. Evaluation of the Cepheid GeneXpert *BCR-ABL* assay. *J Mol Diag* 2007;9(2):220–7.
17. Dufresne S.D., Belloni D.R., Levy N.B., Tsongalis G.J. Quantitative assessment of the *BCR-ABL* transcript using the Cepheid Xpert *BCR-ABL* Monitor assay. *Arch Pathol Lab Med* 2007;131(6):947–50.
18. Туркина А.Г., Челышева Е.Ю. Стратегия терапии хронического миелолейкоза: возможности и перспективы. *Тер архив* 2013;7:4–9.