

Лейкоз-ассоциированный иммунофенотип опухолевых клеток у детей с острым лимфобластным лейкозом из предшественников В-лимфоцитов

Л.В. Мовчан

ГУ Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Республика Беларусь

Контакты: Людмила Викторовна Мовчан movchan-l@mail.ru

Для возможности мониторинга минимальной остаточной болезни (МОБ) при остром лимфобластном лейкозе (ОЛЛ) методом проточной цитофлуориметрии (ПЦФ) важным является выбор оптимальной комбинации моноклональных антител (МКА), основанный на четком представлении об иммунофенотипических особенностях лейкемических клеток, позволяющих отличить их от нормальных костномозговых аналогов.

Согласно полученным данным установлено, что лейкемические бласты при ОЛЛ из предшественников В-лимфоцитов (ВП ОЛЛ) демонстрируют многочисленные иммунофенотипические aberrации. На опухолевых клетках более чем в 50 % случаев встречается асинхронная экспрессия дифференцировочных антигенов, в 42,6 % случаев ВП ОЛЛ наблюдается aberrантная экспрессия миелоидных маркеров. Основные отличия опухолевых клеток от нормальных костномозговых аналогов выражаются в интенсивности экспрессии таких маркеров, как CD19, CD10, CD20, CD38, CD45, CD34, CD58.

Таким образом, особенности интенсивности экспрессии антигенов CD19, CD10, CD20, CD38, CD45, CD34, CD58 опухолевыми клетками ВП ОЛЛ по сравнению с нормальными предшественниками В-лимфоцитов позволяют использовать эти маркеры в комбинации для мониторинга МОБ с целью прогнозирования исхода заболевания.

Ключевые слова: дети, острый лимфобластный лейкоз, минимальная остаточная болезнь, лейкоз-ассоциированный иммунофенотип, проточная цитофлуориметрия

Leukemia-associated immunophenotype of tumor cells in childhood B-precursors acute lymphoblastic leukemia

L. V. Movchan

Belarusian Research Center for Pediatric Oncology and Hematology, Minsk, Belarus

To allow minimal residual disease (MRD) monitoring using flow cytometry it is needed the optimal combination of monoclonal antibodies (MA), based on a precise knowledge of leukemic cells immunophenotypic features.

Multiple immunophenotypic aberrations in leukemic blasts of B-precursors ALL (BII ALL) were revealed. Asynchronous expression of differentiation antigens on tumor cells occurs in more than 50 % cases. Aberrant myeloid markers expression in 42.6 % BII ALL cases was observed. The main differences between tumor and normal bone marrow cells are the expression intensity of CD19, CD10, CD20, CD38, CD45, CD34 and CD58.

Thus, expression intensity pattern of CD19, CD10, CD20, CD38, CD45, CD34, CD58 on tumor cells compared with normal B-lymphocyte precursors allow to use these markers combination to MRD monitoring.

Key words: children, acute lymphoblastic leukemia, minimal residual disease, leukemia-associated immunophenotype, flow cytometry

Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) из предшественников В-лимфоцитов (ВП ОЛЛ) — наиболее часто встречаемая в детском возрасте опухоль, морфологическим субстратом которой являются незрелые клетки, коммитированные в В-линейном направлении. На сегодняшний день благодаря привлечению новейших диагностических средств и использованию современных протоколов лечения общая 5-летняя выживаемость пациентов составляет более 75 %. Основной проблемой, влияющей на бессобытийную выживаемость при ОЛЛ, в настоящее время остаются рецидивы заболевания. Исход рецидива крайне неблагоприятный как при проведении полихимиотерапии, так и при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток [1–3].

В основе возникновения рецидивов лежит персистенция остаточных лейкемических клеток или минимальная остаточная болезнь (МОБ). Определение содержания остаточных опухолевых клеток возможно только с применением высокочувствительных методов исследования. Одним из таких методов определения МОБ является метод многопараметрической проточной цитофлуориметрии (ПЦФ) с использованием моноклональных антител (МКА). Данный метод основан на идентификации лейкоз-ассоциированного иммунофенотипа опухолевых клеток на момент диагностики и затем отслеживании клеток с установленными характеристиками на этапах противоопухолевой терапии среди нормальных костномозговых предшественников [4–6]. Таким образом, для возможности

мониторинга МОБ методом ПЦФ необходимо выбрать оптимальную комбинацию МКА, основываясь на четком знании иммунофенотипических особенностей лейкоэмических клеток, позволяющих отличить их от нормальных костномозговых аналогов.

Целью данной работы была оценка особенностей лейкоз-ассоциированного иммунофенотипа опухолевых клеток у детей с ВП ОЛЛ, включающих асинхронную экспрессию дифференцировочных маркеров, aberrантную экспрессию миелоидных/Т-линейных маркеров, а также изменения интенсивности экспрессии специфичных маркеров для мониторинга МОБ.

Пациенты и методы

В исследование включены 286 детей в возрасте 0–18 лет (медиана 4 года) (154 мальчика и 132 девочки) с первичным ВП ОЛЛ, диагностированным в Республиканском научно-практическом центре детской онкологии, гематологии и иммунологии (Беларусь) в период с 2005 по 2011 г. Диагноз Про-В-ОЛЛ, Common В-ОЛЛ и Пре-В-ОЛЛ был установлен в соответствии с классификацией ВОЗ и на основании оценки иммунофенотипической характеристики опухолевых клеток (EGIL-95) [7].

Анализ иммунофенотипических характеристик опухолевых клеток, полученных из костного мозга

(КМ) пациентов, выполняли методом многопараметрической ПЦФ. Для этого с использованием градиента плотности (Histopaque-1077 (Sigma)) из полученного после диагностической пункции образца КМ выделяли моноклеарное кольцо, отбирали полученные клетки, проводили лизирование эритроцитов и дважды отмывали в растворе фосфатного буфера (Phosphate buffered saline – PBS). Затем полученную суспензию клеток в концентрации 1 млн/мл вносили в сухие пробирки (по 100 мкл) и добавляли МКА в количестве, указанном фирмой-производителем в инструкции по применению. Для диагностического иммунофенотипирования использовали панель МКА, конъюгированных с флуоресцентными метками FITC, PE, PE-Cy5 (табл. 1).

Для оценки интенсивности флуоресценции (Mean Fluorescence Intensity – MFI) маркеров CD10, CD20, CD34, CD38, CD58, CD45, CD19 и CD11a использовали следующую панель МКА, конъюгированных с флуоресцентными метками PE, ECD, PE-Cy5 и PE-Cy7 (см. табл. 1). Анализ интенсивности флуоресценции маркеров проводили на лейкоэмических клетках 32 пациентов с ВП ОЛЛ до начала противоопухолевой терапии и для сравнения на нормальных предшественниках В-лимфоцитов КМ 14 здоровых доноров (доноры КМ для аллогенной трансплантации).

Таблица 1. Панели моноклональных антител для иммунофенотипической диагностики ОЛЛ

Для диагностического иммунофенотипирования FITC/PE/PC5	Для оценки интенсивности флуоресценции FITC/PE/ECD/PE-Cy5/PE-Cy7
IgG1(mouse) / IgG2a(mouse) / CD45	Syto16 / CD20 / CD45 / CD10 / CD19
CD45 / CD14 / –	Syto16 / CD58 / CD45 / CD10 / CD19
CD4 / CD8 / CD45	Syto16 / CD34 / CD45 / CD10 / CD19
CD3 / HLA-DR / CD45	Syto16 / CD11a / CD45 / CD10 / CD19
CD20 / CD5 / CD45	Syto16 / CD38 / CD45 / CD10 / CD19
CD7 / CD13 / CD45	
CD10 / CD117 / CD45	
CD19 / CD33 / CD45	
CD34 / CD22 / CD45	
CD2 / CD1a / CD45	
CD15 / CD11b / CD45	
sIgM / – / CD45	
CD65 / CD56 / CD45	
cyIgG1(mouse) / cyIgG2(mouse) / CD45	
cyIgM / – / CD45	
Tdt / cyCD79a / CD45	
cyMPO / – / CD45	
cyCD3 / – / CD45	

Все моноклональные антитела фирмы Beckman Coulter

Образцы тщательно перемешивали и инкубировали при комнатной температуре в течение 20 мин (согласно инструкции по применению фирмы-производителя). Для определения внутриклеточных антигенов дополнительно применяли состав реагентов для фиксации и пермеабиллизации (Becton Dickinson). После инкубации клетки однократно отмывали в растворе PBS с последующей фиксацией 1 % раствором параформальдегида. Учет и анализ результатов проводили на проточном цитофлуориметре FC500 (Beckman Coulter) в программе CXP.

Критерием позитивности считали наличие экспрессии маркера на поверхности более чем 20 % лейкоэмических клеток. Для цитоплазматических антигенов лимит позитивности снижен до 10 % [7].

Статистическая обработка результатов

Для математической обработки и статистического анализа данных использовали программу Statistica 6.0.

Результаты исследований интенсивности флуоресценции маркеров на лейкоэмических и нормальных предшественниках представлены в виде значений медианы и диапазона данных (25–75-й перцентили). Оценку достоверности различий между независимыми группами проводили с использованием теста Манна–Уитни. Результаты считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Согласно рекомендациям EGIL-95 ВП ОЛЛ в зависимости от наличия или отсутствия на поверхности опухолевых клеток специфичных маркеров разделяются на 3 подтипа: Про-В-ОЛЛ, Common В-ОЛЛ и Пре-В-ОЛЛ [7]. Иммунофенотипический диагноз ВП ОЛЛ ставится на основании экспрессии лейкоэмическими клетками 2 и более специфичных В-линейных маркеров: CD19, и/или CD79a, и/или CD22, кроме того, в большинстве случаев на лимфобластах присутствует экспрессия антигенов гистосовместимости II класса – HLA-DR и цитоплазматически выявляется фермент – терминальная дезоксирибонуклеотидилтрансфераза (TdT). Иммунофенотипической особенностью Про-В-ОЛЛ, помимо наличия основных линейно-специфичных маркеров, является отсутствие на поверхности опухолевых клеток экспрессии антигена CD10 и цитоплазматического (су) IgM. Для Common В-ОЛЛ диагностическим критерием служит обязательное присутствие на лейкоэмических клетках маркера CD10 при условии отсутствия экспрессии су IgM, тогда как для Пре-В-ОЛЛ обязательным является выявление су IgM.

При анализе собственных данных мы определили, что у пациентов с ОЛЛ 90,5 % случаев приходится на долю ВП ОЛЛ, из которых 78,7 % составляют Common В-ОЛЛ, 12,9 % – Пре-В-ОЛЛ и 8,4 % – Про-В-ОЛЛ.

Иммунологическая классификация ВП ОЛЛ основана на представлении об экспрессии линейно-

специфичных и стадийно-специфичных антигенов на поверхности клеток в ходе нормальных этапов дифференцировки В-лимфоцитов (гематопоэза). Однако в настоящее время установлено, что лейкоэмические бласты при ВП ОЛЛ демонстрируют многочисленные иммунофенотипические aberrации по сравнению с их нормальными гемопоэтическими аналогами [8]. Такие особенности определяют лейкоз-ассоциированный иммунофенотип (ЛАИФ) опухолевых клеток, который, в свою очередь, играет важную роль в диагностике ОЛЛ и мониторинге МОБ на этапах терапии заболевания.

Понятие ЛАИФ при ВП ОЛЛ включает в себя асинхронную экспрессию дифференцировочных маркеров; aberrантную экспрессию (коэкспрессию) миелоидных/Т-линейных маркеров; увеличение/снижение интенсивности экспрессии специфичных маркеров [8–11].

Хорошо известно, что в ходе нормального гемопоэза для каждого этапа созревания В-лимфоцитов характерен определенный спектр экспрессии антигенов. На самой ранней стадии (стадия Про-В лимфоцитов) В-предшественники экспрессируют CD34 и TdT, наблюдается низкая интенсивность экспрессии CD10, при этом отмечается полное отсутствие антигена CD20. По мере созревания клеток происходит постепенная потеря таких маркеров, как CD34 и TdT, и становится более выраженной экспрессия CD10 (стадия Пре-Пре-В-лимфоцитов). На следующей стадии постепенно появляется экспрессия CD20, внутриклеточного IgM и отмечается слабое проявление поверхностного IgM (стадия Пре-В-лимфоцитов). На этих стадиях клетки умеренно экспрессируют CD22, а также выявляется выраженная экспрессия антигена CD38. При переходе на стадию зрелых В-лимфоцитов происходит потеря экспрессии CD10, CD38, увеличивается уровень экспрессии маркера CD22. На поверхности зрелых клеток экспрессируется высокий уровень IgM. Умеренная экспрессия CD45 наблюдается на самой ранней стадии дифференцировки и увеличивается по мере созревания клеток. Такие маркеры, как CD19, CD79a и HLA-DR, позитивны на протяжении всех этапов дифференцировки В-лимфоцитов [8].

В результате нашей работы было установлено, что во всех случаях заболевания в той или иной степени выраженности встречаются иммунофенотипические aberrации, не свойственные нормальным гемопоэтическим предшественникам. Асинхронная экспрессия дифференцировочных маркеров наблюдалась в большинстве случаев ВП ОЛЛ (табл. 2А). Наличие экспрессии антигена CD34 было выявлено в 74 % ВП ОЛЛ, причем в 75,4 % случаев Common-В ОЛЛ и в 62,1 % – Пре-В ОЛЛ, которые соответствуют более зрелым стадиям нормального гемопоэза. Тогда как в 21,8 % случаев Про-В ОЛЛ экспрессия этого маркера не отмечена. Аналогичным образом

Таблица 2. Особенности экспрессии антигенов при ВП ОЛЛ

Маркер	Про-В ОЛЛ n (%)	Common-В ОЛЛ n (%)	Пре-В ОЛЛ n (%)	ВП ОЛЛ n (%)
А				
CD10 (n = 24/225/37/286)				
Негативная экспрессия	24 (100)	0 (0)	3 (8,1)	27 (9,4)
Гетерогенная экспрессия	0 (0)	16 (7,1)	1 (2,7)	17 (5,9)
Гомогенная экспрессия	0 (0)	209 (92,9)	33 (89,6)	242 (84,6)
CD20 (n = 24/224/36/284)				
Негативная экспрессия	23 (95,8)	135 (60,2)	16 (44,5)	174 (61,3)
Позитивная экспрессия	1 (4,2)	89 (39,8)	20 (55,5)	110 (38,7)
CD34 (n = 24/224/37/285)				
Негативная экспрессия	5 (20,8)	55 (24,5)	14 (37,8)	74 (26)
Позитивная экспрессия	19 (79,2)	169 (75,4)	23 (62,1)	211 (74)
TdT (n = 20/162/34/216)				
Негативная экспрессия	5 (25)	6 (3,7)	4 (11,8)	15 (6,9)
Позитивная экспрессия	15 (75)	156 (96,3)	30 (88,2)	201 (93,1)
CD34⁺/CD20⁺ коэкспрессия	1 (4,2)	56 (25,1)	12 (33,3)	69 (24,4)
CD45⁻ (n = 23/222/36/286)	0 (0)	103 (46,4)	14 (38,9)	117 (41,6)
Б				
Миелоидный антиген⁺ (*) (n = 24/212/36/272)	14 (58,3)	90 (42,4)	12 (33,3)	116 (42,6)
CD13⁺ (n = 24/222/36/282)	8 (33,3)	66 (29,7)	5 (13,9)	79 (28)
CD33⁺ (n = 24/220/35/279)	7 (29,2)	37 (16,8)	4 (11,4)	48 (17,2)
CD15⁺ (n = 23/208/35/266)	6 (26,1)	12 (5,8)	4 (11,4)	22 (8,27)
CD117⁺ (n = 23/216/36/276)	0 (0)	3 (1,4)	0 (0)	3 (1,1)
В				
CD2⁺ (n = 24/223/36/283)	1 (4,2)	7 (3,1)	2 (5,6)	10 (3,5)
CD3⁺ (n = 24/224/35/283)	0 (0)	2 (0,9)	0 (0)	2 (0,7)
CD5⁺ (n = 24/223/36/283)	1 (4,2)	5 (2,2)	0 (0)	6 (2,1)
CD1a⁺ (n = 24/217/35/276)	0 (0)	2 (0,9)	1 (2,9)	3 (1,1)
CD7⁺ (n = 24/224/36/284)	2 (8,3)	3 (1,3)	2 (5,6)	7 (2,5)
CD4⁺ (n = 24/223/36/283)	0 (0)	0 (0)	1 (2,8)	1 (0,4)
CD8⁺ (n = 24/223/36/283)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

(*) — экспрессия хотя бы 1 миелоидного антигена.

наблюдалась нетипичная для соответствующих этапов нормальной дифференцировки экспрессия фермента TdT. В 25% случаев Про-В ОЛЛ данный антиген не выявлялся, в то время как у 96,3 % пациентов с Common-В и у 88,2 % с Пре-В ОЛЛ на опухолевых клетках отмечалась экспрессия TdT. Экспрессия маркера CD20, появление которого характерно для более поздней стадии гемопоэза В-лимфоцитов, наблюдалась в 1 (4,2 %) случае из 23 Про-В ОЛЛ и в 89 (39,8 %) случаях из 224 Common-В ОЛЛ, тогда как у 16 (44,5 %) пациентов из 37 с Пре-В ОЛЛ экспрессия данного маркера была отрицательной. У 69 (24,4 %) из 210 детей выявлена одномоментная

коэкспрессия маркеров разных стадий дифференцировки CD34⁺/CD20⁺, причем данная абберрация чаще встречалась при Пре-В подтипе ОЛЛ (33,3 %), в 25,1 % случаев Common-В ОЛЛ и в 4,2 % Про-В ОЛЛ соответственно. Отсутствие экспрессии антигена CD45 было выявлено у 117 (41,6 %) из 286 пациентов. Однако во всех случаях Про-В ОЛЛ экспрессия данного маркера была позитивной.

Коэкспрессия миелоидных маркеров на поверхности опухолевых клеток была часто встречаемой абберацией у пациентов с ВП ОЛЛ и наблюдалась в 116 (42,6 %) из 272 случаев (табл. 2Б). Было установлено, что на лейкоэмических лимфобластах с раз-

личной частотой и интенсивностью экспрессируются такие миелоидные антигены, как CD13, CD117, CD15 и CD33. Наиболее часто, у 79 (28 %) из 282 пациентов, среди миелоидной коэкспрессии встречалась aberrантная экспрессия маркера CD13. С меньшей частотой была отмечена коэкспрессия маркеров CD33, CD15, CD117, что составляло 17,2 %; 8,27 % и 1,1 % случаев соответственно.

Экспрессия Т-линейных маркеров на лейкомиических клетках ВП ОЛЛ наблюдалась в редких случаях (табл. 2В). Так, коэкспрессия антигена CD2 была выявлена в 3,5 %, CD7 – в 2,5 %. Еще реже встречалась экспрессия таких маркеров, как CD5, CD1a, CD3 и CD4.

С учетом того, что aberrантная экспрессия антигенов других линий дифференцировки определялась менее чем в 50 % случаев ВП ОЛЛ, данные маркеры нецелесообразно включать в панель МКА для мониторинга МОБ.

Метод ПЦФ позволяет определить как процент клеток, экспрессирующих исследуемый маркер, так и интенсивность его флуоресценции (MFI), которая выражается в условных единицах (у. е.), соответствующих среднему каналу максимального свечения маркера. Показатели интенсивности флуоресценции отражают количество экспрессируемых антигенных молекул клетки.

Далее мы сравнивали интенсивность экспрессии значимых для диагностики ВП ОЛЛ антигенов CD45, CD19, CD10, CD20, CD34, CD11a, CD58, CD38 опухолевыми клетками у 32 пациентов до начала лечения и нормальными предшественниками В-лимфоцитов КМ у 14 здоровых доноров. Анализ полученных данных показал, что спектр MFI исследуемых маркеров на опухолевых клетках существенно отличается от их нормальных гемопоэтических аналогов (см. табл. 3 и рисунок).

Как представлено на рисунке, схема А, интенсивность экспрессии общего лейкоцитарного антигена CD45 на лейкомиических клетках статистически значимо ниже по сравнению с нормальными предшественниками В-лимфоцитов. Так, медиана средней интенсивности флуоресценции данного маркера на опухолевых клетках составляла 3 (1–5) у. е. и 22 (19–24) у. е. на нормальных клетках соответственно ($p < 0,0001$). Такая же тенденция была характерна относительно специфичного для В-лимфоцитов антигена CD19 (рисунок, схема Б). Медиана уровня экспрессии на лейкомиических клетках составляла 9 (5,5–12) у. е., тогда как на поверхности нормальных В-лимфоцитов – 14 (13–17) у. е. ($p = 0,0005$). В противоположность предыдущим маркерам наблюдался достоверно высокий уровень интенсивности экспрессии на клетках ВП ОЛЛ таких антигенов, как CD10 и CD34 (рисунок, схемы В, Г). Медиана интенсивности экспрессии этих маркеров на опухолевых клетках была равна 19,5 (12,7–32,7)

и 7,5 (2,5–13,3) у. е., тогда как на нормальных клетках – 11,9 (10,4–13) и 2 (1,5–2) у. е. соответственно ($p = 0,002$ и $p = 0,0004$ соответственно). Выраженное различие в интенсивности флуоресценции было отмечено относительно антигена CD38 (рисунок, схема Д). Достоверно низкая экспрессия данного маркера наблюдалась на клетках пациентов с ВП ОЛЛ и составляла 11,5 (6–20) у. е., тогда как на нормальных В-предшественниках медиана его экспрессии была равна 43 (42–52) у. е. ($p < 0,0001$). Согласно данным, представленным на рисунке, схемы Е и Ж, увеличение MFI на лейкомиических клетках было характерно для таких маркеров, как CD58 и CD11a. Так, на поверхности лейкомиических клеток медиана уровня экспрессии этих маркеров составляла 8,9 (6,9–11) и 0,6 (0,5–1) у. е., тогда как на нормальных предшественниках – 6 (5–7) и 0,5 (0,3–0,8) у. е. соответственно ($p = 0,008$ и $p = 0,04$ соответственно). Снижение уровня экспрессии в анализируемых образцах КМ пациентов с ВП ОЛЛ было отмечено для антигена CD20, но оно не имело статистической достоверности (рисунок, схема З). Так, медиана интенсивности флуоресценции на опухолевых клетках составляла 1,25 (0,7–3) у. е. и 2,5 (1,1–5) у. е. на нормальных предшественниках В-лимфоцитов соответственно ($p = 0,06$).

Согласно полученным данным, очевидно, что лейкомиические бласты при ВП ОЛЛ имеют многочисленные иммунофенотипические aberrации по сравнению с их нормальными гемопоэтическими аналогами. На опухолевых клетках более чем в 50 % случаев встречается асинхронная экспрессия дифференцировочных антигенов, в 42,6 % ВП ОЛЛ наблюдается aberrантная экспрессия миелоидных маркеров. Однако основного внимания заслуживают различия уровней экспрессии таких маркеров, как CD19, CD10, CD20, CD38, CD45, CD34, CD58, на опухолевых клетках по сравнению с их нормальными костномозговыми аналогами, которые в той или иной степени наблюдаются в исследуемых образцах КМ пациентов с ВП ОЛЛ. Соответственно использование комбинации этих маркеров для мониторинга МОБ позволит с высокой специфичностью идентифицировать опухолевые клетки среди нормальных гемопоэтических предшественников КМ, как на этапе диагностики, так и в ходе противоопухолевой терапии, и тем самым идентифицировать пациентов с высокой вероятностью развития рецидива.

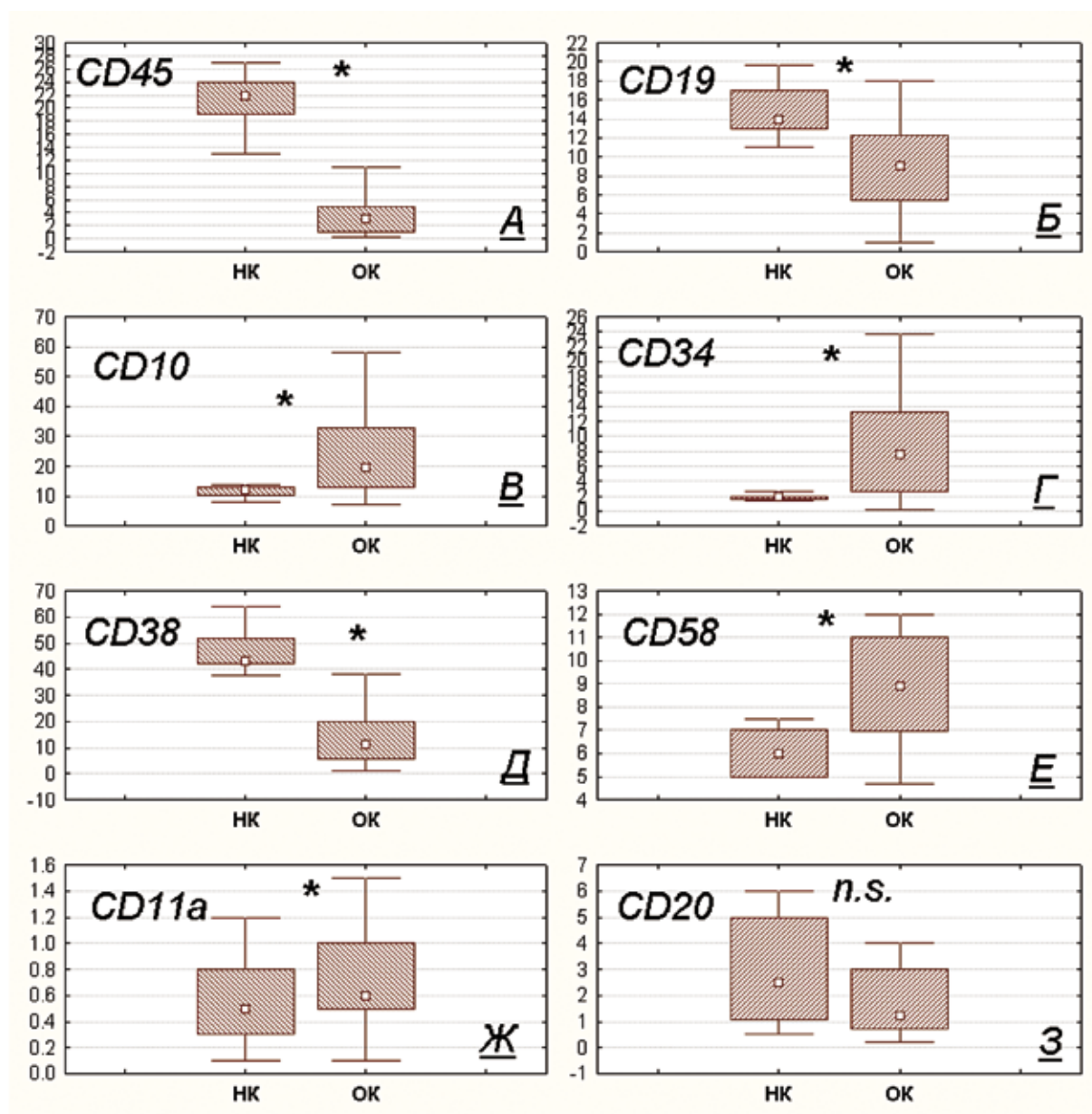
Заключение

Различия в интенсивности экспрессии антигенов CD19, CD10, CD20, CD38, CD45, CD34, CD58 между опухолевыми клетками ВП ОЛЛ и нормальными предшественниками В-лимфоцитов позволяют использовать комбинацию этих маркеров для мониторинга МОБ с целью прогнозирования исхода заболевания.

Таблица 3. MFI опухолевых клеток и нормальных предшественников

Маркер	ОК ВП ОЛЛ, n = 32 Med (min–max)	В-предшественники, n = 14 Med (min–max)	p
CD45	3 (0,2–27)	22 (13–43)	0,000001
CD19	9 (1–41,8)	14 (11–19,7)	0,0005
CD10	19,5 (7–77)	11,9 (8–18)	0,002
CD34	7,5 (0,2–30)	2 (1,4–3)	0,00039
CD38	11,5 (1–54)	43 (37,7–64)	0,00000
CD58	8,9 (4,7–27)	6 (5–11)	0,008
CD11a	0,6 (0,1–2)	0,5 (0,1–1,2)	0,04
CD20	1,25 (0,2–11)	2,5 (0,5–12)	0,06

ОК – опухолевые клетки; достоверность $p \leq 0,05$.



Сравнение уровня экспрессии иммунофенотипических маркеров опухолевыми клетками ВП ОЛЛ и нормальными предшественниками В-лимфоцитов
 НК – нормальные предшественники В-лимфоцитов; ОК – опухолевые клетки ВП ОЛЛ; ось Y – MFI;
 * – $p < 0,05$; n.s. – $p > 0,05$

Л и т е р а т у р а

1. Coustan-Smith E., Sancho J., Hancock M.L. et al. Clinical importance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2000;96:2691–6.
2. Moppet J., Burke G.A., Steward C.G. et al. The clinical relevance of detection of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *J Clin Pathol* 2003;3:249–53.
3. Савва Н.Н. Актуальность и перспективы определения минимальной остаточной болезни при остром лимфобластном лейкозе у детей. *Онкол журн* 2009;Т. 3;1(9):72–7.
4. van Dongen J.J., Seriu T., Panzer-Grümayer E.R. et al. Prognostic value of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukaemia in childhood. *Lancet* 1998;352:1731–8.
5. Dworzak M.N., Fröschl G., Printz D. et al. Prognostic significance and modalities of flow cytometric minimal residual disease detection in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2002;99:1952–8.
6. Borowitz M.J., Devidas M., Hunger S.P. et al. Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia and its relationship to other prognostic factors: a Children's Oncology Group study. *Blood* 2008;111:5477–85.
7. Bene M.C., Castoldi G., Knapp W. et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia* 1995;9:1783–6.
8. Seegmiller A.C., Kroft S.H., Karandikar N.J., McKenna R.W. et al. Characterization of Immunophenotypic Aberrancies in 200 Cases of B Acute Lymphoblastic Leukemia. *Am J Clin Pathol* 2009;132(6):940–9.
9. Chen W., Karandikar N.J., McKenna R.W., Kroft S.H. Stability of leukemia-associated immunophenotypes in precursor B-lymphoblastic leukemia/lymphoma: a single institution experience. *Am J Clin Pathol* 2007;127(1):39–46.
10. McKenna R.W., Asplund S.L., Kroft S.H. Immunophenotypic analysis of hematogones (B-lymphocyte precursors) and neoplastic lymphoblasts by 4-color flow cytometry. *Leuk Lymphoma* 2004;45:277–85.
11. Iwamoto S., Deguchi T., Ohta H. et al. Flow cytometric analysis of de novo acute lymphoblastic leukemia in childhood: report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. *Int J Hematol* 2011;94:185–92.