

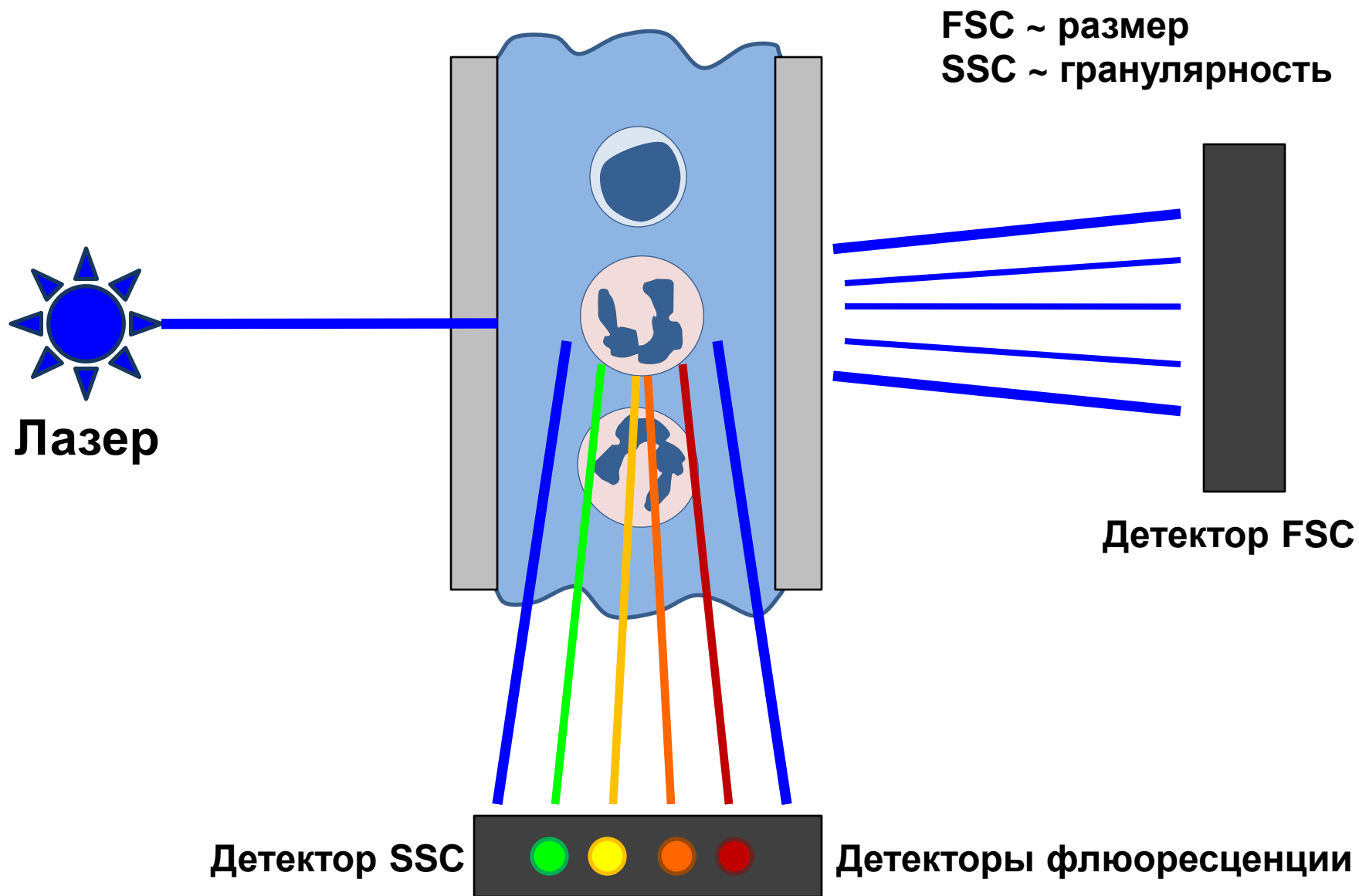


А.М. Попов

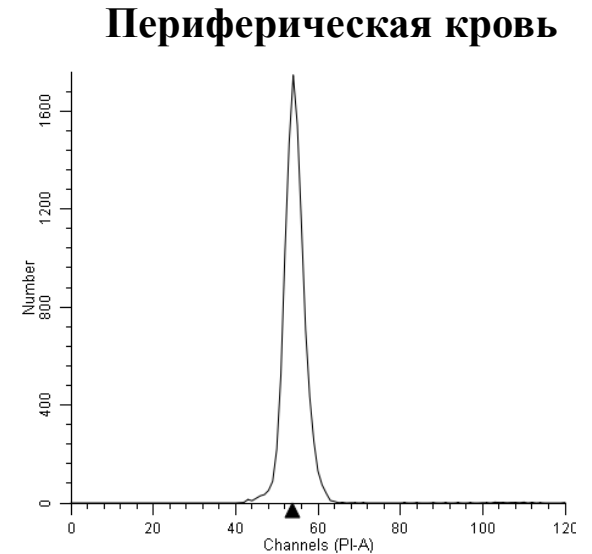
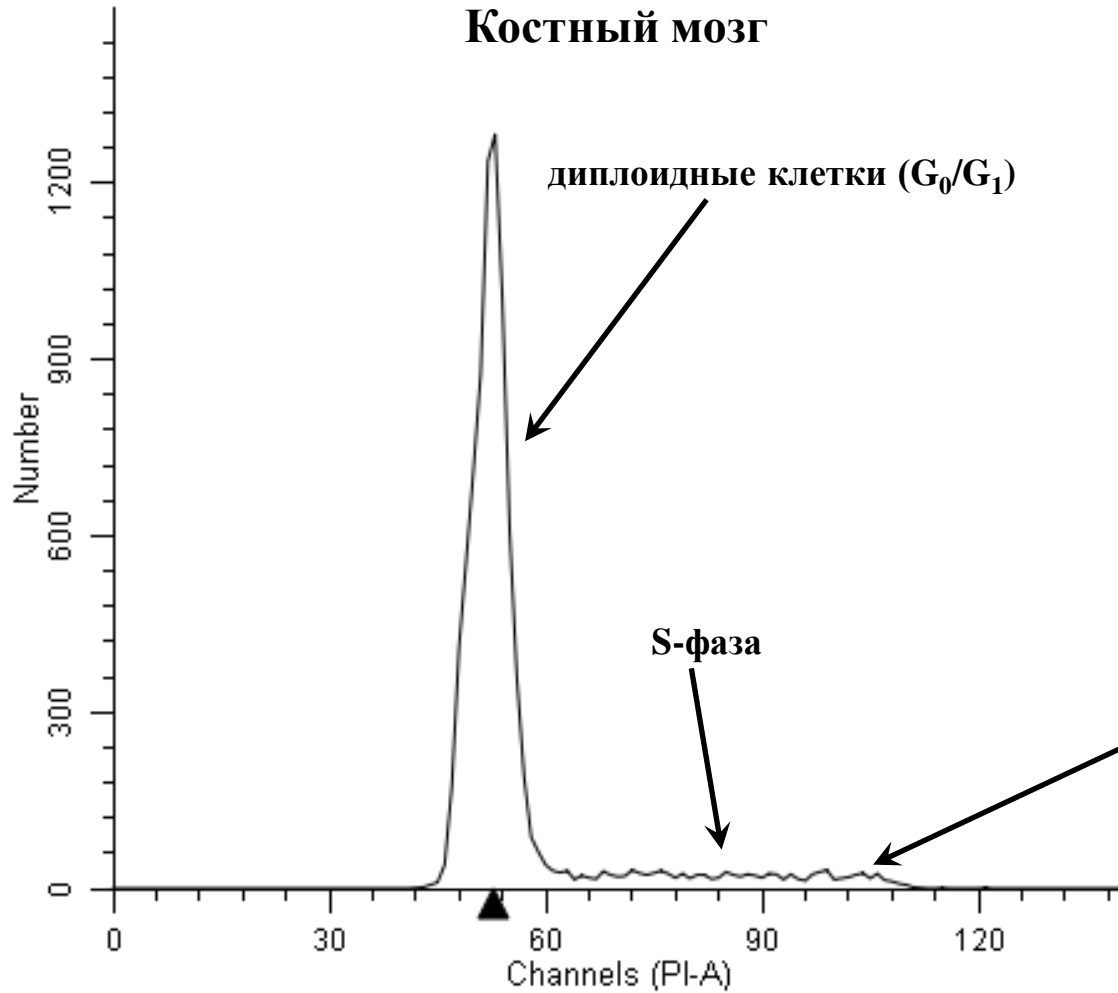
**Диагностика и мониторинг онкогематологических заболеваний:
задачи, решаемые методом проточной цитометрии и сортинга**

*Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии
им. Д. Рогачева, Москва*

Проточная цитометрия

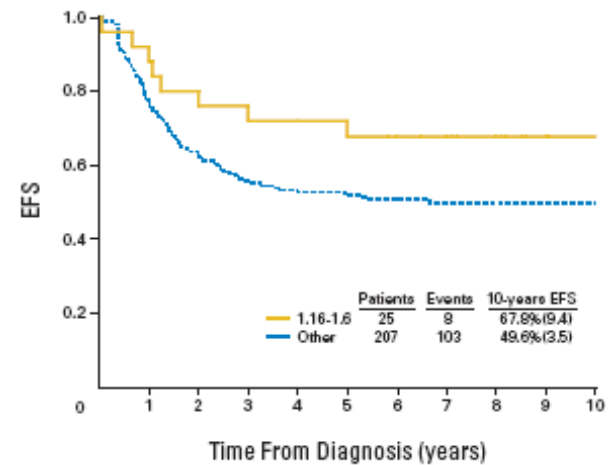
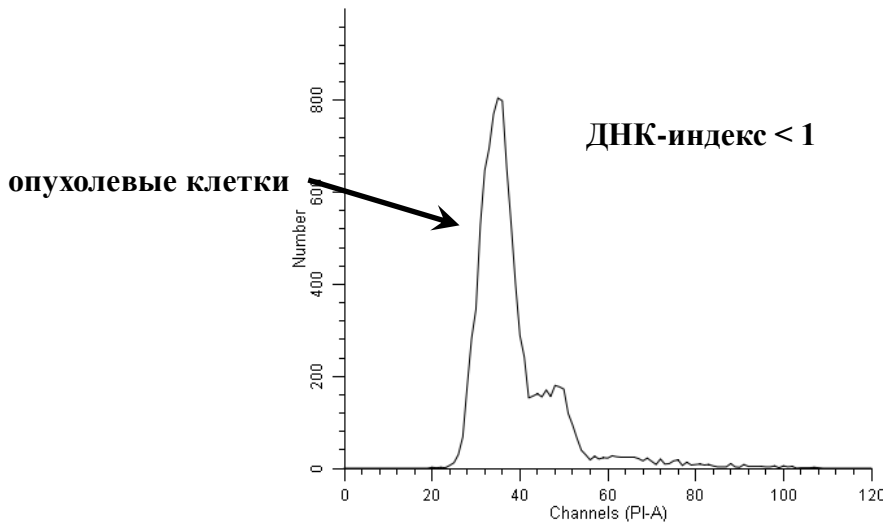
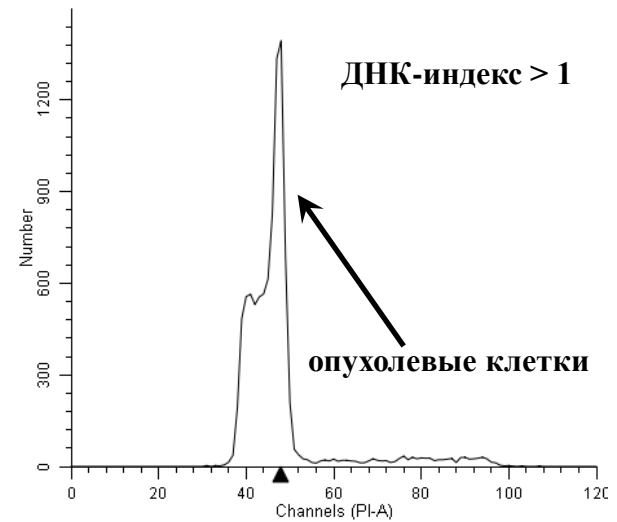
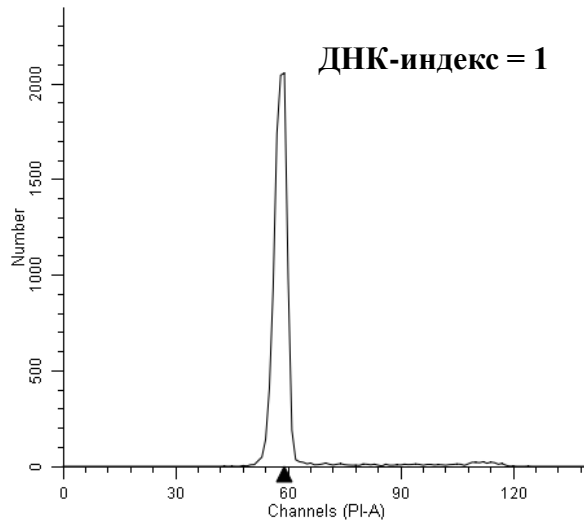


ДНК-цитометрия



ДНК-цитометрия ОЛЛ

$$\text{ДНК-индекс} = \frac{\text{количество ДНК в опухолевых клетках}}{\text{количество ДНК в нормальных диплоидных клетках}}$$



1-цветная цитометрия



2-цветная цитометрия

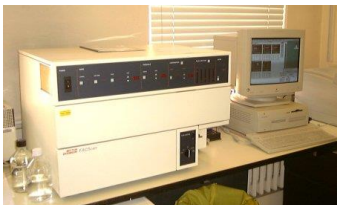
1-цветная цитометрия



2-цветная цитометрия



3-цветная цитометрия



FACScan

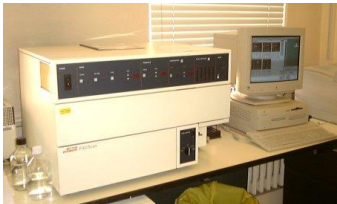
1-цветная цитометрия



2-цветная цитометрия



3-цветная цитометрия



FACScan



4-цветная цитометрия



FACS Calibur

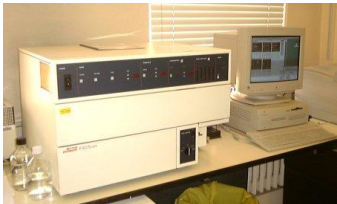
1-цветная цитометрия



2-цветная цитометрия



3-цветная цитометрия



FACScan



4-цветная цитометрия



FACS Calibur



**Многоцветная
цитометрия (4-6 цветов)**



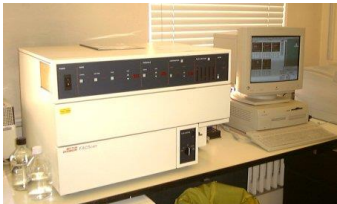
1-цветная цитометрия



2-цветная цитометрия



3-цветная цитометрия



FACScan



4-цветная цитометрия



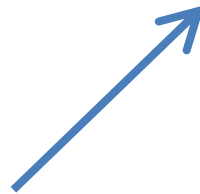
FACS Calibur



Многоцветная
цитометрия (4-6 цветов)



Цитометрия высокого
разрешения (6+ цветов)



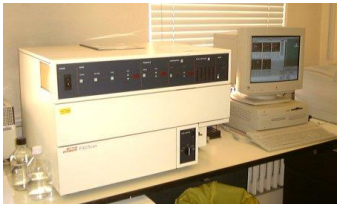
1-цветная цитометрия



2-цветная цитометрия



3-цветная цитометрия



FACScan



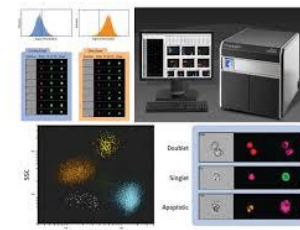
4-цветная цитометрия



FACS Calibur



Акустическая цитометрия



Визуализационная цитометрия



Цитометрия высокого разрешения (6+ цветов)



Анализ спектра флуоресценции

Многоцветная цитометрия (4-6 цветов)



1-цветная цитометрия



2-цветная цитометрия



3-цветная цитометрия



FACScan



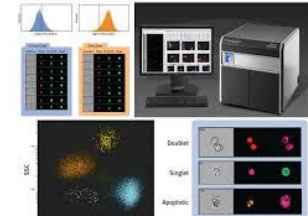
4-цветная цитометрия



FACS Calibur



Акустическая цитометрия



Визуализационная цитометрия



Цитометрия высокого разрешения (6+ цветов)

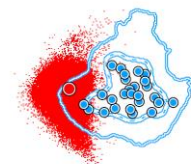


Анализ спектра флуоресценции

Многоцветная цитометрия (4-6 цветов)



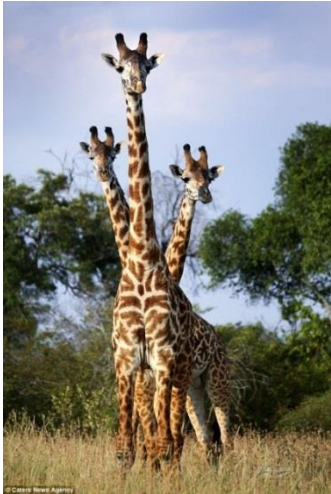
Цитометрия следующего поколения



Задачи иммунофенотипирования ОЛ

- ✓ Доказать, что исследуемые клетки опухолевые**
- ✓ Классифицировать ОЛ**
- ✓ Мониторировать МОБ**
- ✓ Определить наличие мишеней для таргетной терапии**

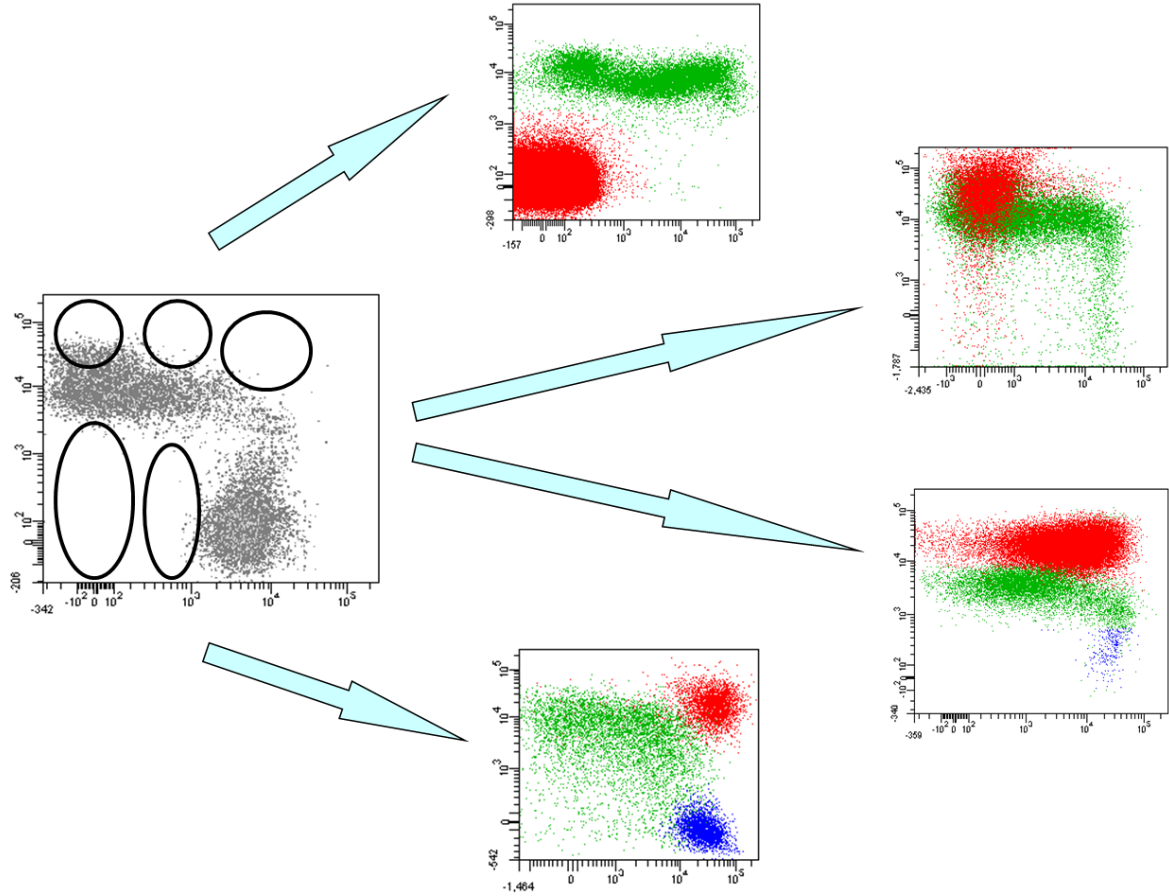
Лейкоз-ассоциированные иммунофенотипы



Лейкоз-ассоциированные иммунофенотипы



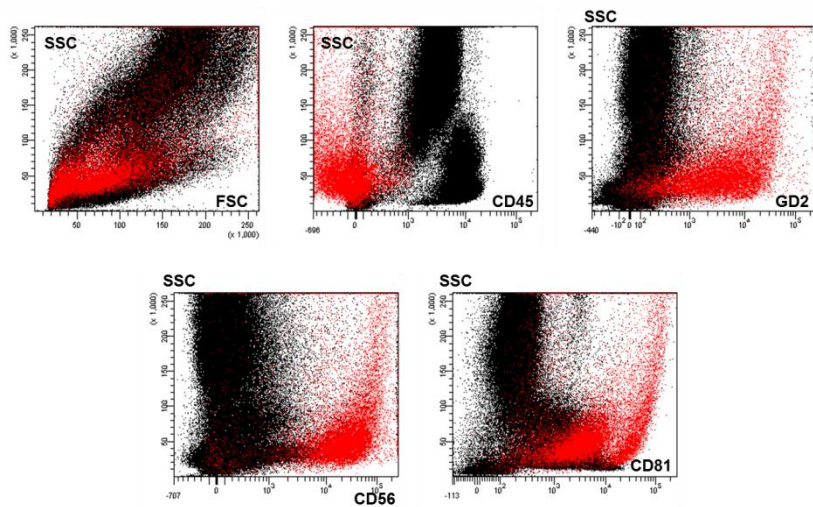
CD10



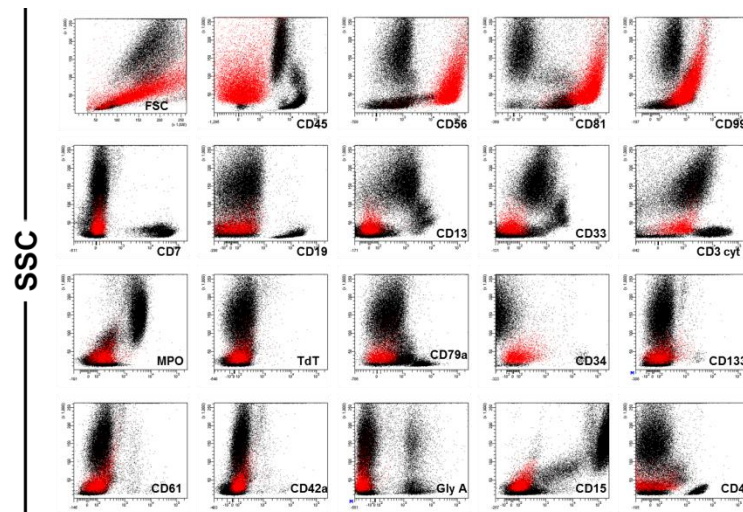
CD20

Поражение костного мозга у пациентов с солидными опухолями

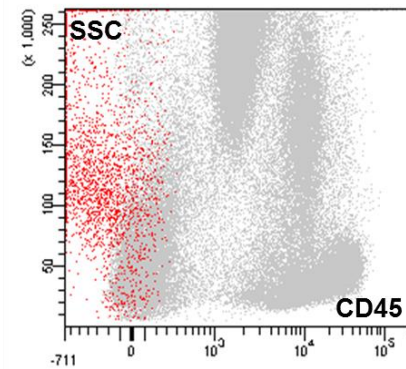
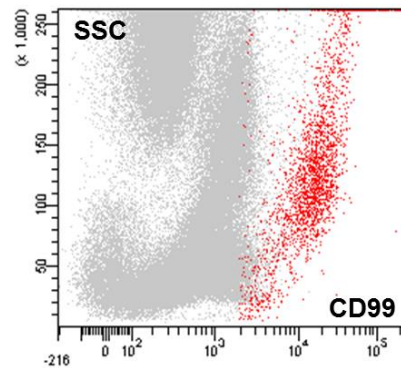
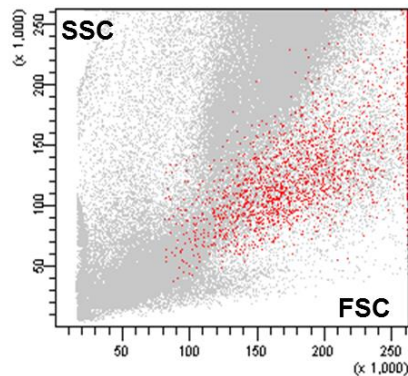
Нейробластома



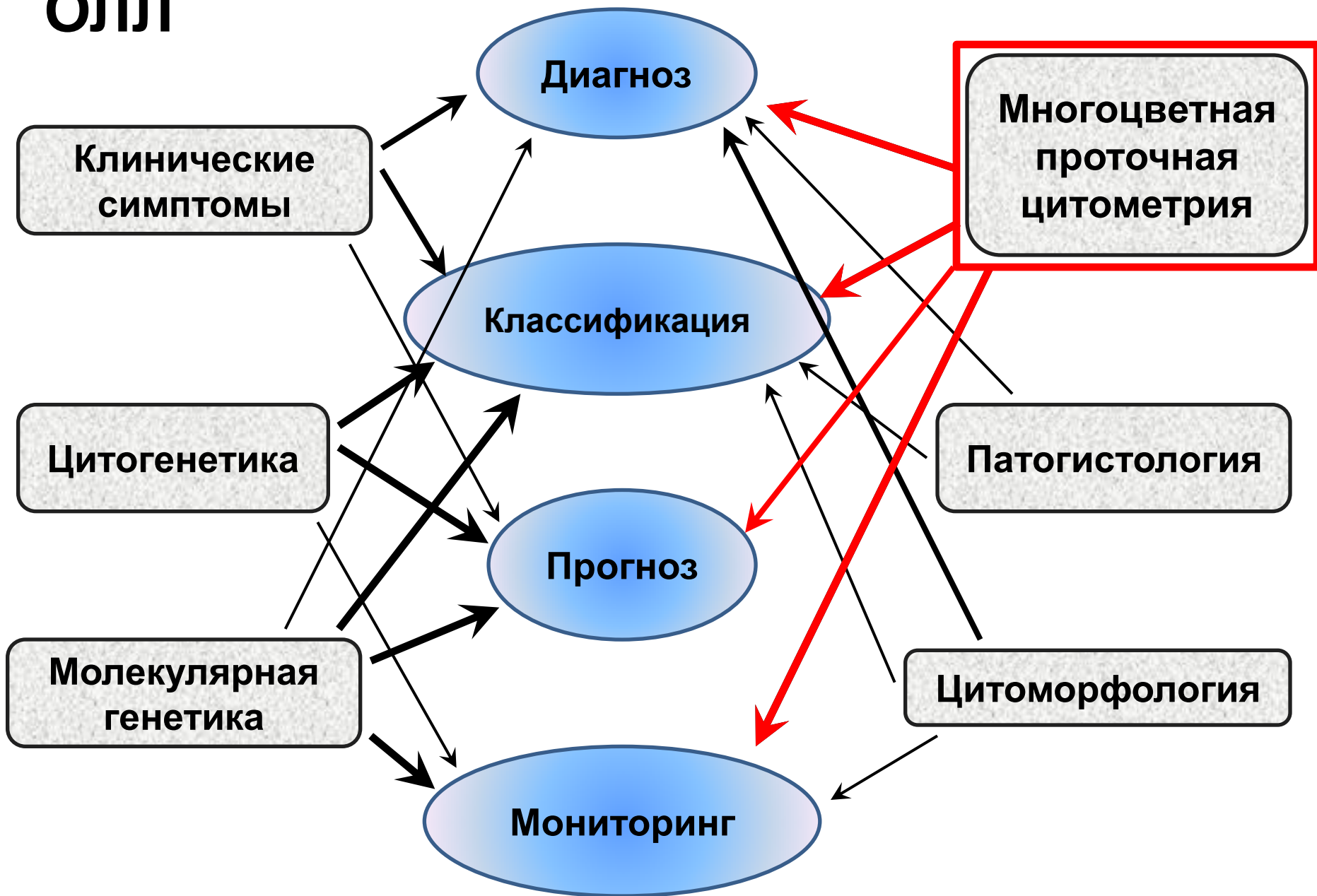
Альвеолярная рабдомиосаркома



Саркома Юинга



ОЛЛ



Иммунофенотипические классификации ОЛЛ

✓ EGIL (*M.C. Bene et al, Leukemia, 1995*)

✓ В-линейные ALL

✓ BI-ALL

✓ BII-ALL

✓ BIII-ALL

✓ BIV-ALL

✓ Острые гибридные лейкозы

✓ Острый бифенотипический лейкоз

✓ Острый билинейный лейкоз

✓ T-линейные ALL

✓ TI-ALL

✓ TII-ALL

✓ TIII-ALL

✓ TIV-ALL

✓ NK-ALL

✓ Острый недифференцированный лейкоз

✓ ВОЗ (*J.W. Vardiman et al, Blood, 2009*)

✓ В-лимфобластный лейкоз/лимфома

✓ T-лимфобластный лейкоз/лимфома

✓ Острые лейкозы неясной линейности

✓ Острый недифференцированный лейкоз

✓ Острые лейкозы смешанной линейности

В-линейные ОЛЛ

$\mu/\kappa/\lambda^-$

$\mu/\kappa/\lambda^+$

$i\mu/i\kappa/i\lambda^-$

$i\mu/i\kappa/i\lambda^+$

CD10⁻

CD10⁺

VI-ОЛЛ

VII-ОЛЛ

VIII-ОЛЛ

IV-ОЛЛ

Потенциально прогностически значимые маркеры при ВП-ОЛЛ

- ✓ CD10
- ✓ CD20
- ✓ Поверхностные миелоидные антигены (CD13, CD33, CD117, CD15)
- ✓ Миелопероксидаза
- ✓ CD45
- ✓ NG2

Потенциальные мишени для таргетной терапии

- ✓ CD19
- ✓ CD20
- ✓ CD22
- ✓ CD38
- ✓ CD52

В-линейные ОЛЛ

$\mu/\kappa/\lambda^-$

$\mu/\kappa/\lambda^+$

$i\mu/i\kappa/i\lambda^-$

$i\mu/i\kappa/i\lambda^+$

CD10⁻

CD10⁺

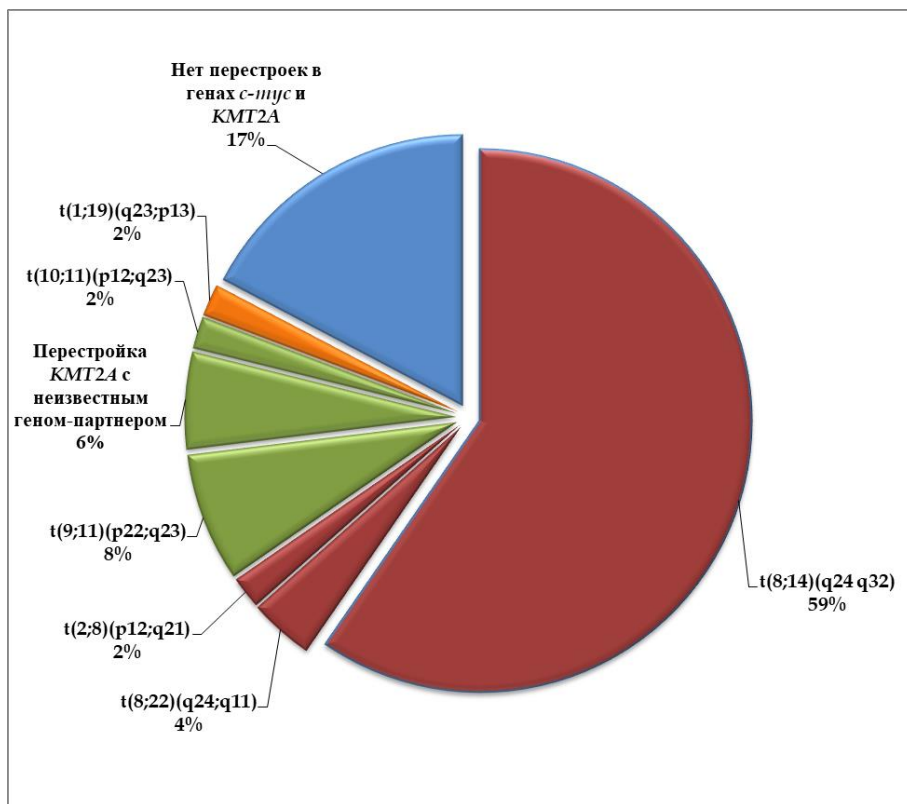
VI-ОЛЛ

VII-ОЛЛ

VIII-ОЛЛ

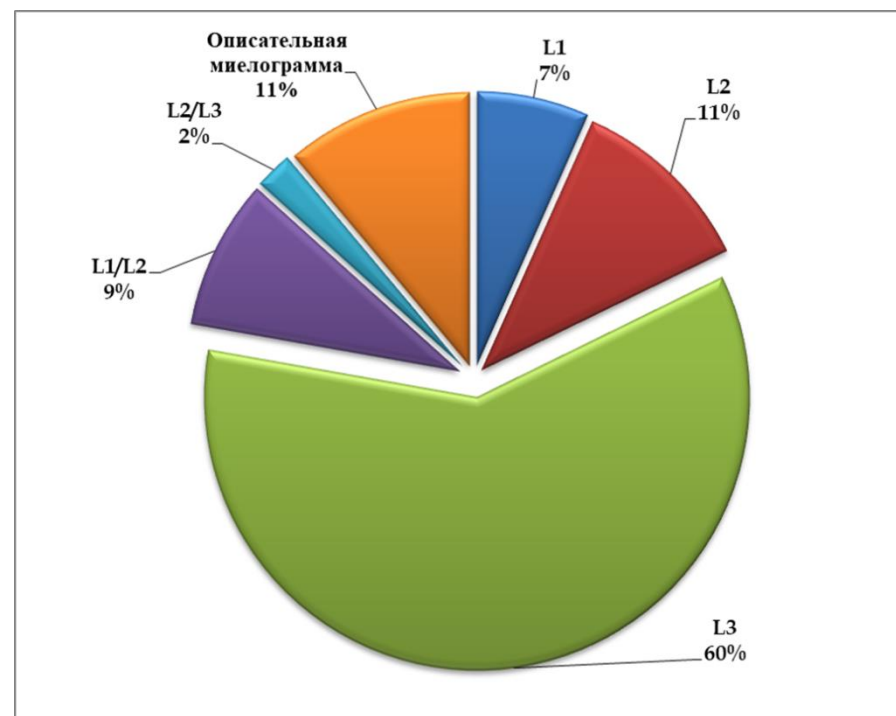
ВIV-ОЛЛ / ОЛ Бёркитта

Пациенты с ВIV-ОЛЛ (n=54)

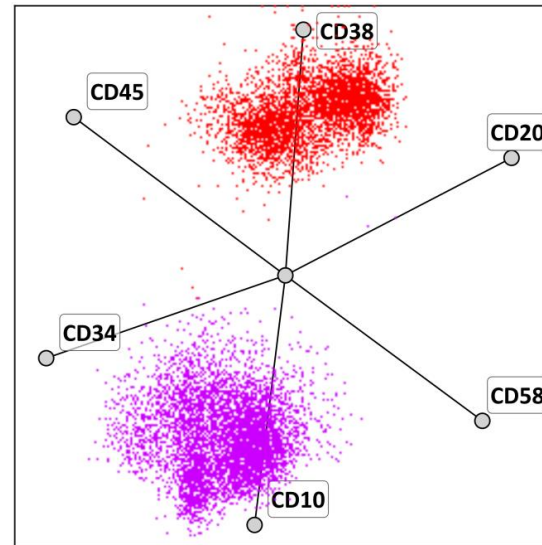
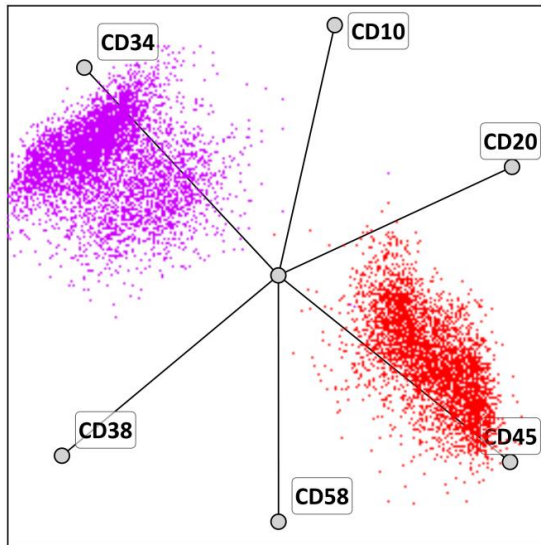


Цитоморфологические данные

Цитогенетические данные

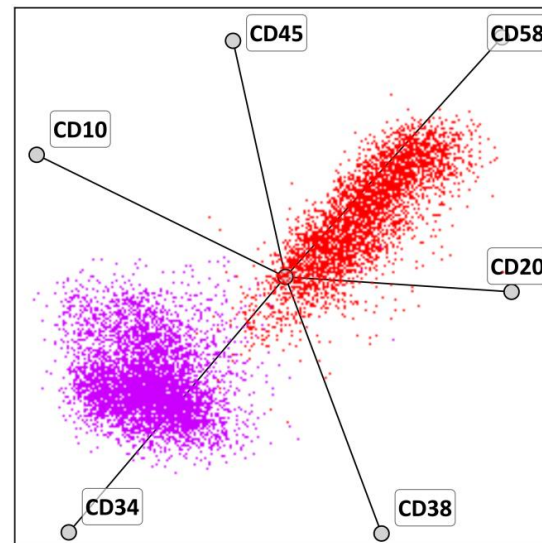
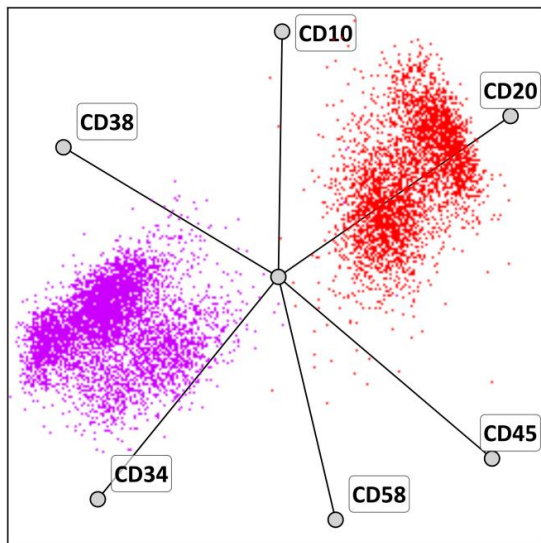


Сопоставление иммунофенотипа ЛБ и ВП-ОЛЛ: многомерный анализ



■ ЛБ

■ ВП-ОЛЛ



В-линейные ОЛЛ

$\mu/\kappa/\lambda^-$

$i\mu/i\kappa/i\lambda^-$

$i\mu/i\kappa/i\lambda^+$

$\mu/\kappa/\lambda^+$

CD10⁻

CD10⁺

ВIII-ОЛЛ

VI-ОЛЛ

VII-ОЛЛ

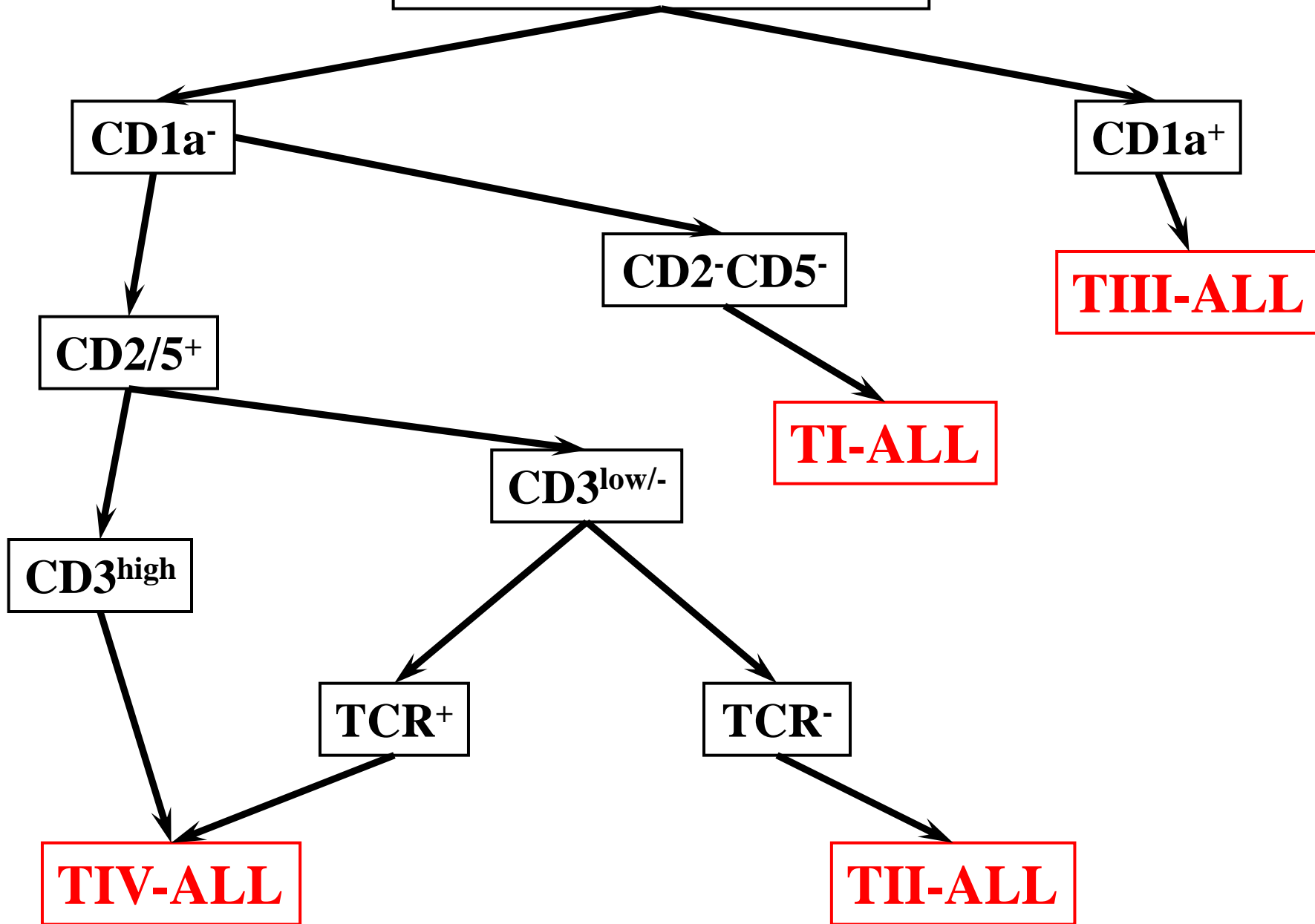
SSC^{low} CD45^{low} CD20^{+/-} CD38^{+/-}
CD10^{+/-} CD34^{+/-} CD58⁺⁺ $\mu^{+/-}$ $\kappa/\lambda^{+/-}$

SSC^{high} CD20⁺⁺ CD38⁺⁺ CD34^{-/+}
CD10^{+/-} CD45^{high} CD58⁻ μ^{++} κ/λ^{++}

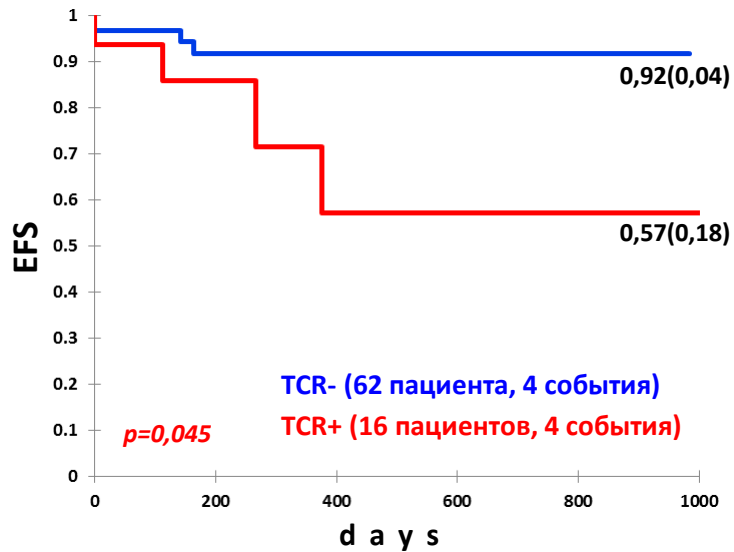
ВIV-ОЛЛ

ВIV-ОЛЛ / ОЛЛ Бёркитта

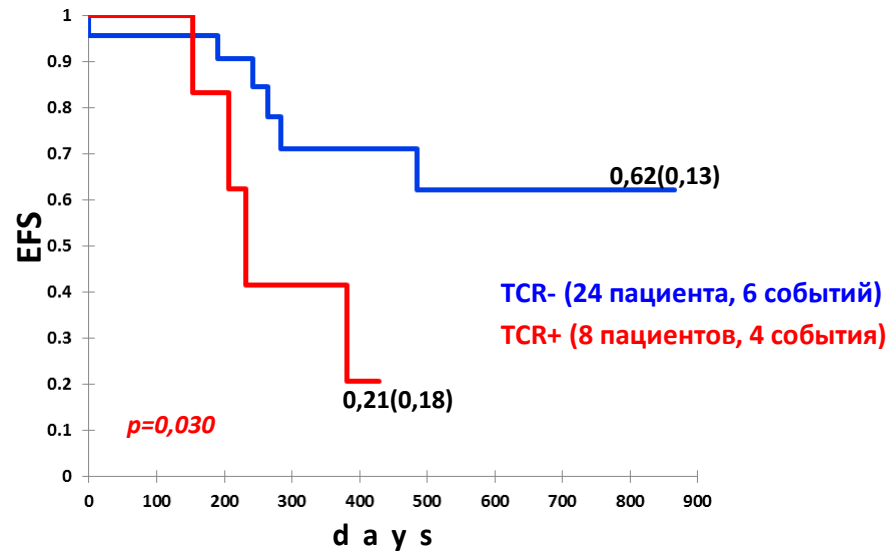
Т-линейные ОЛЛ



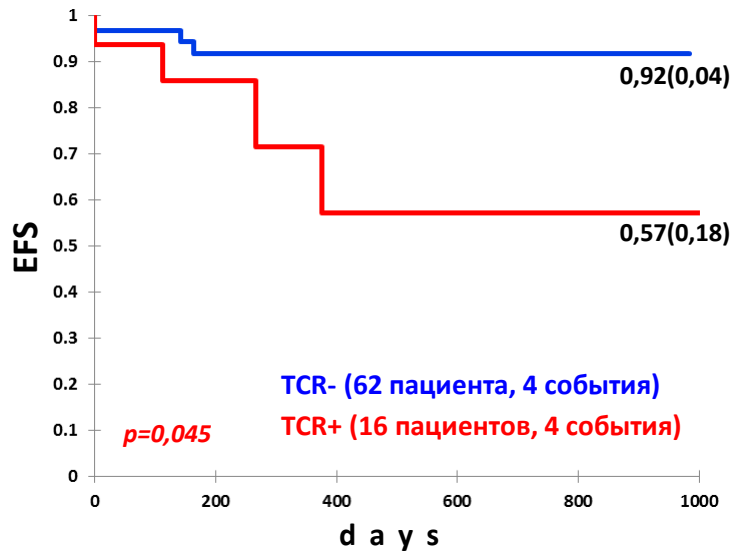
CD1a+ T-ОЛЛ



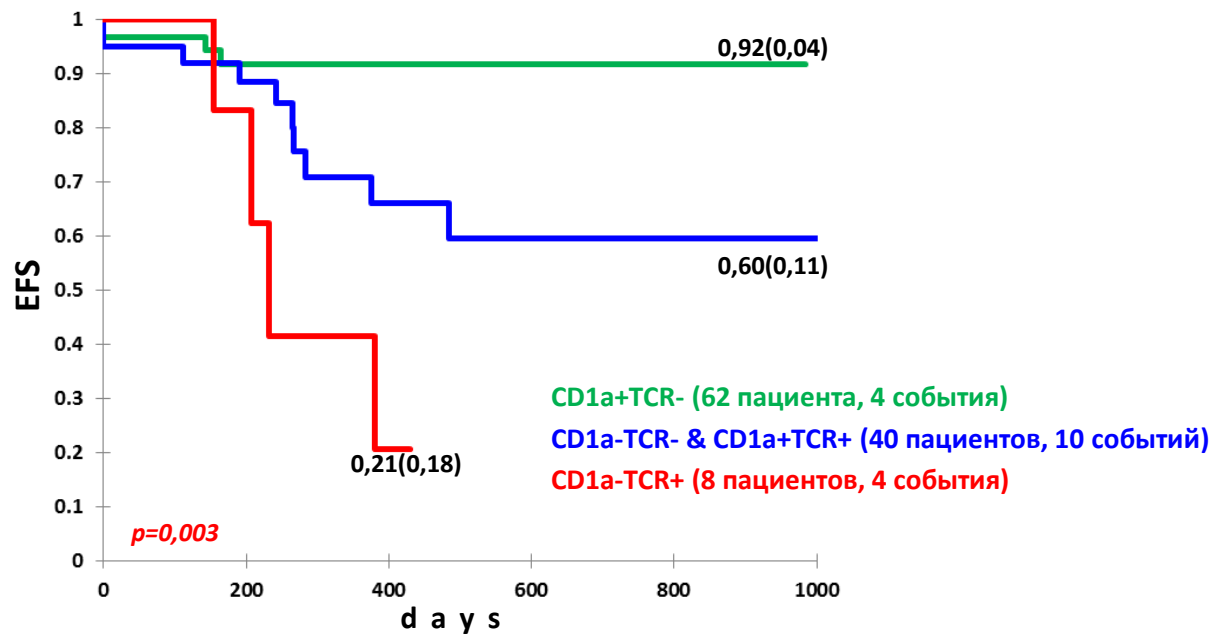
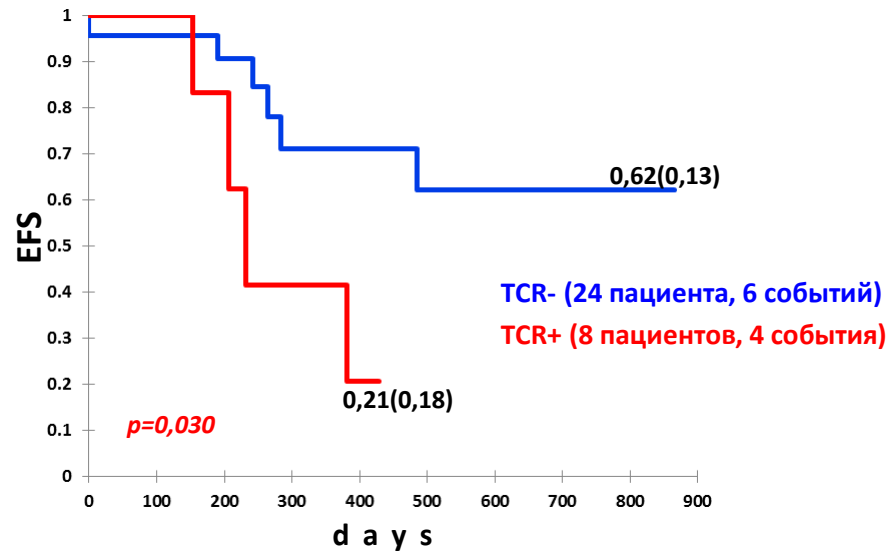
CD1a- T-ОЛЛ



CD1a+ T-ОЛЛ



CD1a- T-ОЛЛ



Стандартизация диагностики ОЛЛ

Проблемы иммунофенотипирования в России: опыт работы референсного центра кооперированной клинической группы «Москва–Берлин»

А.М. Попов^{1,2}, С.Н. Лагойко³, Ю.В. Румянцева^{3,4}, С.А. Луговская⁶, Л.Г. Фечина^{1,2}, С.А. Румянцев^{3,4,6}, А.И. Карачунский^{3,4}

¹Областная детская клиническая больница №1, Екатеринбург, Российская Федерация;

²Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург, Российская Федерация;

³Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России, Москва, Российская Федерация;

⁴Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Российская Федерация;

⁵Российская медицинская академия последилового образования Минздрава России, Москва, Российская Федерация;

⁶Московский физико-технический институт (государственный университет) Минобрнауки России, Москва, Российская Федерация

Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии, 2015, №1

Результаты внешнего контроля качества диагностики острого лимфобластного лейкоза методом проточной цитометрии

А.М. Попов¹, Т.Ю. Вержбицкая², Е.Е. Зуева^{3,4}, О.В. Апаньева⁵, Е.В. Бабенко⁶, Л.В. Байдунов⁷, Е.А. Белякова⁸, Е.В. Боякова⁹, О.Г. Бортникова¹⁰, М.В. Горчакова¹¹, Л.Ю. Гришцова¹², Е.Н. Гринкевич¹³, Ю.В. Давыдова¹⁴, Е.И. Захарько¹⁵, О.И. Илларионова¹⁶, Н.М. Капранов¹⁷, Е.А. Королева¹⁸, С.А. Коченгина¹⁹, Е.Г. Кузьмина²⁰, Е.А. Кустова²¹, Т.А. Макарова²², Ю.В. Миролюбова²³, О.Е. Мурашкина²⁴, Т.Ю. Мухоморова²⁵, Е.С. Нишева²⁶, И.А. Новикова²⁷, Е.Ю. Осипова²⁸, Г.Э. Пуджишвили²⁹, М.Е. Почтарь³⁰, Н.В. Прошкина³¹, Е.Б. Русанова³², Е.Б. Рыбкина³³, О.В. Селиверстова³⁴, Н.Н. Тупицын³⁵, Г.И. Улейская³⁶, Н.Т. Уразалиева³⁷, Л.Г. Фечина³⁸, О.В. Хороших³⁹, О.Е. Царева⁴⁰, Л.А. Шекина⁴¹, С.А. Плясунова⁴², С.А. Луговская⁴³

¹ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1;

²ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1»; Россия, 620088, Екатеринбург, ул. С. Дербябиной, 32;

³Кафедра молекулярной биологии, факультет естественных наук Арзильского университета; Израиль, 40700, Арзиль;

⁴Лаборатория клинической иммунологии и молекулярной диагностики отдела лабораторной диагностики ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава России;

Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, 6–8;

⁵ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России; Россия, 625023, Тюмень, ул. Одесская, 54;

⁶ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава России, НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой; Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, 6–8;

⁷ФГБУ «Российская детская клиническая больница» Минздрава России; Россия, 119571, Москва, Ленинский просп., 117;

⁸ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России;

Россия, 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41;

⁹ГБУЗ «Станция переливания крови Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 115516, Москва, ул. Бажинская, 31;

¹⁰ГБУ РО «Областная детская клиническая больница»; Россия, 344000, Ростов-на-Дону, ул. Благodatная, 168;

¹¹ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;

Россия, 115478, Москва, Каширское шоссе, 23;

¹²БУ ХМАО – Югры «Нижегородская окружная клиническая детская больница»; Россия, 628609, Нижегородск, ул. Северная, 30;

¹³Научно-клиническая лаборатория иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России; Россия, 125167, Москва, Новый Зыковский пр-д, 4;

¹⁴Центральная клинико-диагностическая лаборатория с группой патологии гемостаза ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России; Россия, 125167, Москва, Новый Зыковский пр-д, 4;

¹⁵КГБУЗ «Диагностический центр Алтайского края»; Россия, 656038, Барнаул, Комсомольский просп., 75а;

¹⁶ГБУЗ «Челябинская областная детская клиническая больница»; Россия, 454087, Челябинск, ул. Быхаря, 42а;

¹⁷Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Минздрава России; Россия, 249036, Обнинск, ул. Королева, 4;

¹⁸Научный центр педиатрии и детской хирургии; Казахстан, Алматы, ул. Ая-Фараби, 14б;

¹⁹ГБУЗ «Детская городская больница № 1»; Россия, 198205, Санкт-Петербург, ул. Авангардная, 14;

²⁰ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России;

Россия, 197341, Санкт-Петербург, ул. Аскуратова, 2;

²¹ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница»; Россия, 350007, Краснодар, площадь Победы, 1;

²²ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, 344019, Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63;

²³Кафедра клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последилового образования» Минздрава России; Россия, 125993, Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1;

²⁴Клиника иммунопатологии ГИУН «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии»;

Россия, 630099, Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14;

²⁵ГБУЗ «Городская клиническая больница № 31»; Россия, 197110, Санкт-Петербург, просп. Динамо, 3;

²⁶ГБУЗ «Иркутская областная клиническая больница»;

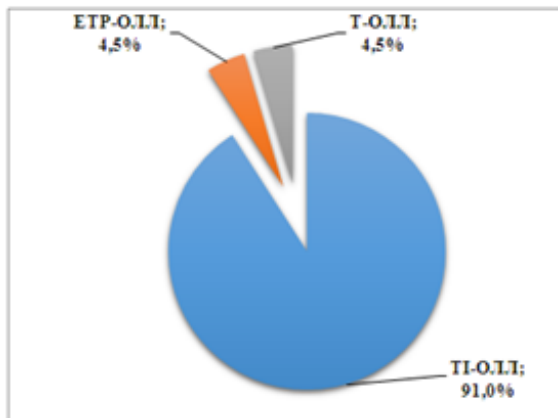
Россия, ул. 664049, Иркутск, ул. Юбилейный микрорайон, 100;

²⁷ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России;

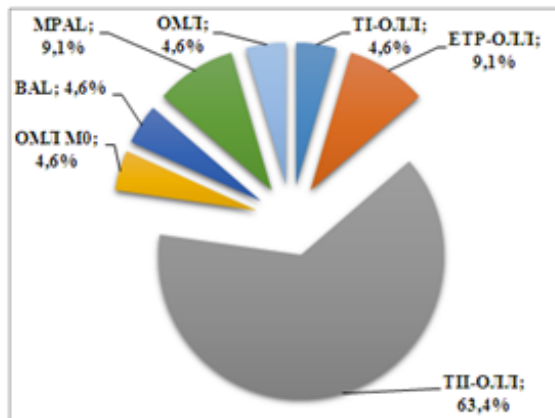
Россия, 410012, Саратов, ул. Большая Казачья, 112

Контакты: Александр Михайлович Попов uralcytometry@gmail.com

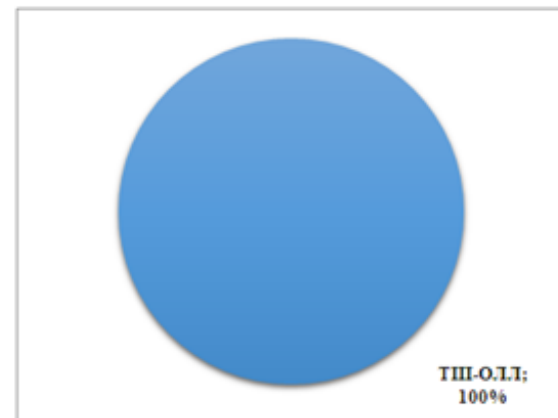
Пациент №1



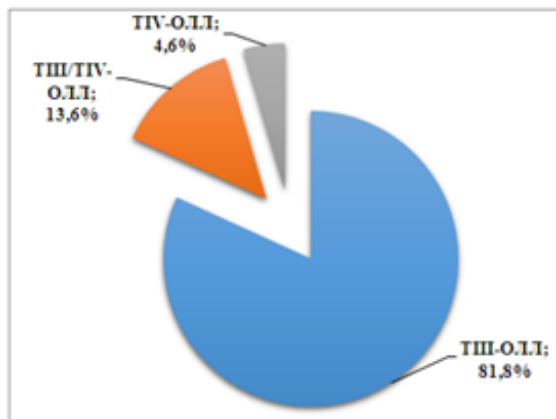
Пациент №2



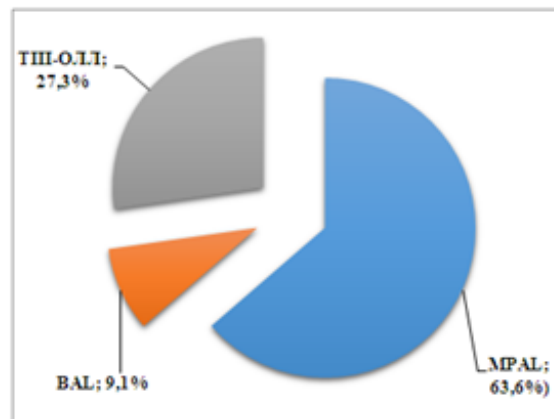
Пациент №3



Пациент №4



Пациент №5



Программа референса ОЛЛ-МБ 2015



Стандарт российско-белорусской кооперативной группы по иммунофенотипированию острого лимфобластного лейкоза у детей

И.А. Новикова¹, Т.Ю. Вержбицкая^{2,3}, Л.В. Мовчан⁴, Г.А. Цаур^{2,3}, М.В. Белевцев⁴, А.М. Попов¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117198 Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, 1;

²ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1»; Россия, 620149 Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32;

³ГАОУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»; Россия, 620026 Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22а;

⁴ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии»; Республика Беларусь, 223053 Минский р-н, Боровлянский сельсовет, дер. Боровляны, ул. Фрунзенская, 43

Контакты: Александр Михайлович Попов uraltometry@gmail.com

Стандарт российско-белорусской кооперативной группы по иммунофенотипированию острого лимфобластного лейкоза у детей

И.А. Новикова¹, Т.Ю. Вержбицкая^{2,3}, Л.В. Мовчан⁴, Г.А. Цаур^{2,3}, М.В. Белевцев⁴, А.М. Попов¹

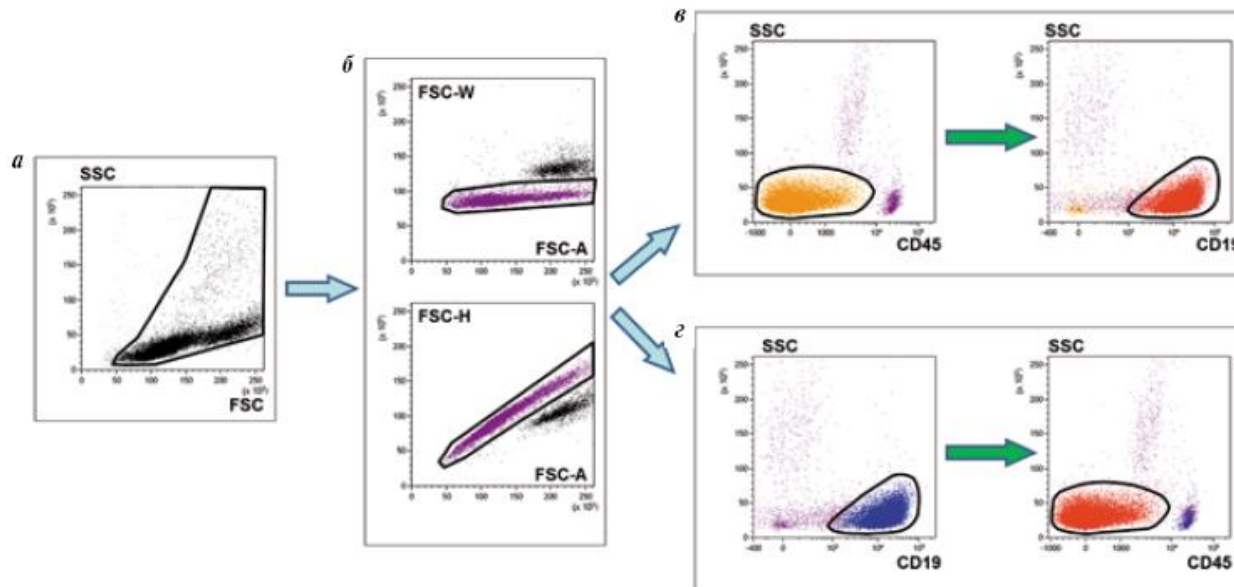
¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117198 Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, 1;

²ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1»; Россия, 620149 Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32;

³ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»; Россия, 620026 Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22а;

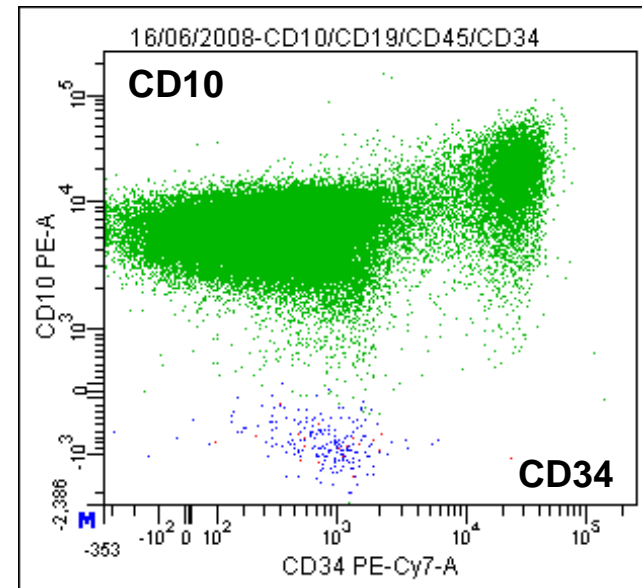
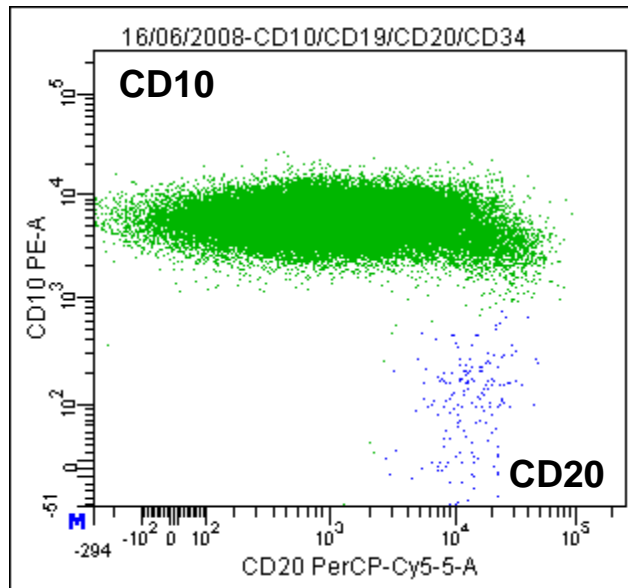
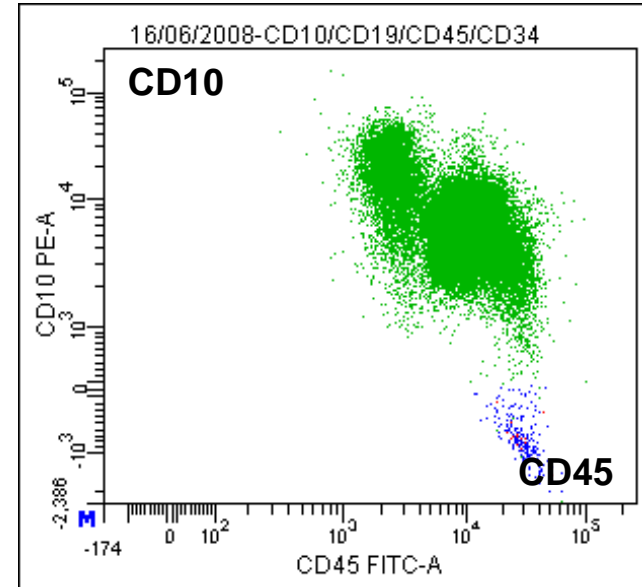
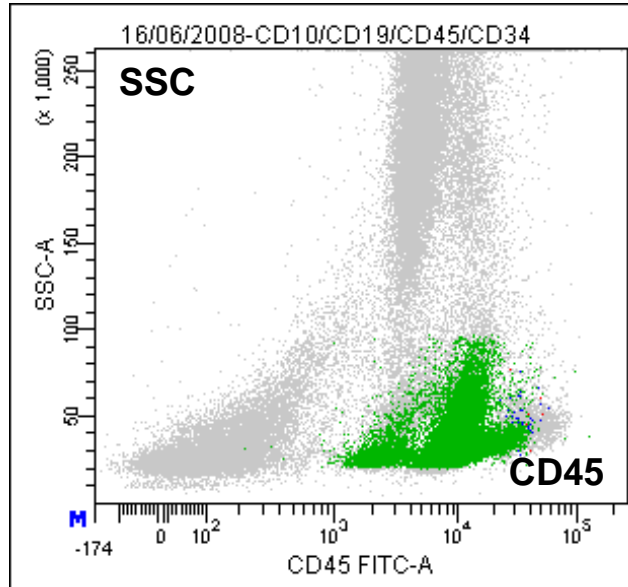
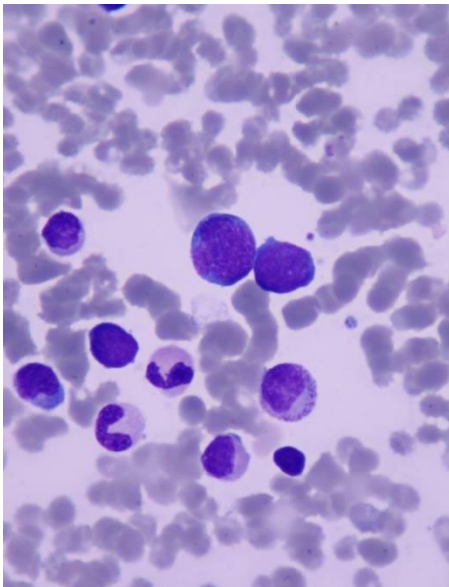
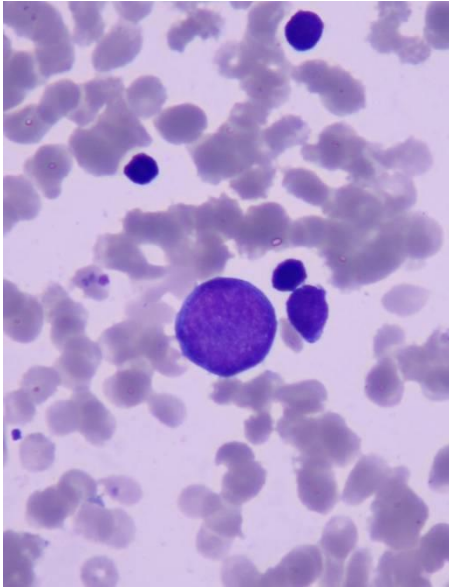
⁴ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии»; Республика Беларусь, 223053 Минский р-н, Боровлянский сельсовет, дер. Боровляны, ул. Фрунзенская, 43

Контакты: Александр Михайлович Попов uracytometry@gmail.com

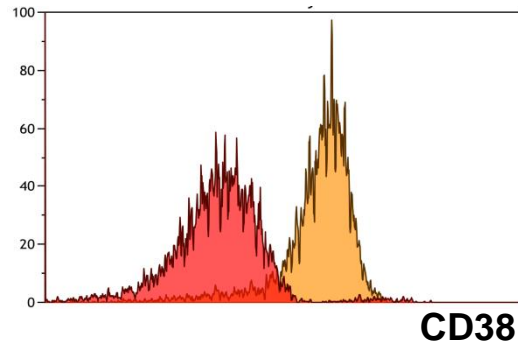
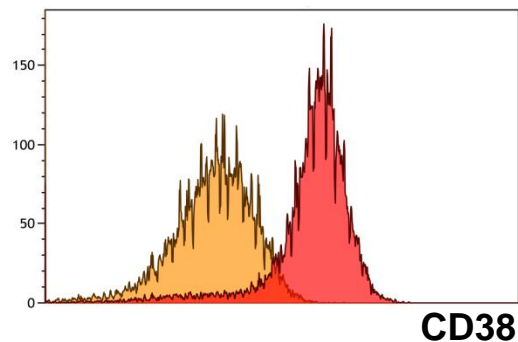
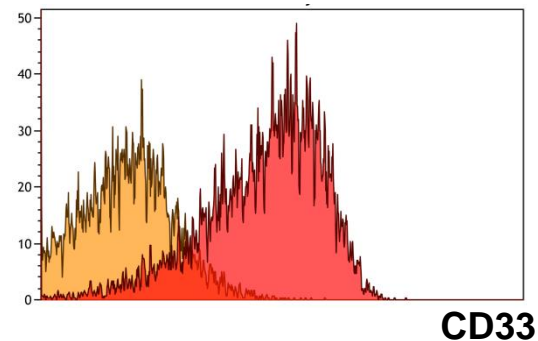
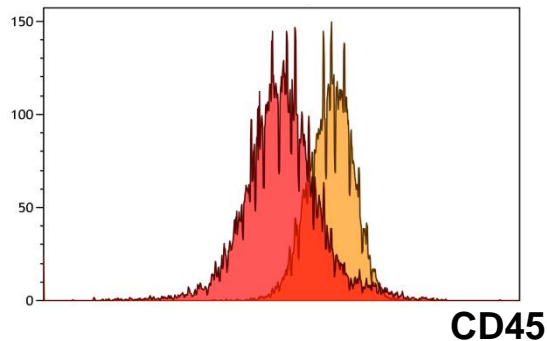
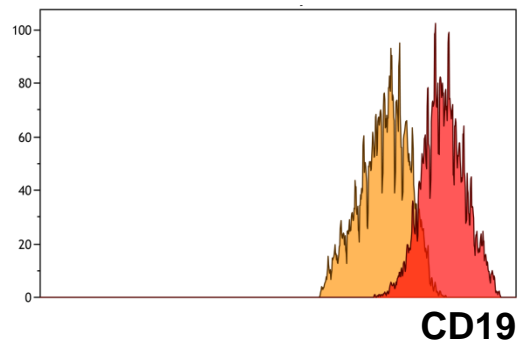
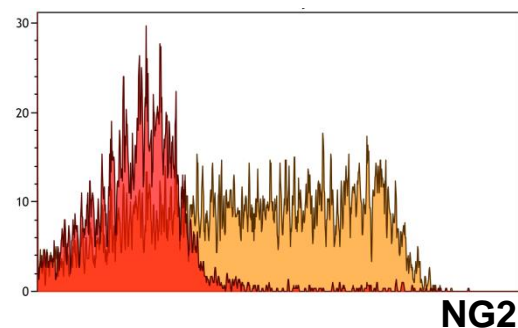
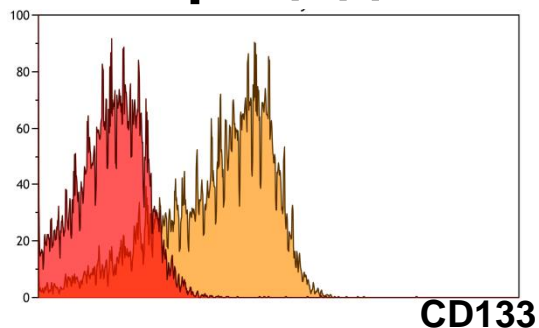
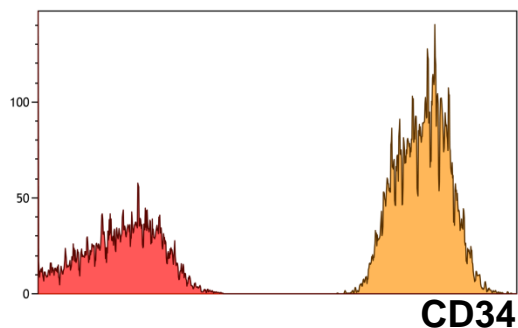



Диагностика рецидивов ОЛЛ


Пациент М. (54,8% бластов)



Сопоставление инициального фенотипа и фенотипа при рецидиве

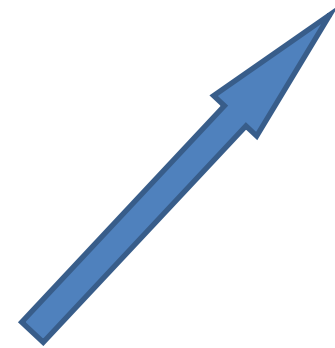
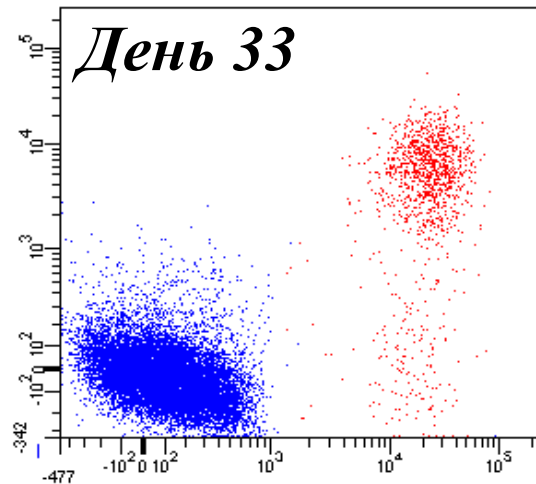
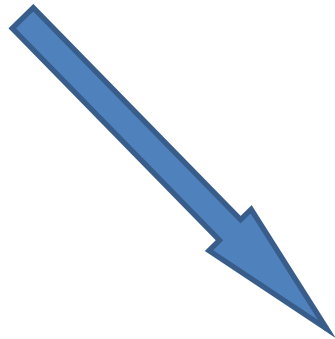
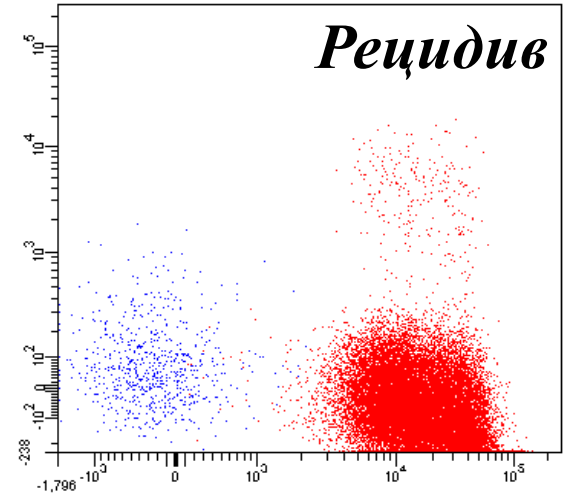
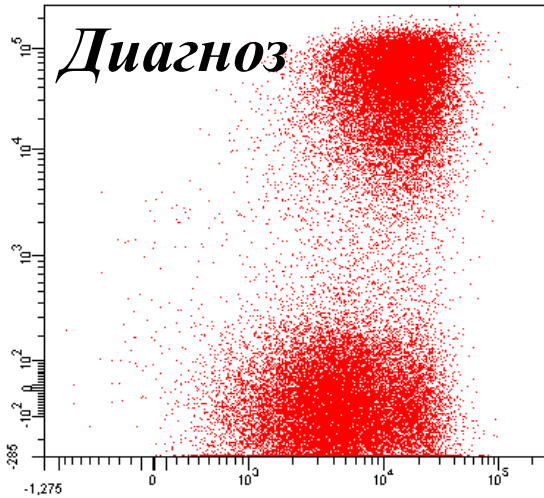


 Инициальная диагностика

 Рецидив

Пациент 3.

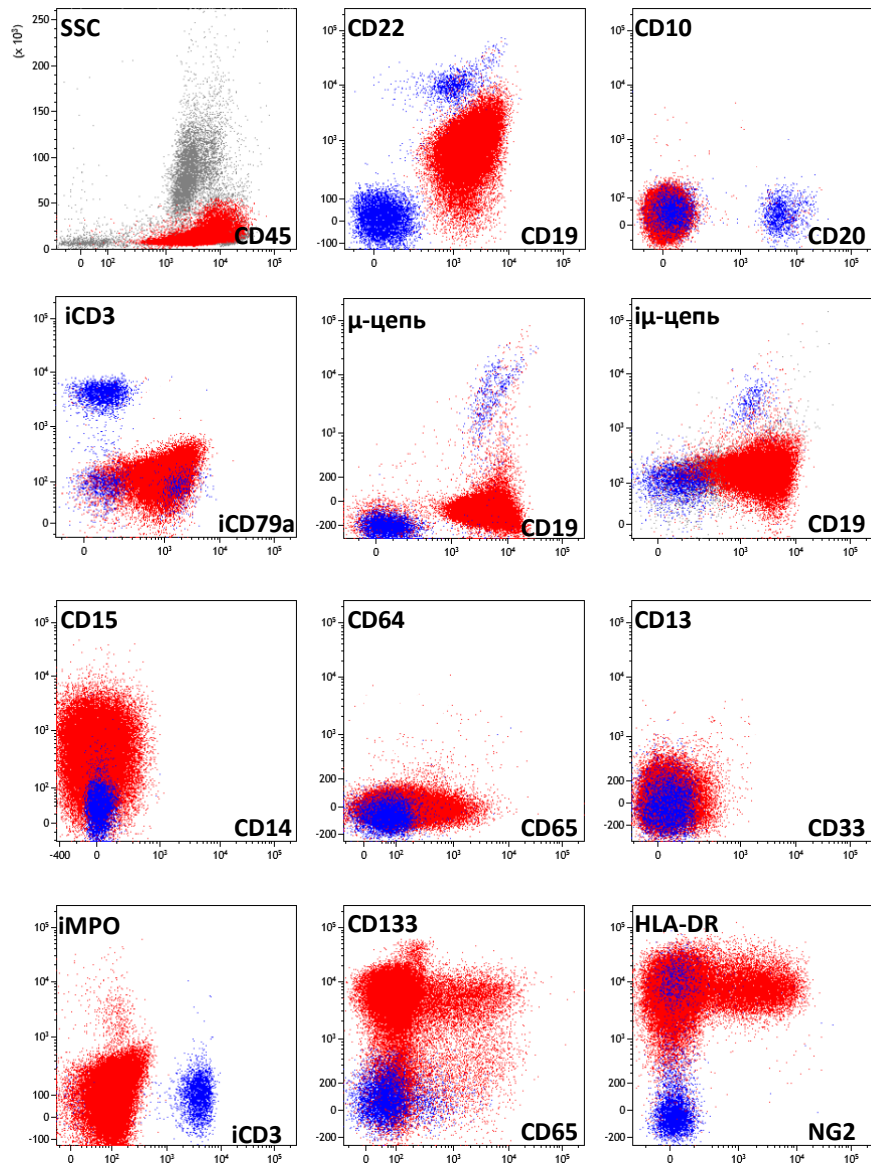
CD10



CD34

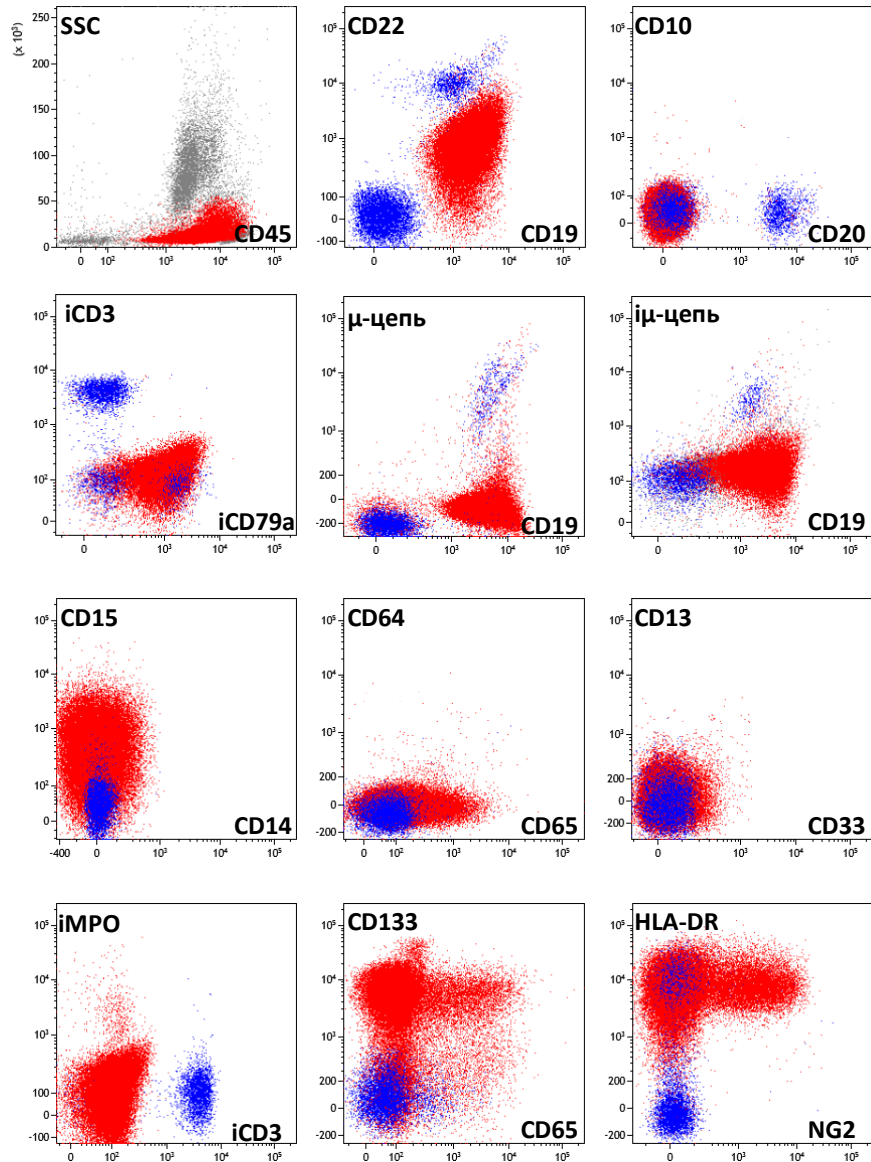
Острые лейкозы с переключением линий

Инициальная диагностика

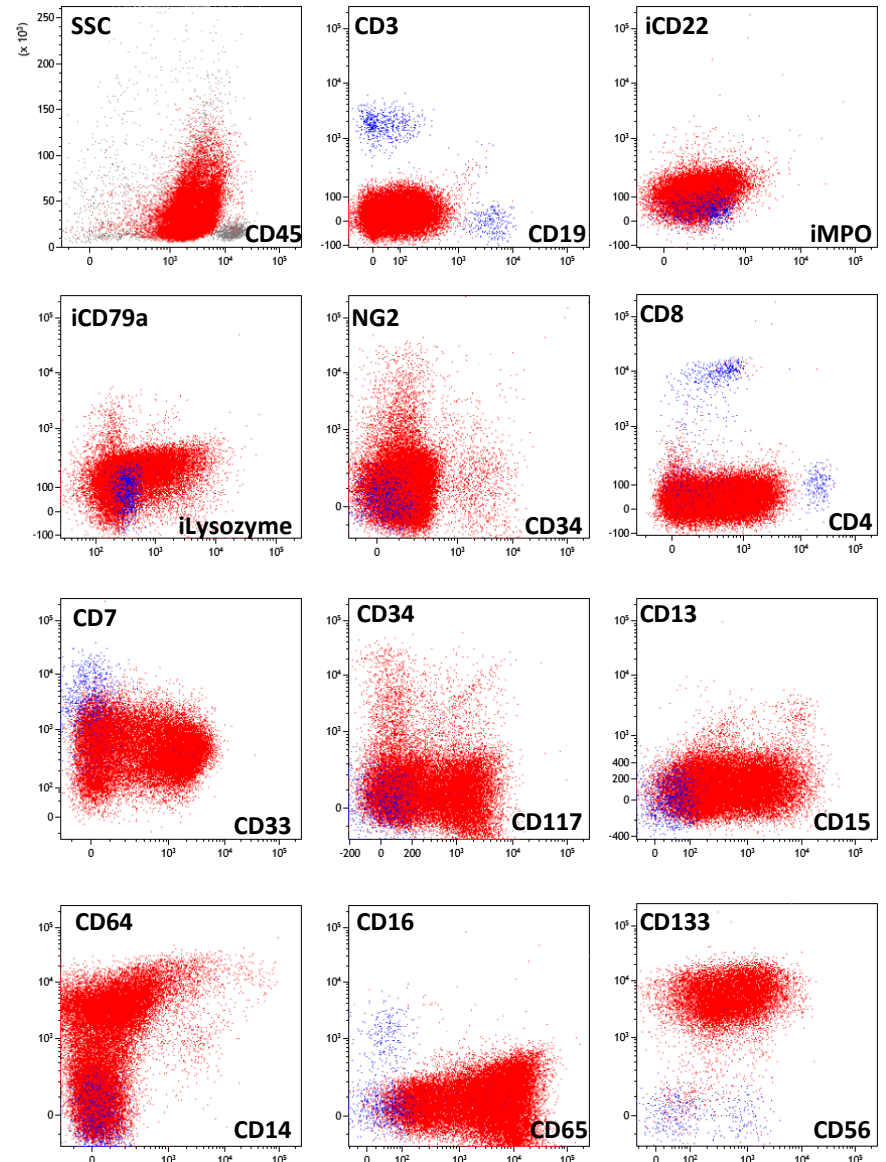


Острые лейкозы с переключением линий

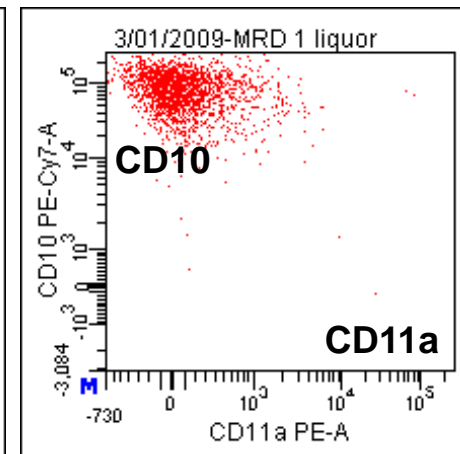
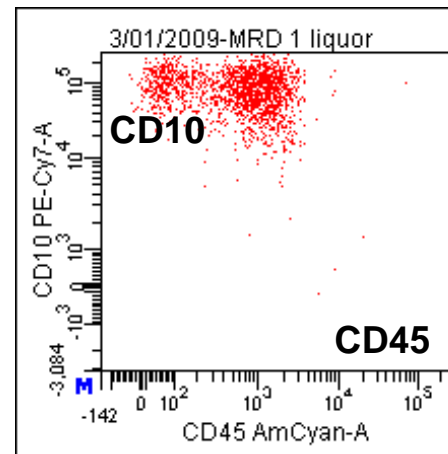
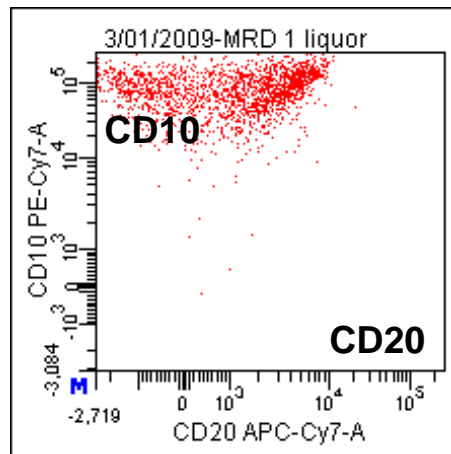
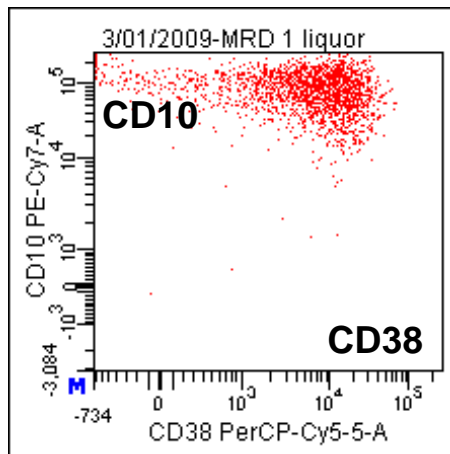
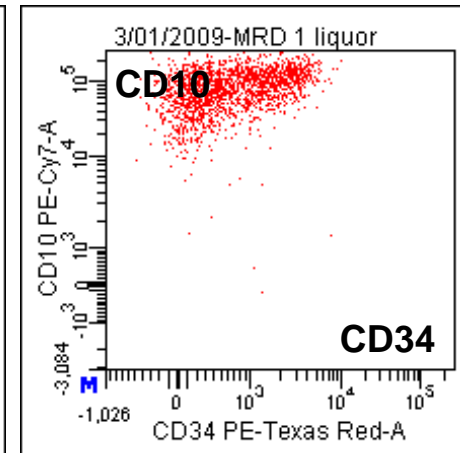
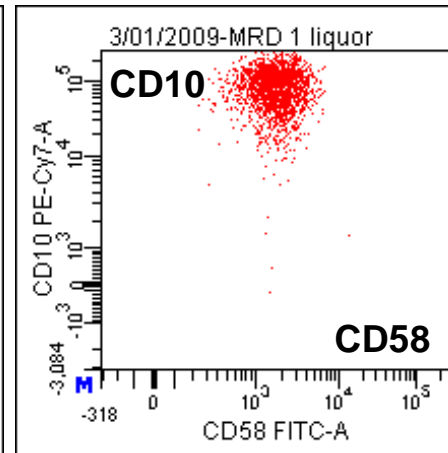
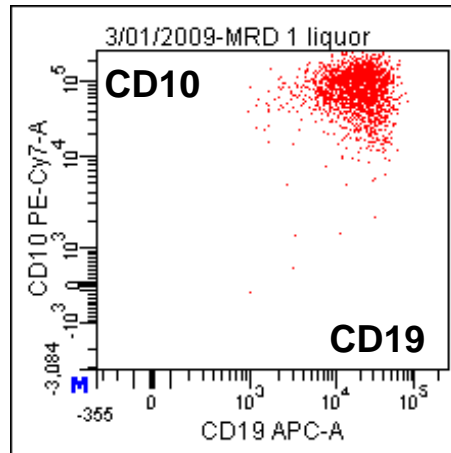
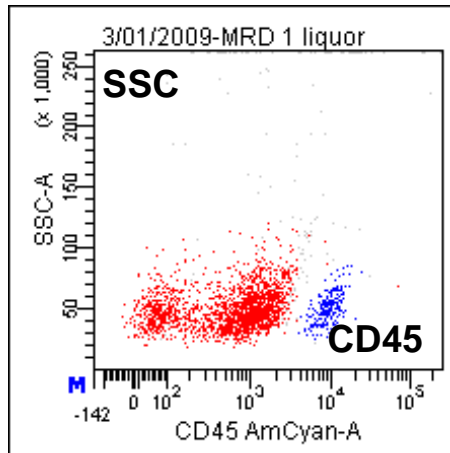
Инициальная диагностика



Рецидив



Иммунофенотипическая диагностика нейрорецидива



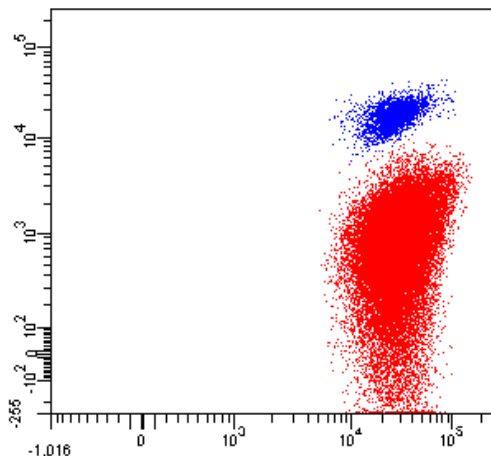
Диагностика поражения ЦНС при ОЛЛ

Выявление опухолевых клеток в СМЖ при В-линейном ОЛЛ

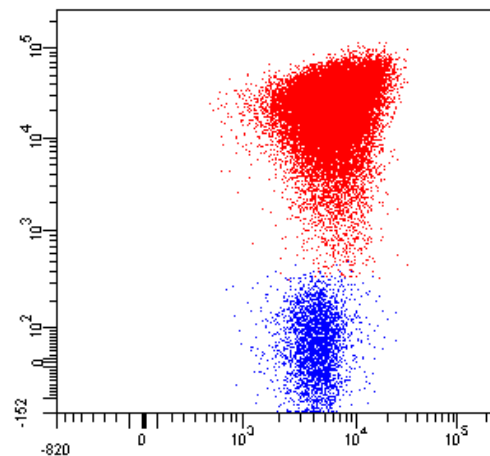
Пациент Г.

КМ

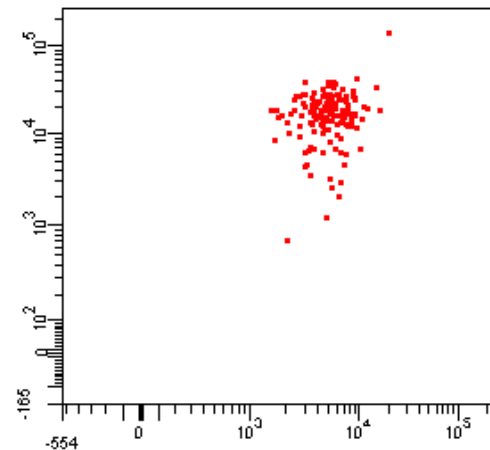
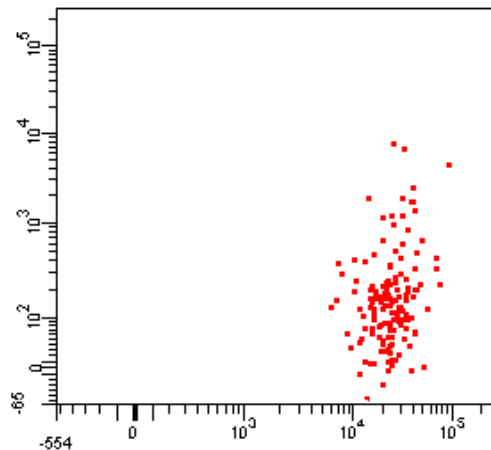
CD45



CD34



СМЖ

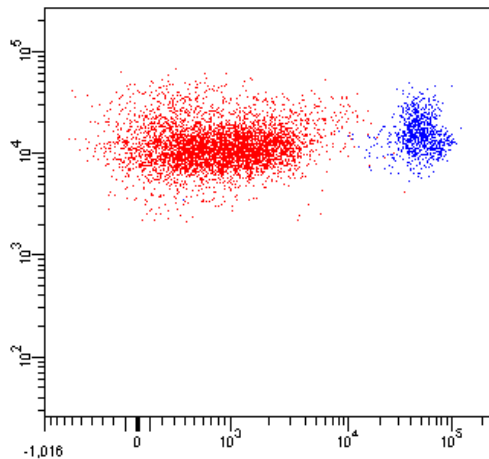


CD19

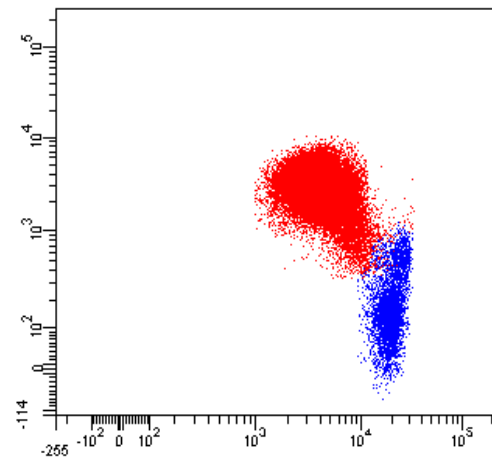
Выявление опухолевых клеток в СМЖ при Т-ОЛЛ

КМ

Пациент М.

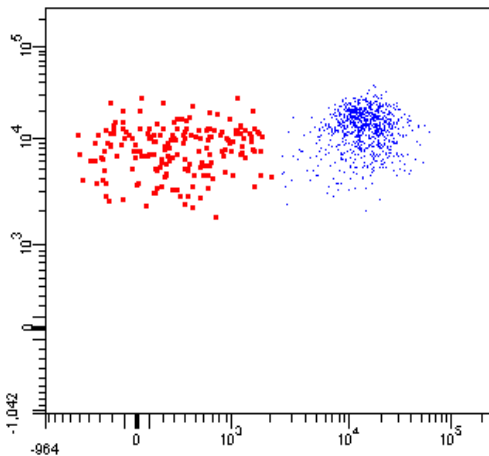


Пациент С.

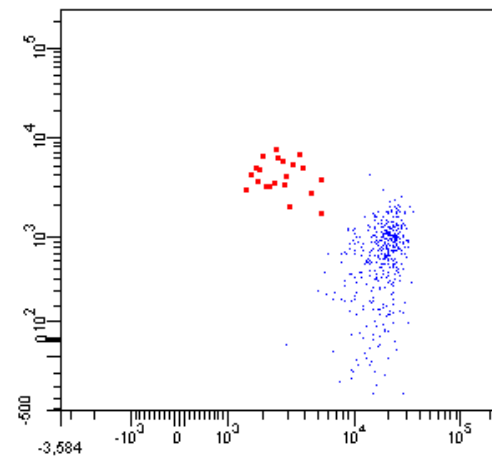


СМЖ

CD2



CD99



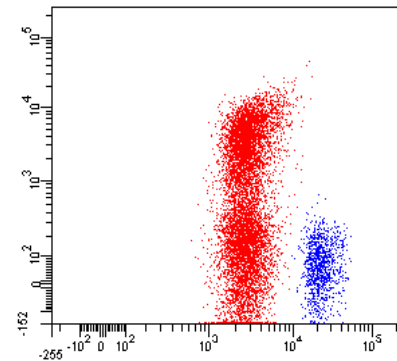
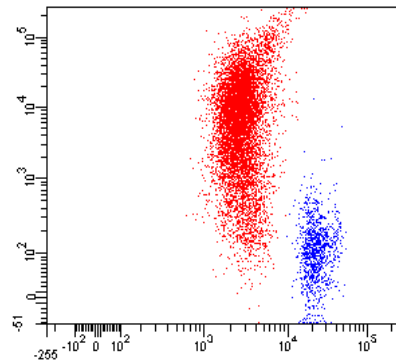
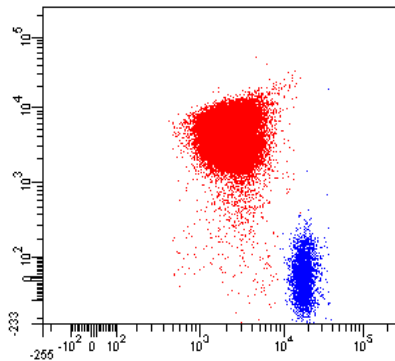
CD3

CD45

Выявление опухолевых клеток в СМЖ при ОМЛ

Пациент Д.

КМ

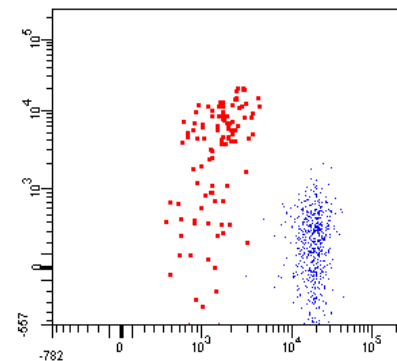
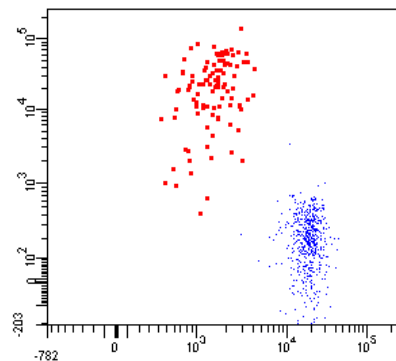
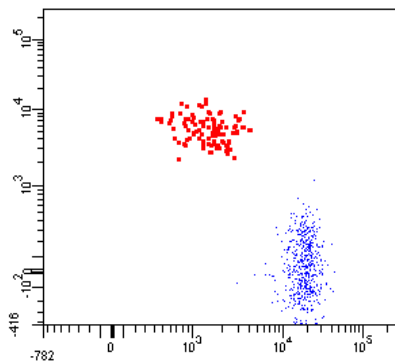


CD33

CD65

NG2

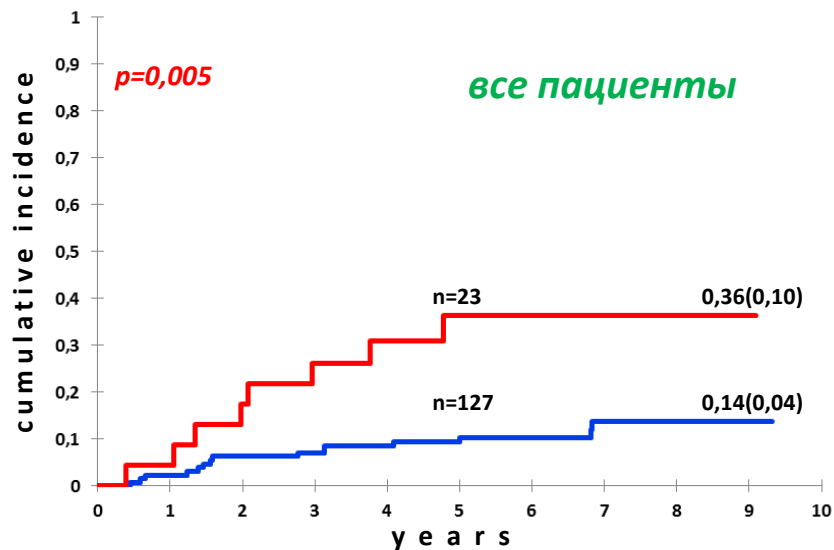
СМЖ



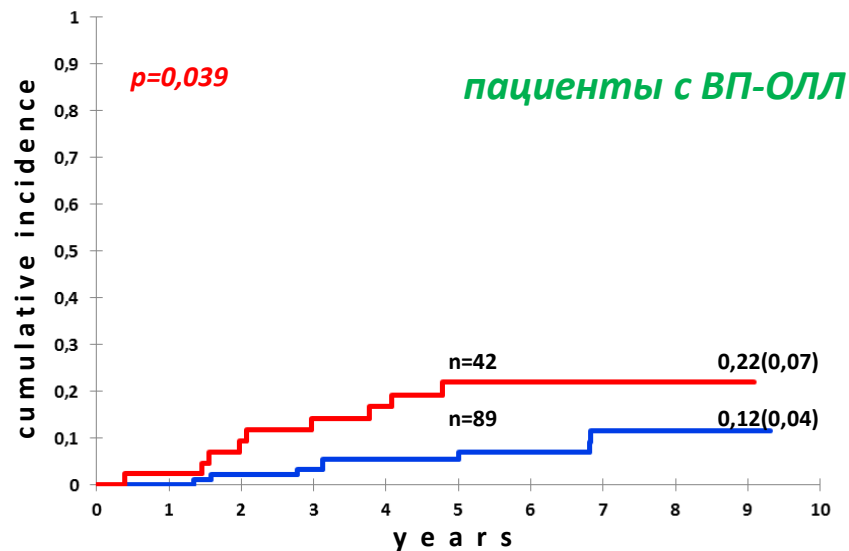
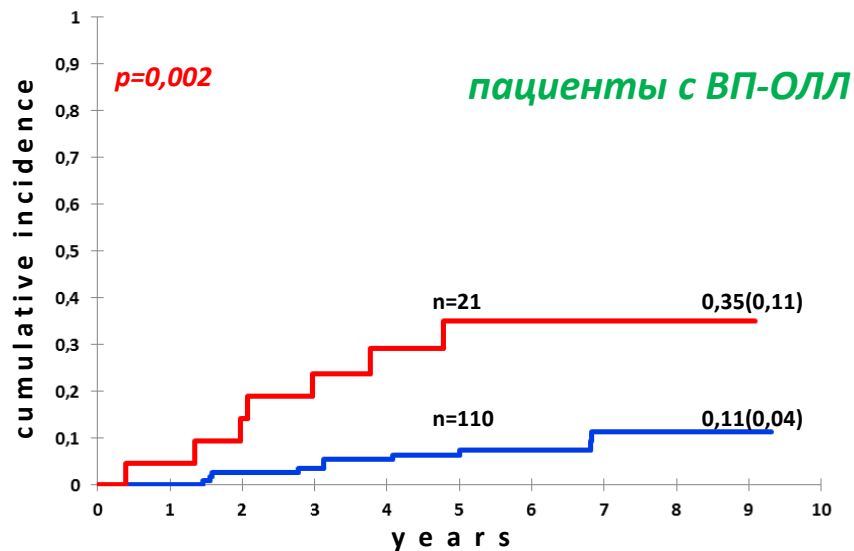
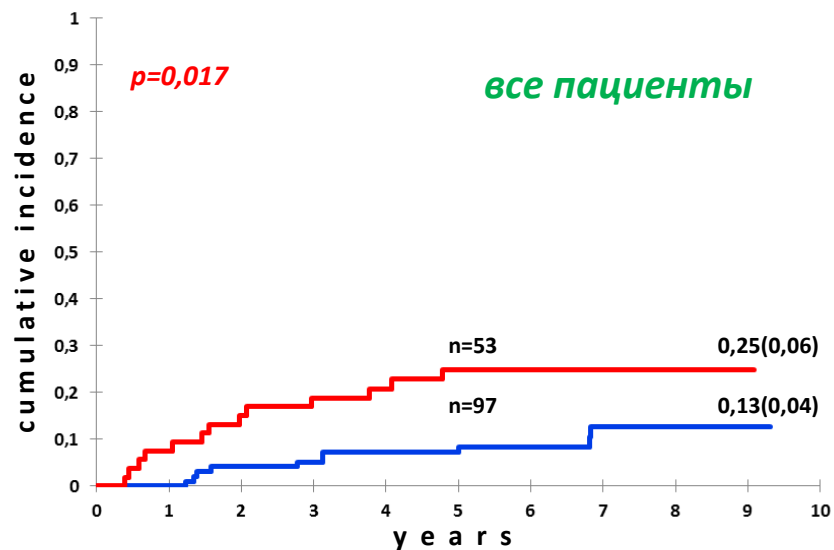
CD45

Вероятность рецидива

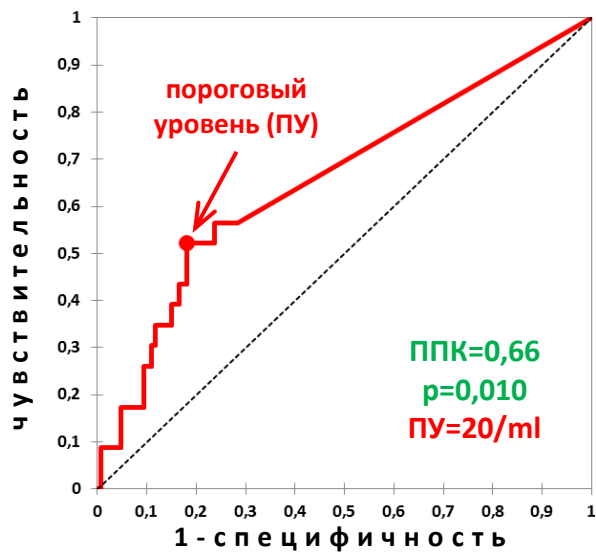
в зависимости от ЦНС-статуса



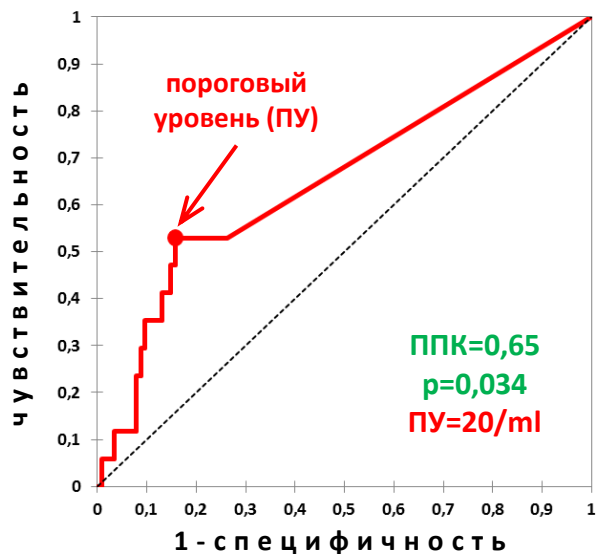
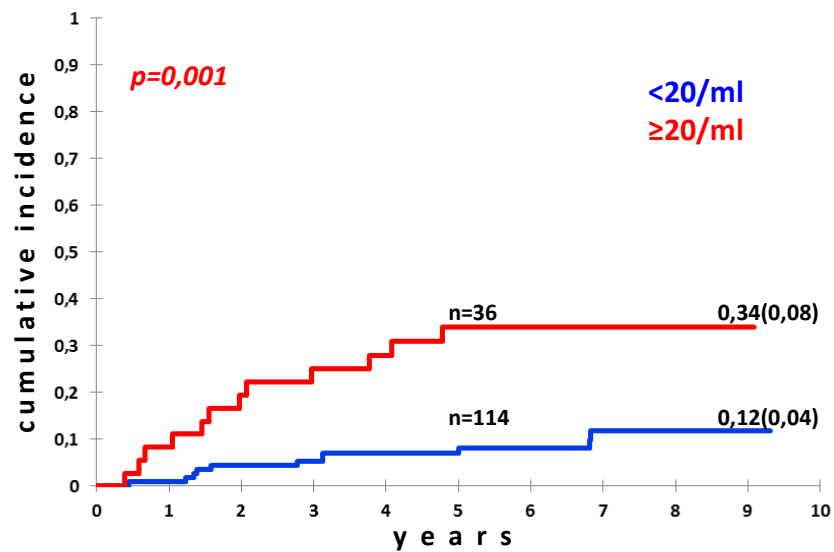
в зависимости от данных ПЦ (+/-)



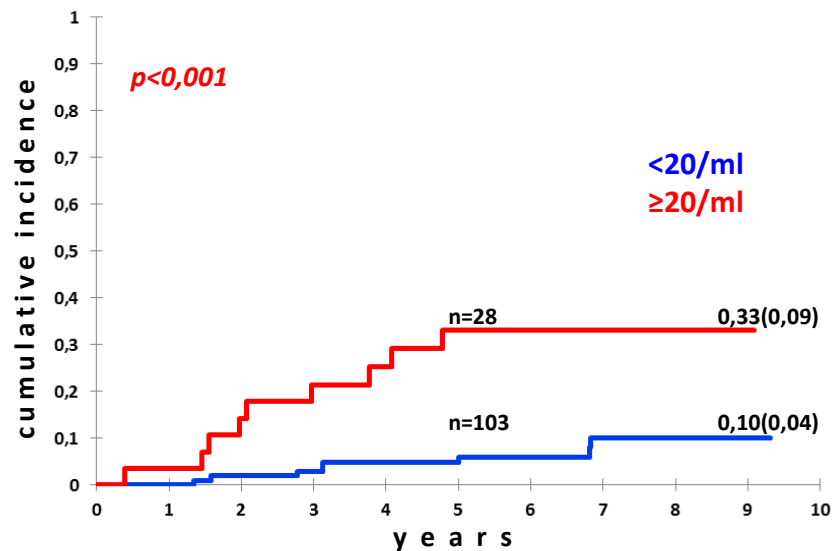
Корреляция вероятности рецидива и абсолютного количества бластов в СМЖ



все пациенты



Пациенты с ВП-ОЛЛ



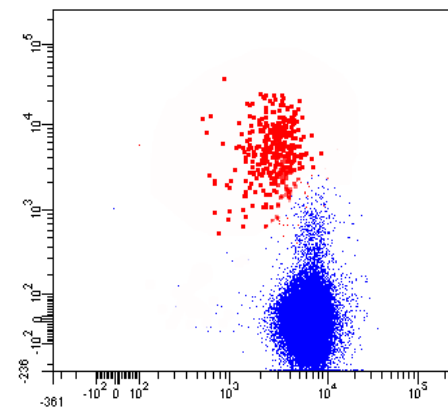
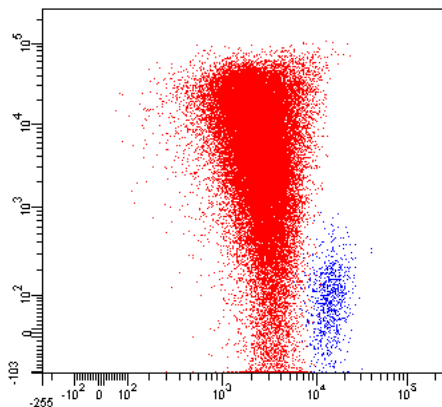
Мониторинг поражения ЦНС у пациента с ВИ-ОЛЛ

КМ

День 0



День 15



CD10

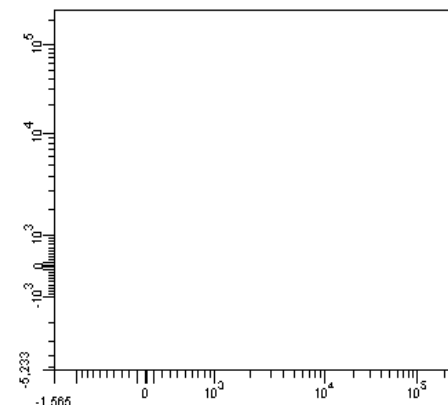
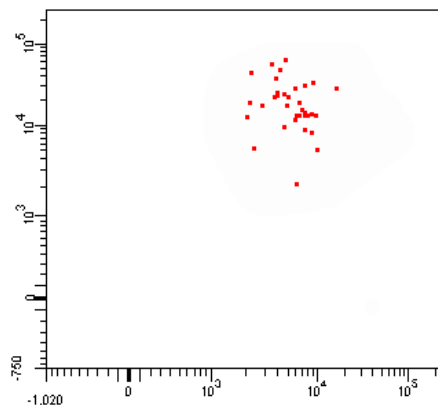
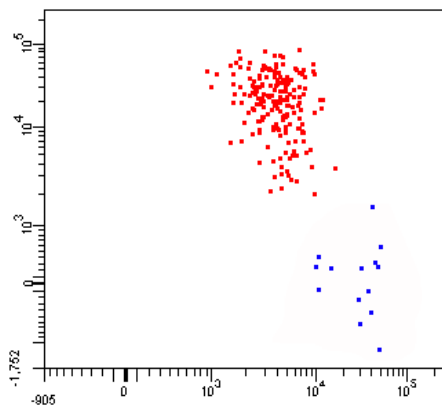
День 0



День 8



День 15

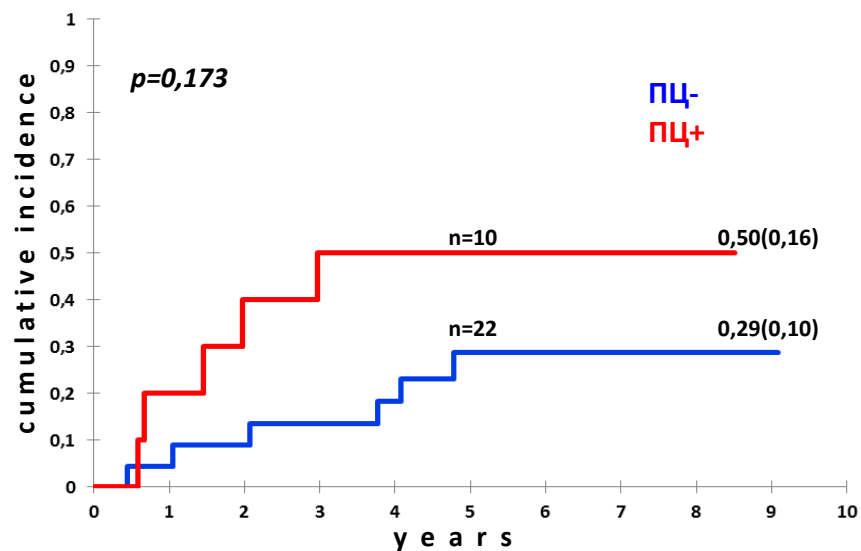


СМЖ

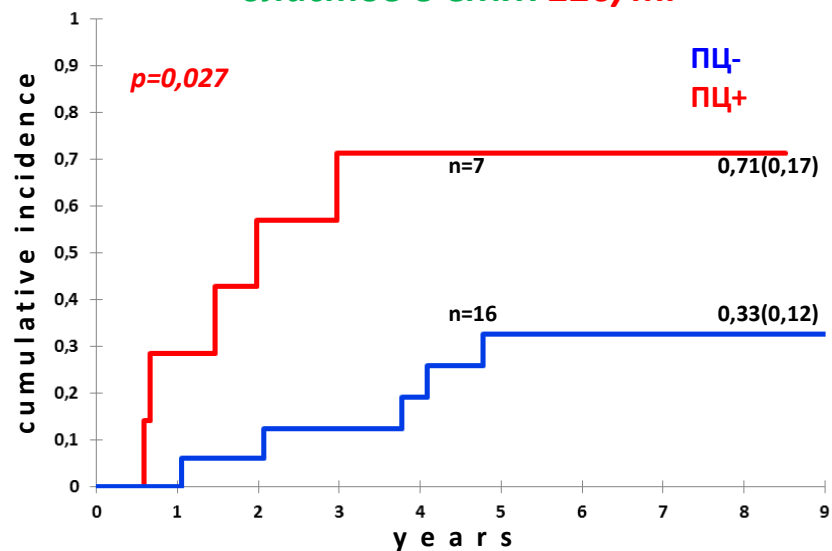
CD45

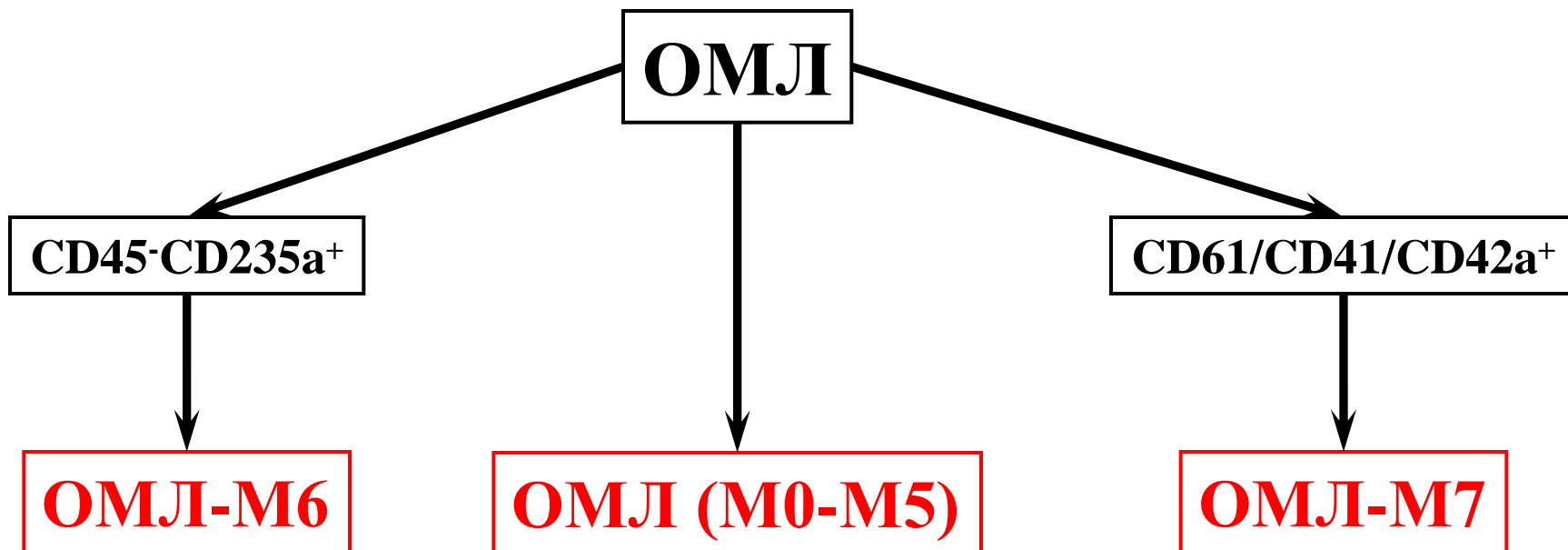
Прогностическое значение определения бластов в СМЖ (+/-) в последующих точках наблюдения

инициально ПЦ-положительные (+/-) пациенты



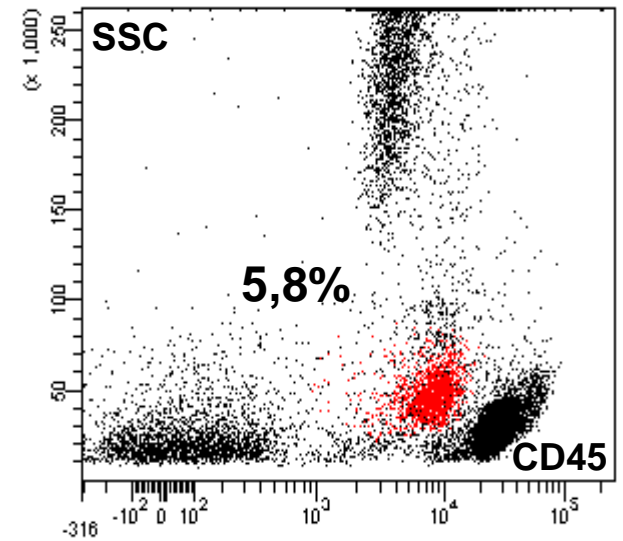
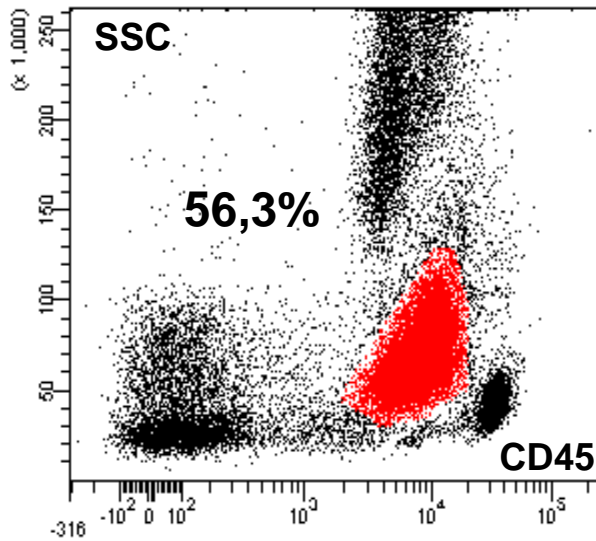
пациенты с инициальным количеством бластов в СМЖ $\geq 20/ml$





Транзиторный миелопролиферативный синдром

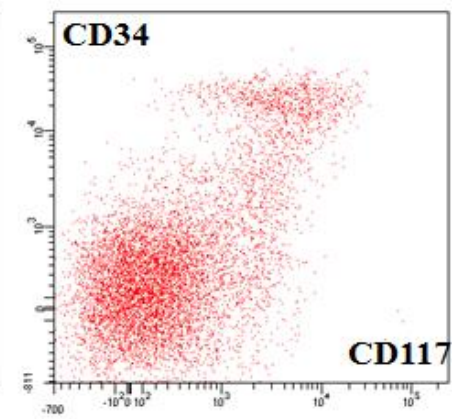
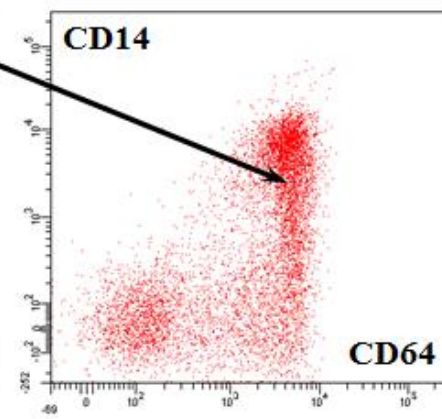
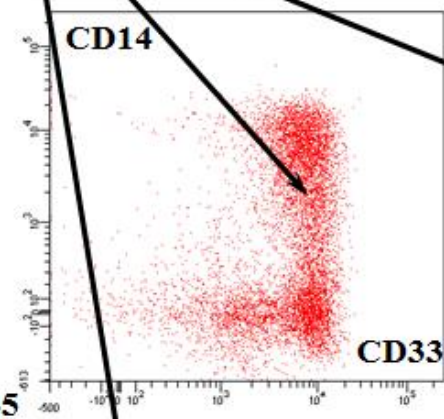
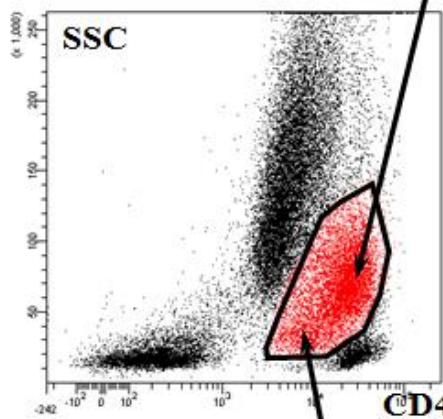
Пациент У.



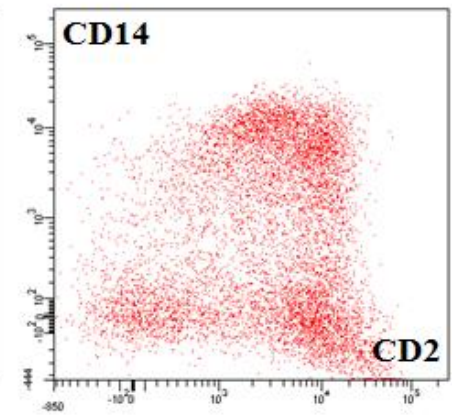
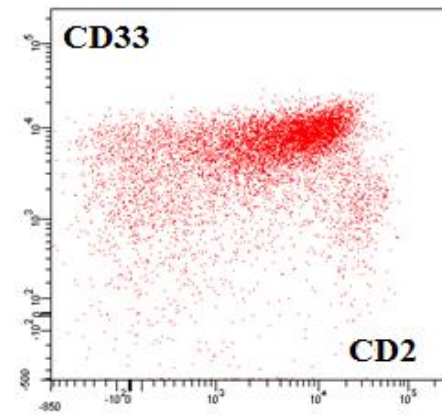
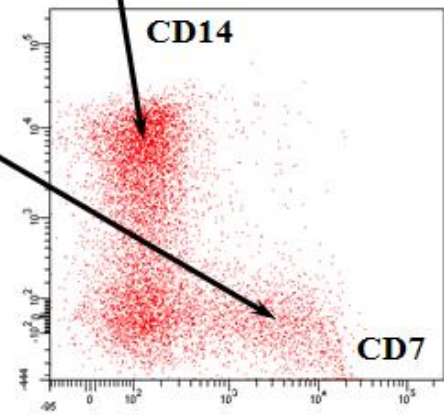
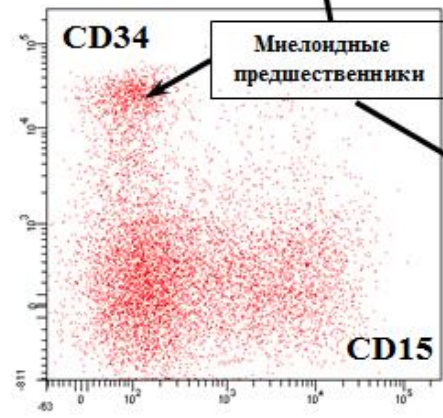
количество бластов снижается без терапии

Аберрантные фенотипы при ЮММЛ

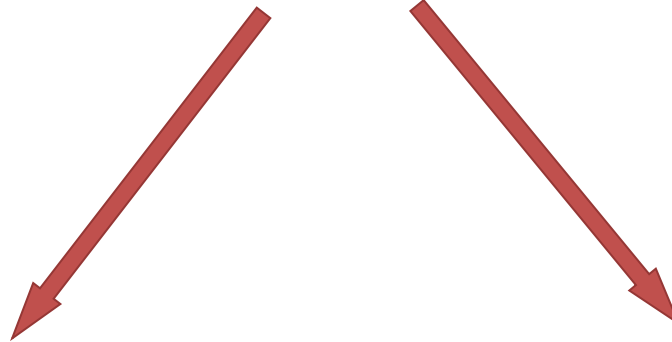
Развивающиеся
моноциты



Миелодные
предшественники



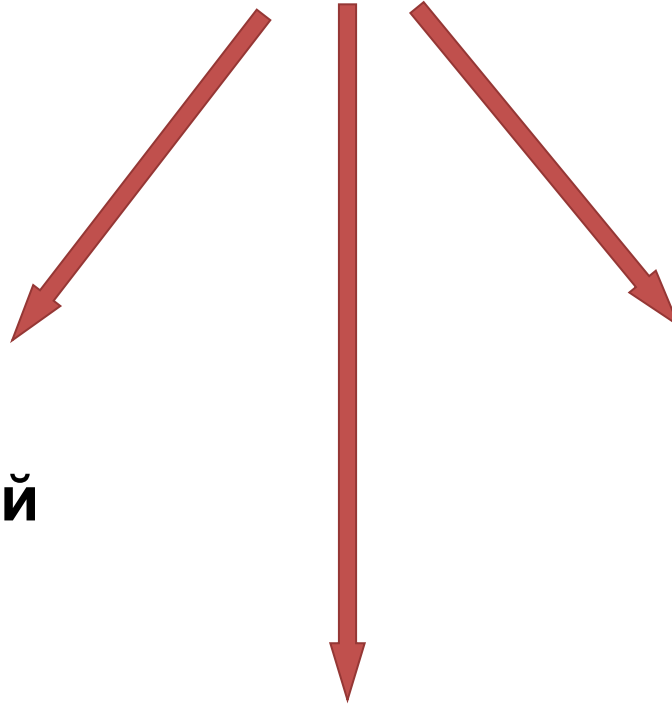
Острые лейкозы



**Острый
лимфобластный
лейкоз**

**Острый
миелоидный
лейкоз**

Острые лейкозы



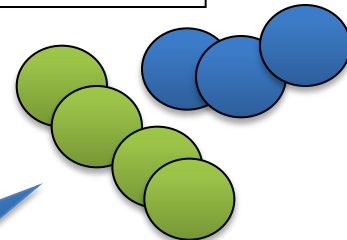
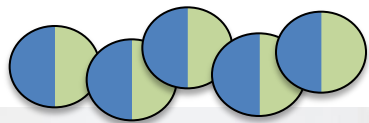
**Острый
лимфобластный
лейкоз**

**Острый
миелоидный
лейкоз**

Острые лейкозы неясной линейности

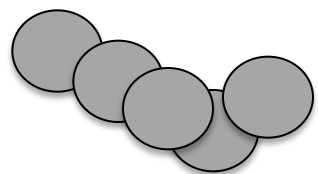
Острый
бифенотипический
лейкоз

Острый
билинейный
лейкоз



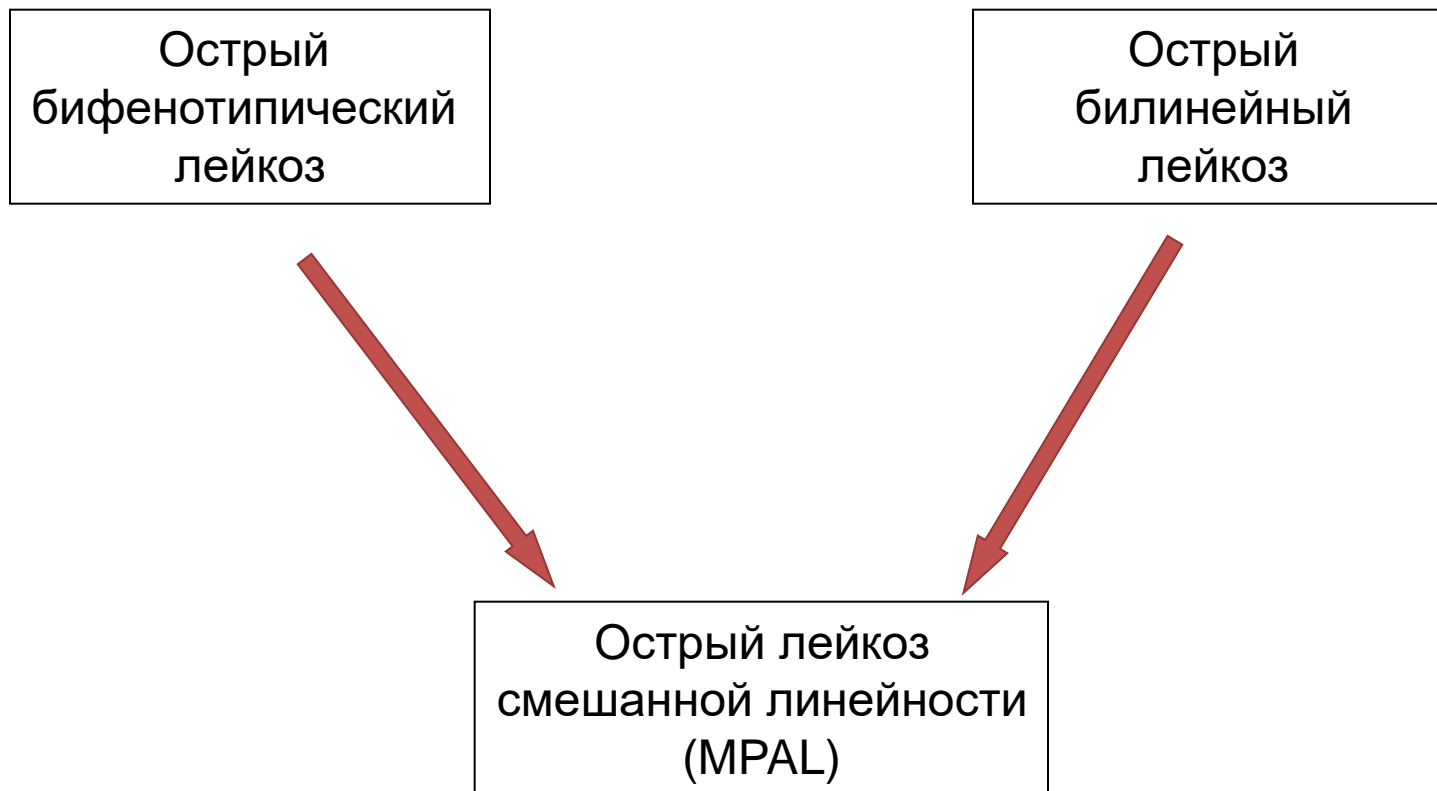
**Острые лейкозы
неясной линейности**

Острый
недифференцированный
лейкоз



The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes

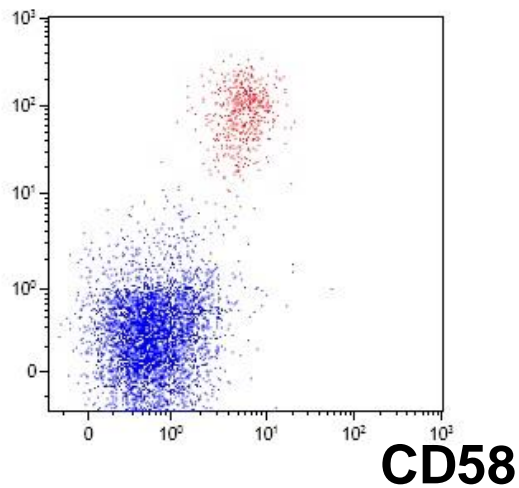
James W. Vardiman, Jürgen Thiele, Daniel A. Arber, Richard D. Brunning, Michael J. Borowitz, Anna Porwit, Nancy Lee Harris, Michelle M. Le Beau, Eva Hellström-Lindberg, Ayalew Tefferi and Clara D. Bloomfield



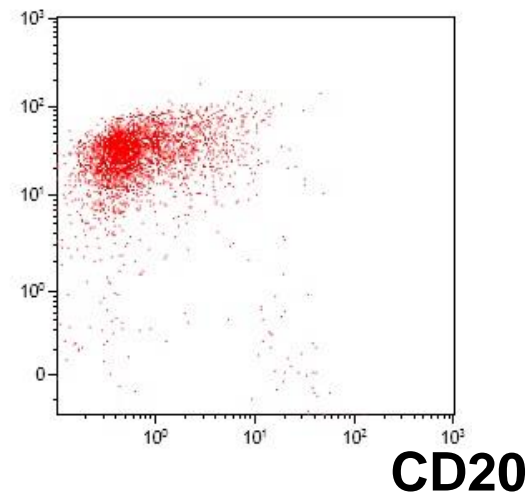
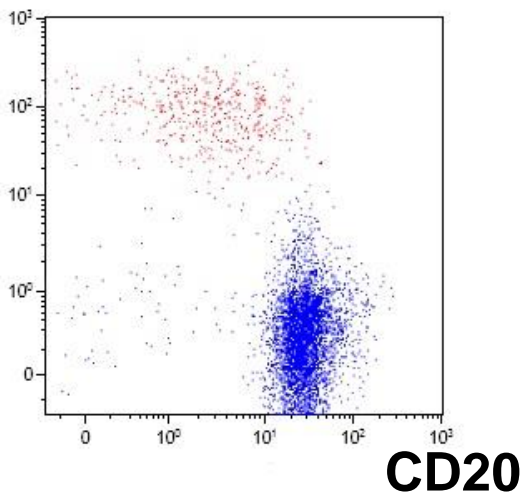
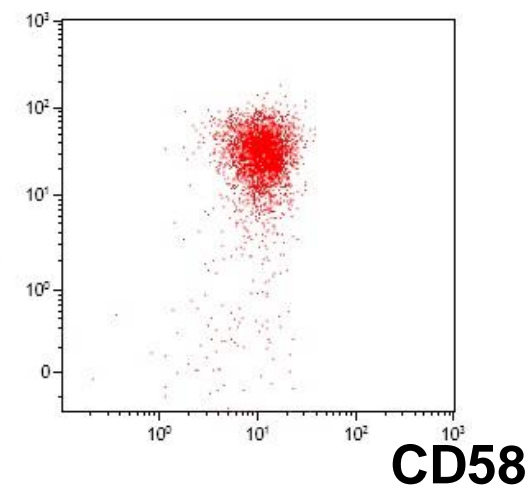
Диагностика сложных случаев ОЛЛ

Пациент С.

09.2014



01.2015*



CD10

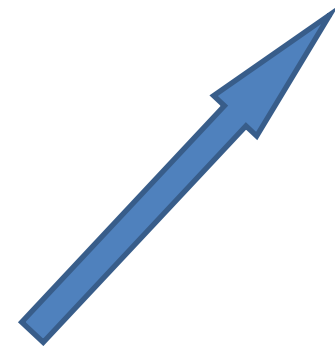
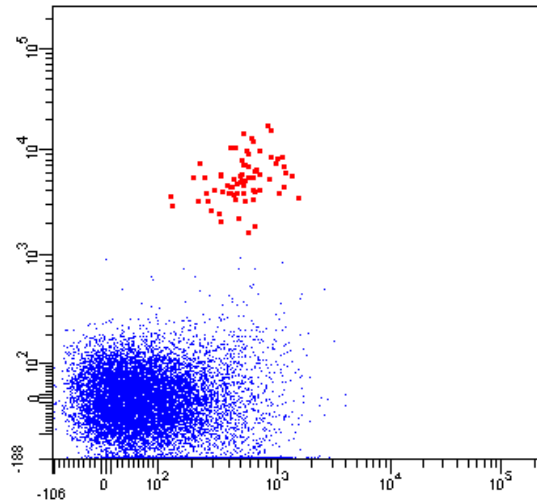
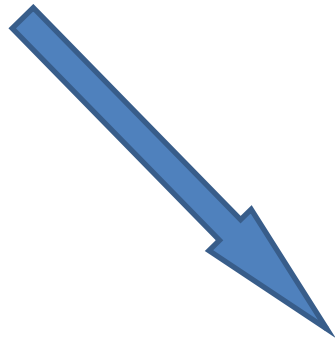
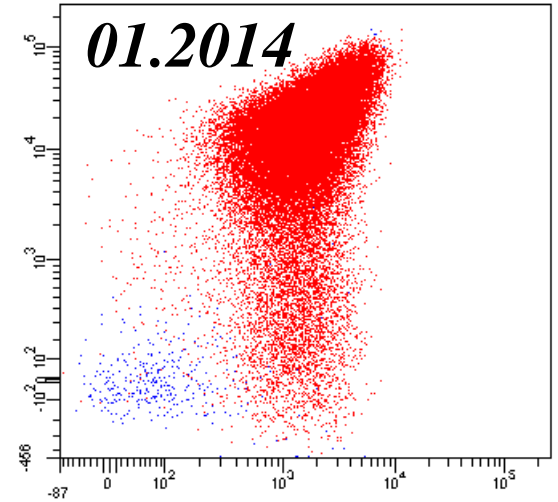
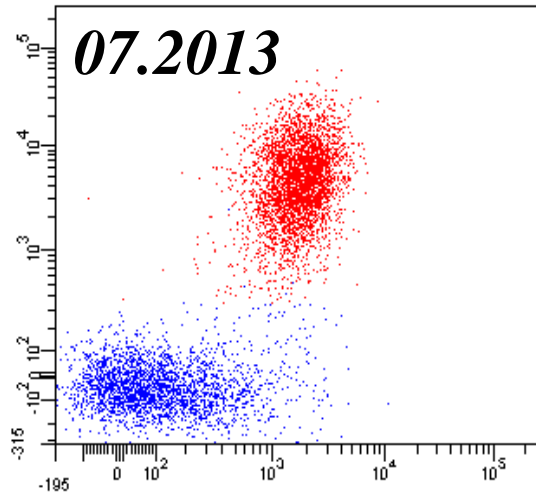
CD20

CD20

*Данные предоставлены Л.В. Байдун

Пациент Д.

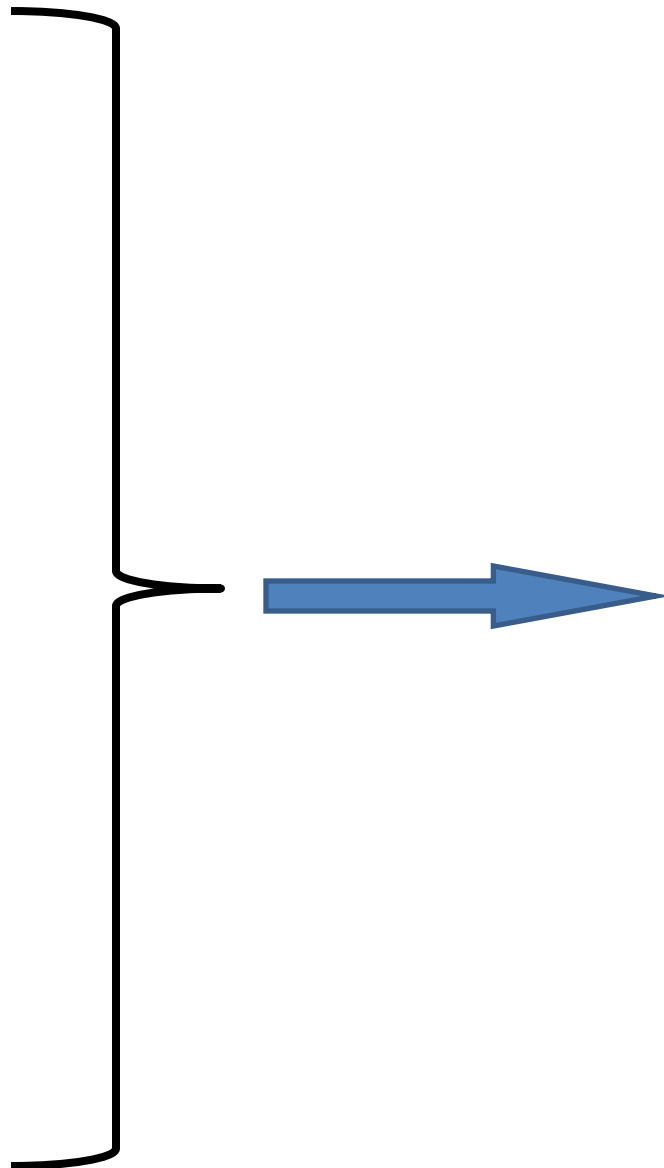
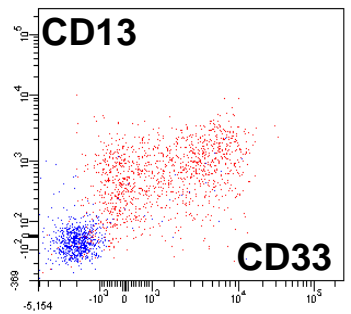
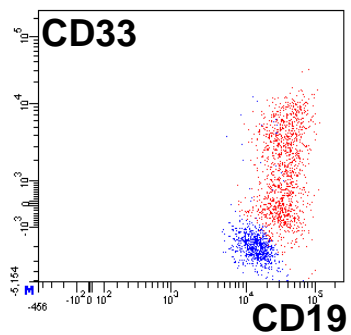
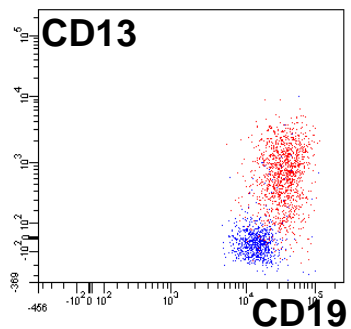
CD10



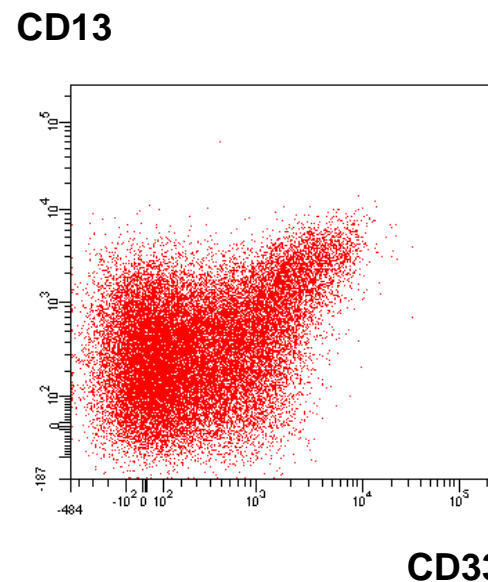
CD58

07.2013

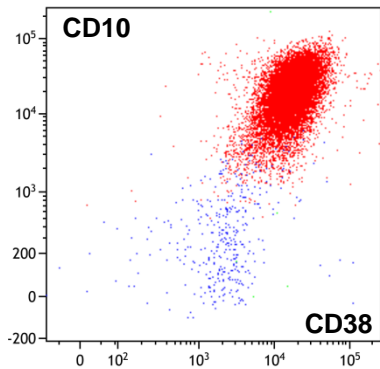
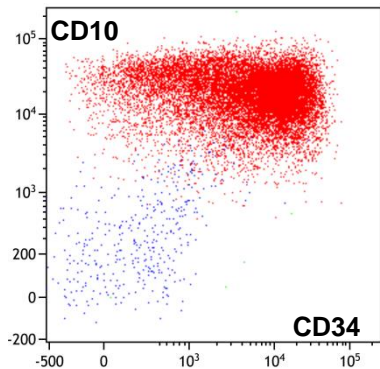
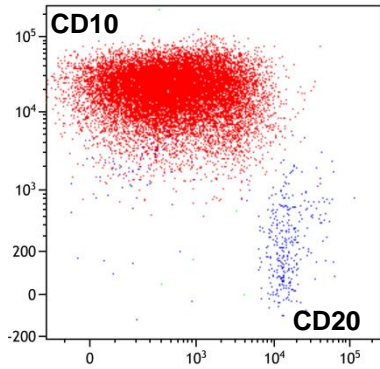
Пациент Д.



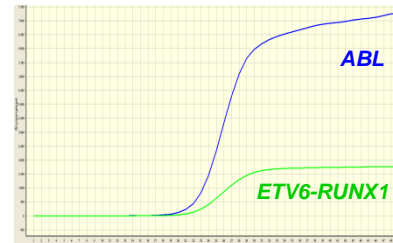
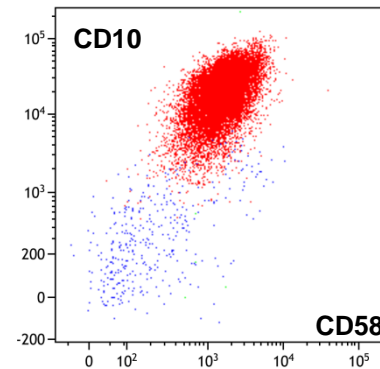
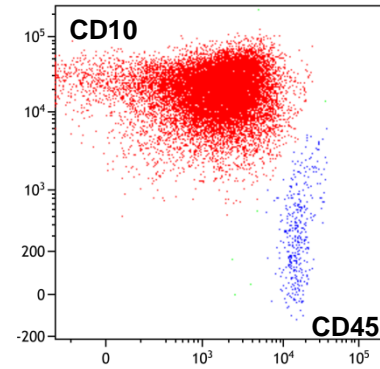
01.2014



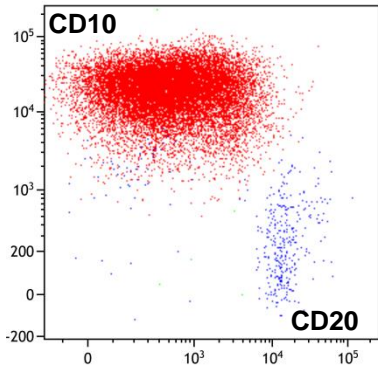
Пациент И.П.



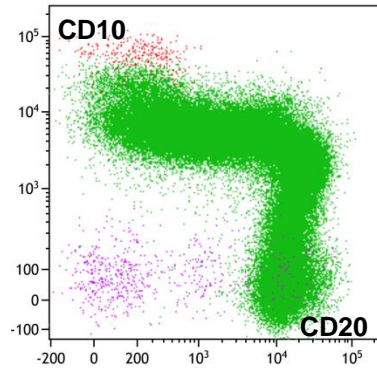
Пациент И.П.



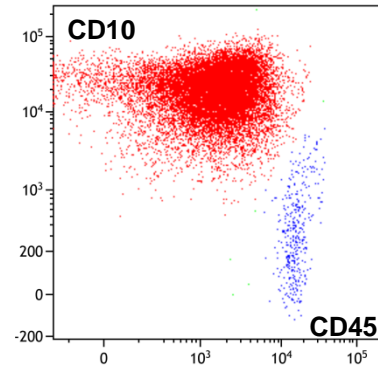
Пациент И.П.



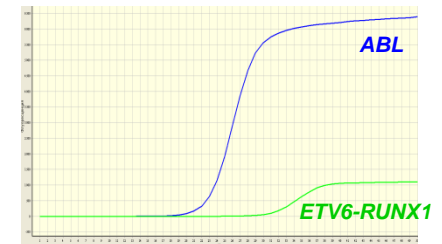
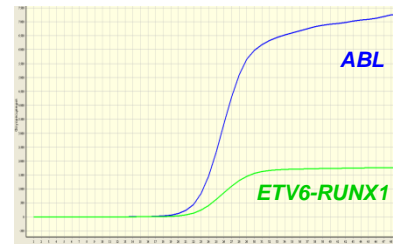
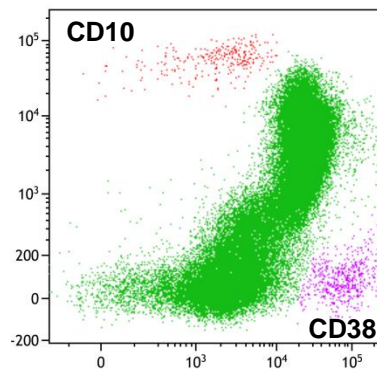
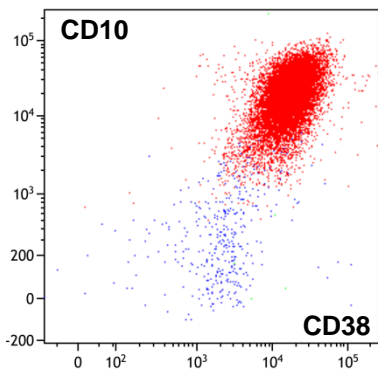
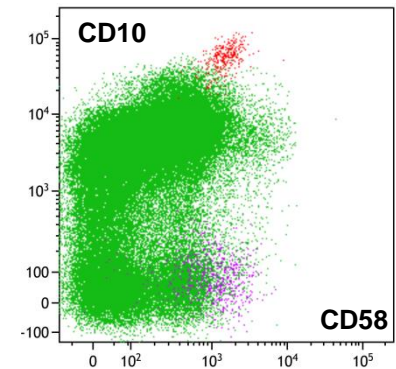
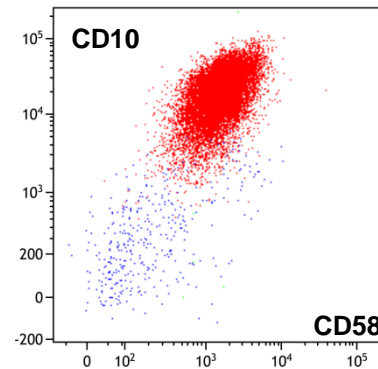
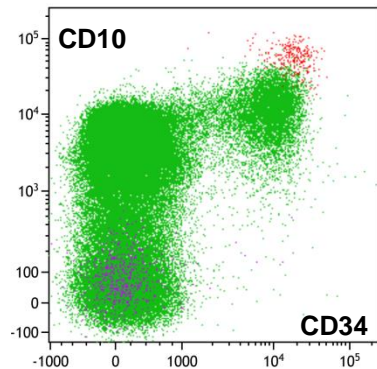
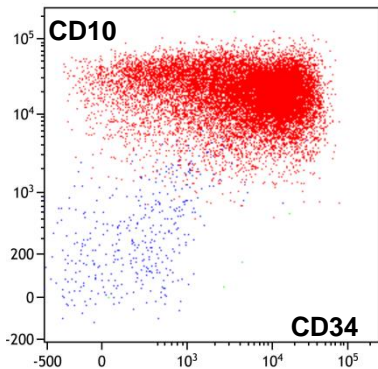
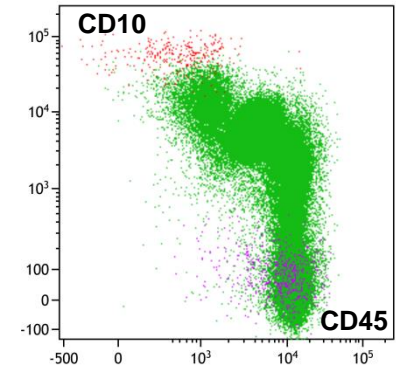
Пациент И.Д.



Пациент И.П.

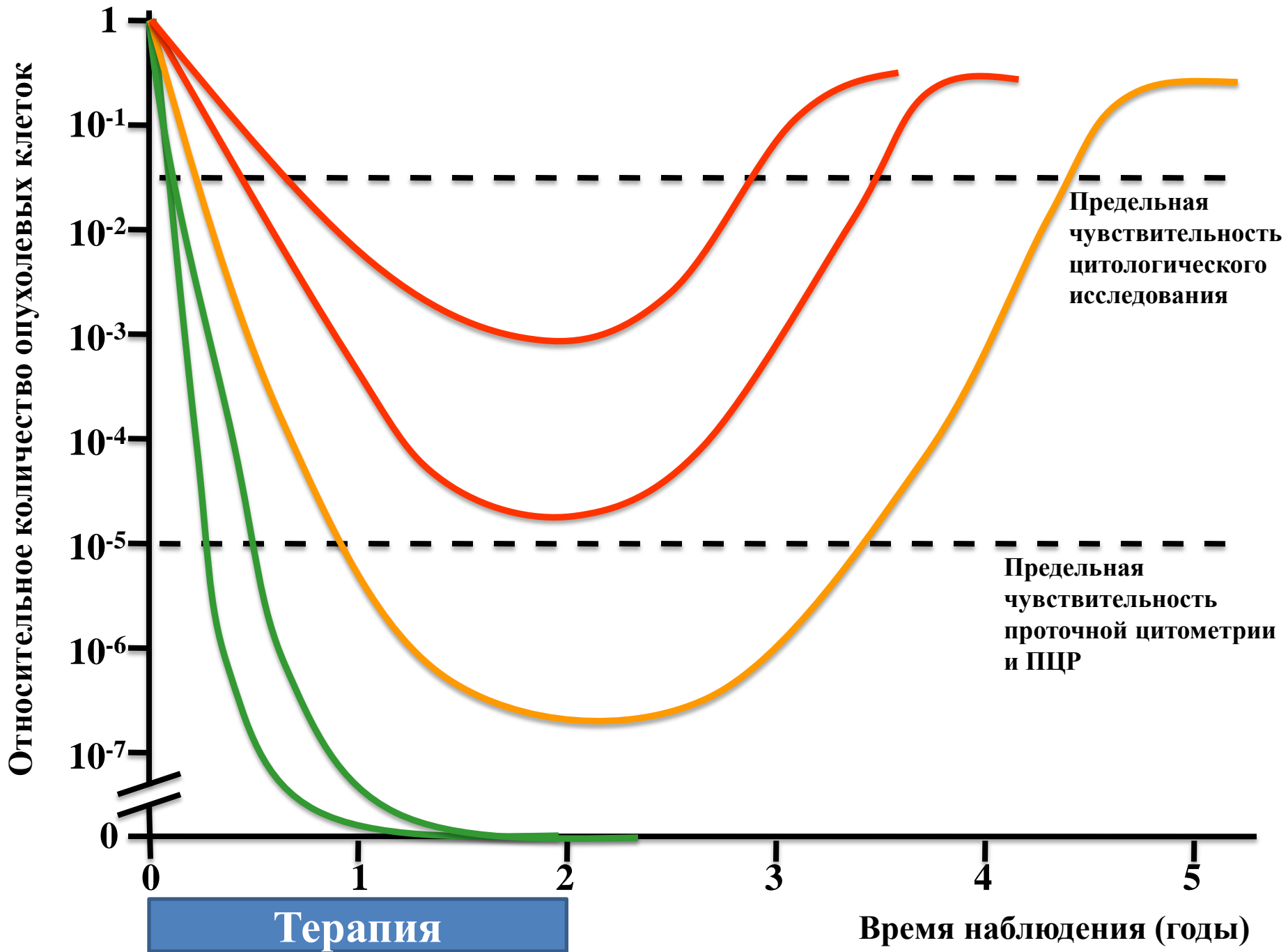


Пациент И.Д.



Мониторинг минимальной остаточной болезни

Минимальная остаточная болезнь (minimal residual disease, MRD) – состояние, обуславливающее развитие рецидива и связанное с сохранением опухолевых клеток в крайне низких концентрациях, ниже предела чувствительности морфологических методов



Мониторинг МОБ

```
graph TD; A[Мониторинг МОБ] --> B[Стратификационный]; A --> C[Продолжительный];
```

Стратификационный

Продолжительный

Основные методы мониторинга МОБ

- ✓ **Количественная полимеразная цепная реакция**
 - ✓ **Определение химерного гена**
 - ✓ **Определение химерного транскрипта**
 - ✓ **Определение клональных перестроек генов тяжелых цепей ИГ и ТкР**

- ✓ **Многоцветная проточная цитометрия**

Проточная цитометрия

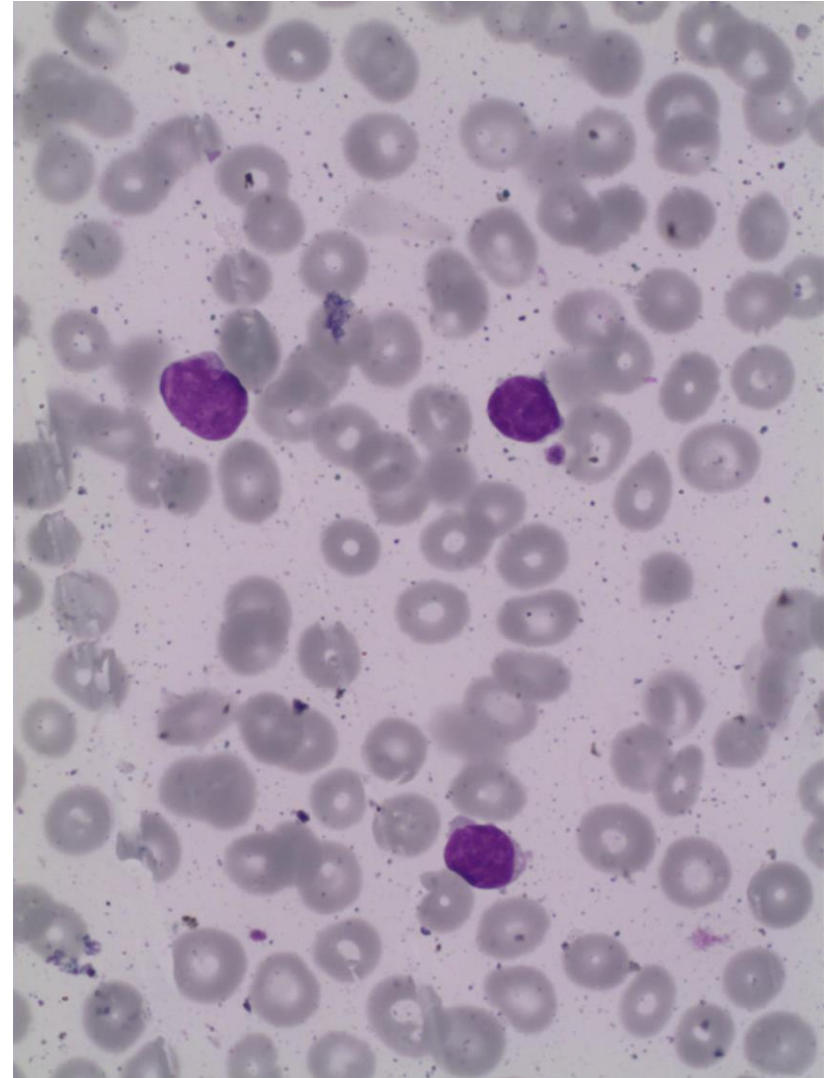
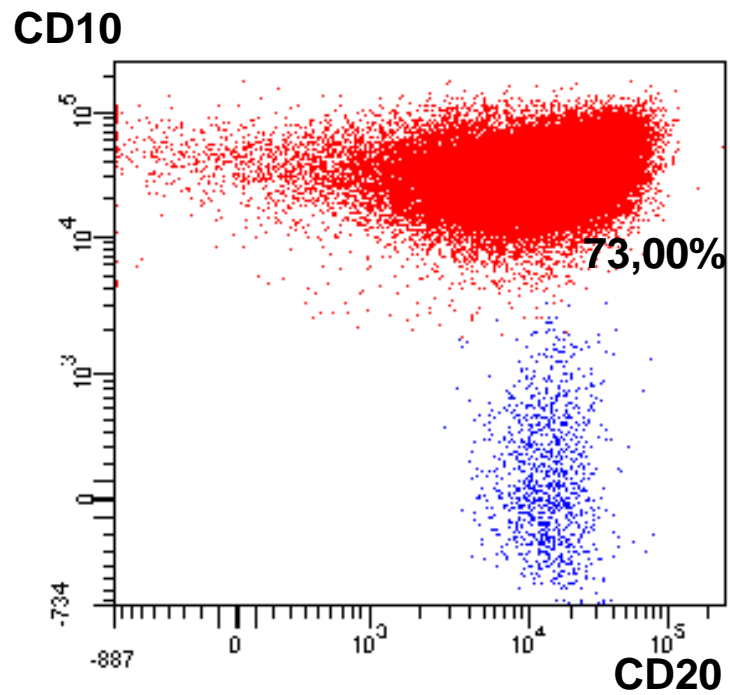
✓ Преимущества

- ✓ Воспроизводимость исследования
- ✓ Применимость (>95% ОЛЛ)
- ✓ Относительно низкая стоимость
- ✓ Относительно короткое время выполнения
- ✓ Дополнительная информация об опухолевых и нормальных клетках

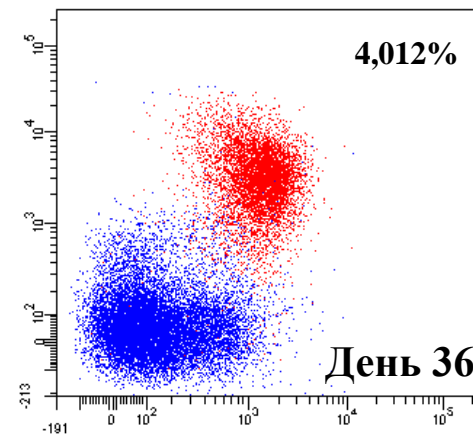
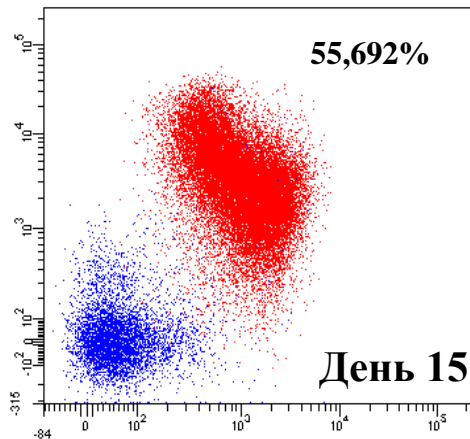
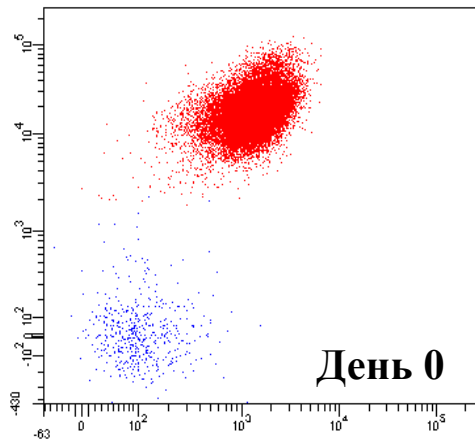
✓ Недостатки

- ✓ Низкая чувствительность 3-4-цветной проточной цитометрии
- ✓ Сложность применения >6-цветной проточной цитометрии
- ✓ Сложность стандартизации

Пациент Б. (день 36)

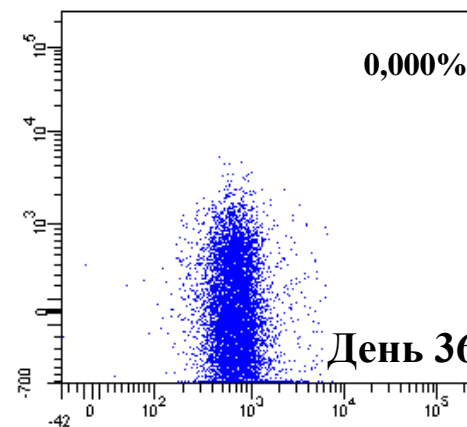
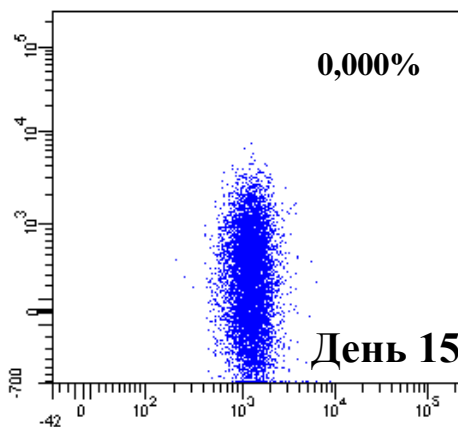
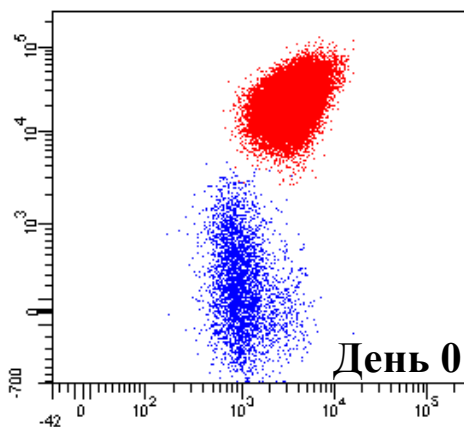


Пациент Ф. (SRG)



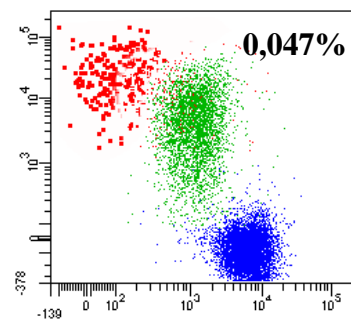
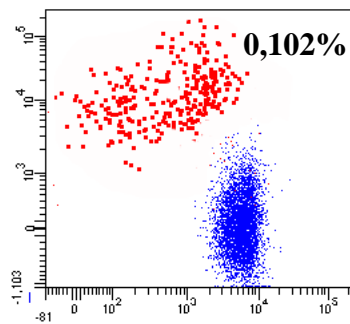
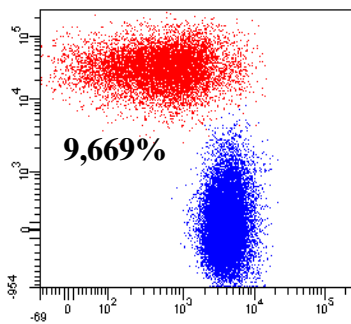
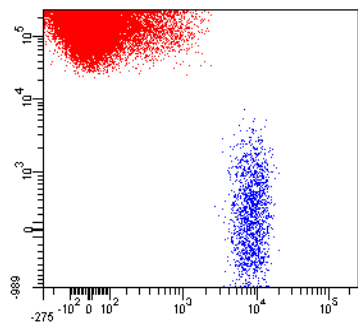
CD10

CD58



Пациент П. (HRG)

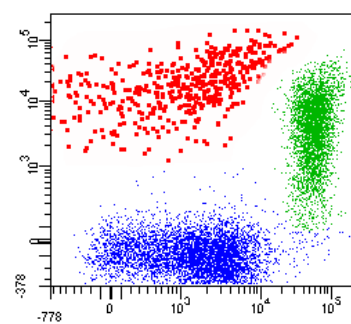
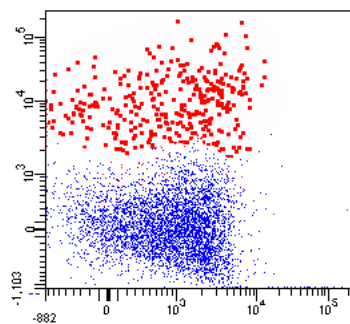
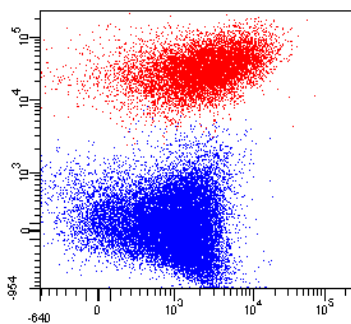
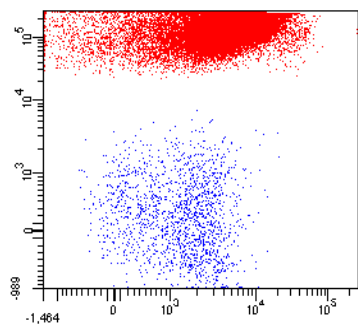
Пациент П.



CD45

День 0 → День 15 → День 36 → День 85

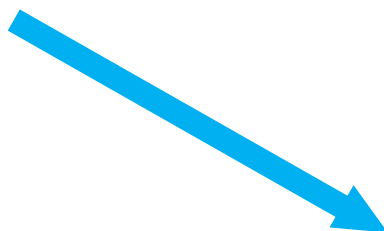
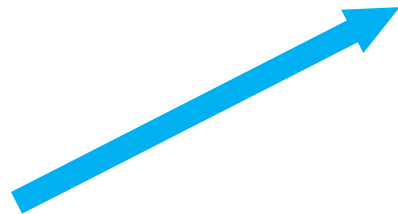
CD38



CD10

Мониторинг МОБ

**Деинтенсификация
терапии**



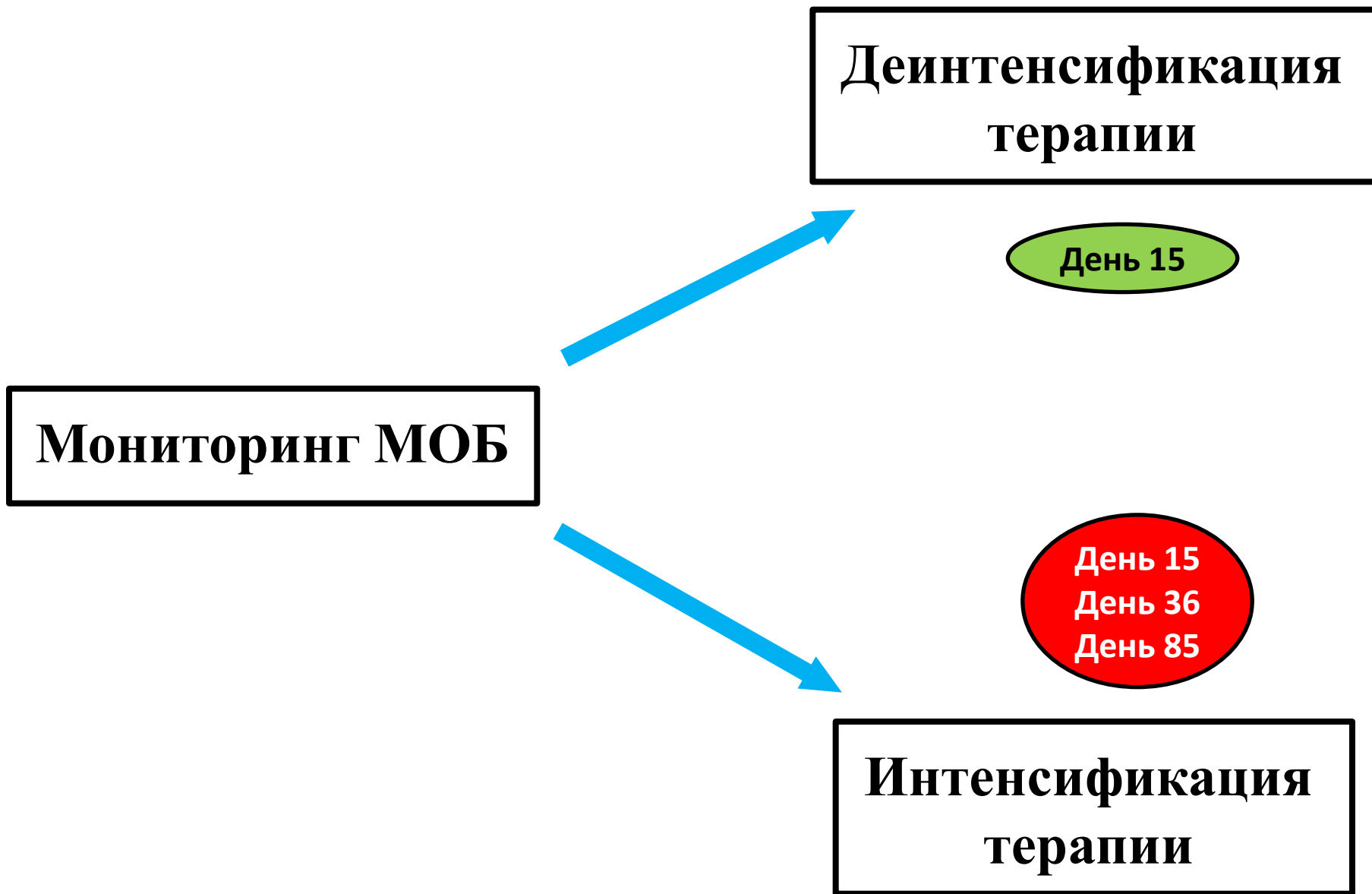
**Интенсификация
терапии**

Мониторинг МОБ

**Деинтенсификация
терапии**

День 15

**Интенсификация
терапии**



**Деинтенсификация
терапии**

День 15

Мониторинг МОБ

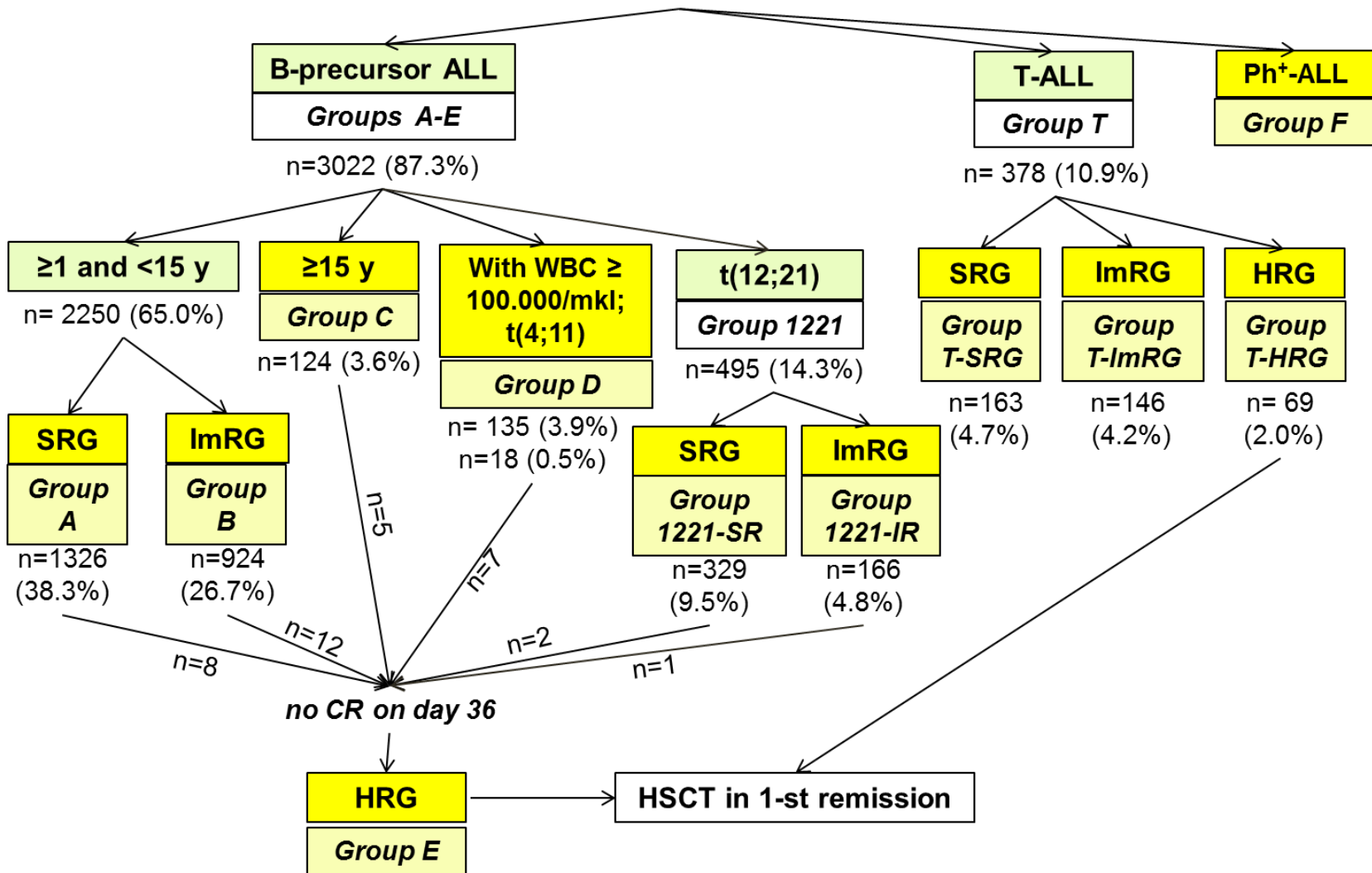
**День 15
День 36
День 85**

**Интенсификация
терапии**

ALL-MB 2015: Group stratification

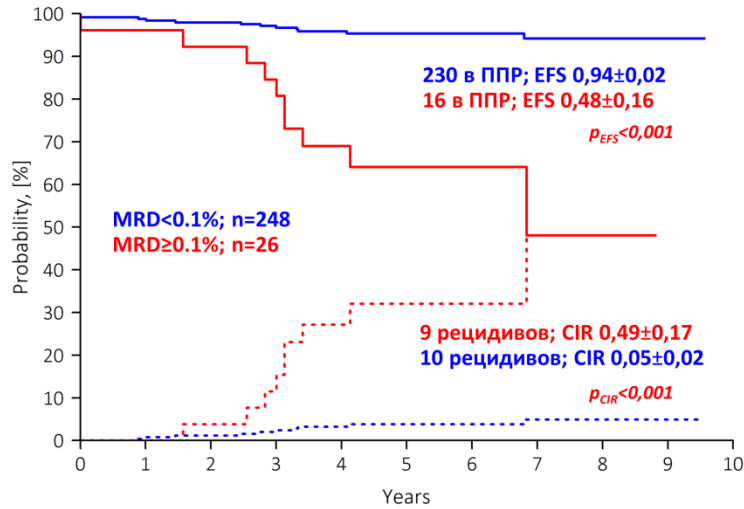
ALL patients (≥ 1 y. and < 50 y.)

MB-2008: n=3461 (100%)

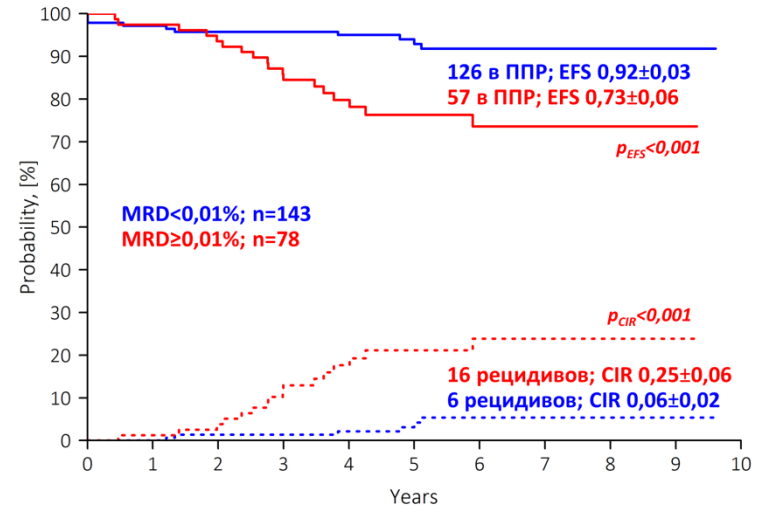


Результаты определения MRD в группах стандартного и промежуточного риска на день 36

группа стандартного риска

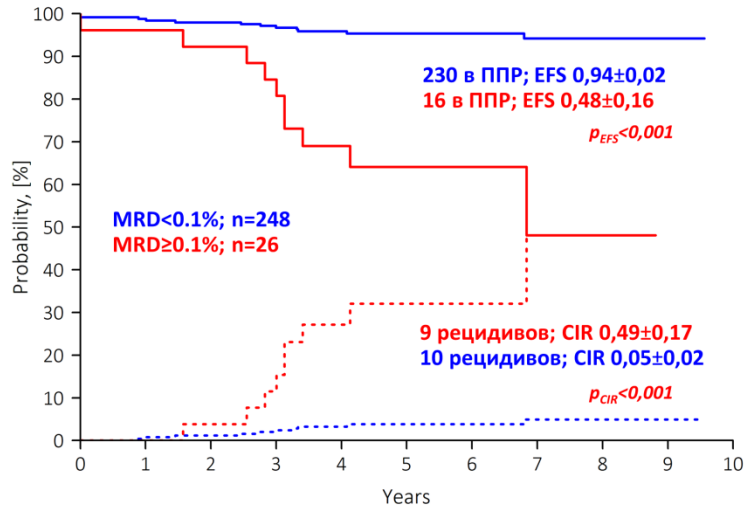


группа промежуточного риска

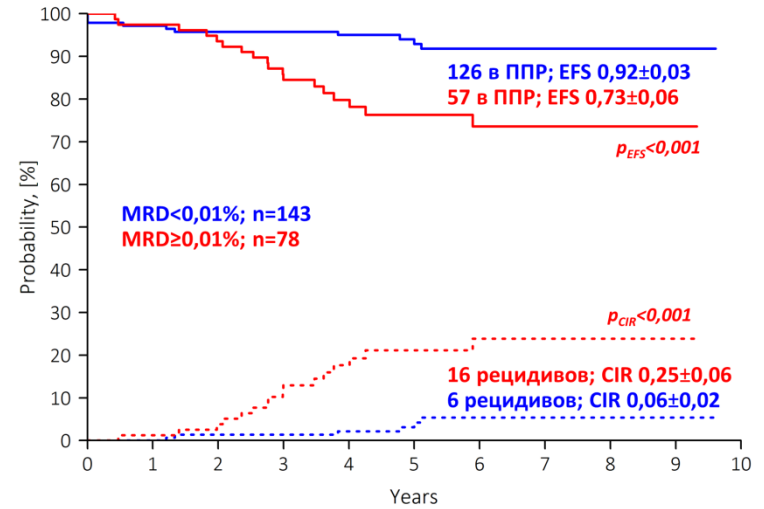


Результаты определения MRD в группах стандартного и промежуточного риска на день 36

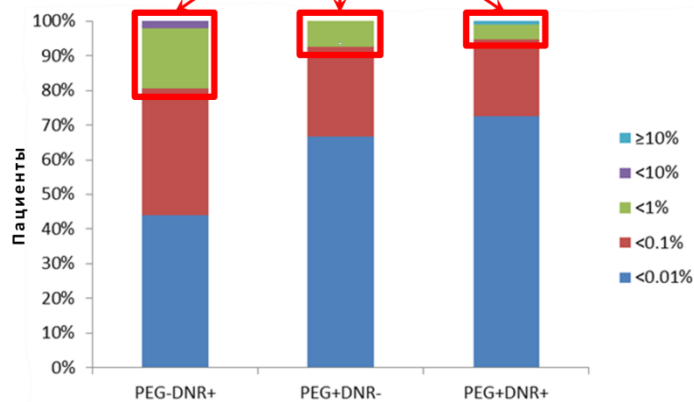
группа стандартного риска



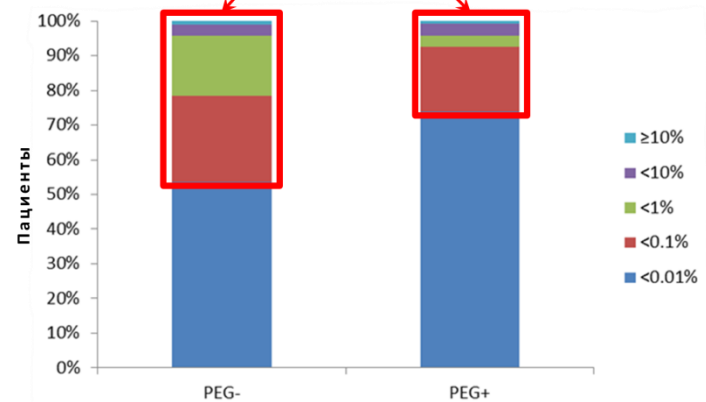
группа промежуточного риска



Пациенты с плохим прогнозом

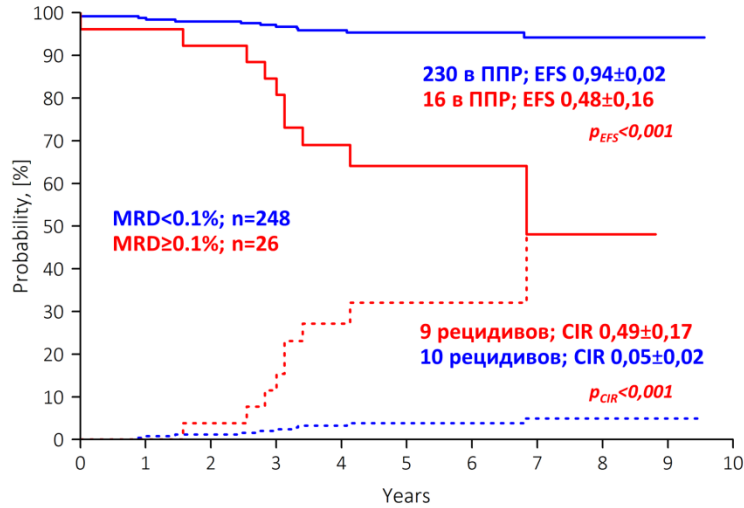


Пациенты с плохим прогнозом

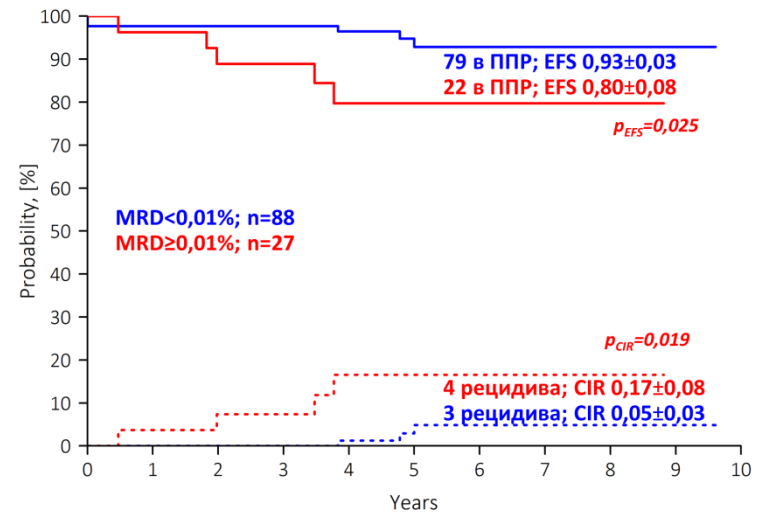
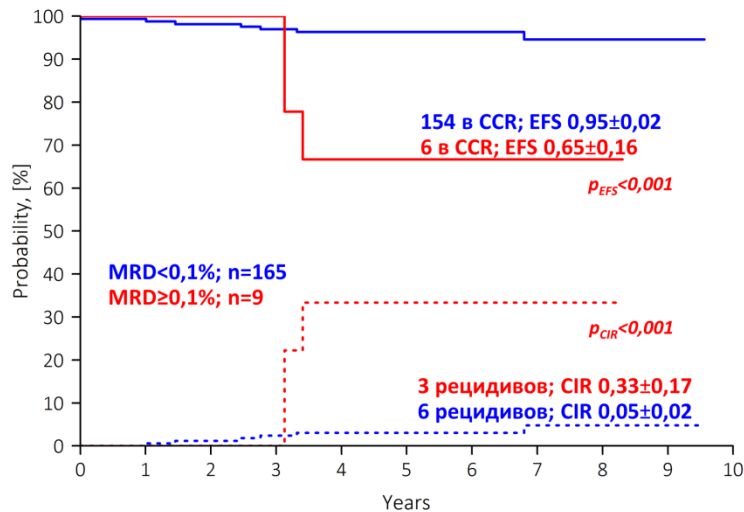
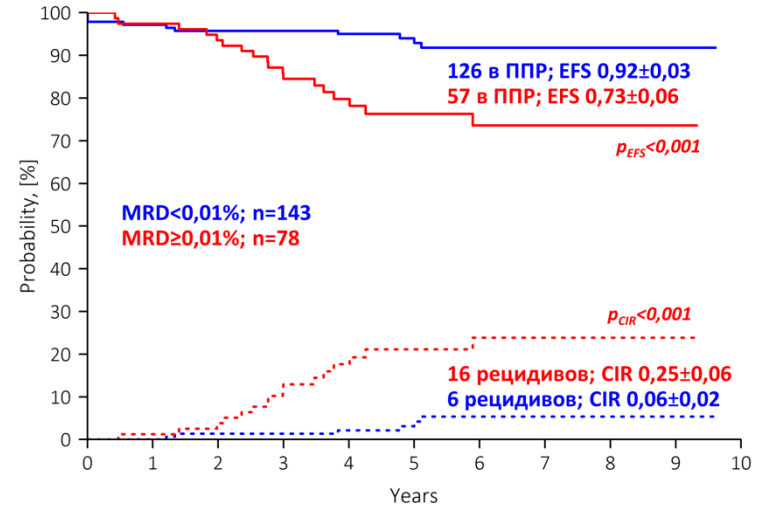


Результаты определения MRD в группах стандартного и промежуточного риска на день 36

группа стандартного риска



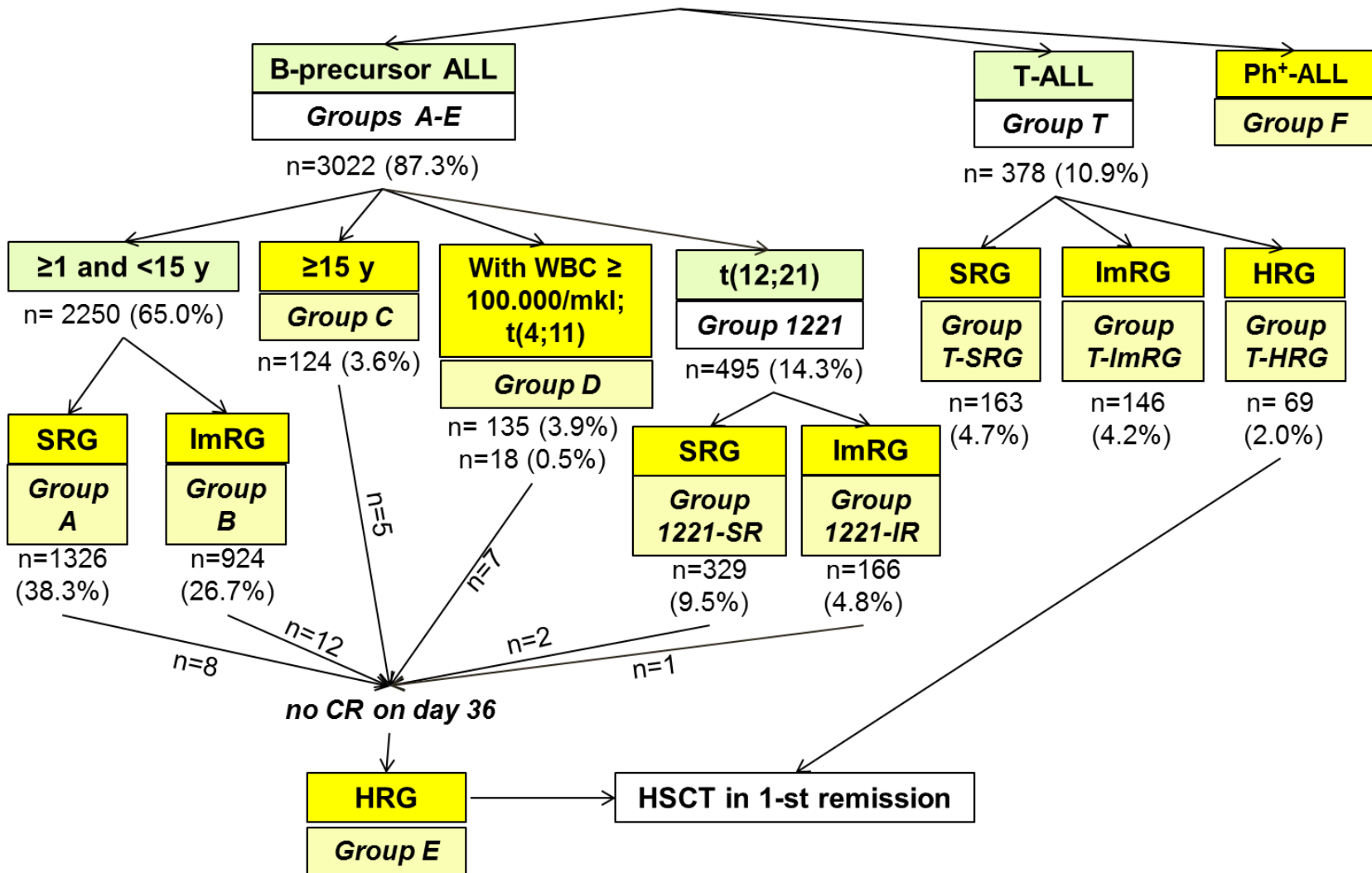
группа промежуточного риска



ALL-MB 2015: Group stratification

ALL patients (≥ 1 y. and < 50 y.)

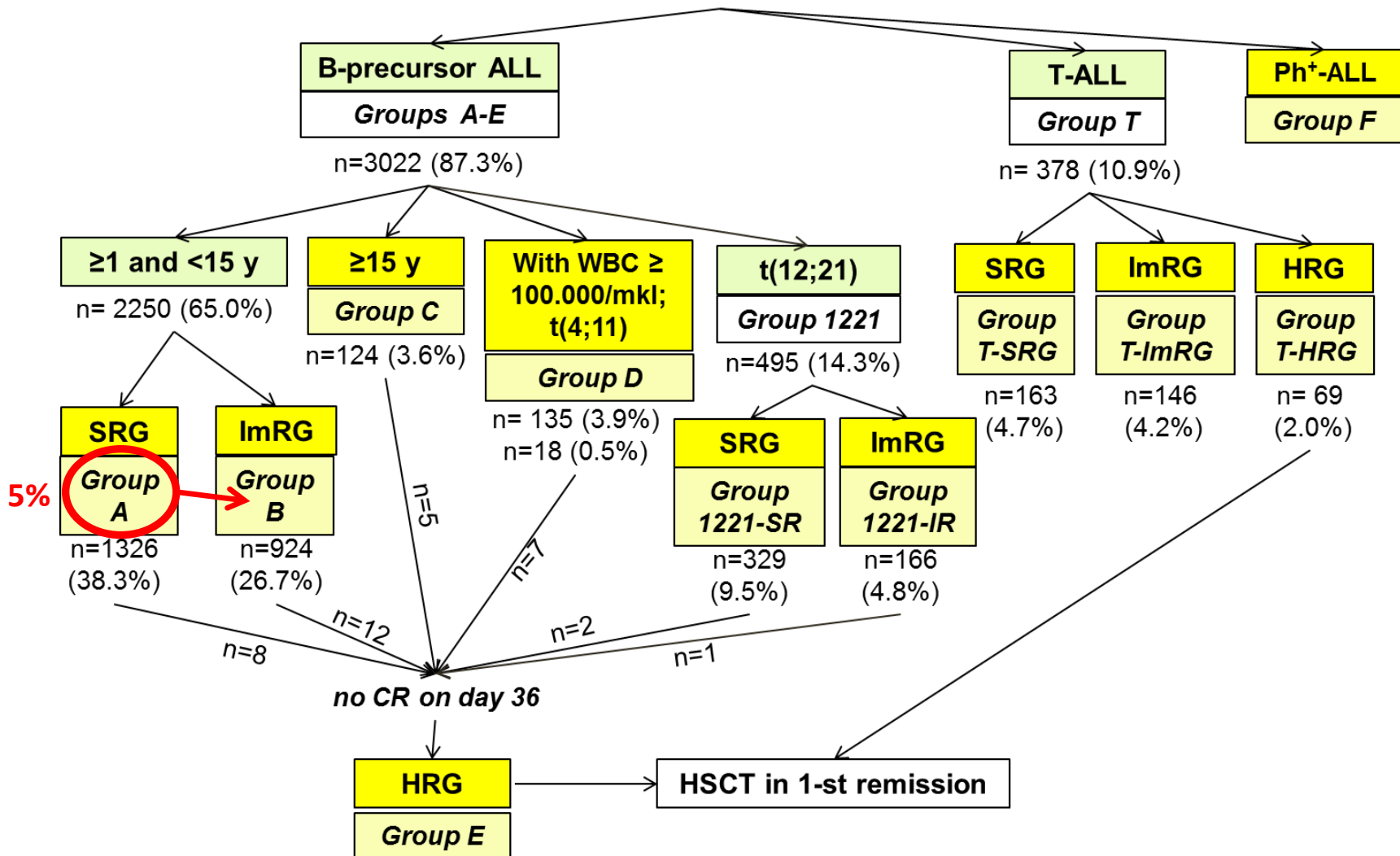
MB-2008: n=3461 (100%)



ALL-MB 2015: Group stratification

ALL patients (≥ 1 y. and < 50 y.)

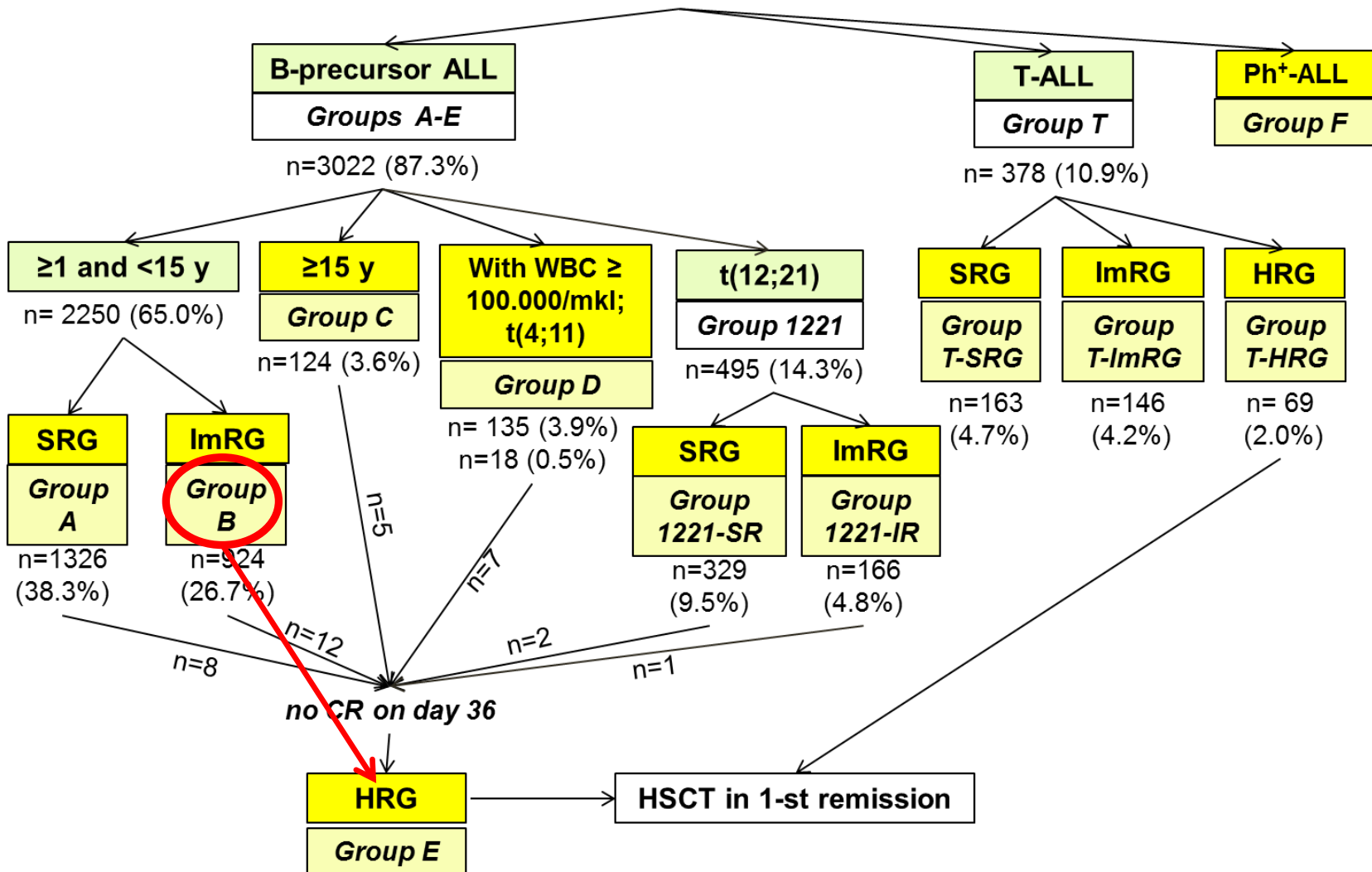
MB-2008: n=3461 (100%)



ALL-MB 2015: Group stratification

ALL patients (≥ 1 y. and < 50 y.)

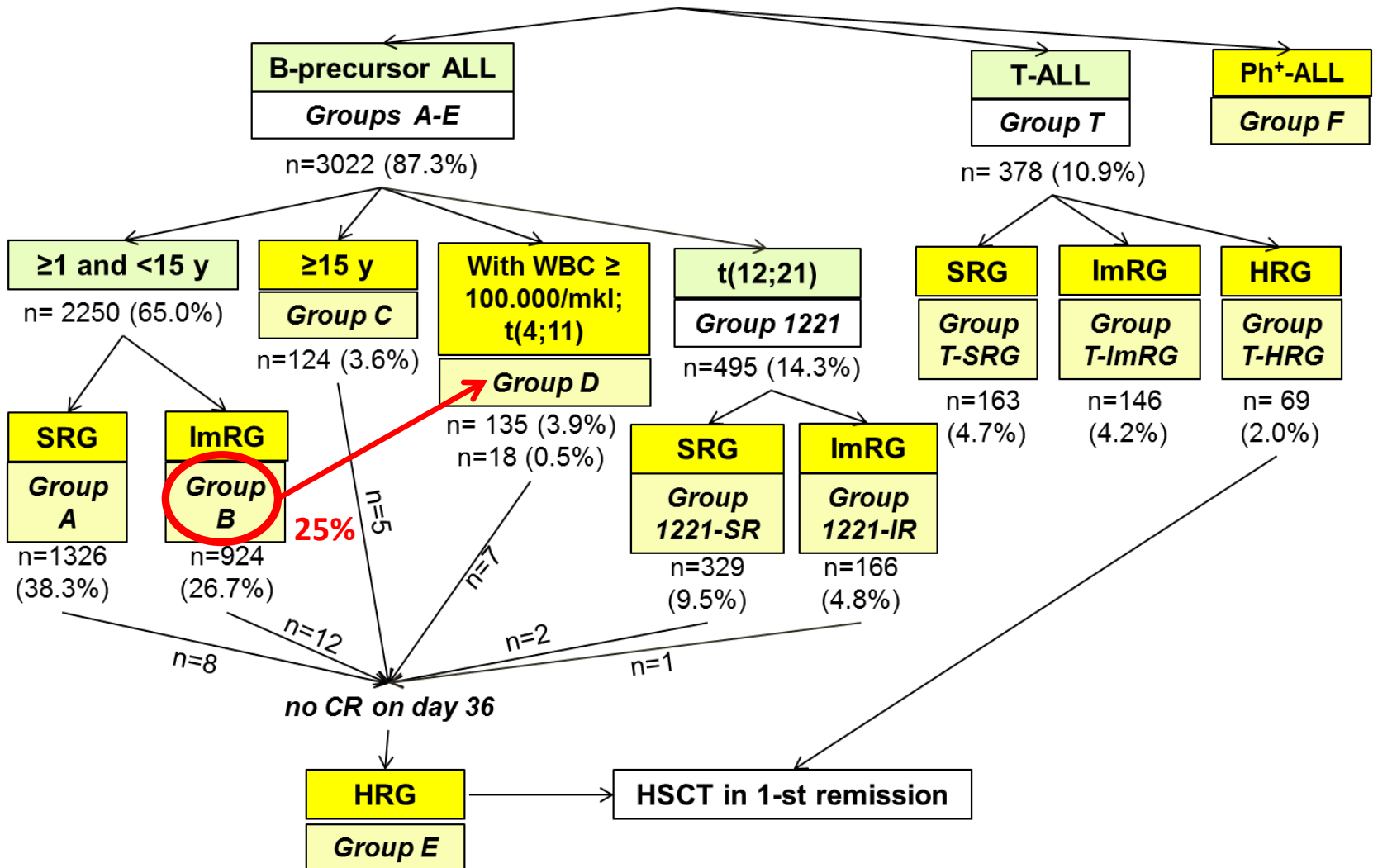
MB-2008: n=3461 (100%)



ALL-MB 2015: Group stratification

ALL patients (≥ 1 y. and < 50 y.)

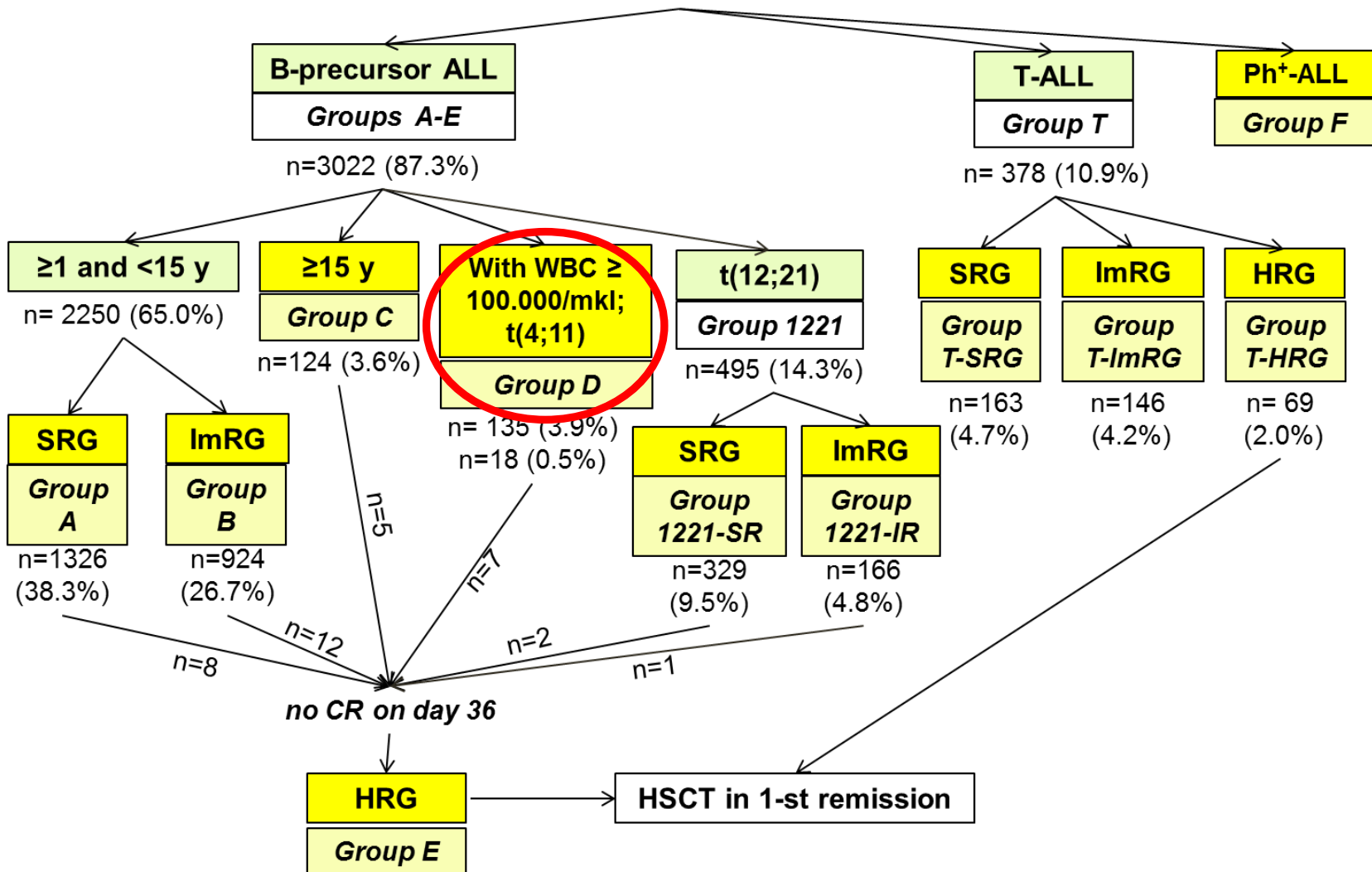
MB-2008: n=3461 (100%)



ALL-MB 2015: Group stratification

ALL patients (≥ 1 y. and < 50 y.)

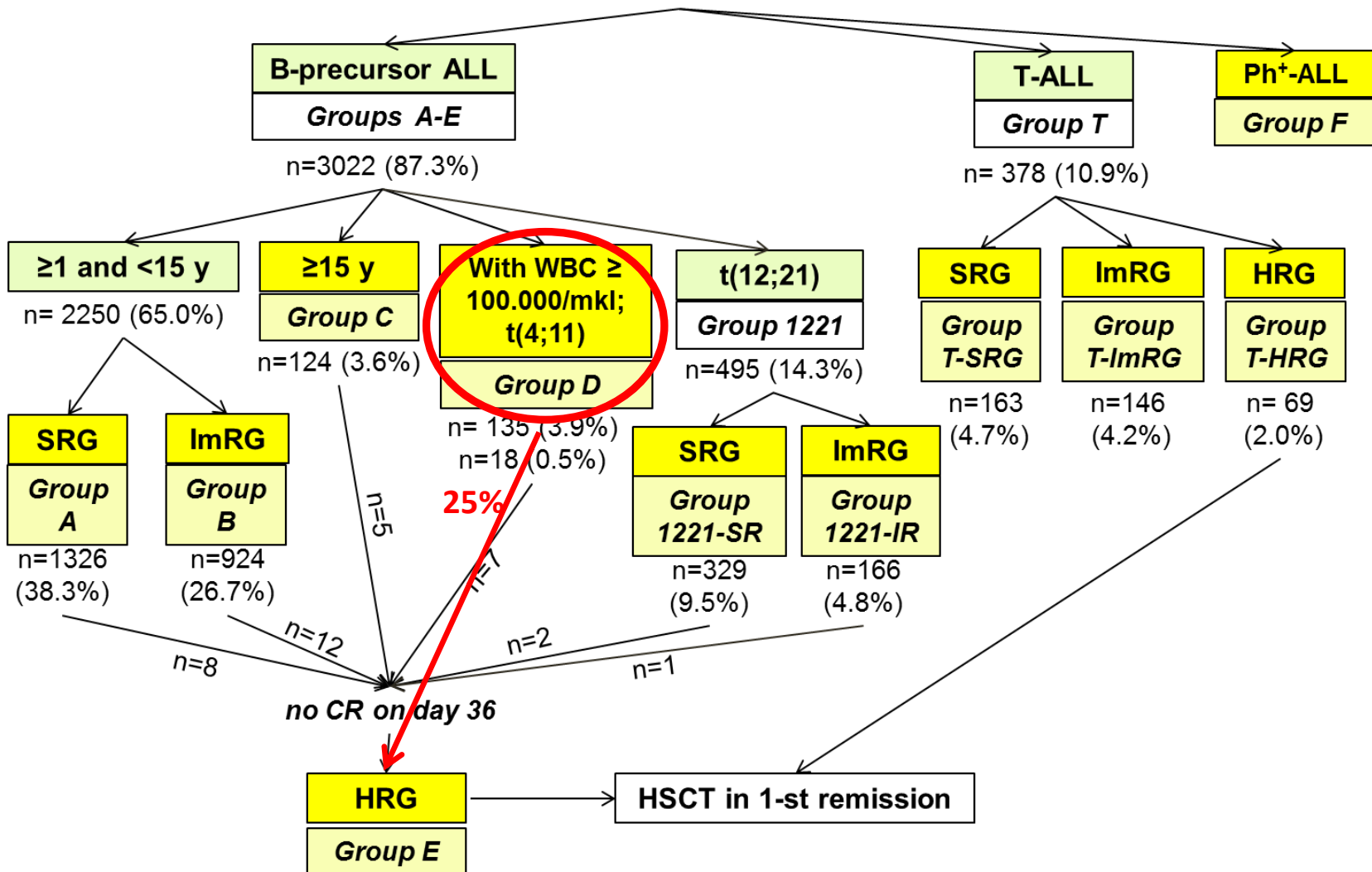
MB-2008: n=3461 (100%)



ALL-MB 2015: Group stratification

ALL patients (≥ 1 y. and < 50 y.)

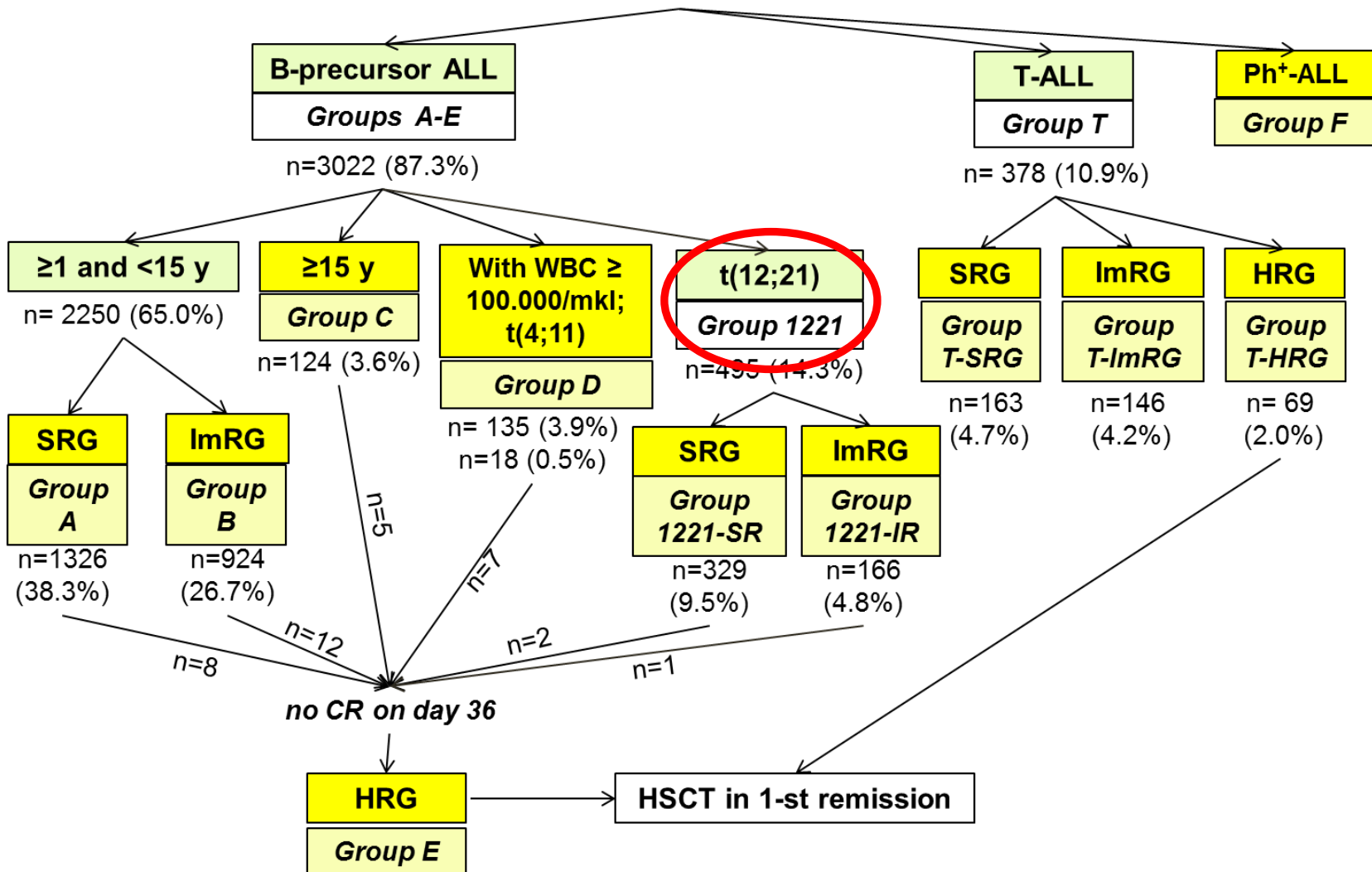
MB-2008: n=3461 (100%)



ALL-MB 2015: Group stratification

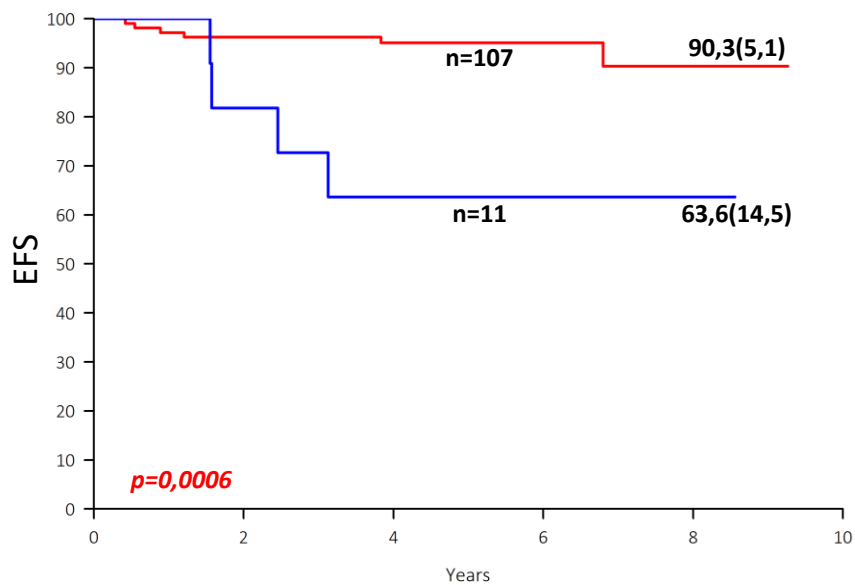
ALL patients (≥ 1 y. and < 50 y.)

MB-2008: n=3461 (100%)



Пациенты с t(12;21)(p13;q22)

День 36

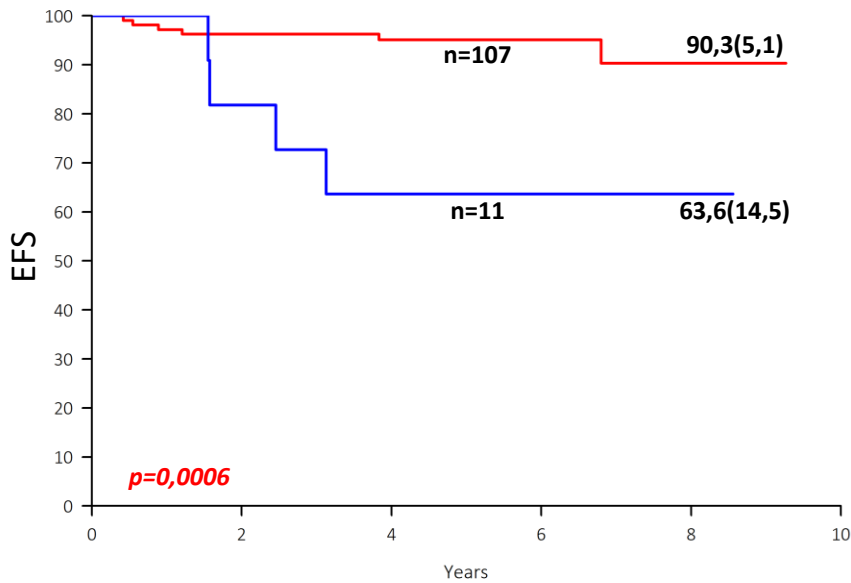


MRD < 0,1%

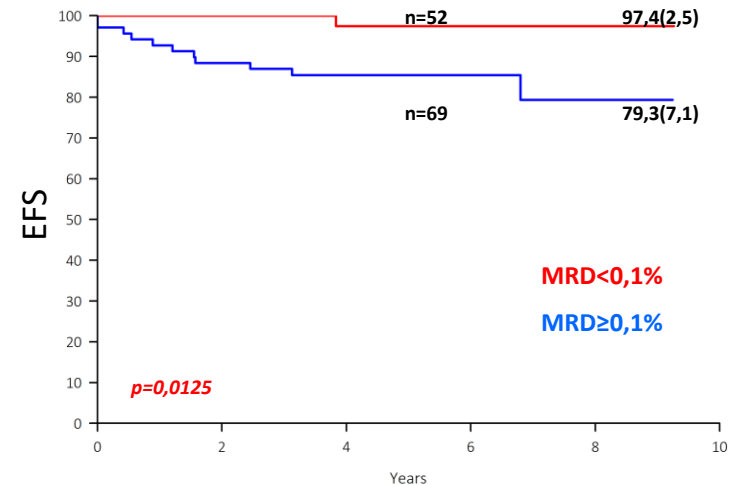
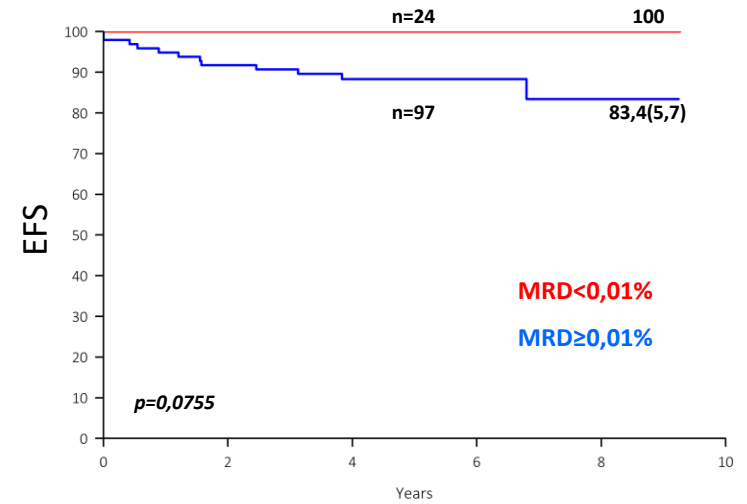
MRD ≥ 0,1%

Пациенты с t(12;21)(p13;q22)

День 36



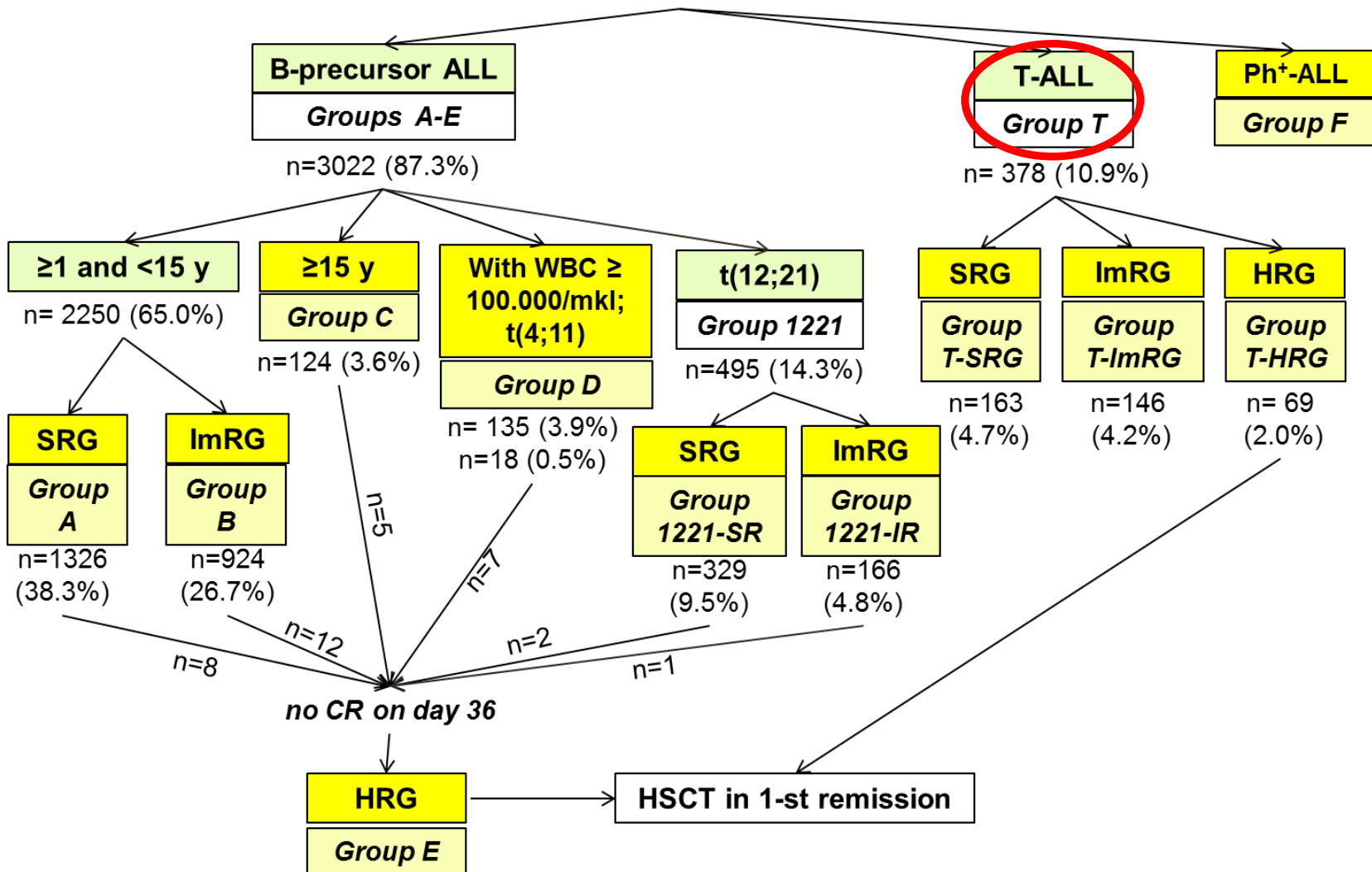
День 15 (различные пороговые уровни)



ALL-MB 2015: Group stratification

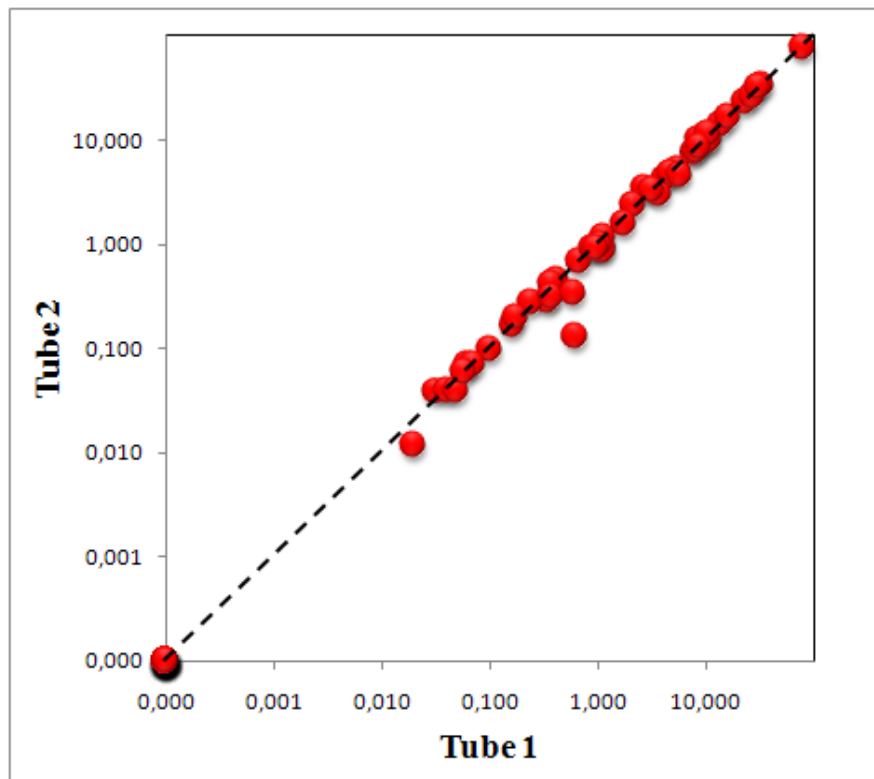
ALL patients (≥ 1 y. and < 50 y.)

MB-2008: n=3461 (100%)

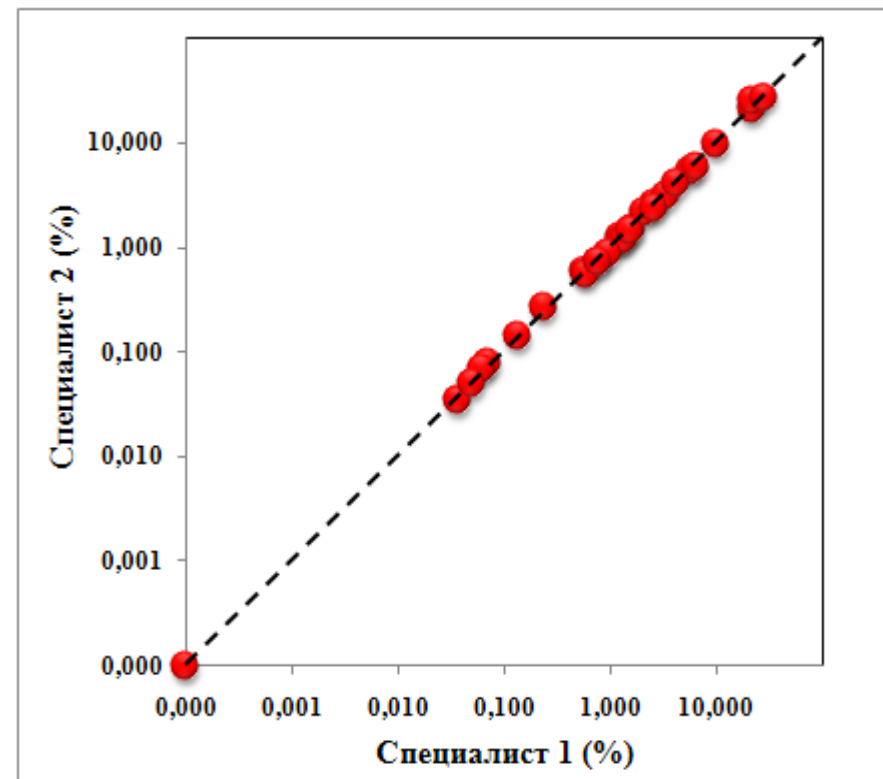


Внутрилабораторная стандартизация

Различные комбинации антител



Анализ данных разными специалистами



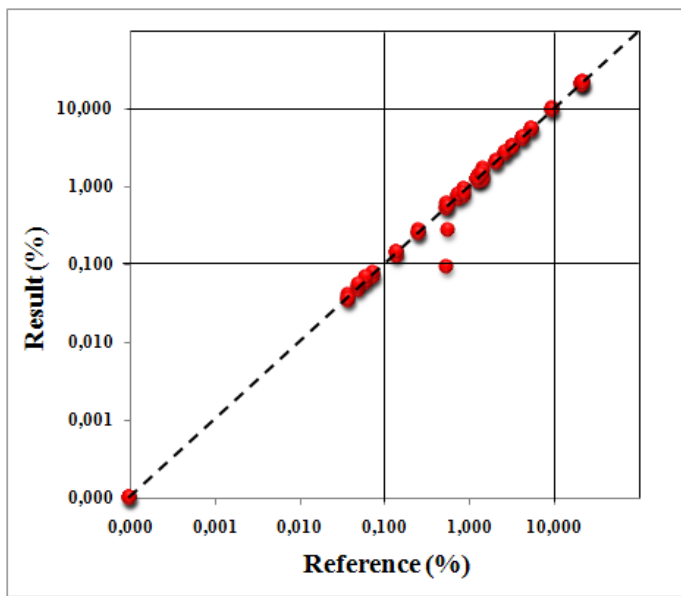
Внутрилабораторная стандартизация

FITC	PE	PerCP	PE-Cy7	APC	APC-Cy7	Количество клеток	Опухолевые бласты (%)
CD45	CD11a	CD19	CD34	CD10	CD20	920980	<i>0,17</i>
CD45	CD58	CD19	CD34	CD10	CD20	974500	<i>0,16</i>
CD45	CD38	CD19	CD34	CD10	CD20	1196479	<i>0,17</i>
CD45	CD11b	CD19	CD34	CD10	CD20	1049472	<i>0,16</i>

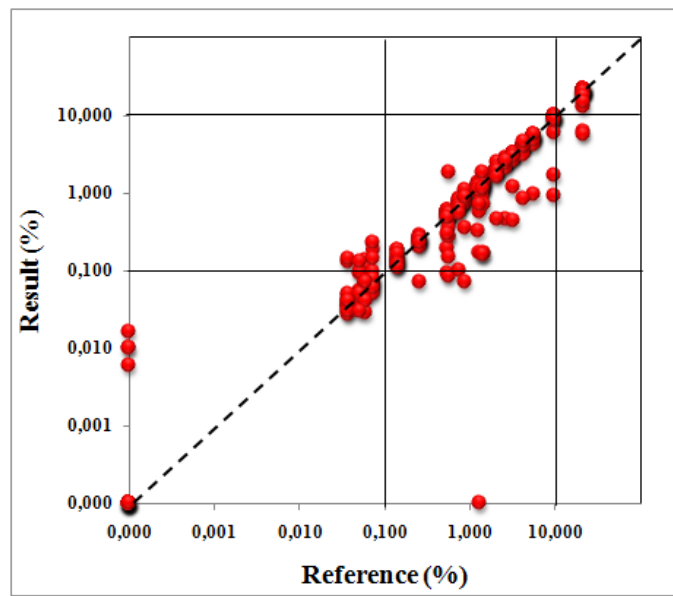
FITC	PE	PerCP	PE-Cy7	APC	APC-Cy7	Количество клеток	Опухолевые бласты (%)
CD45	CD11a	CD19	CD34	CD10	CD20	498954	<i>0,10</i>
CD45	CD58	CD19	CD34	CD10	CD20	449459	<i>0,10</i>
CD45	CD38	CD19	CD34	CD10	CD20	649527	<i>0,10</i>
CD45	CD11b	CD19	CD34	CD10	CD20	470316	<i>0,10</i>

1st I-BFM LMD Ring Trial (Декабрь 2007 г)

BCP-ALL (n=23)



Референтная группа

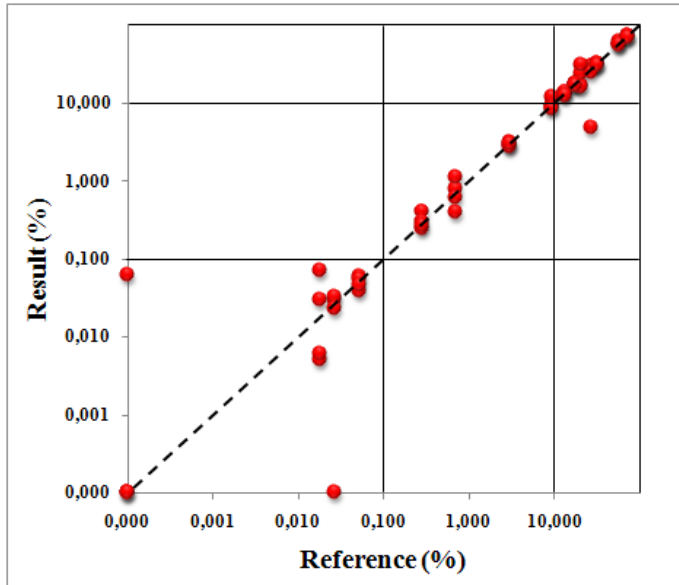


**Все
лаборатории
(n=18)**

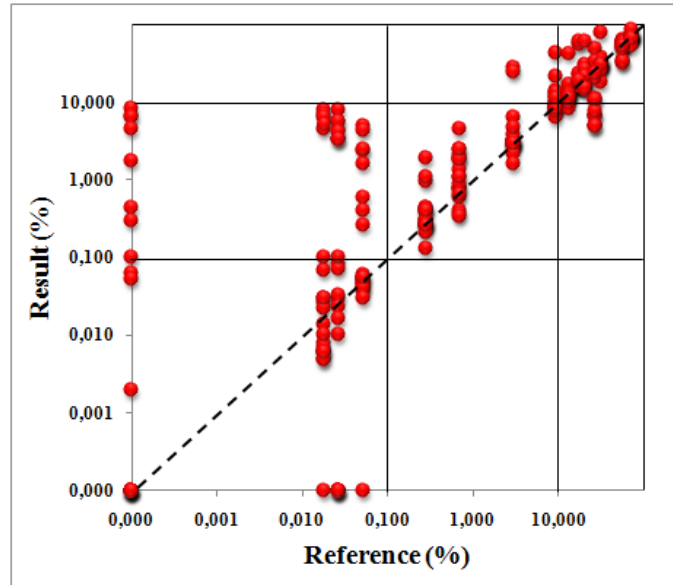
Данные предоставлены
M.N. Dworzak

2nd I-BFM LMD Ring Trial (Март 2010 г)

T-ALL (n=15)



Референтная группа



**Все
лаборатории
(n=22)**

Данные предоставлены
M.N. Dworzak

Стандартизация определения минимальной остаточной болезни методом проточной цитометрии у детей с В-линейным острым лимфобластным лейкозом. Опыт работы российско-белорусской кооперативной группы

А.М. Попов¹, М.В. Белевцев², Е.В. Боякова^{1,3}, Т.Ю. Вержбицкая^{4,5}, Л.В. Мовчан², М.С. Фадеева¹,
А.Б. Пашенко¹, В.П. Савицкий², А.А. Левадный³, Г.А. Цаур^{4,5}, С.А. Кашпор¹, С.А. Плясунова¹,
Л.Г. Фечина⁴, О.В. Алейникова², А.И. Карачунский^{4,6}

¹ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Саморы Машела, 1;

²ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии»; Республика Беларусь,
223053 Минский район, дер. Боровляны, ул. Фрунзенская, 43;

³ГБУЗ «Станция переливания крови Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 115516 Москва, ул. Бакинская, 31;

⁴ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1»; Россия, 620149 Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32;

⁵ГАОУ СО «Институт медицинских клеточных технологий»; Россия, 620026 Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22а;

⁶ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России;
Россия, 117997 Москва, ул. Островитянова, 1

Контакты: Александр Михайлович Попов uralscytometry@gmail.com

Стандартизация определения минимальной остаточной болезни методом проточной цитометрии у детей с В-линейным острым лимфобластным лейкозом. Опыт работы российско-белорусской кооперативной группы

А.М. Попов¹, М.В. Белевцев², Е.В. Боякова^{1,3}, Т.Ю. Вержбицкая^{4,5}, Л.В. Мовчан², М.С. Фадеева¹,
А.Б. Пашенко¹, В.П. Савицкий², А.А. Левадный³, Г.А. Цаур^{4,5}, С.А. Кашпор¹, С.А. Плясунова¹,
Л.Г. Фечина⁴, О.В. Алейникова², А.И. Карачунский^{1,6}

¹ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Саморы Машела, 1;

²ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии»; Республика Беларусь, 223053 Минский район, дер. Боровляны, ул. Фрунзенская, 43;

³ГБУЗ «Станция переливания крови Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 115516 Москва, ул. Бакинская, 31;

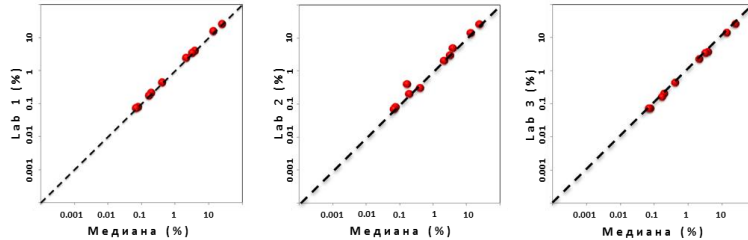
⁴ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1»; Россия, 620149 Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32;

⁵ГАОУ СО «Институт медицинских клеточных технологий»; Россия, 620026 Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22а;

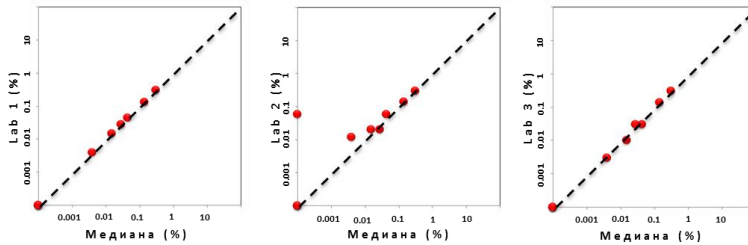
⁶ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Островитянова, 1

Контакты: Александр Михайлович Попов uralscytometry@gmail.com

День 15



День 36



Стандартизация определения минимальной остаточной болезни методом проточной цитометрии у детей с В-линейным острым лимфобластным лейкозом. Опыт работы российско-белорусской кооперативной группы

А.М. Попов¹, М.В. Белевцев², Е.В. Боякова^{1,3}, Т.Ю. Вержбицкая^{4,5}, Л.В. Мовчан², М.С. Фадеева¹,
А.Б. Пашенко¹, В.П. Савицкий², А.А. Левадный³, Г.А. Цаур^{4,5}, С.А. Кашпор¹, С.А. Плясунова¹,
Л.Г. Фечина⁴, О.В. Алейникова², А.И. Карачунский^{1,6}

¹ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Саморы Машела, 1;

²ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии»; Республика Беларусь, 223053 Минский район, дер. Боровляны, ул. Фрунзенская, 43;

³ГБУЗ «Станция переливания крови Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 115516 Москва, ул. Бакинская, 31;

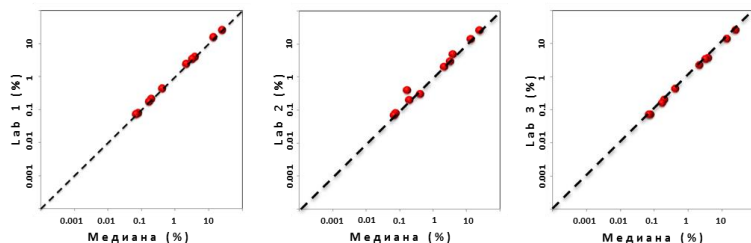
⁴ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1»; Россия, 620149 Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32;

⁵ГАОУ СО «Институт медицинских клеточных технологий»; Россия, 620026 Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22а;

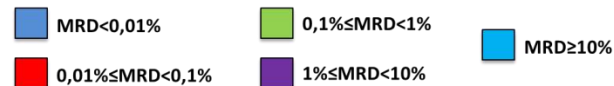
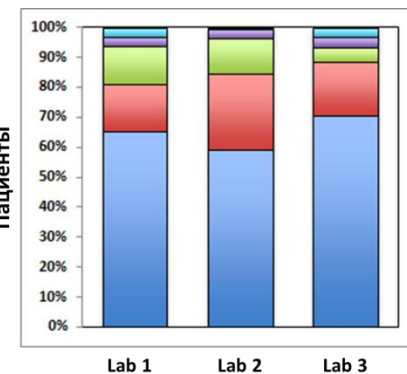
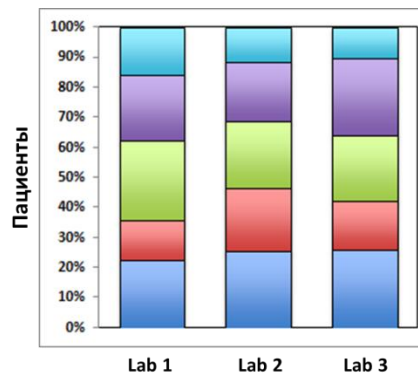
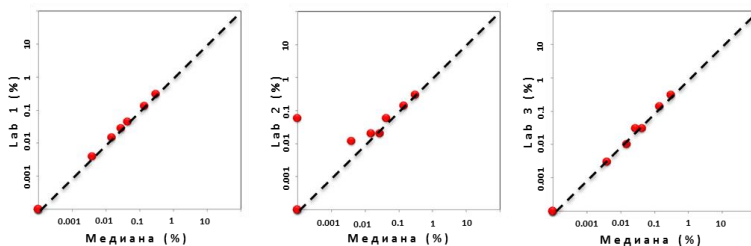
⁶ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Островитянова, 1

Контакты: Александр Михайлович Попов uralscytometry@gmail.com

День 15



День 36



Стандартизация определения минимальной остаточной болезни методом проточной цитометрии у детей с В-линейным острым лимфобластным лейкозом. Опыт работы российско-белорусской кооперативной группы

А.М. Попов¹, М.В. Белевцев², Е.В. Боякова^{1,3}, Т.Ю. Вержбицкая^{4,5}, Л.В. Мовчан², М.С. Фадеева¹, А.Б. Пашенко¹, В.П. Савицкий², А.А. Левадный³, Г.А. Цаур^{4,5}, С.А. Кашпор¹, С.А. Плясунова¹, Л.Г. Фечина⁴, О.В. Алейникова², А.И. Карачунский^{1,6}

¹ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Саморы Машела, 1;

²ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии»; Республика Беларусь, 223053 Минский район, дер. Боровляны, ул. Фрунзенская, 43;

³ГБУЗ «Станция переливания крови Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 115516 Москва, ул. Бакинская, 31;

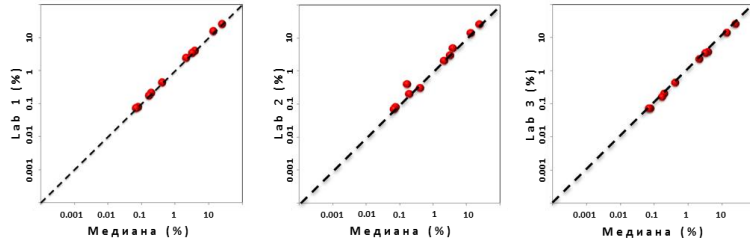
⁴ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1»; Россия, 620149 Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32;

⁵ГАОУ СО «Институт медицинских клеточных технологий»; Россия, 620026 Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22а;

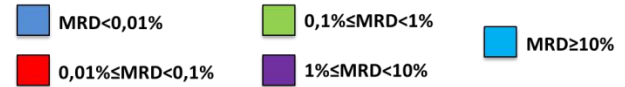
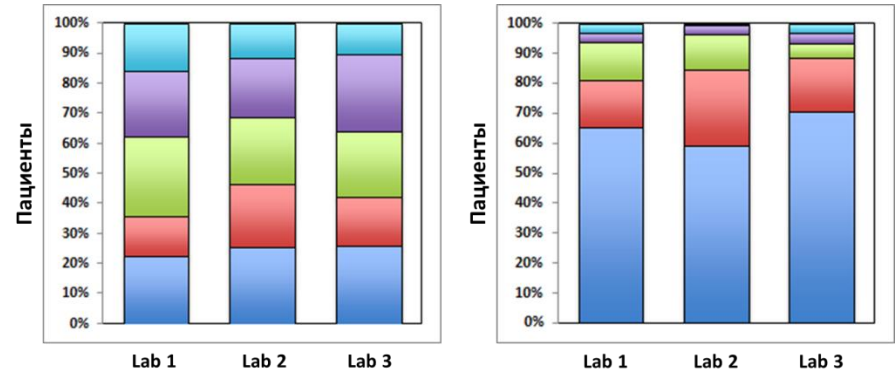
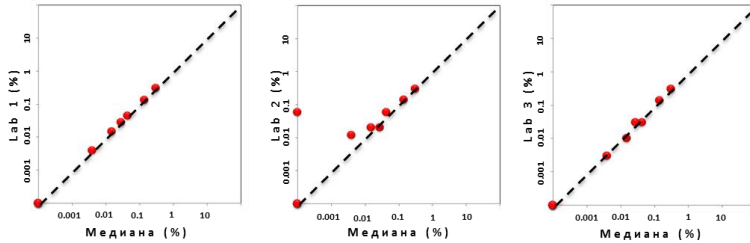
⁶ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Островитянова, 1

Контакты: Александр Михайлович Попов uracytometry@gmail.com

День 15



День 36



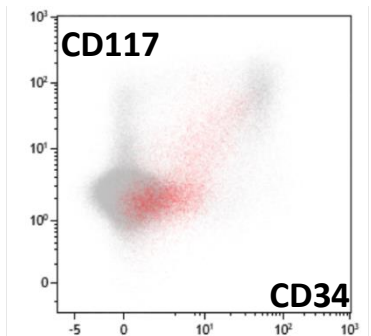
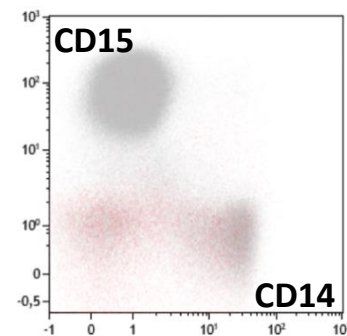
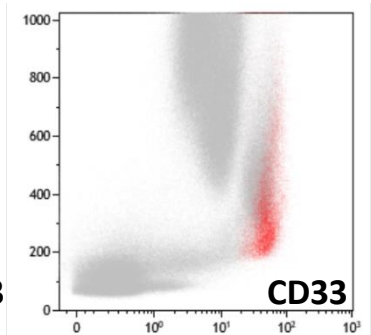
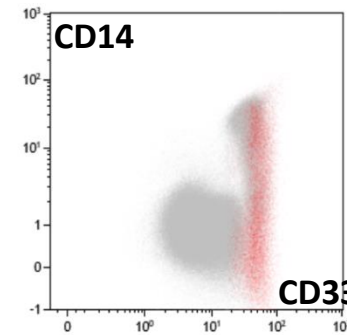
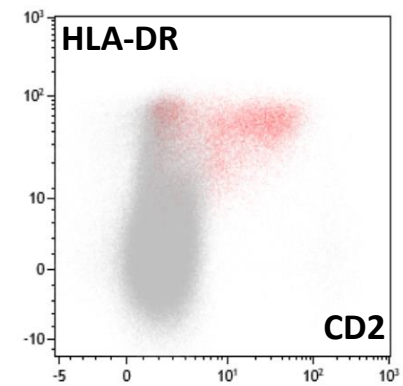
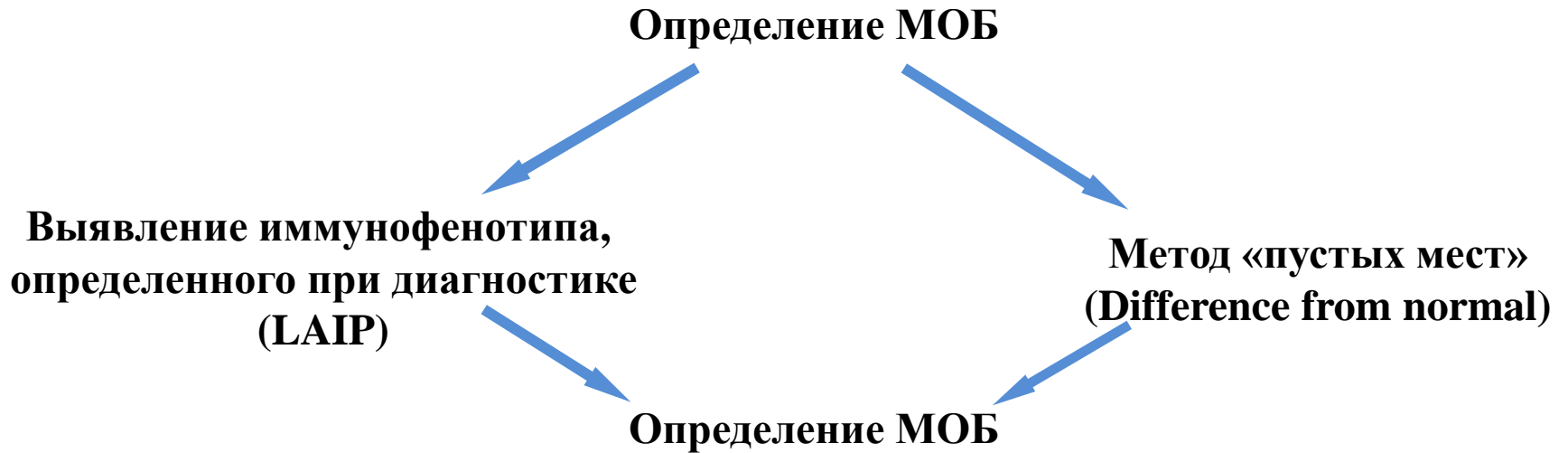
FITC	PE	ECD	PC5.5	PC7	APC	APC-A700	APC-A750	PB	KrO
CD58	-	CD34	CD10	CD19	-	CD38	CD20	-	CD45

CD22, CD24, CD123, CD81, etc

Syto41



Мониторинг МОБ при ОМЛ



Гармонизация в рамках EU-AML FLOW-MRD study group

	FITC	PE	ECD	PC5.5	PC7	APC	APC-A700	APC-A750	PB	KrO
<u>LAIP</u>	CD15	Ly	CD34	CD117	CD33	CD13, CD11a, CD64	CD14	CD11b	HLA-DR	CD45
<u>CFU</u>	CD38	CD371	CD34	CD117	CD33	CD99	CD123	CD45RA	HLA-DR	CD45



Гармонизация в рамках EU-AML FLOW-MRD study group

	FITC	PE	ECD	PC5.5	PC7	APC	APC-A700	APC-A750	PB	KrO
<u>LAIP</u>	CD15	Ly	CD34	CD117	CD33	CD13, CD11a, CD64	CD14	CD11b	HLA-DR	CD45
<u>CFU</u>	CD38	CD371	CD34	CD117	CD33	CD99	CD123	CD45RA	HLA-DR	CD45

Опухолевые клетки определяются среди:

- ✓ CD34(+)-клеток
- ✓ CD34(-)CD117(+)-клеток
- ✓ CD34(-)CD117(-)CD33(+)-клеток



Гармонизация в рамках EU-AML FLOW-MRD study group

	FITC	PE	ECD	PC5.5	PC7	APC	APC-A700	APC-A750	PB	KrO
<u>LAIP</u>	CD15	Ly	CD34	CD117	CD33	CD13, CD11a, CD64	CD14	CD11b	HLA-DR	CD45
<u>CFU</u>	CD38	CD371	CD34	CD117	CD33	CD99	CD123	CD45RA	HLA-DR	CD45

Опухолевые клетки определяются среди:

- ✓ **CD34(+)**-клеток
- ✓ **CD34(-)CD117(+)**-клеток
- ✓ **CD34(-)CD117(-)CD33(+)**-клеток

Gate	Number
All	447.296
A Denominator	191.113
Blast 34	0
Blast Gra	0
Blast Mon	0
Blast Other	0
Blast PEr	0
Blast PMy	3
CD34 all pos	15.589
CD34 lymphoid	8.262
Granulocytes	58.664
Monocytes	14.205
ProErythro	10.754
ProMyelo	21.023

LAIP-комбинация

Gate	Number
All	507.912
A Denominator	284.818
Blast 34	0
Blast Gra	0
Blast Mon	0
Blast Other	0
Blast PEr	0
Blast PMy	0
CD34 lymphoid	8.082
CD34 real	13.415
d CMP	513
d GMP	2.217
d HSC/EMP	2.031
d LMPP/BCP1	8.654
g EMP	1.423
g HSC	506
g LMPP	64
Granulocytes	151.755
Monocytes	29.911
ProErythro	7.401
ProMyelo	22.527
x Basophils	220
x Mast cells	121
x PDC	2.511
x Plasmacells	172

CFU-комбинация



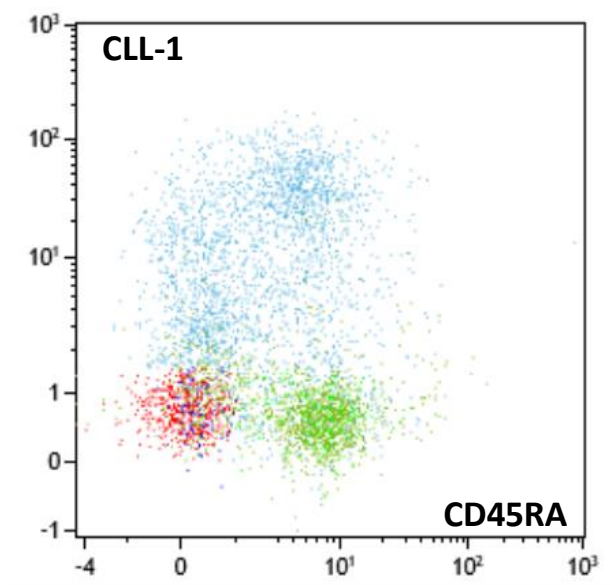
Пробирка CFU

	FITC	PE	ECD	PC5.5	PC7	APC	APC-A700	APC-A750	PB	KrO
<u>CFU</u>	CD38	CD371	CD34	CD117	CD33	CD99	CD123	CD45RA	HLA-DR	CD45

Пробирка CFU

	FITC	PE	ECD	PC5.5	PC7	APC	APC-A700	APC-A750	PB	KrO
<u>CFU</u>	CD38	CD371	CD34	CD117	CD33	CD99	CD123	CD45RA	HLA-DR	CD45

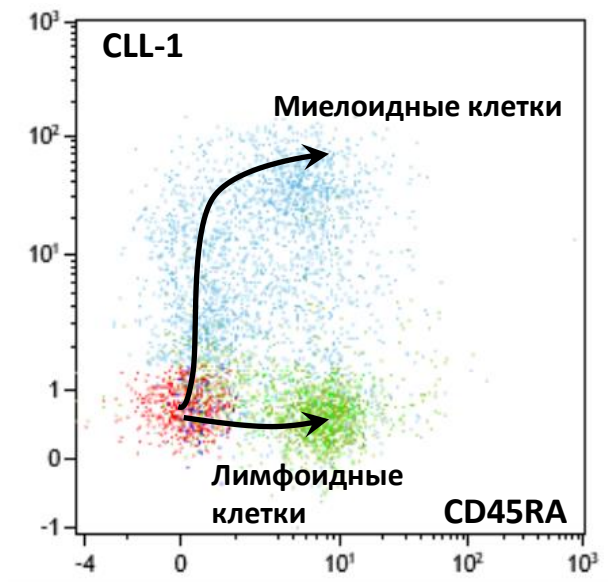
CD34(+)-клетки



Пробирка CFU

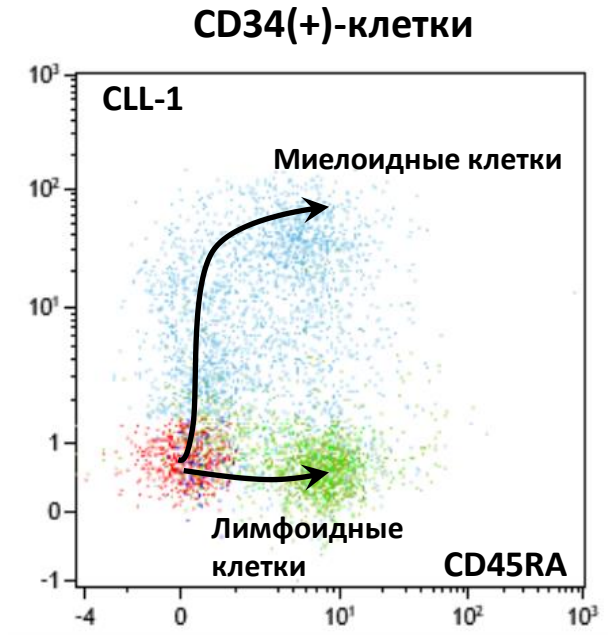
	FITC	PE	ECD	PC5.5	PC7	APC	APC-A700	APC-A750	PB	KrO
<u>CFU</u>	CD38	CD371	CD34	CD117	CD33	CD99	CD123	CD45RA	HLA-DR	CD45

CD34(+)-клетки

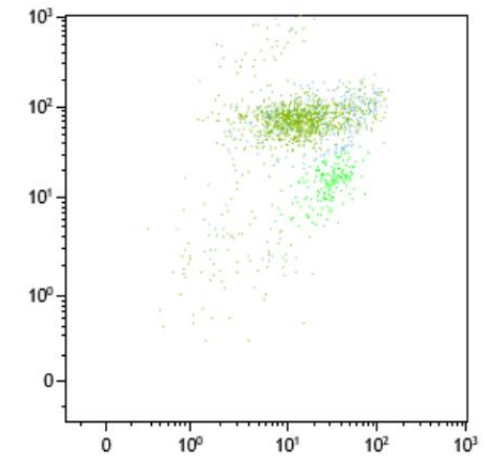
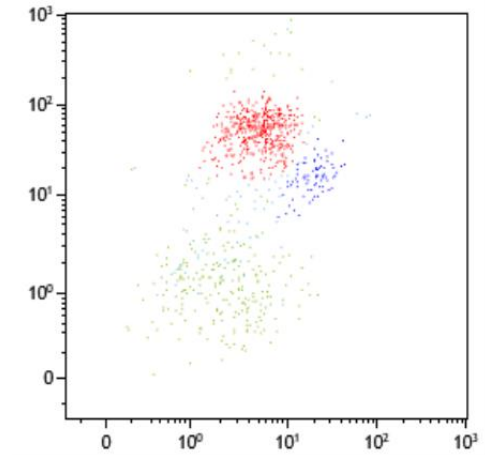


Пробирка CFU

	FITC	PE	ECD	PC5.5	PC7	APC	APC-A700	APC-A750	PB	KrO
<u>CFU</u>	CD38	CD371	CD34	CD117	CD33	CD99	CD123	CD45RA	HLA-DR	CD45



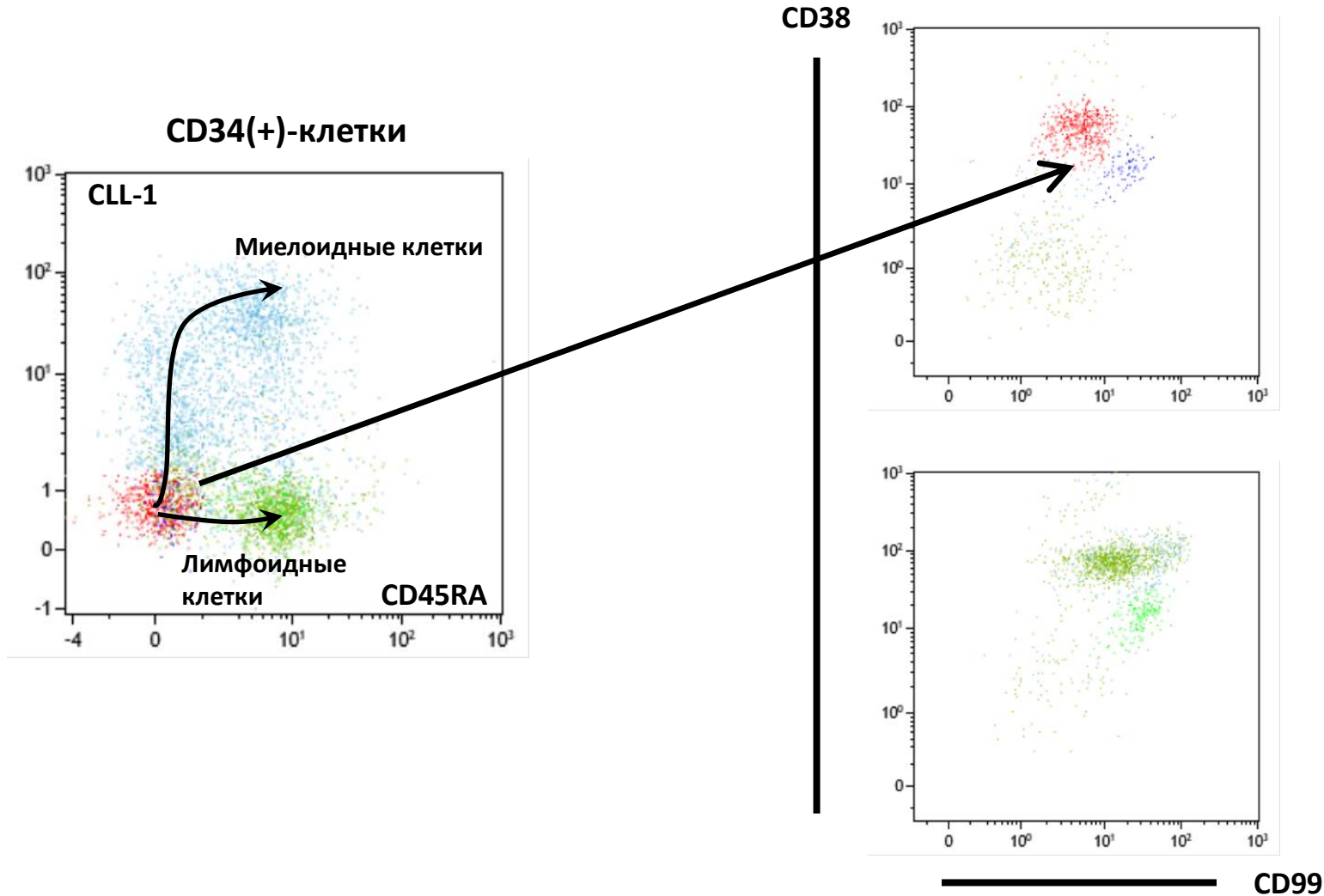
CD38



CD99

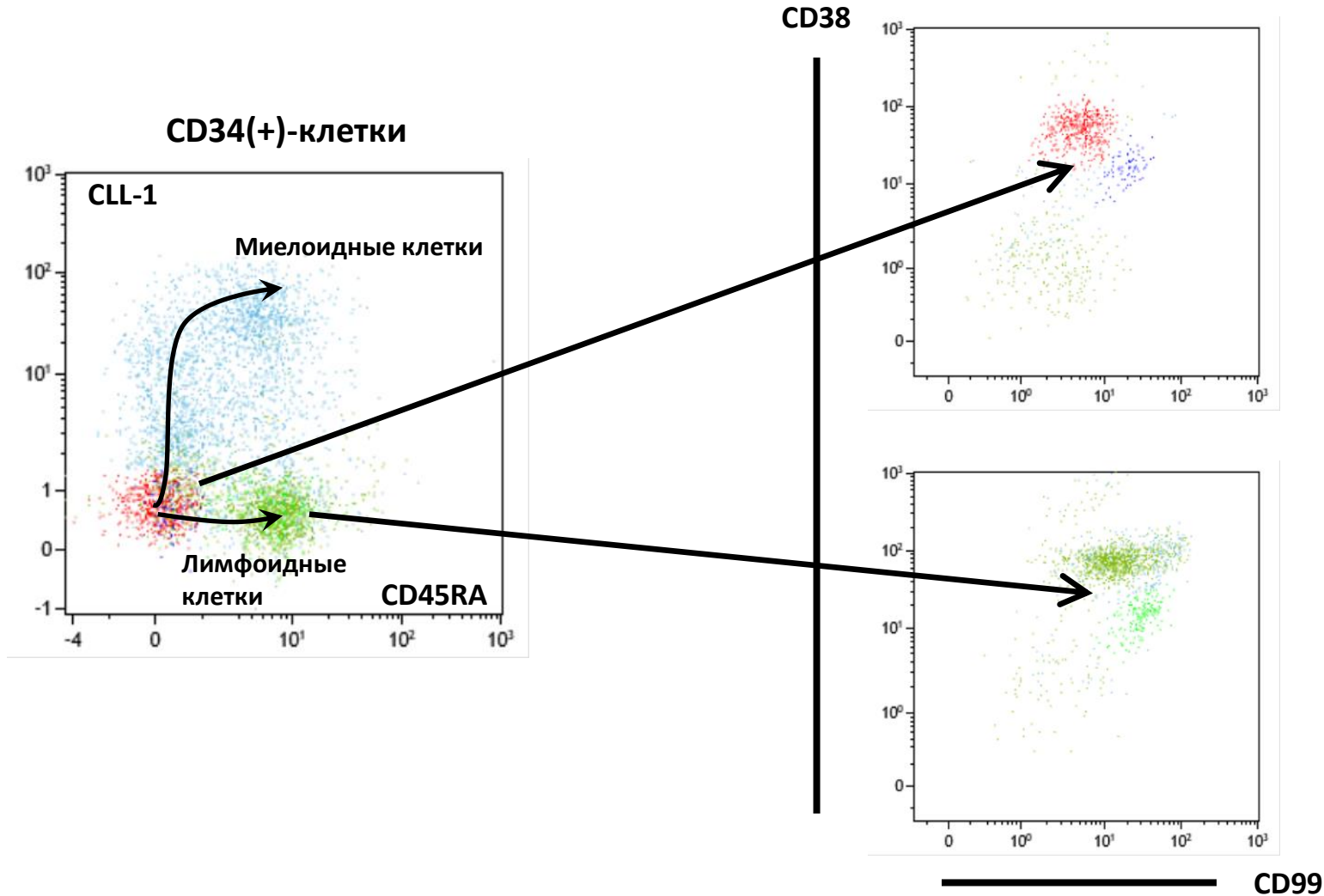
Пробирка CFU

	FITC	PE	ECD	PC5.5	PC7	APC	APC-A700	APC-A750	PB	KrO
<u>CFU</u>	CD38	CD371	CD34	CD117	CD33	CD99	CD123	CD45RA	HLA-DR	CD45



Пробирка CFU

	FITC	PE	ECD	PC5.5	PC7	APC	APC-A700	APC-A750	PB	KrO
<u>CFU</u>	CD38	CD371	CD34	CD117	CD33	CD99	CD123	CD45RA	HLA-DR	CD45

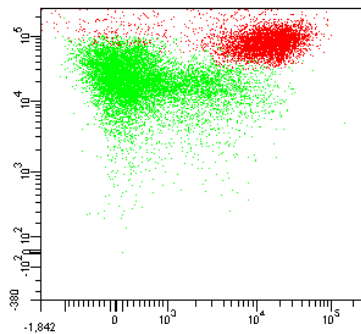


Мониторинг МОБ в эру таргетной терапии

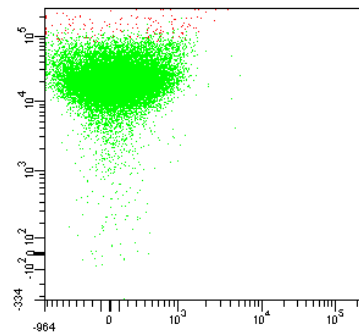
- ✓ Зачастую, основное показание для применение таргетных препаратов
- ✓ Критерий эффективности таргетной терапии
- ✓ Существенные проблемы при иммунофенотипировании
 - ✓ Блинатумумаб, анти-CD19CAR-T- клетки: CD19+ → CD19-
 - ✓ Ритуксимаб: CD20+ → CD20-
 - ✓ Эпратузумаб: CD22+ → CD22-

Пациент Б. (14 лет)

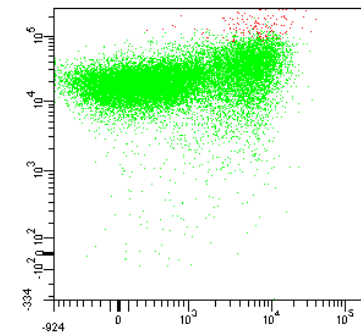
CD10



CD10



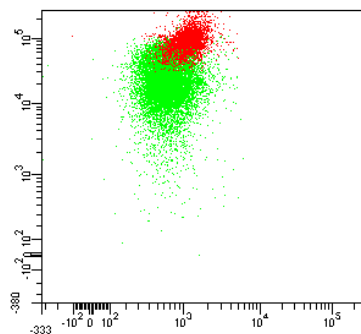
CD10



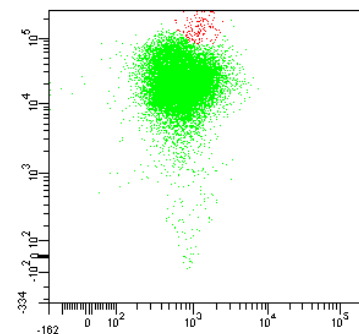
CD20

Ритуксимаб

CD10



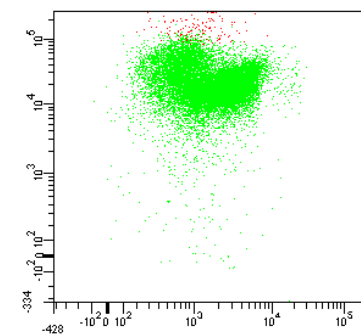
CD10



CD20

CD10

CD34

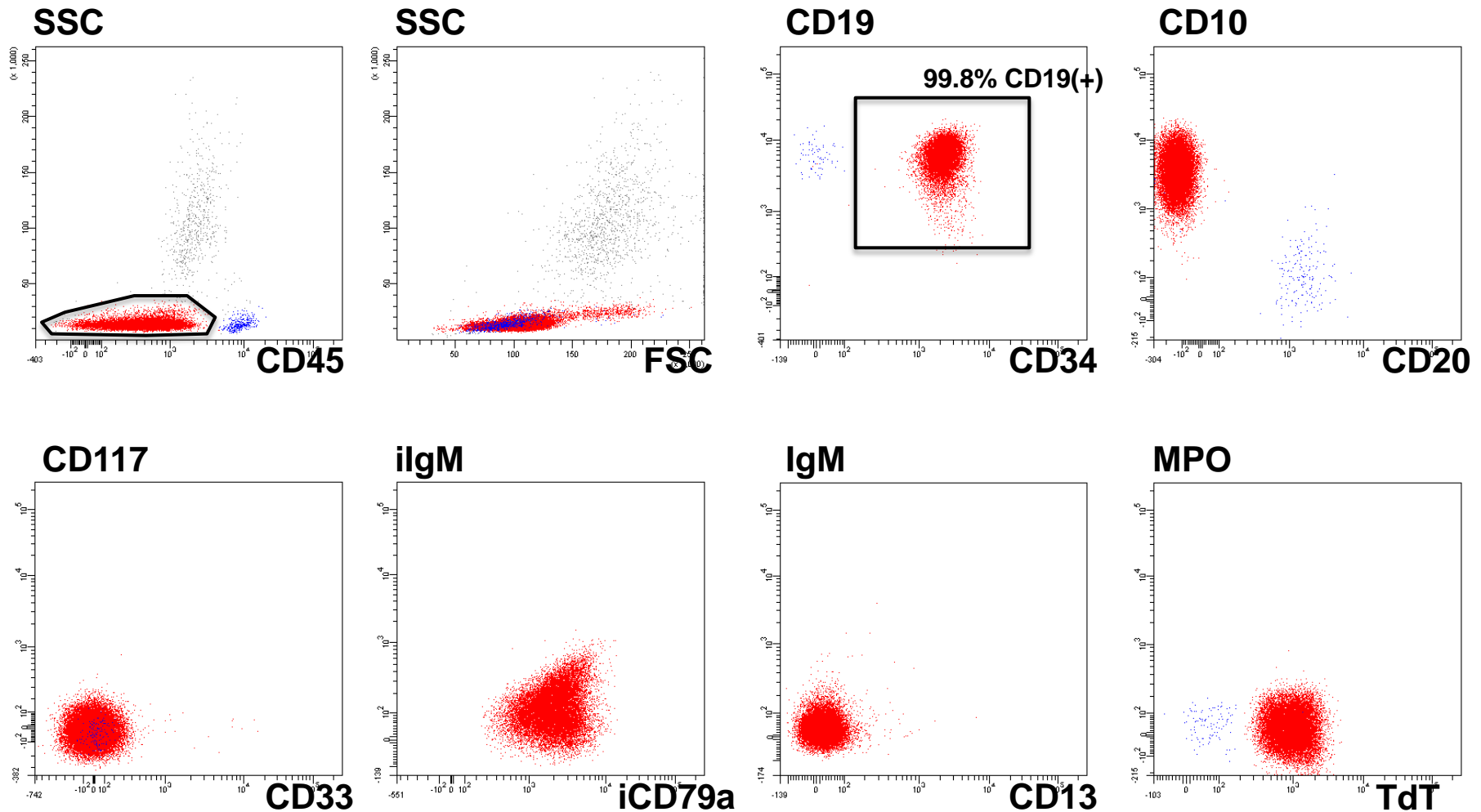


CD58

CD58

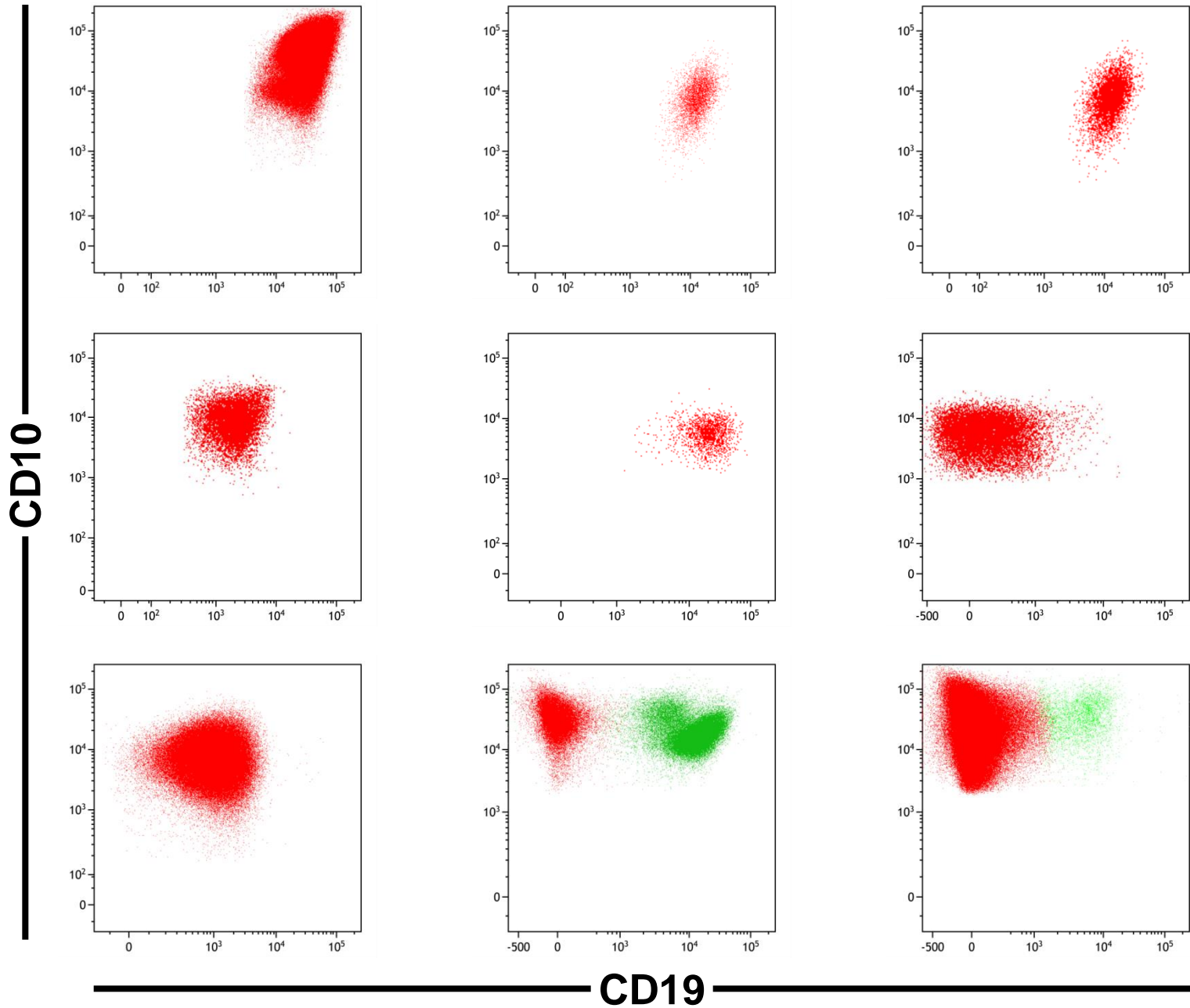
CD45

Определение экспрессии CD19



■ - опухолевые бласты **■** - В-лимфоциты

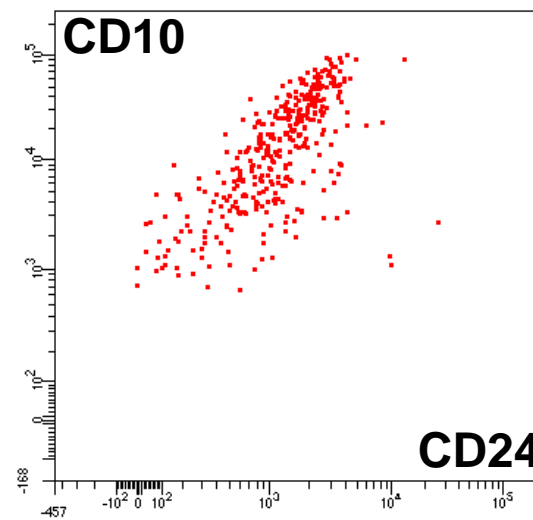
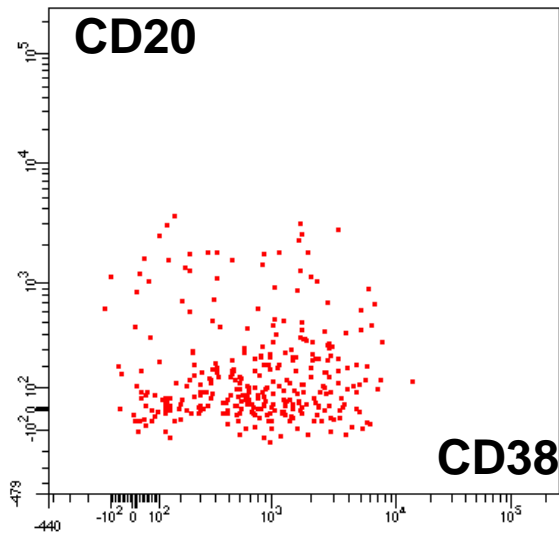
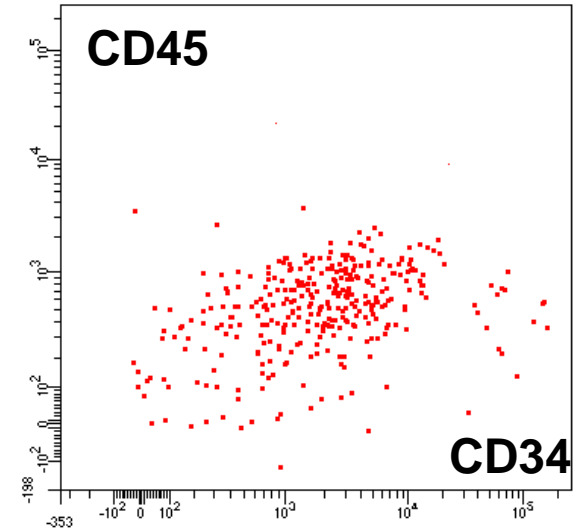
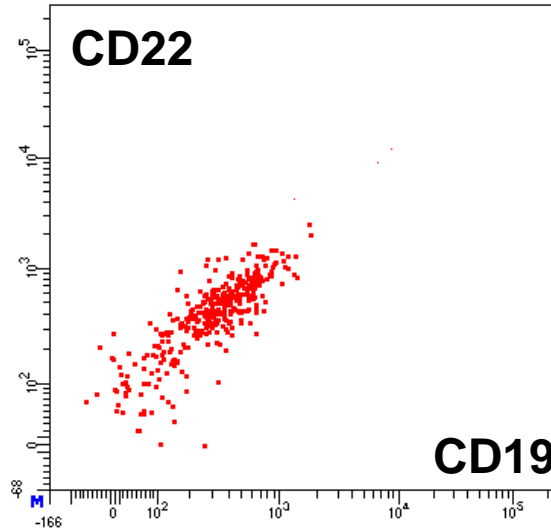
рецидив \longrightarrow **МОБ** \longrightarrow **рецидив 2**



CD19

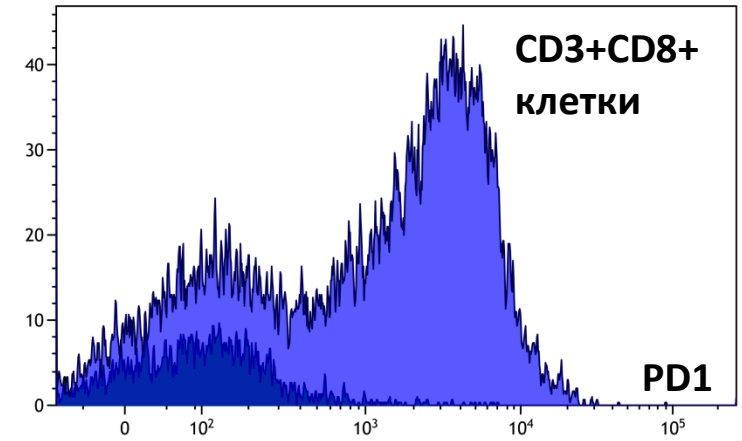
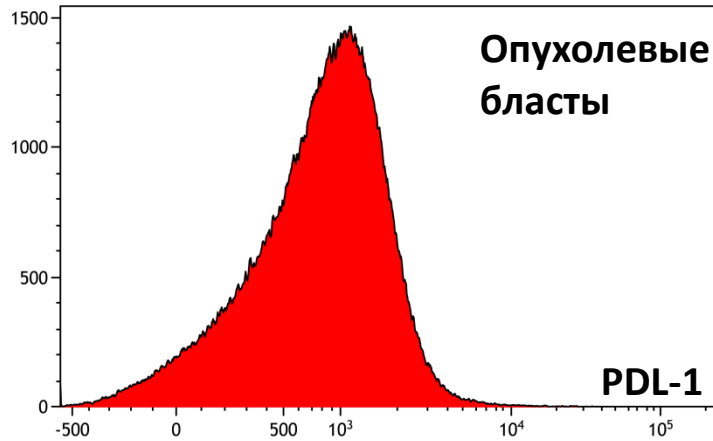
Мониторинг МОБ при терапии Блинатумумабом

+ Inotuzumab
ozogamicin

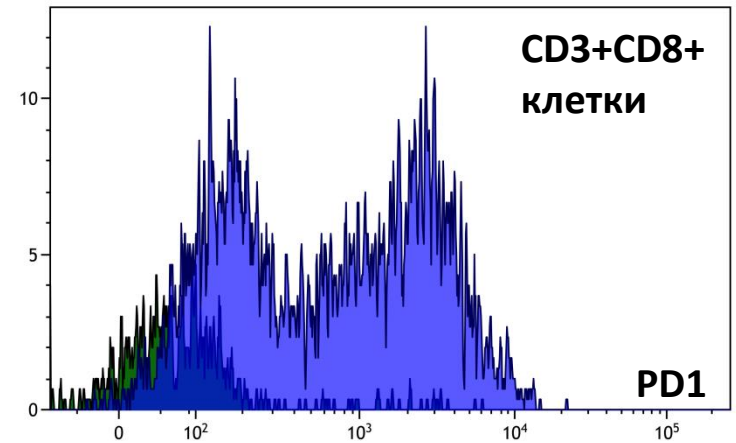
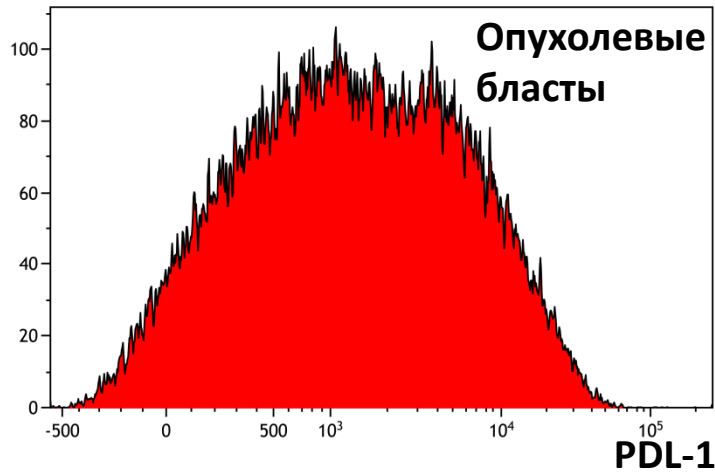


Экспрессия иммунорегуляторных молекул

ВП-ОЛЛ

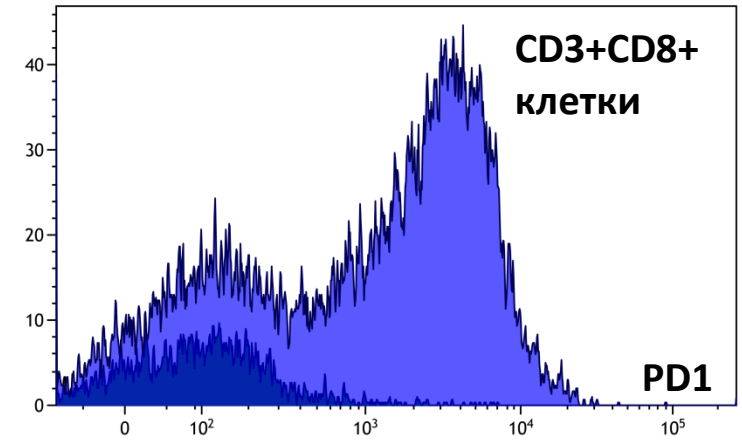
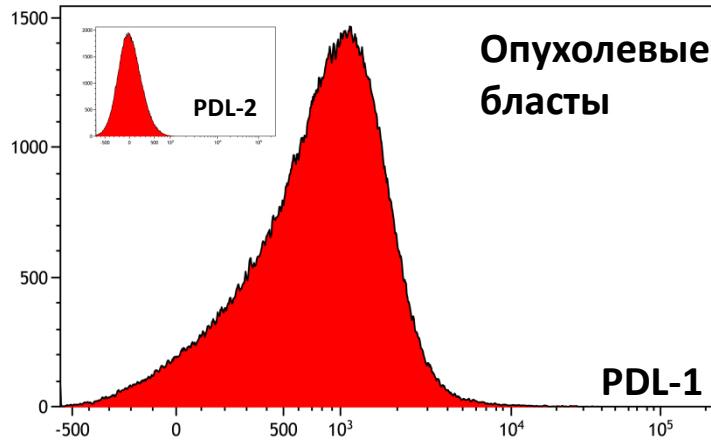


ОМЛ

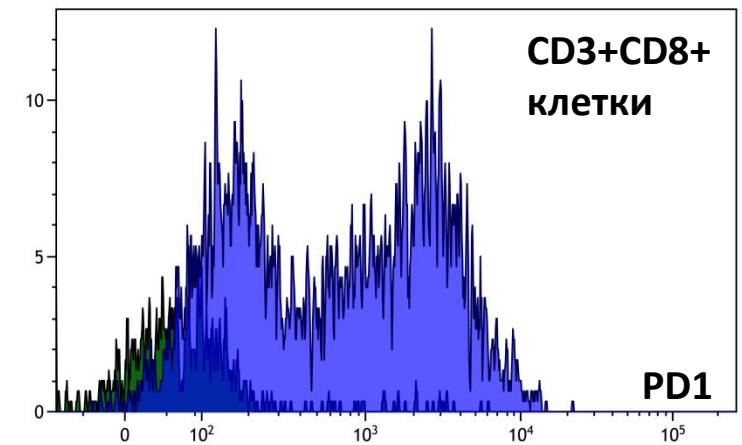
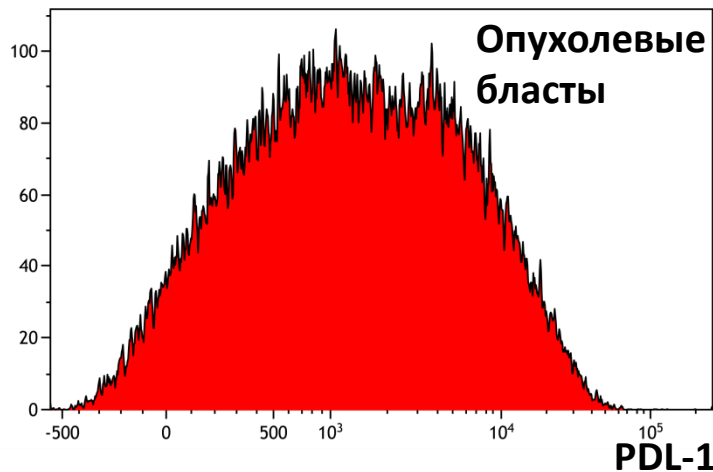


Экспрессия иммунорегуляторных молекул

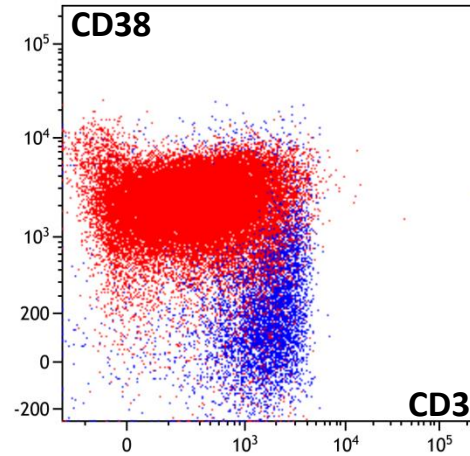
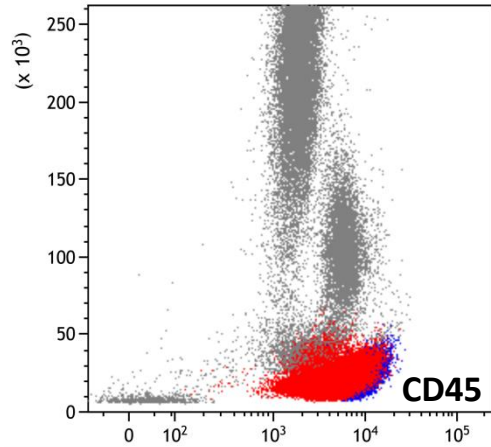
ВП-ОЛЛ



ОМЛ

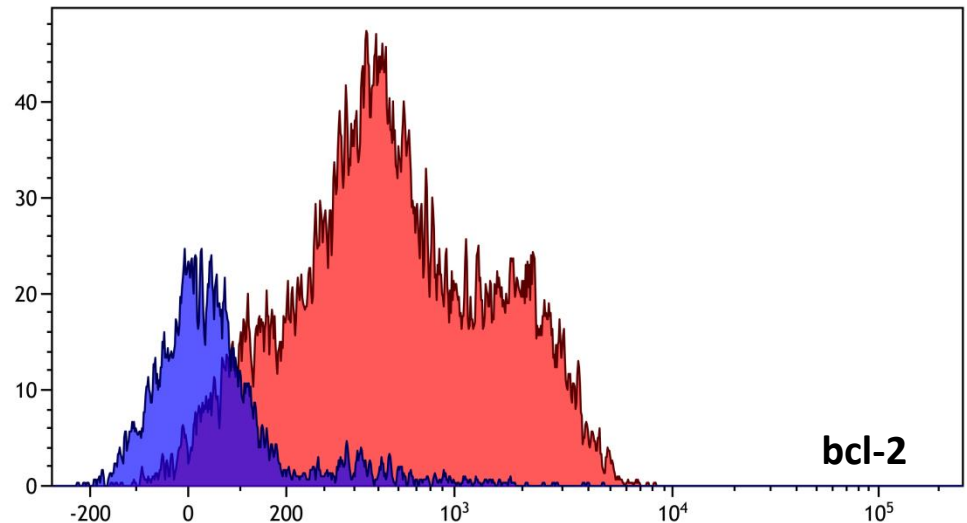


Другие таргетные препараты в детской онкогематологии

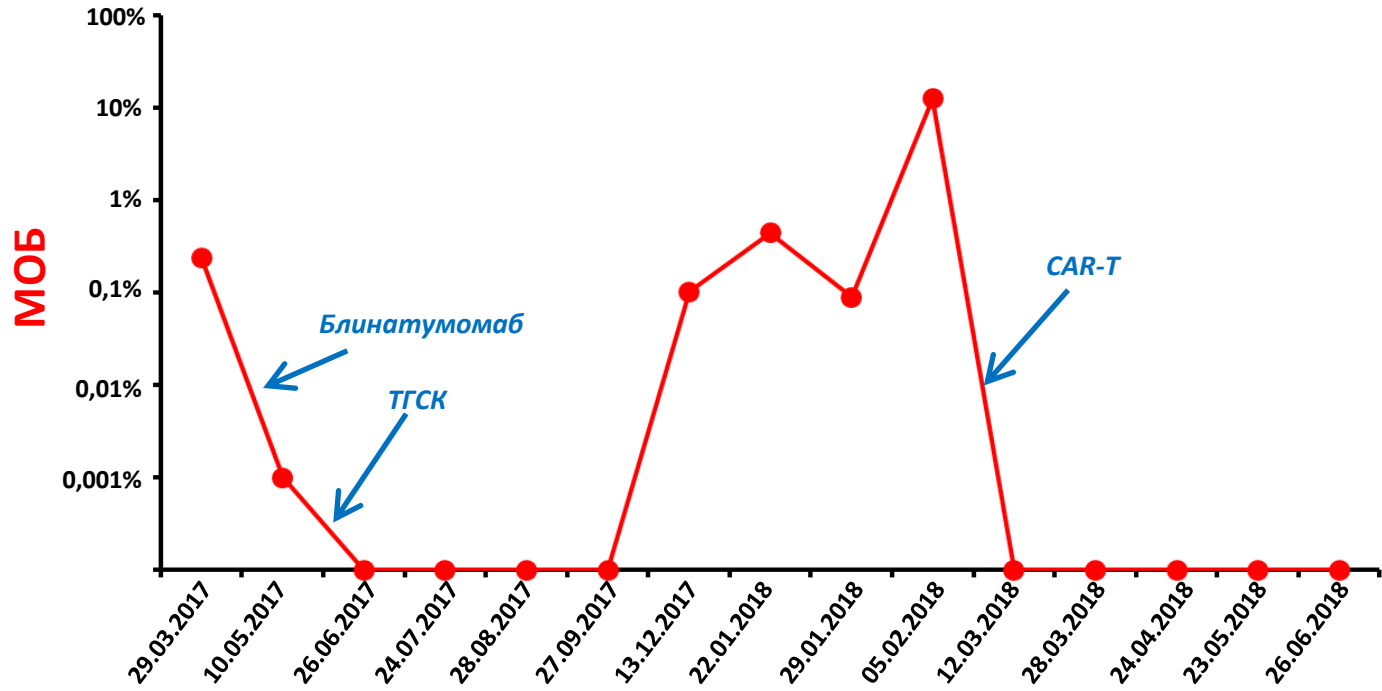


Определение экспрессии CD38
для терапии Изатуксимабом

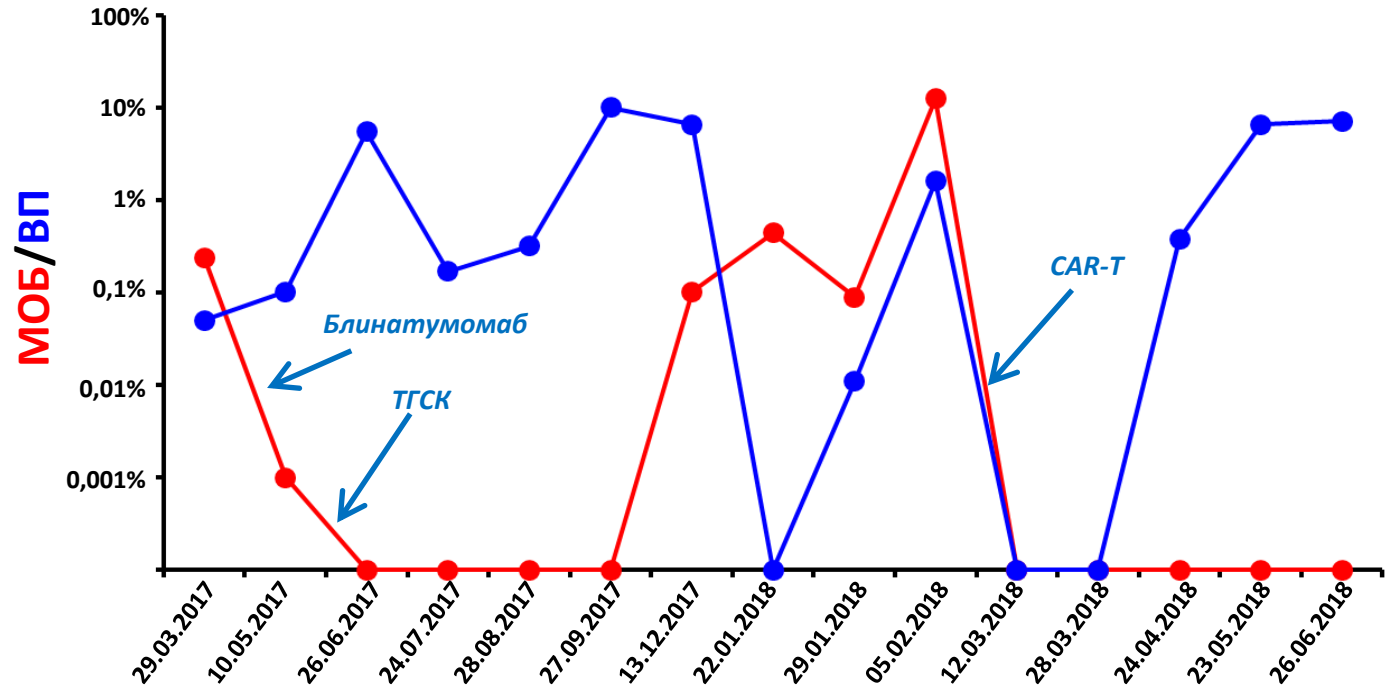
Определение экспрессии bcl-2
для терапии специфическим
ингибитором



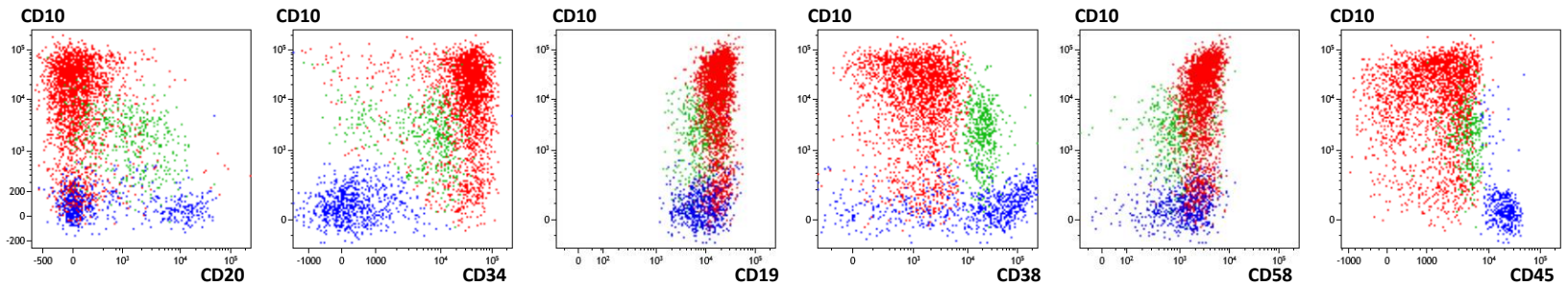
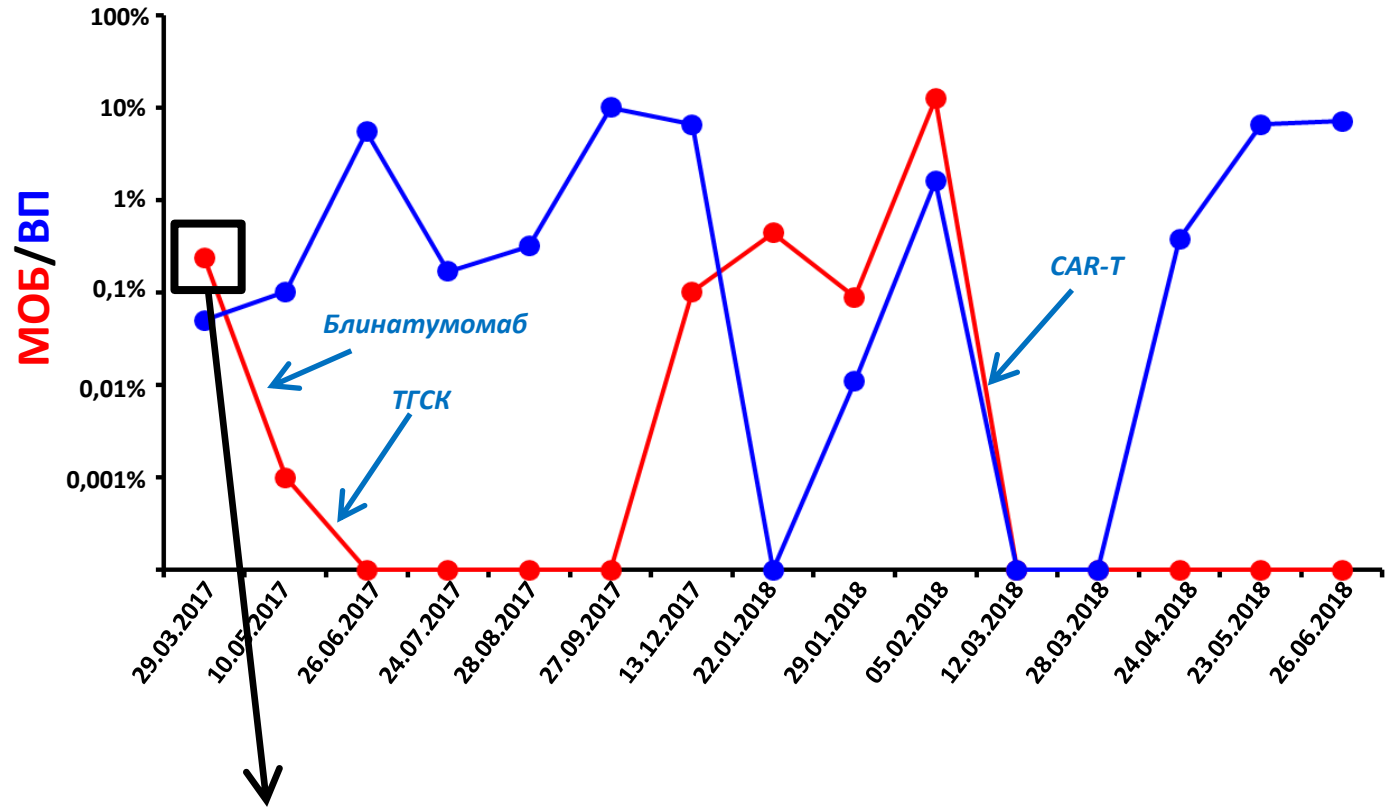
Пациент А.



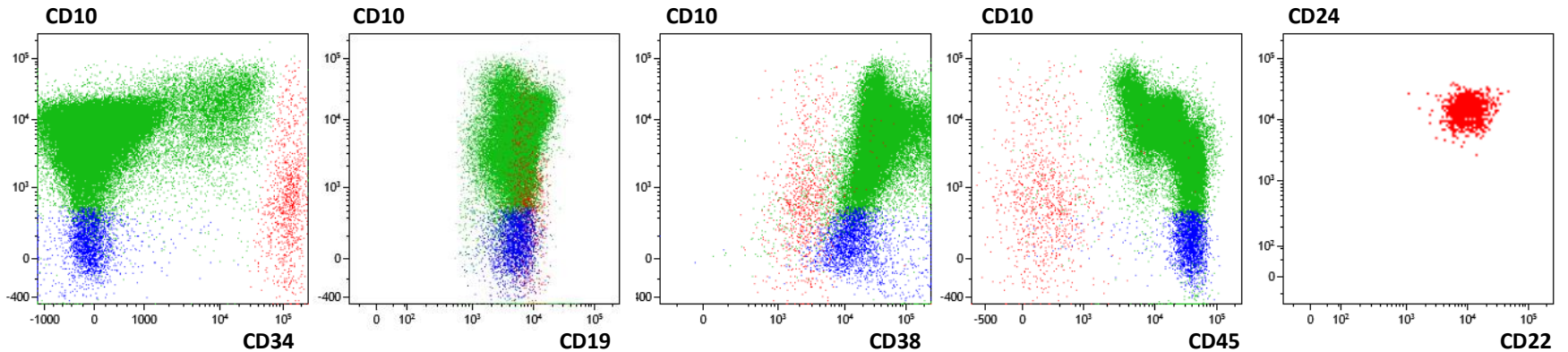
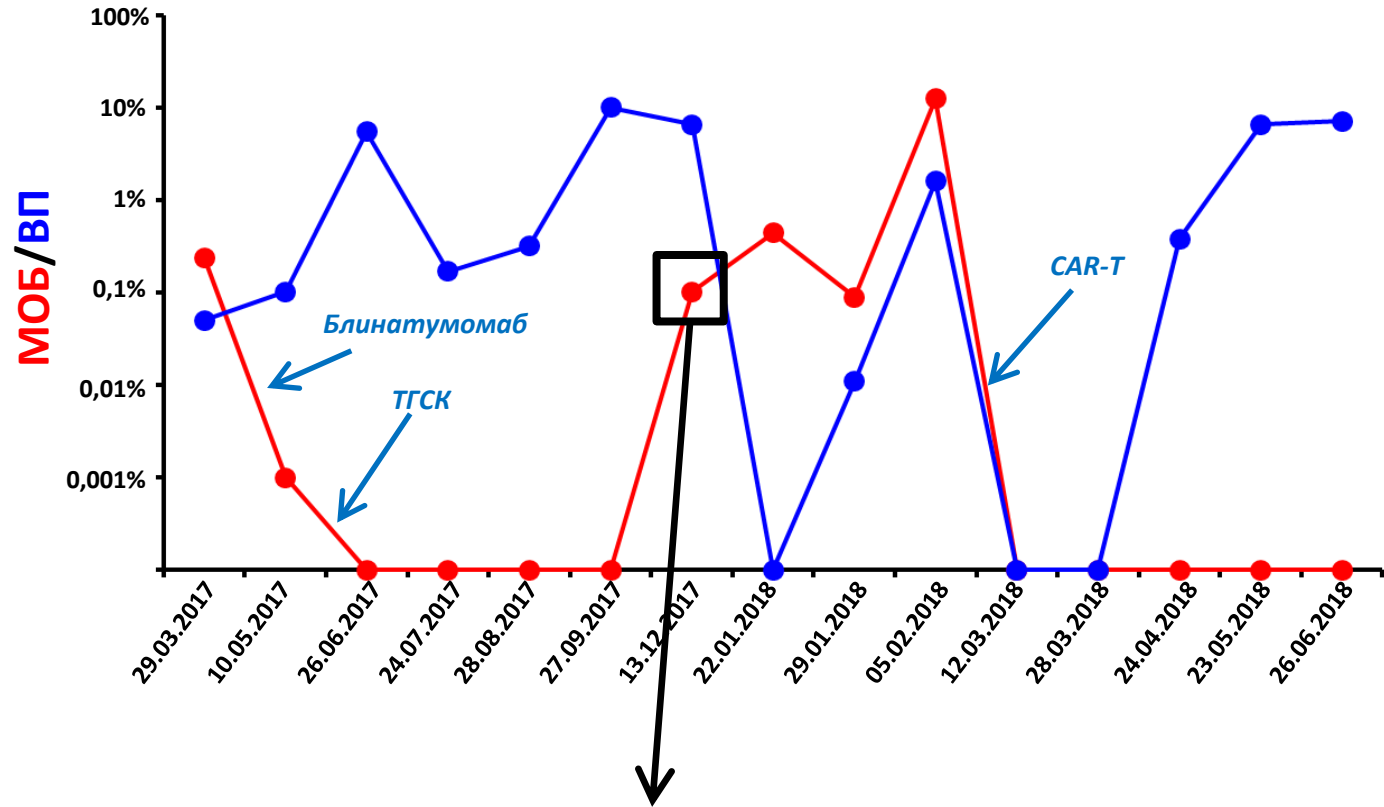
Пациент А.



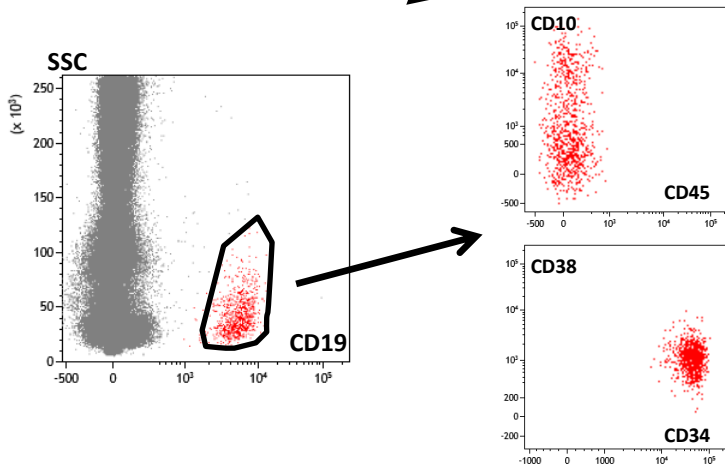
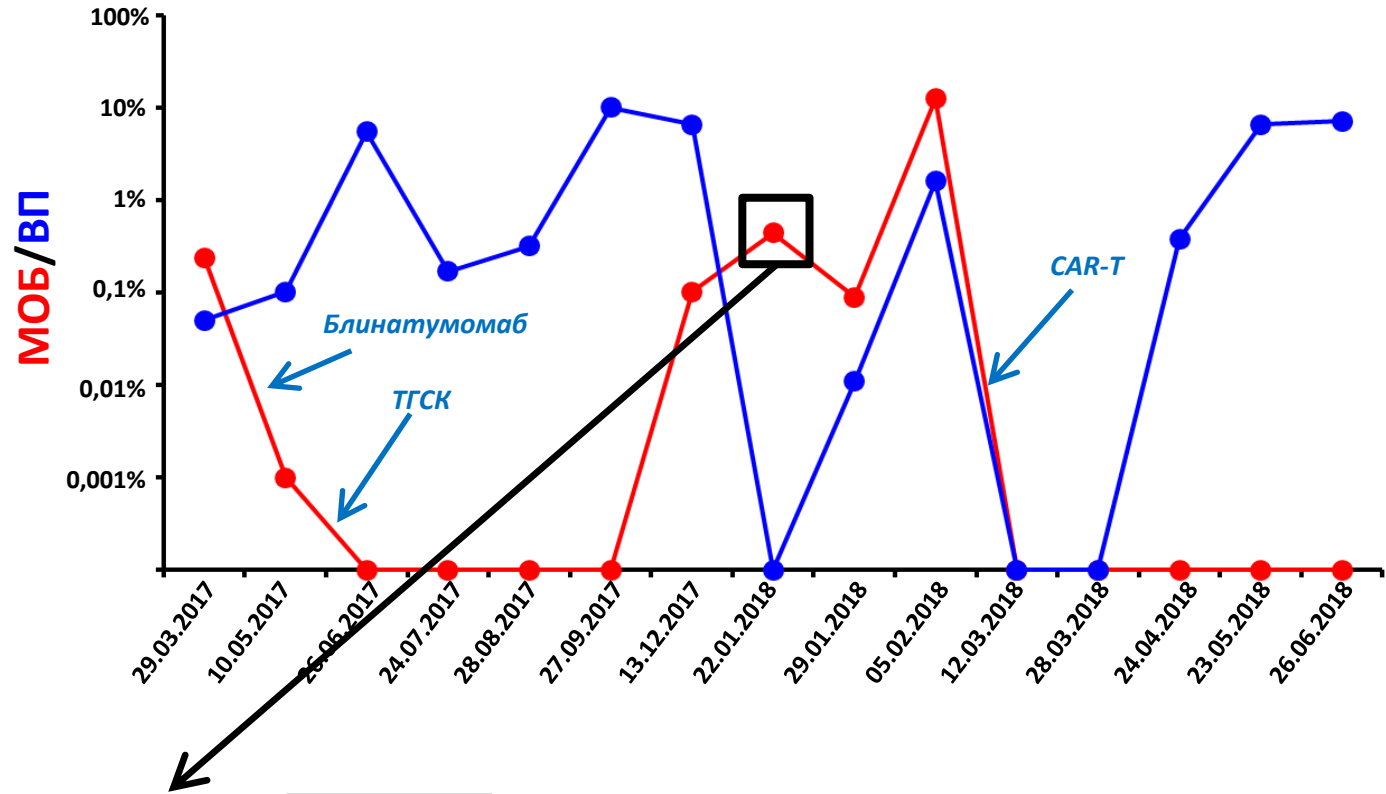
Пациент А.



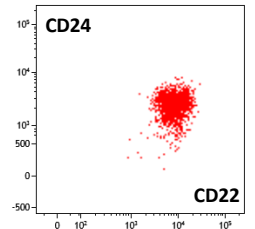
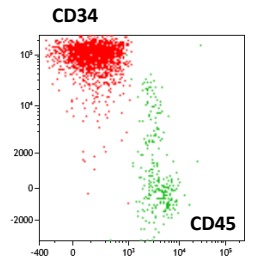
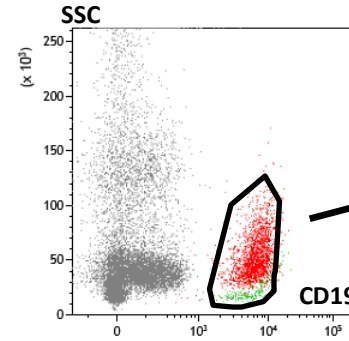
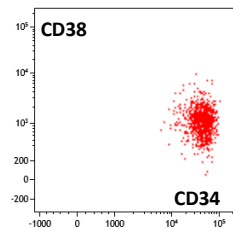
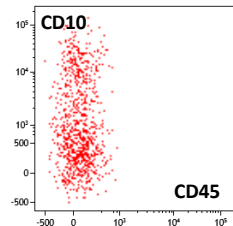
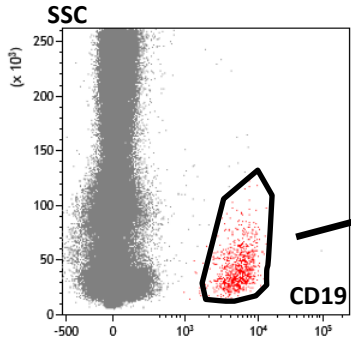
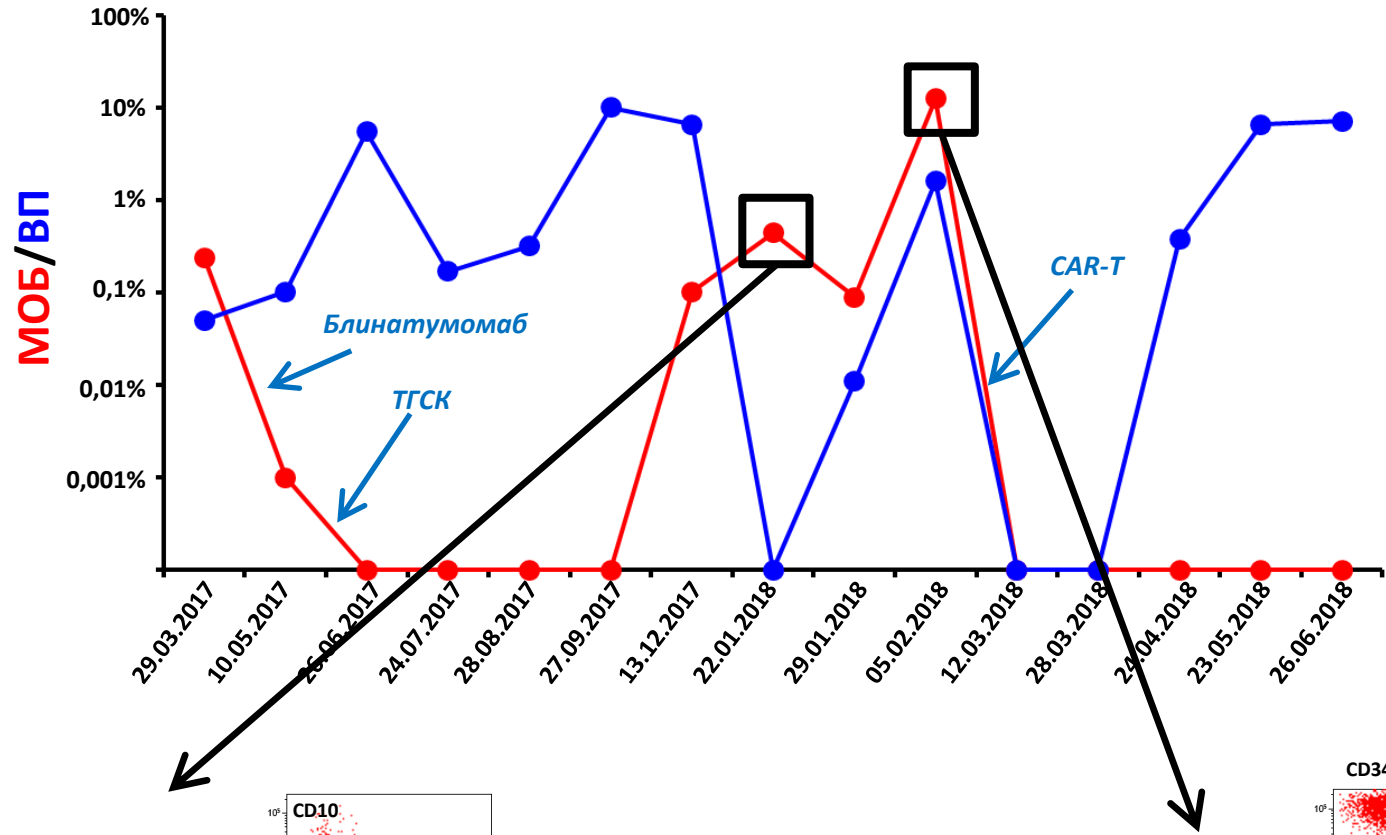
Пациент А.



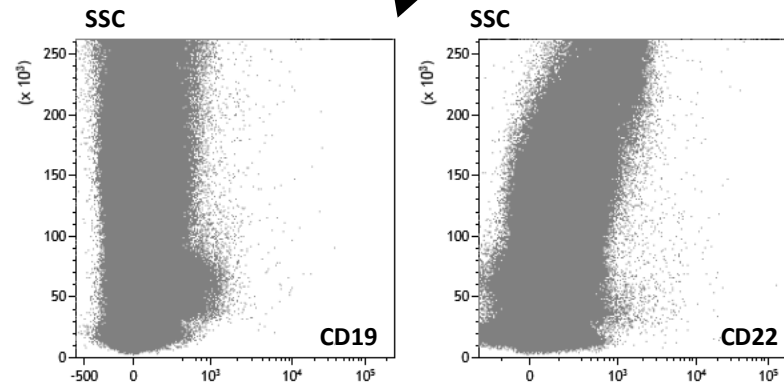
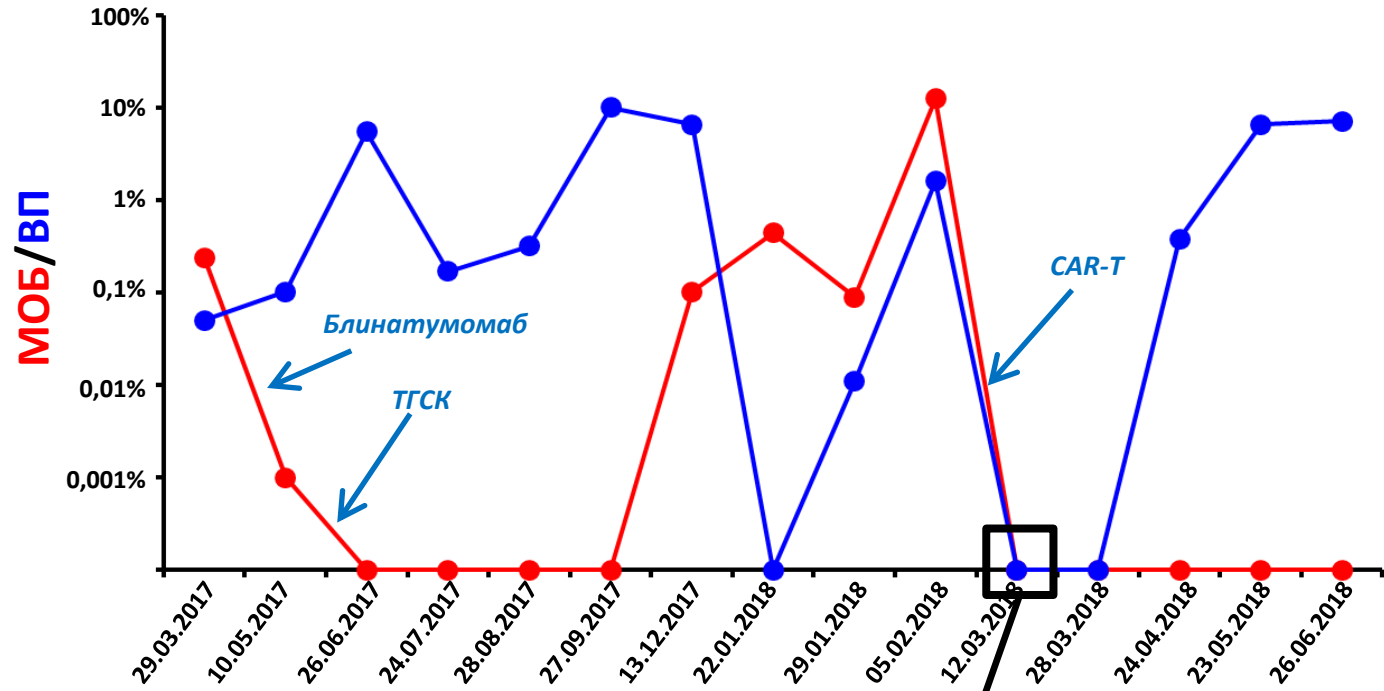
Пациент А.



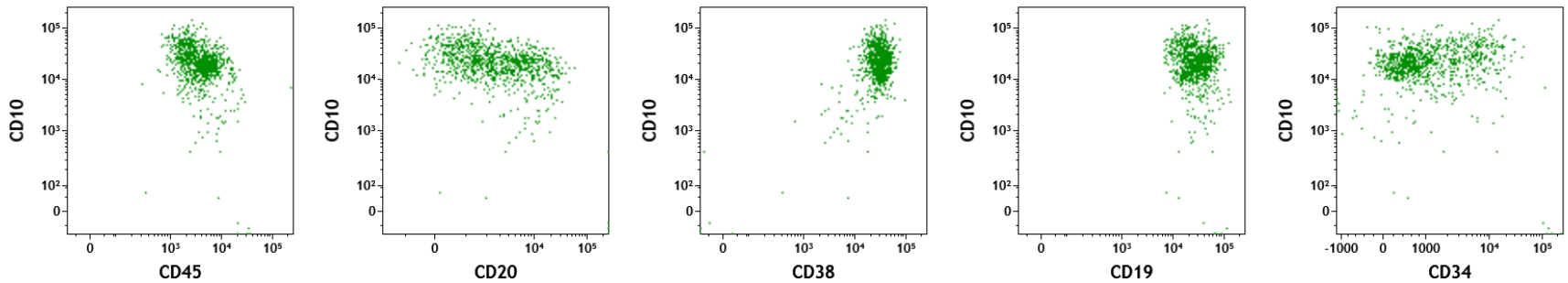
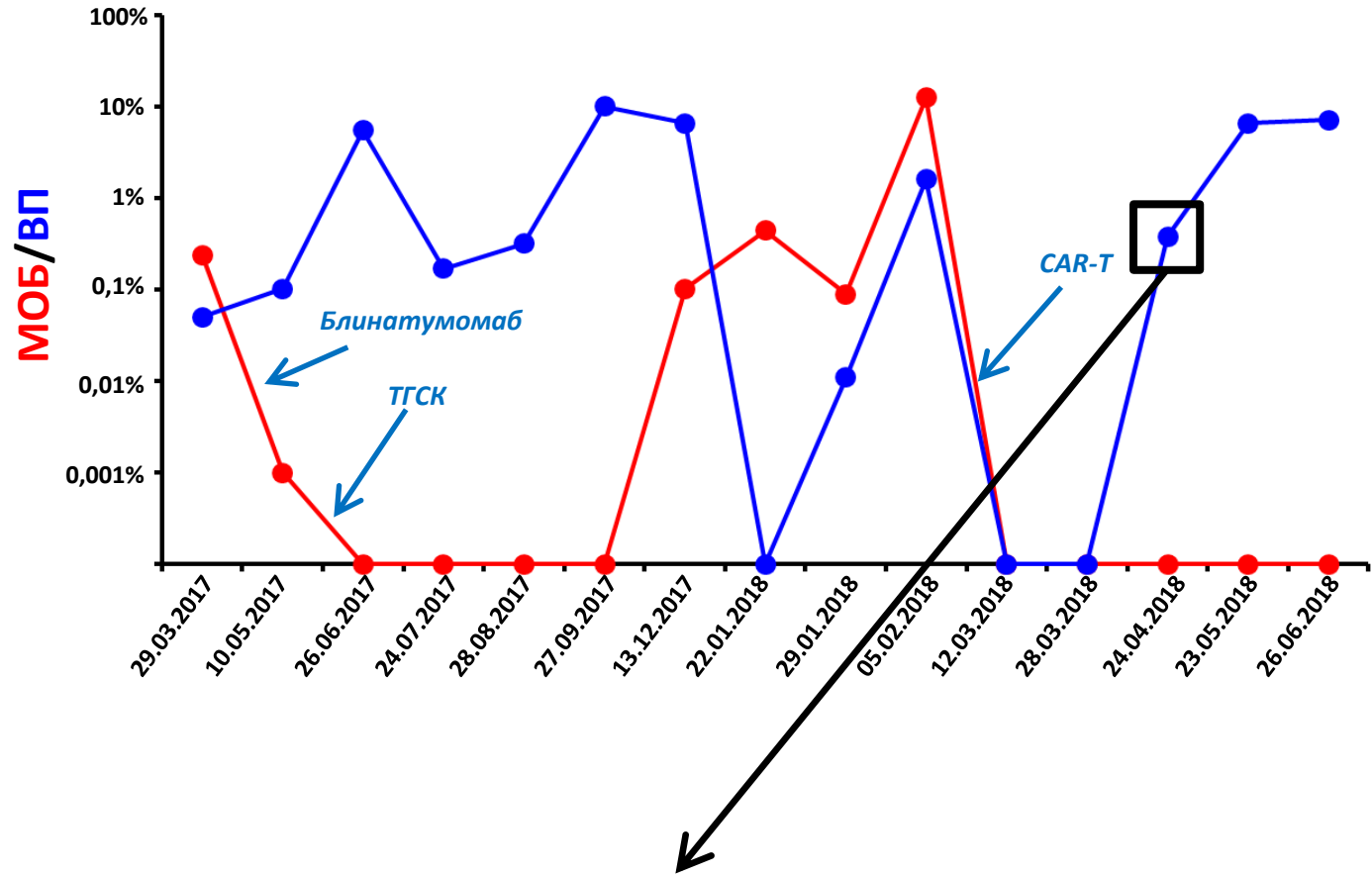
Пациент А.



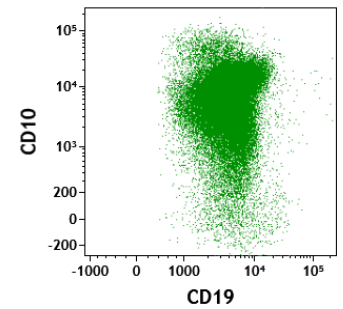
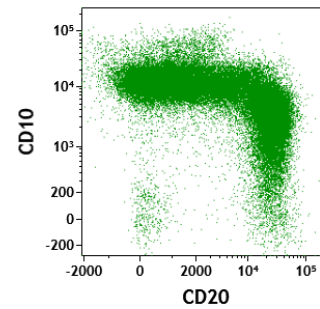
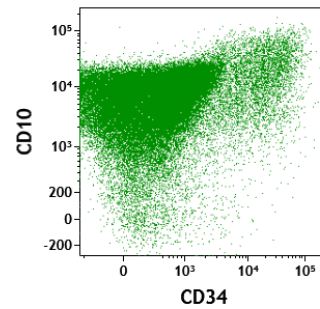
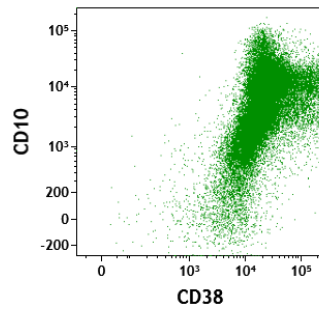
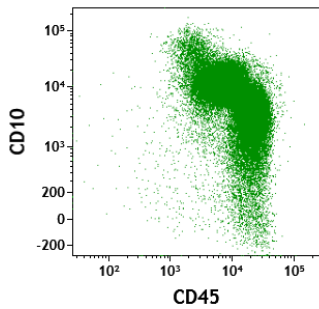
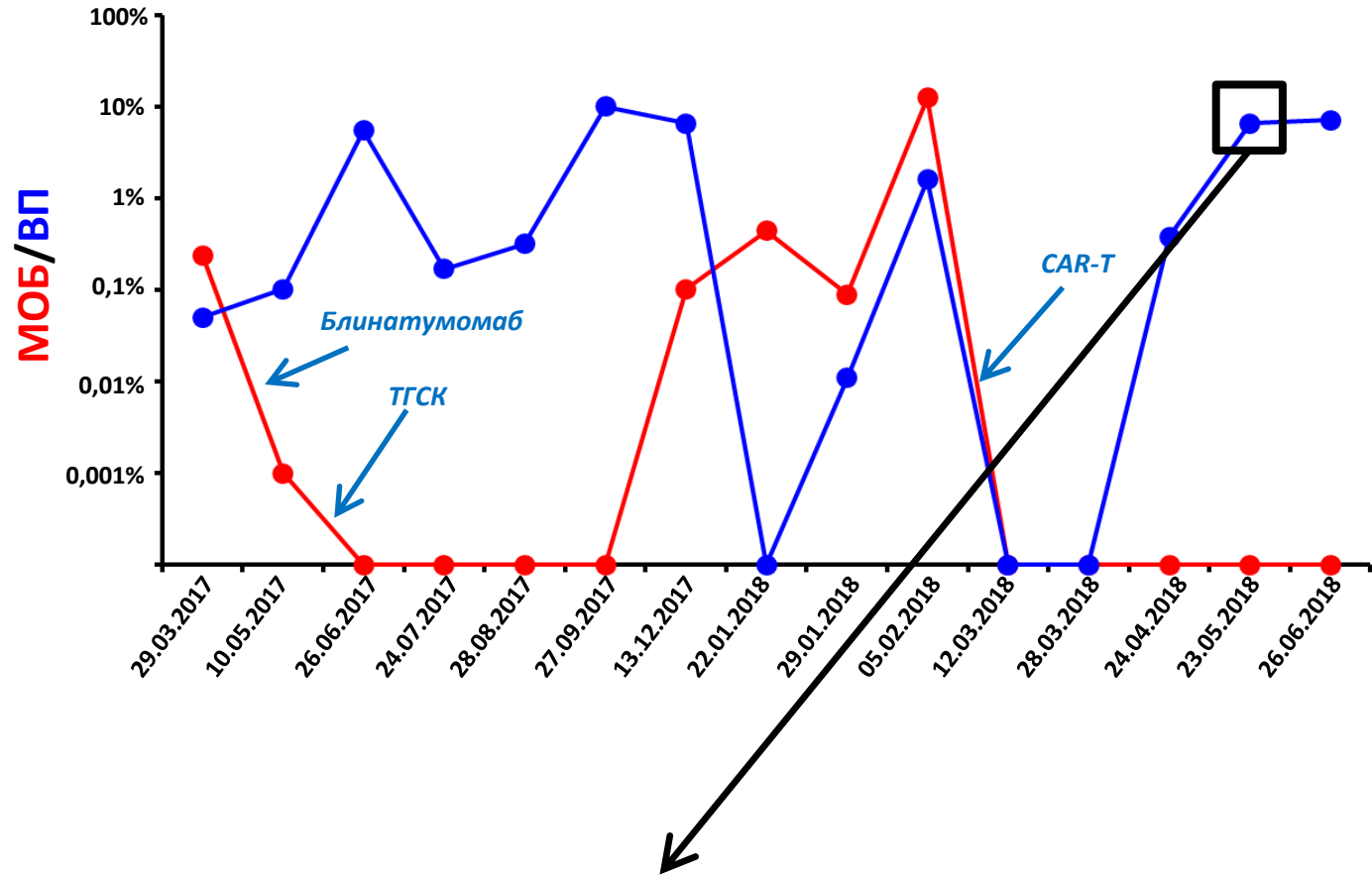
Пациент А.



Пациент А.



Пациент А.



Выделение опухолевых клеток

Выделение опухолевых клеток



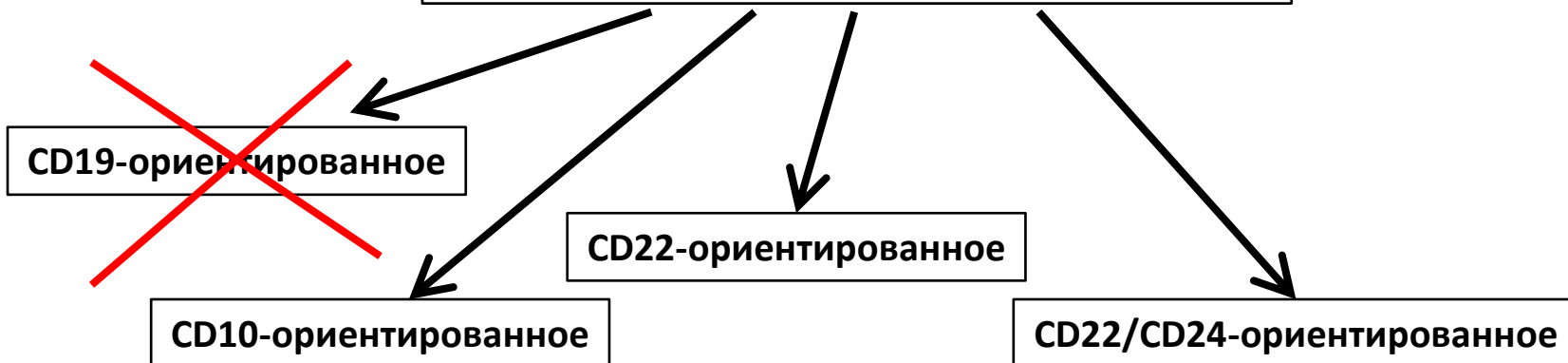
CD19-ориентированное

Выделение опухолевых клеток



~~CD19-ориентированное~~

Выделение опухолевых клеток



Выделение опухолевых клеток

~~CD19-ориентированное~~

CD22-ориентированное

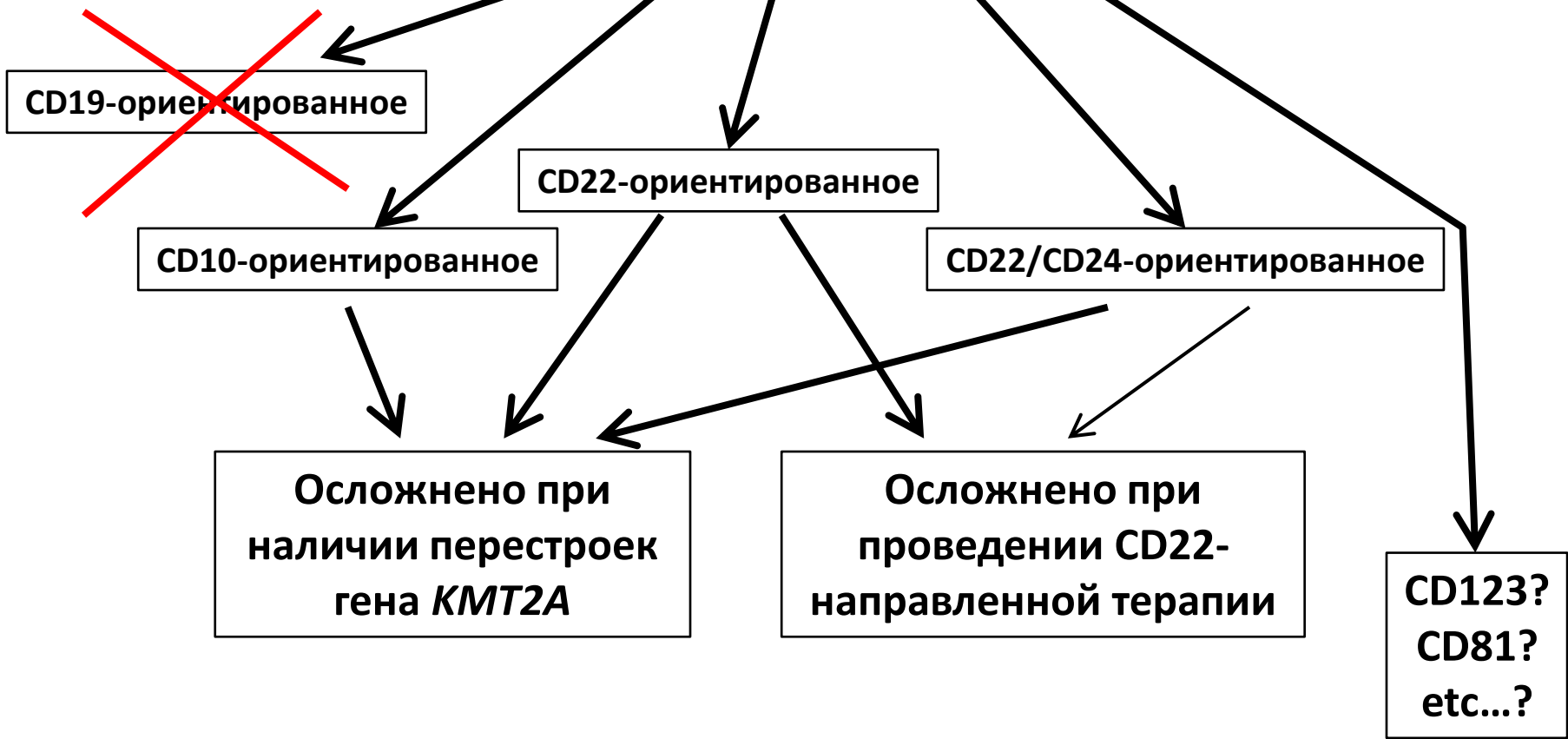
CD10-ориентированное

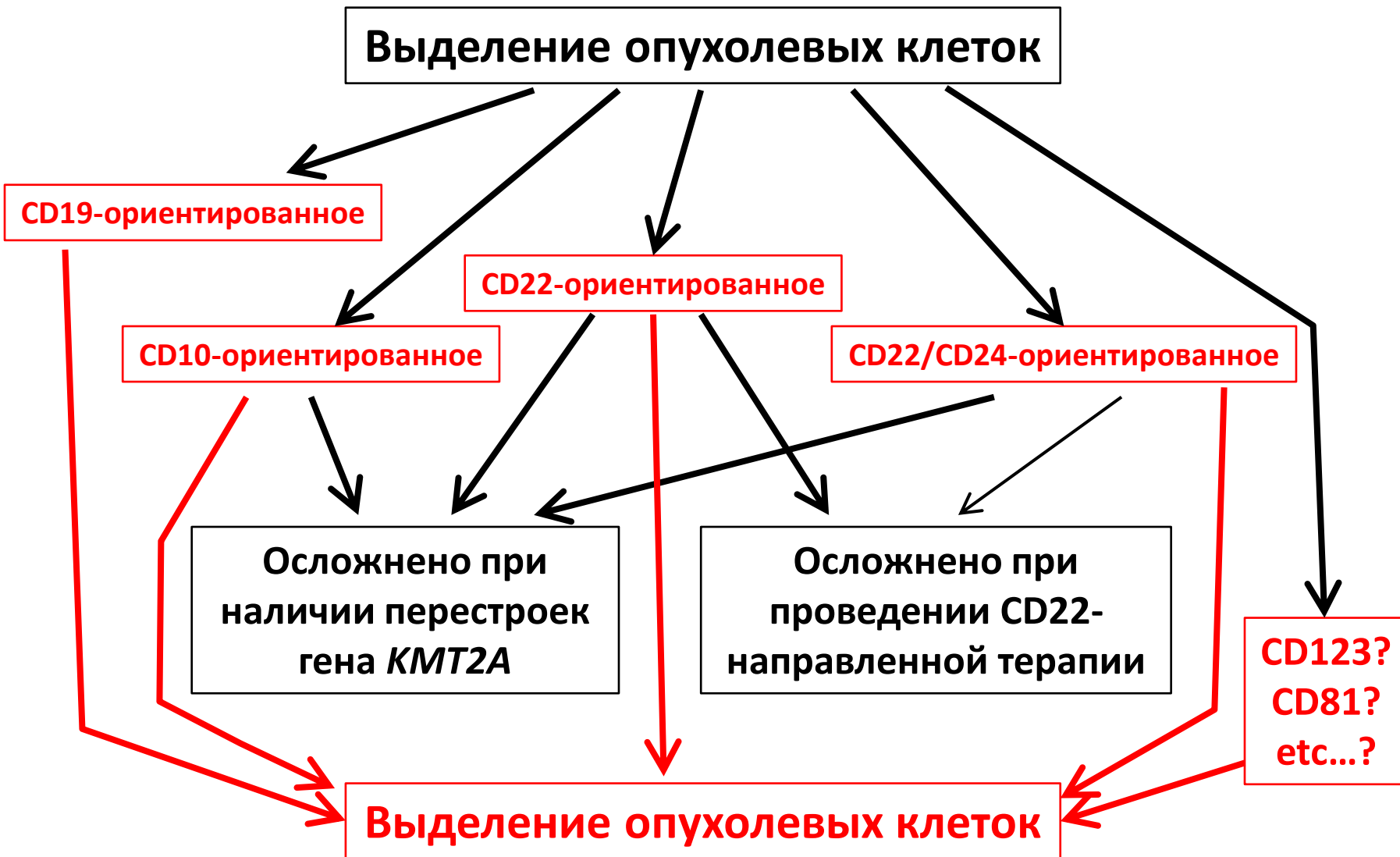
CD22/CD24-ориентированное

Осложнено при
наличии перестроек
гена *KMT2A*

Осложнено при
проведении CD22-
направленной терапии

Выделение опухолевых клеток





Выделение опухолевых клеток

CD19-ориентированное

CD22-ориентированное

CD10-ориентированное

CD22/CD24-ориентированное

Осложнено при
наличии перестроек
гена *KMT2A*

Осложнено при
проведении CD22-
направленной терапии

CD123?
CD81?
etc...?

Выделение опухолевых клеток

CD45-ориентированное

Выделение опухолевых клеток

CD19-ориентированное

CD22-ориентированное

CD10-ориентированное

CD22/CD24-ориентированное

Осложнено при
наличии перестроек
гена *KMT2A*

Осложнено при
проведении CD22-
направленной терапии

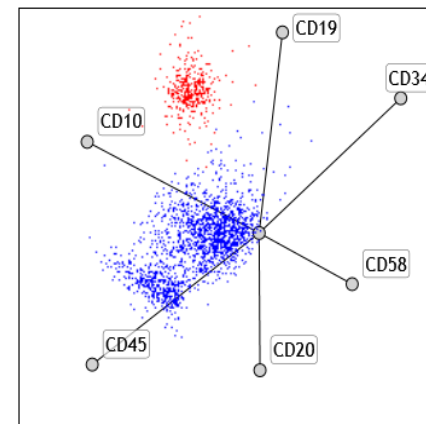
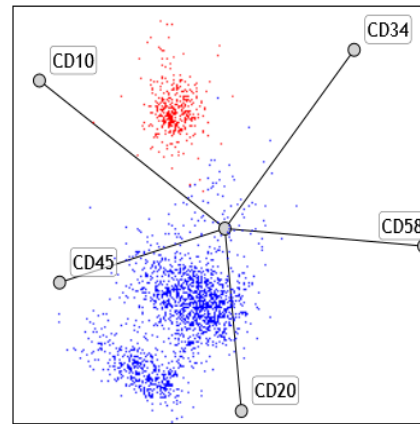
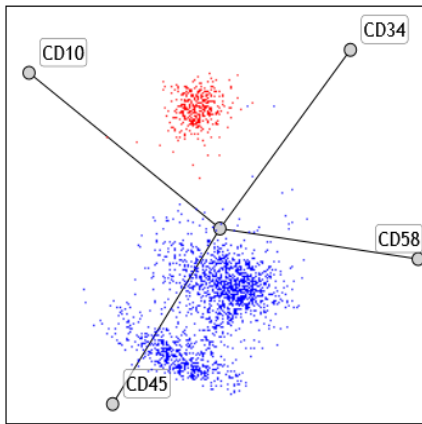
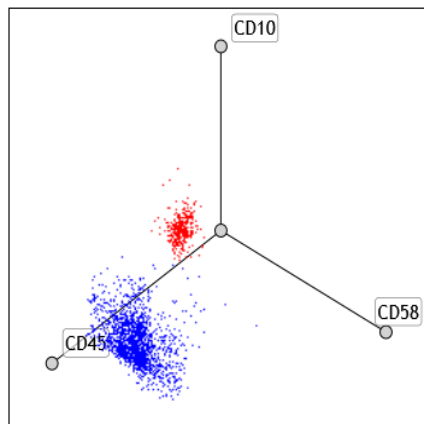
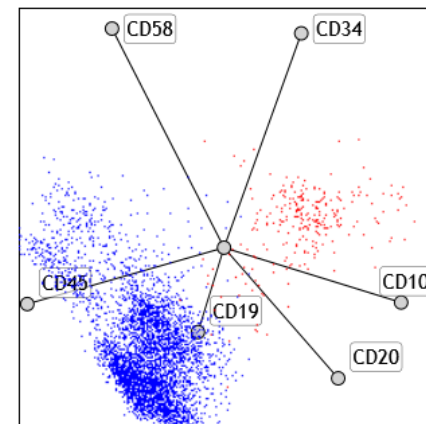
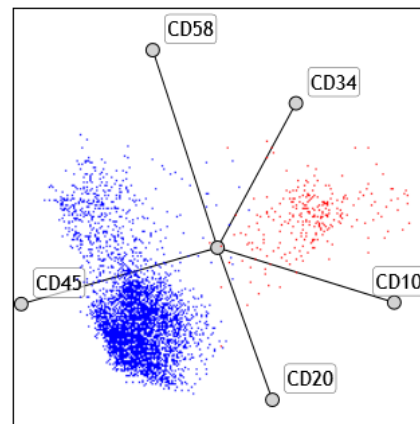
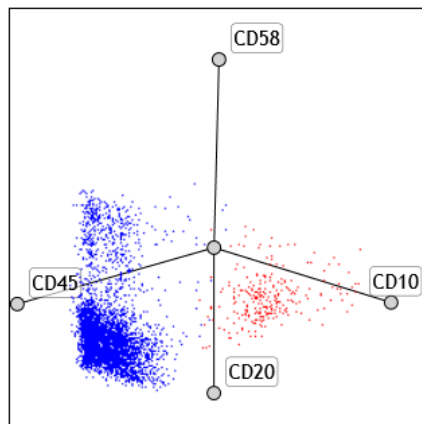
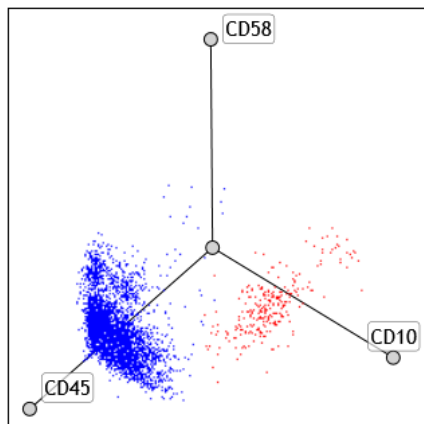
CD123?
CD81?
etc...?

Выделение опухолевых клеток

CD45-ориентированное

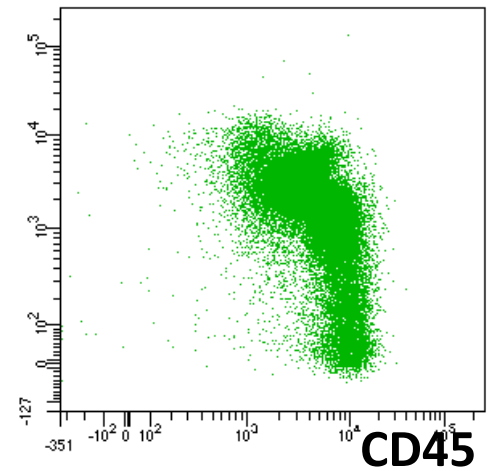
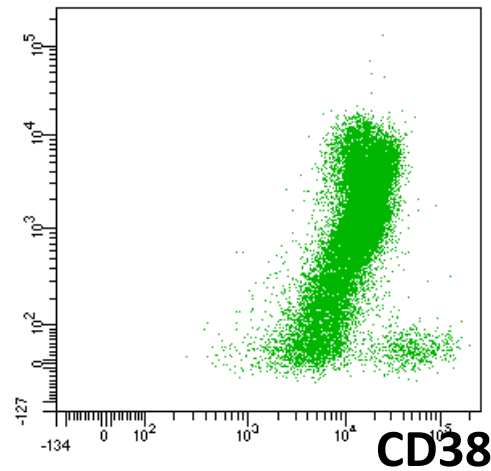
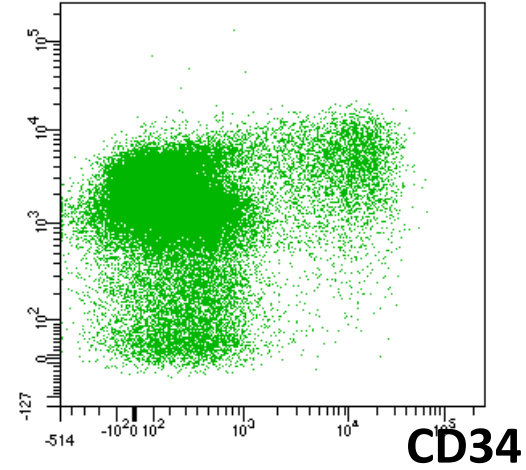
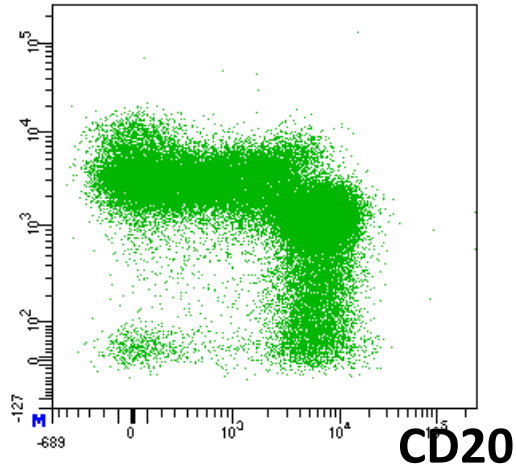
BB515	PE	PE-CF594	PerCP	APC	APC-R700	APC-Alexa750	BV510	BV605	BV650	BV786
CD10	CD22	CD34	CD20	CD19	CD16	CD45	CD38	CD58	CD123	CD24

Многомерный анализ

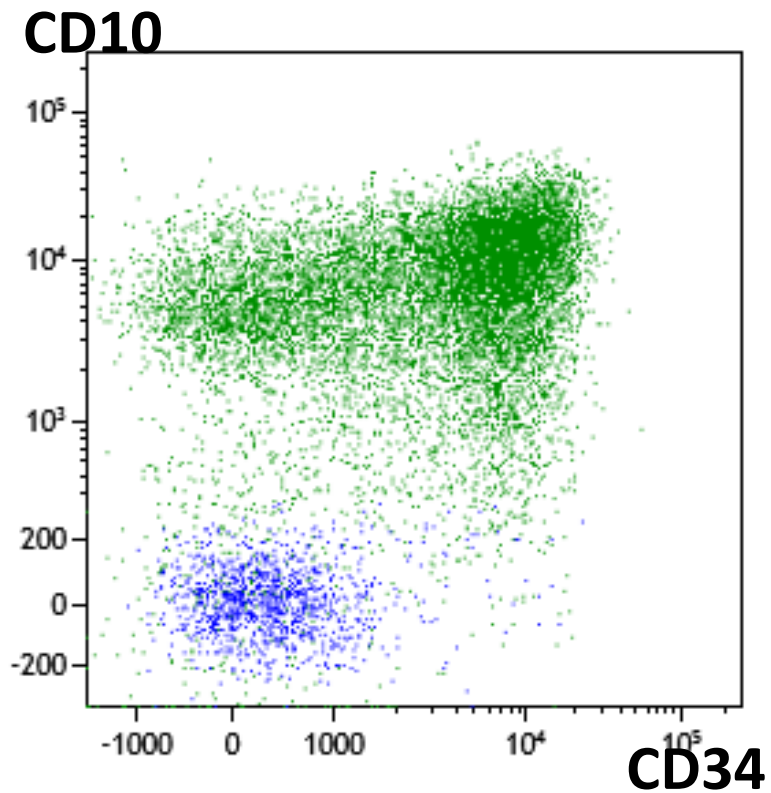


Мониторинг МОБ при ВП-ОЛЛ после ТГСК

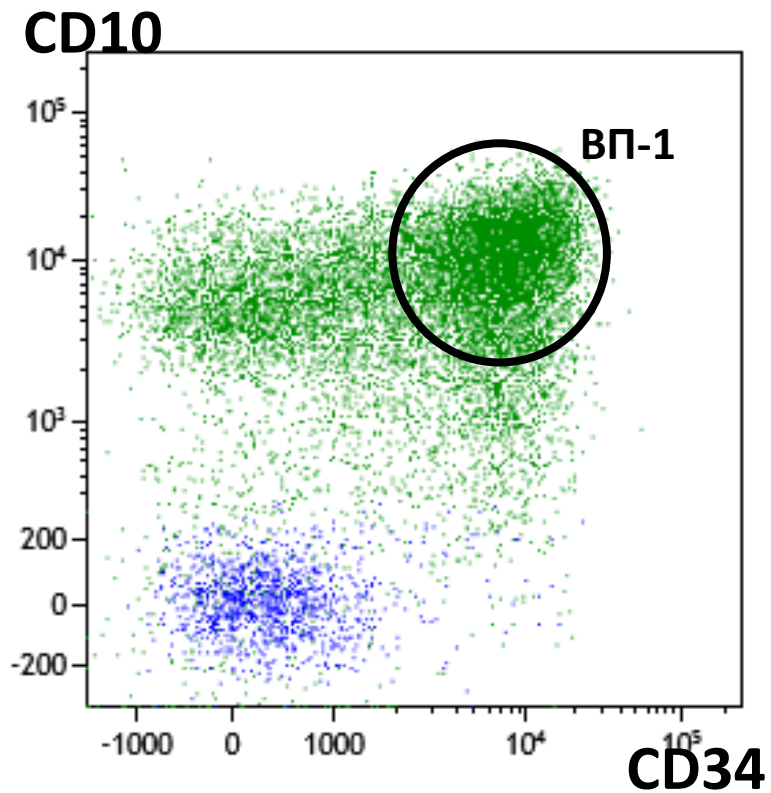
CD10



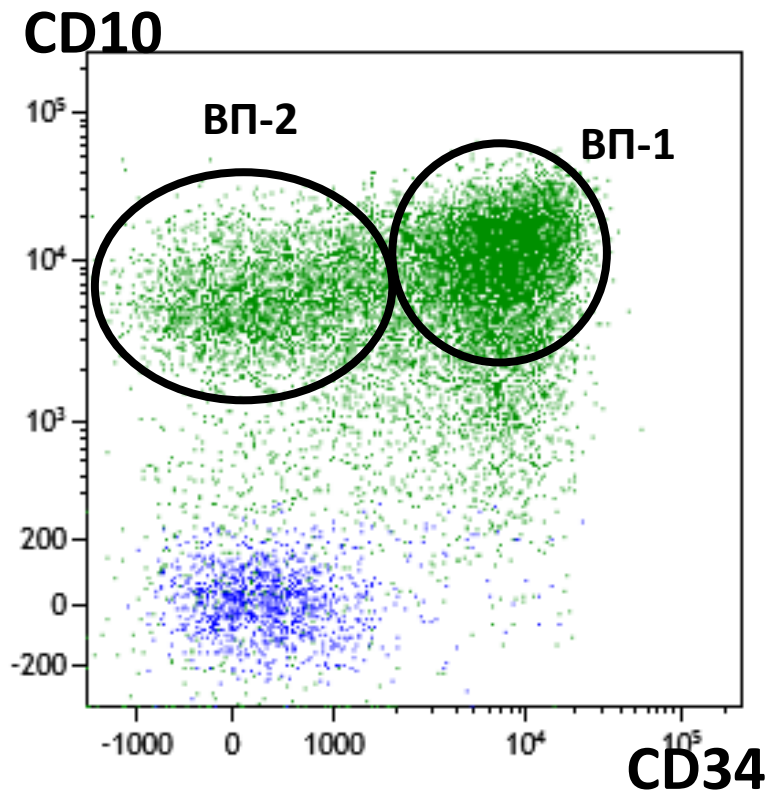
Выраженная «ранняя» В-линейная регенерация



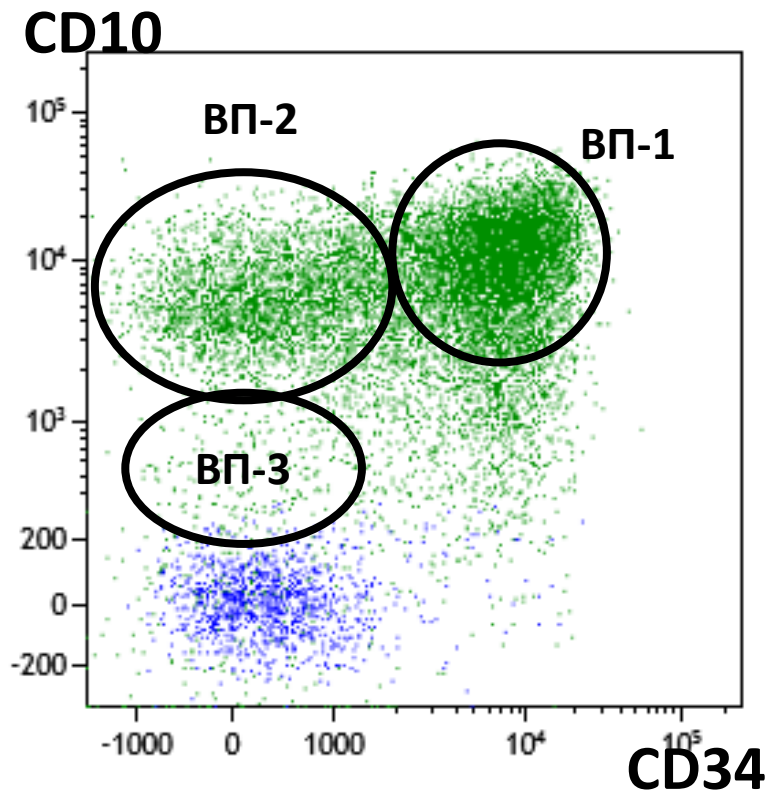
Выраженная «ранняя» В-линейная регенерация



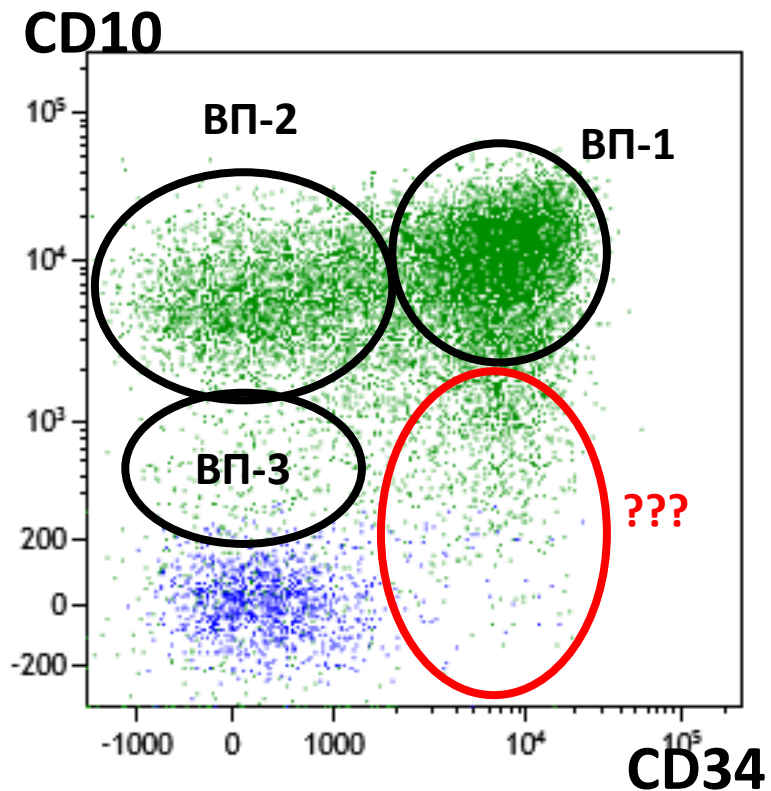
Выраженная «ранняя» В-линейная регенерация



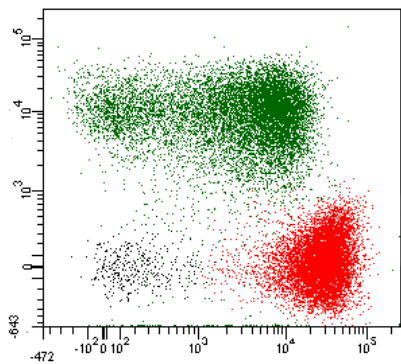
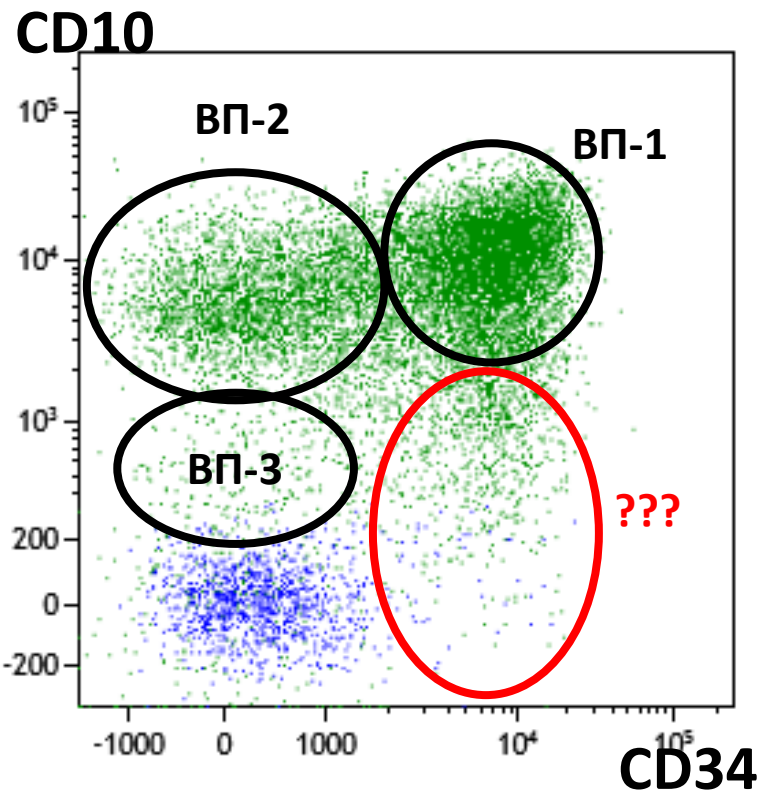
Выраженная «ранняя» В-линейная регенерация



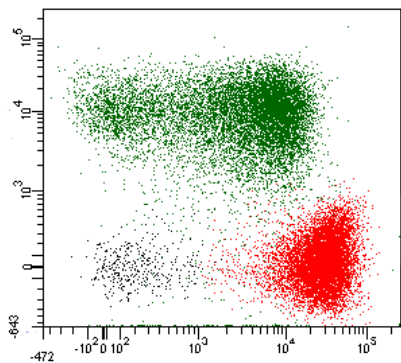
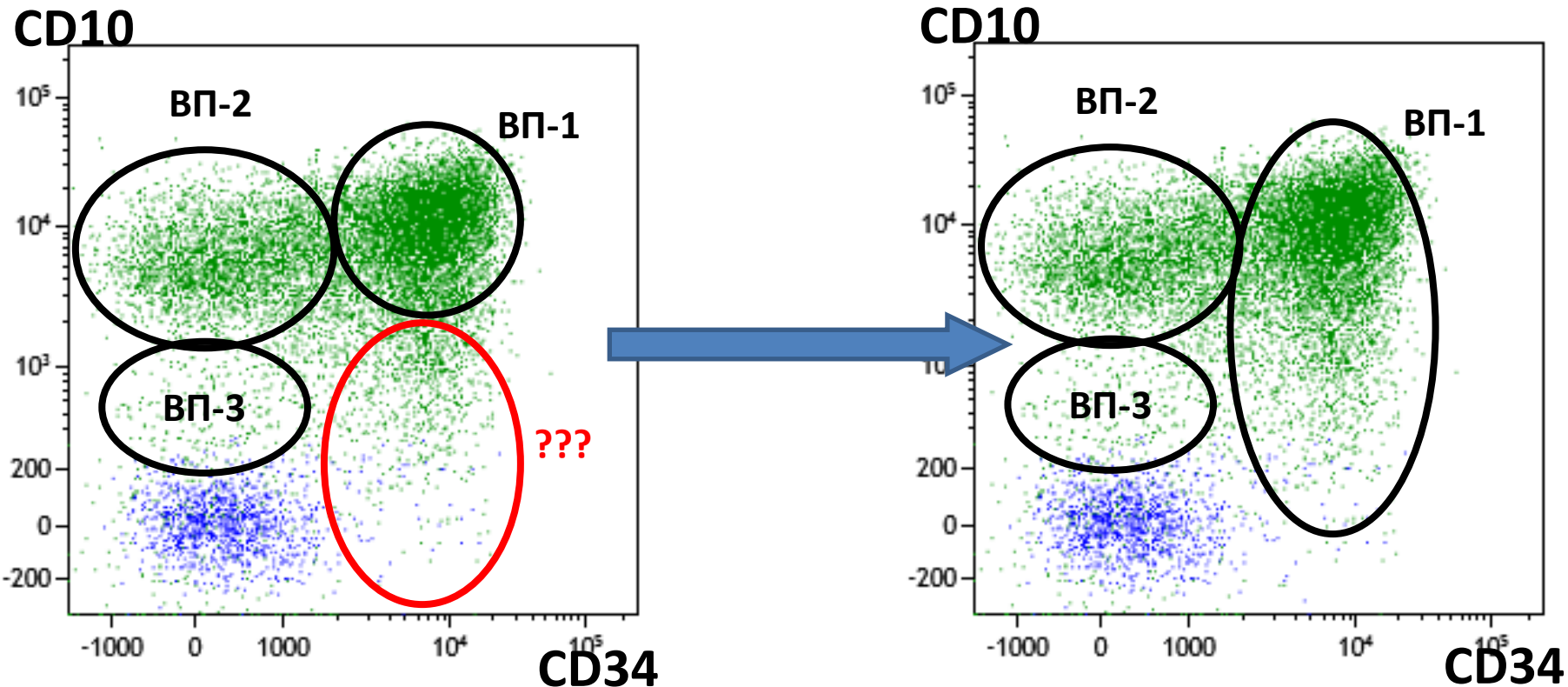
Выраженная «ранняя» В-линейная регенерация



Выраженная «ранняя» В-линейная регенерация

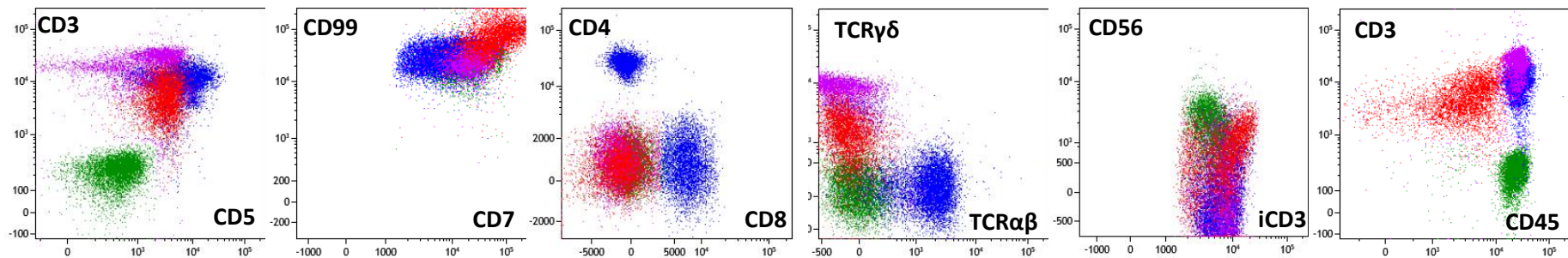


Выраженная «ранняя» В-линейная регенерация



Мониторинг МОБ при Т-ОЛЛ после ТГСК

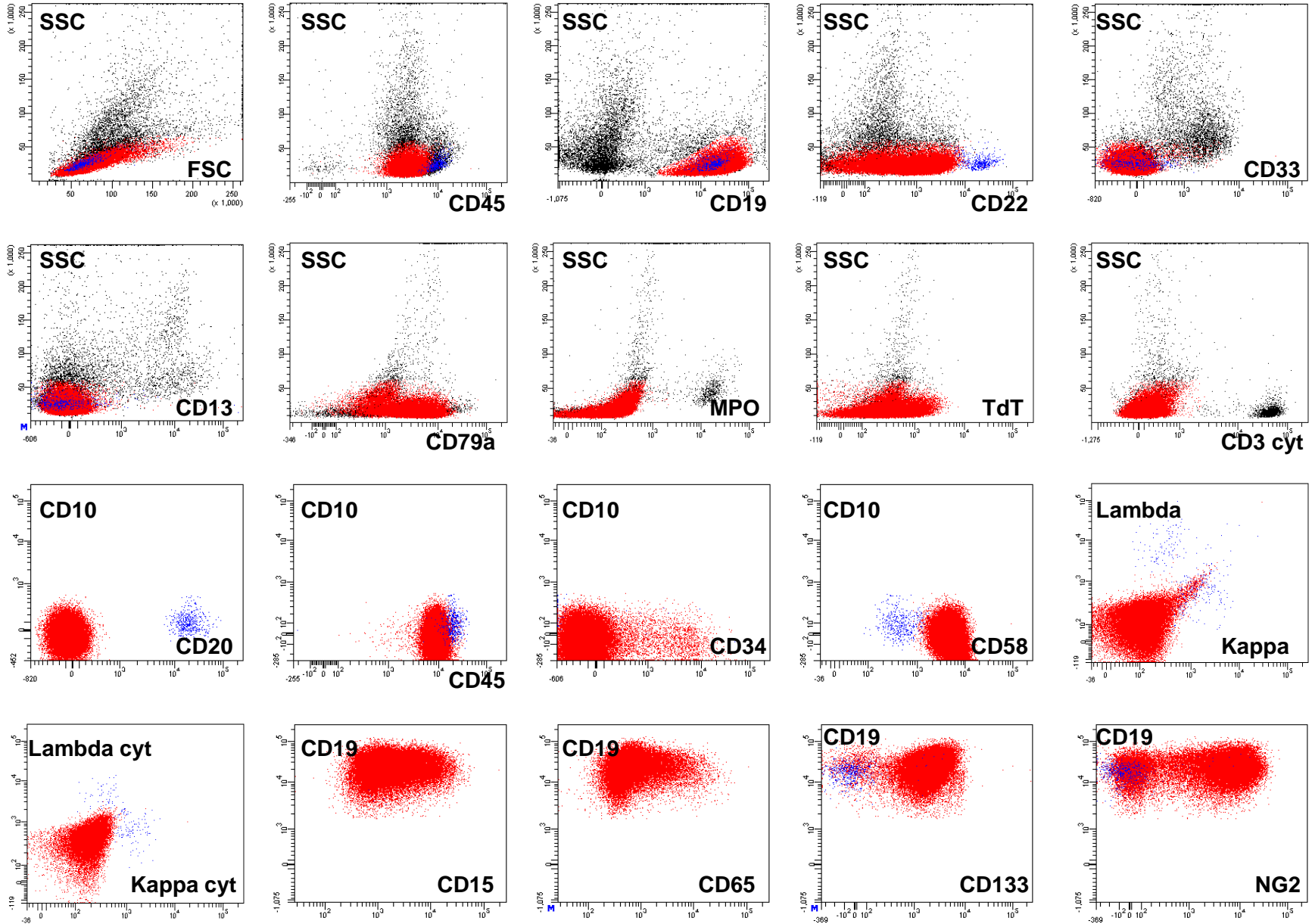
FITC	PE	PE-CF594	PerCP	APC	APC-R700	APC-A750		BV510	BV605	BV650	BV786
CD99	TCR $\gamma\delta$	CD7	CD8	CD16+56	CD4	CD45	Syto 41	TCR $\alpha\beta$	CD5	iCD3	CD3



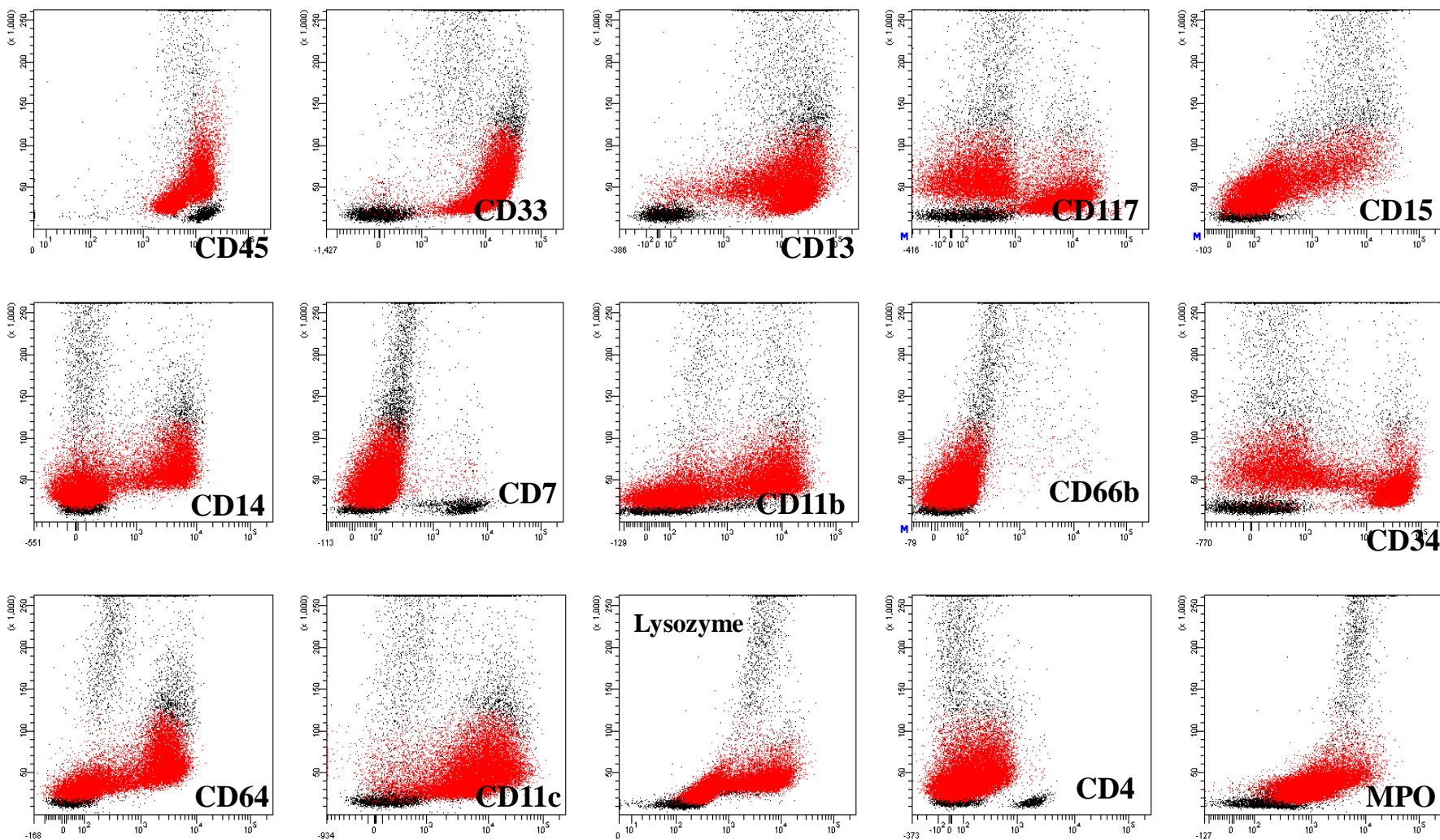
CD7-positive cells: NK-cells, T-cells ($\alpha\beta$), T-cells ($\gamma\delta$), tumor blasts

Связь иммунофенотипа опухолевых клеток с наличием молекулярно-генетических aberrаций

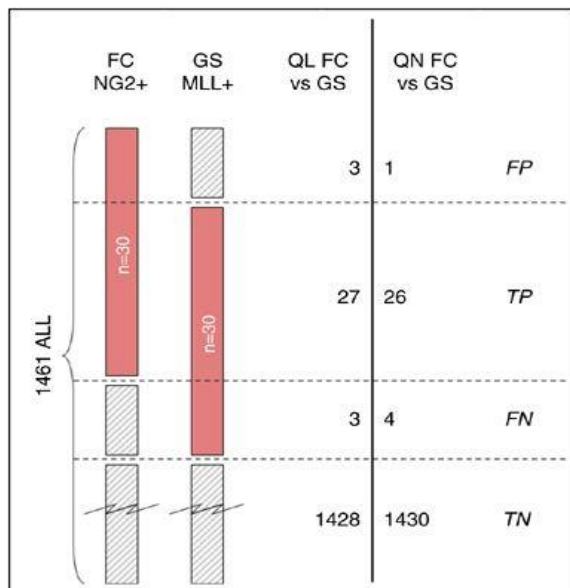
Иммунофенотип ОЛЛ при наличии перестроек *MLL*



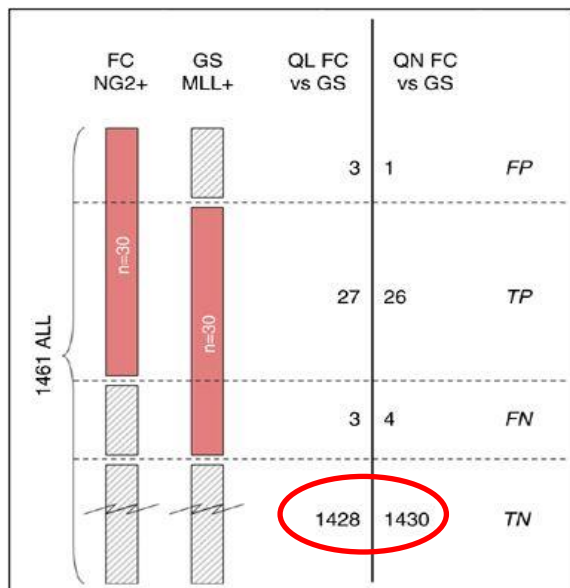
Иммунофенотип ОМЛ при inv16



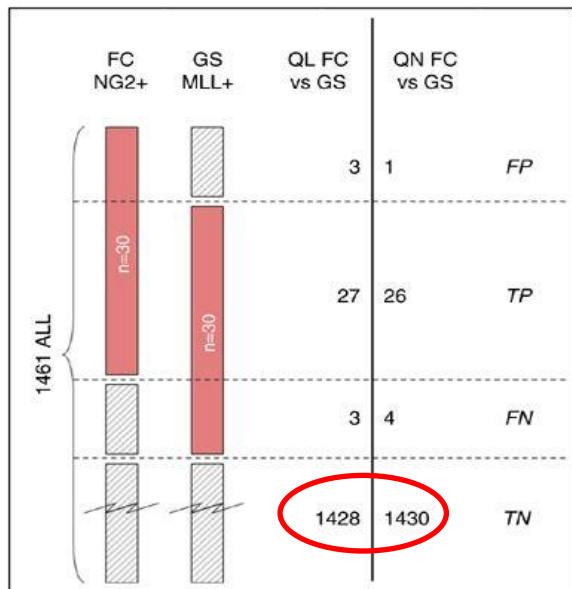
Экспрессия NG2 при перестройках гена *KMT2A*



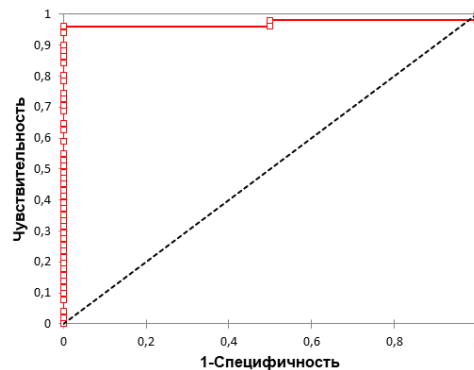
Экспрессия NG2 при перестройках гена *KMT2A*



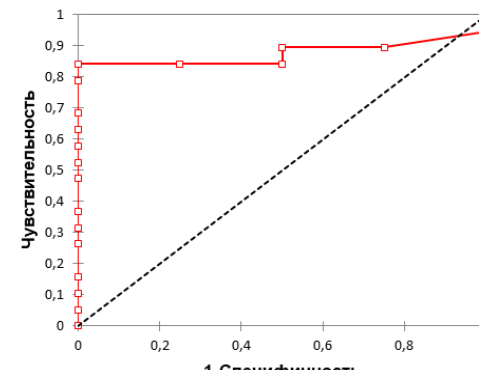
Экспрессия NG2 при перестройках гена *KMT2A*



Дети младше 1 года

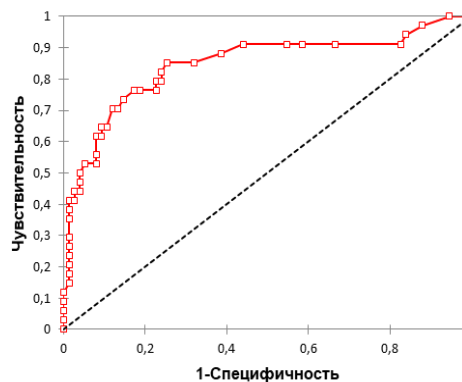


ОЛЛ

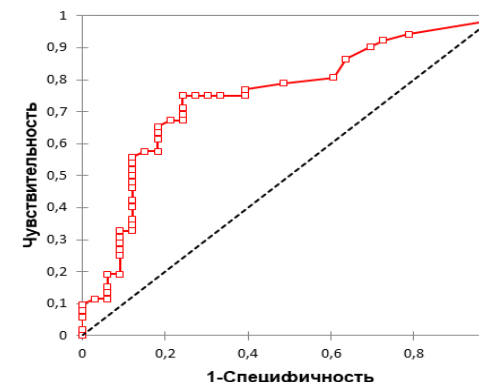


ОМЛ

Дети старше 1 года

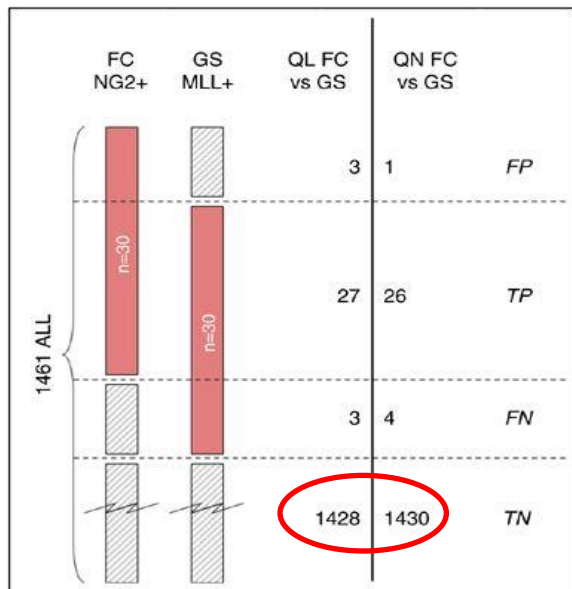


ОЛЛ

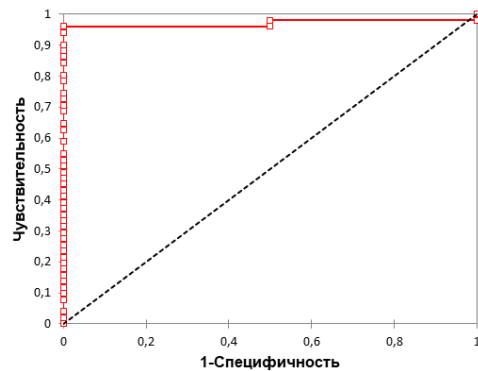


ОМЛ

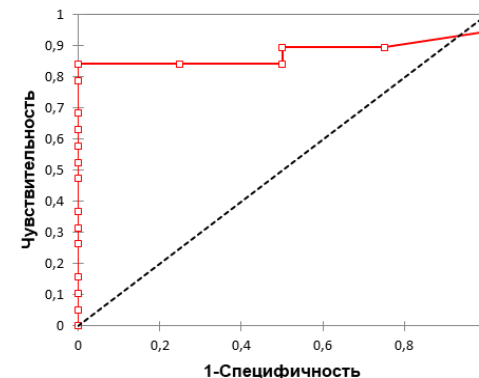
Экспрессия NG2 при перестройках гена *KMT2A*



Дети младше 1 года

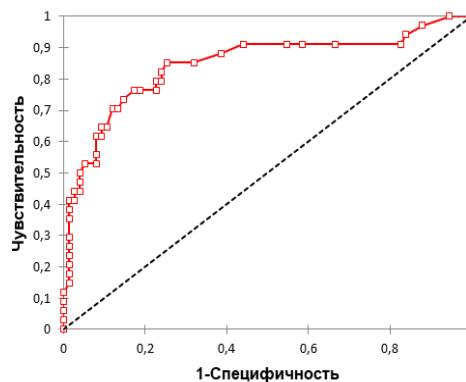


ОЛЛ

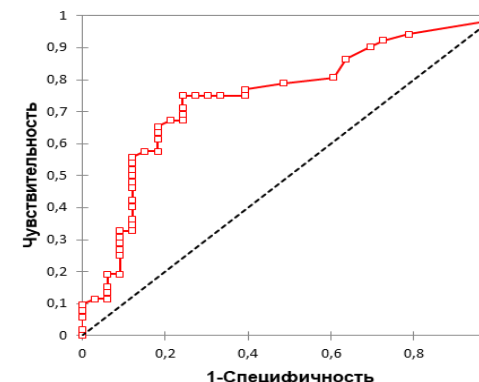


ОМЛ

Дети старше 1 года

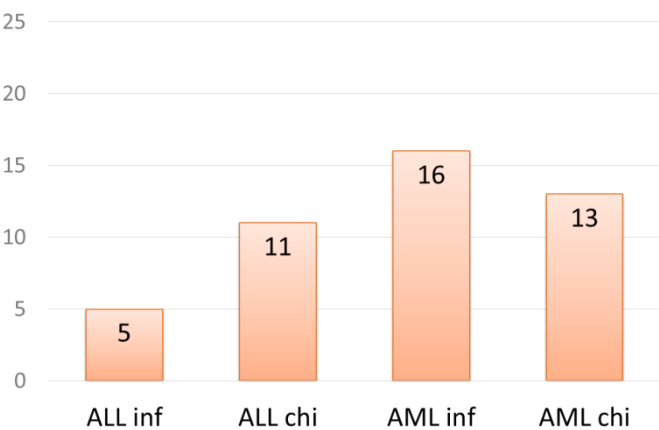


ОЛЛ

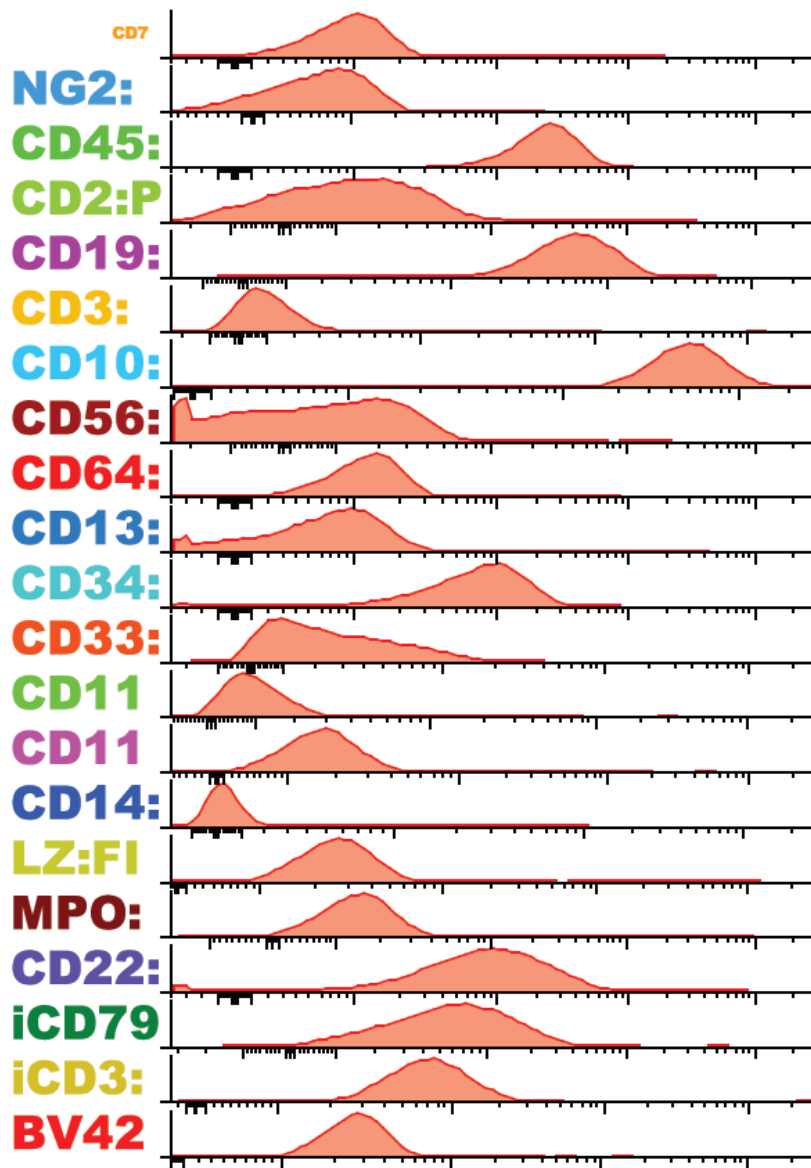


ОМЛ

NG2-позитивные клетки (%)

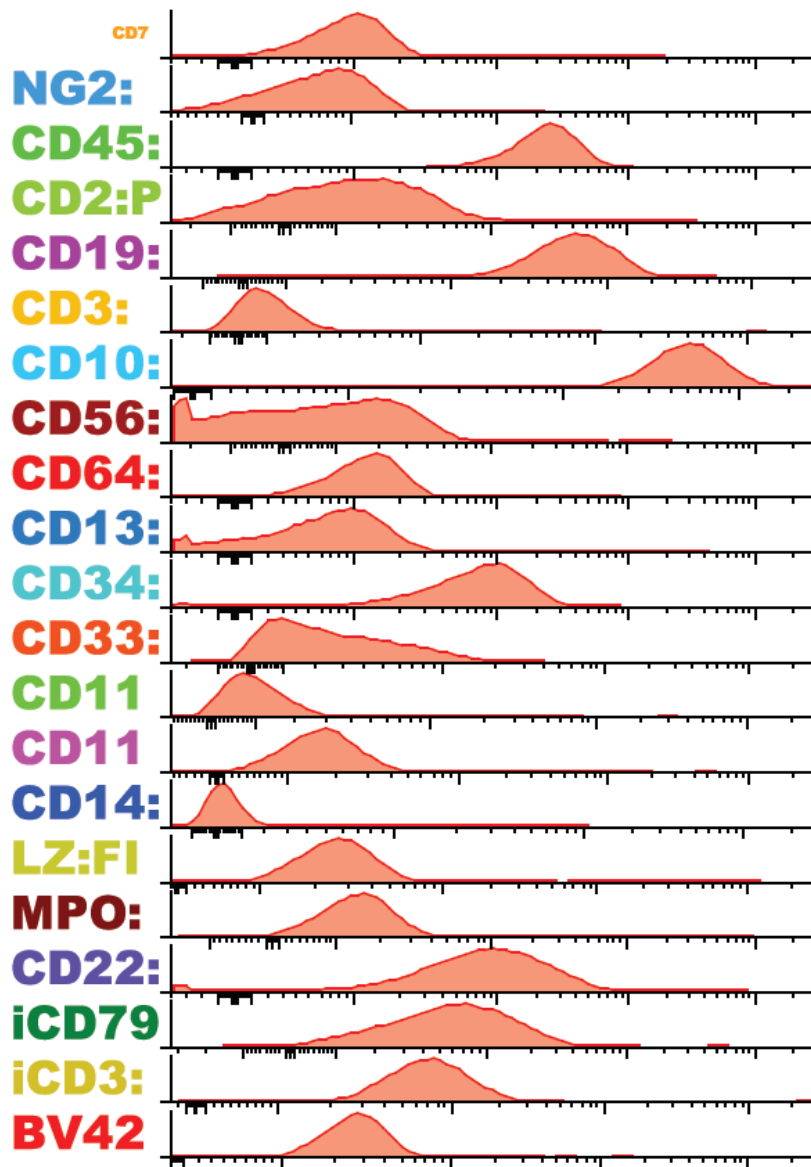


Оценка иммунофенотипа клеток по MFI



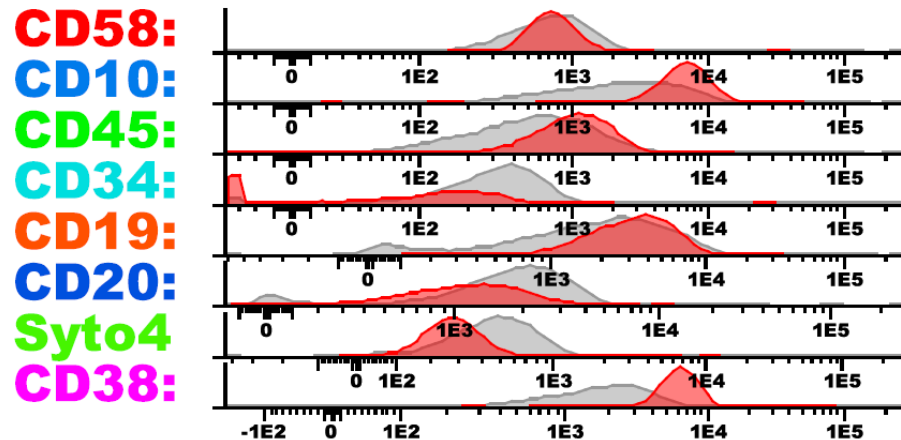
Суммарная оценка фенотипа конкретной популяции

Оценка иммунофенотипа клеток по MFI

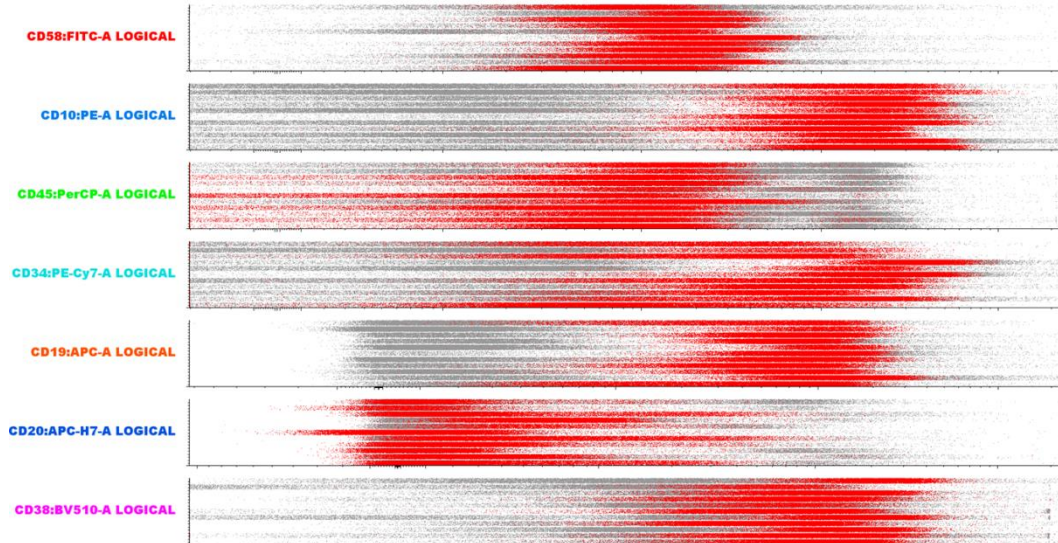


Суммарная оценка фенотипа конкретной популяции

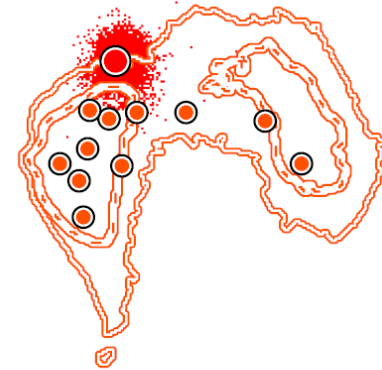
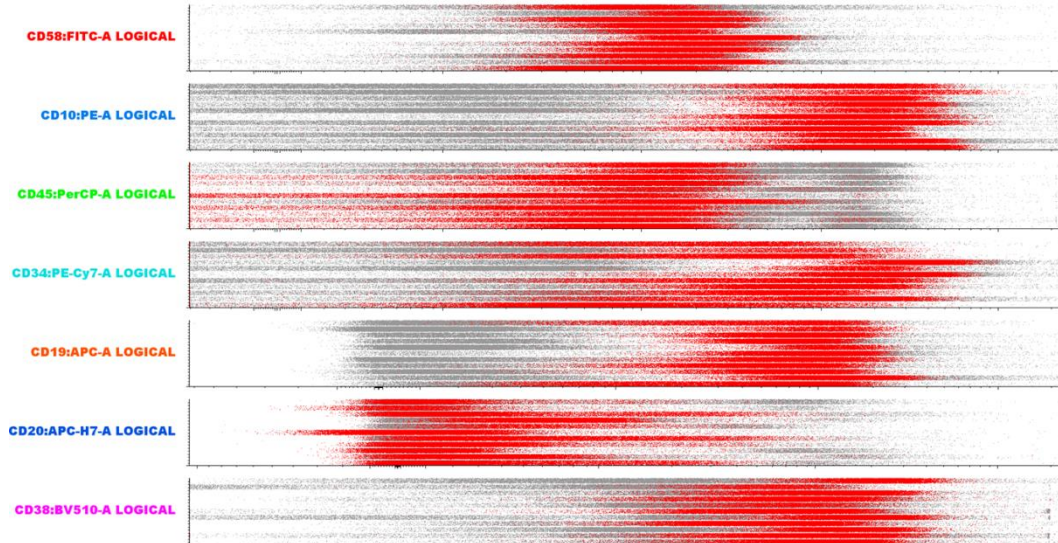
Сравнение иммунофенотипа с базой данных



Иммунофенотип опухолевых клеток при наличии перестройки *ETV6-RUNX1*



Иммунофенотип опухолевых клеток при наличии перестройки *ETV6-RUNX1*

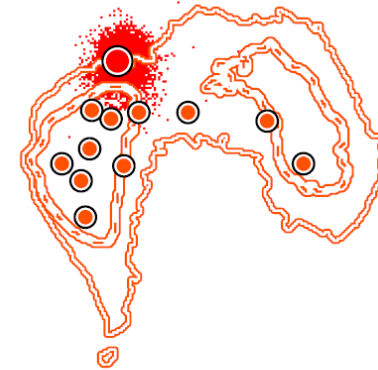
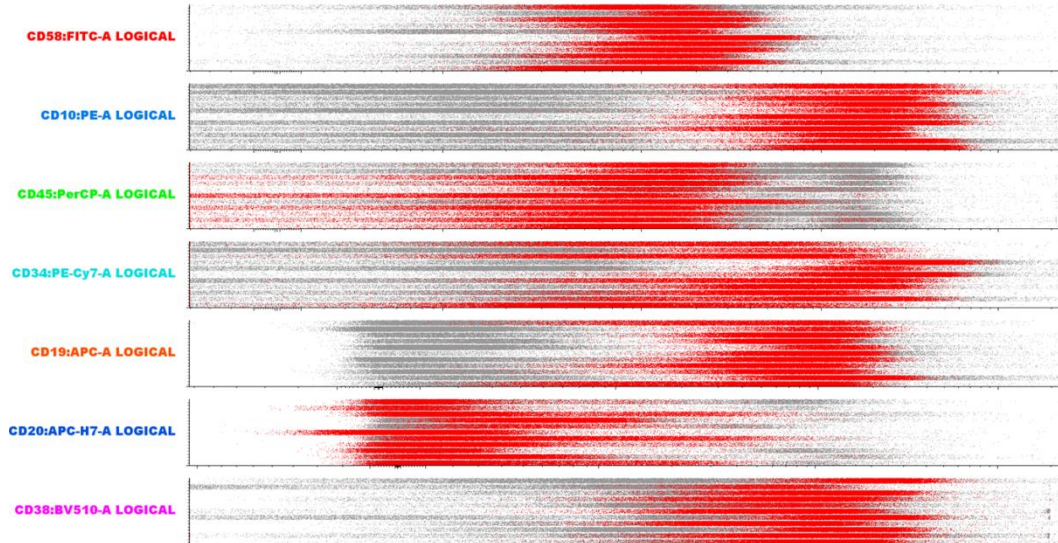


t (12;21) +

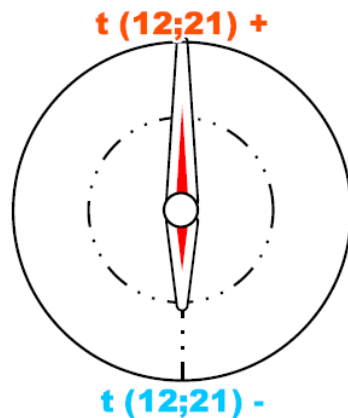


t (12;21) -

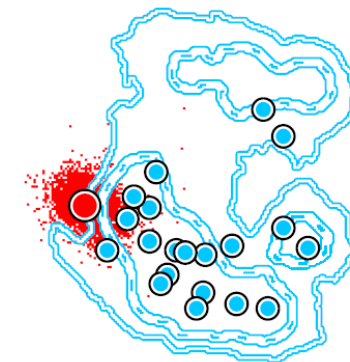
Иммунотип опухолевых клеток при наличии перестройки *ETV6-RUNX1*



t (12;21) +

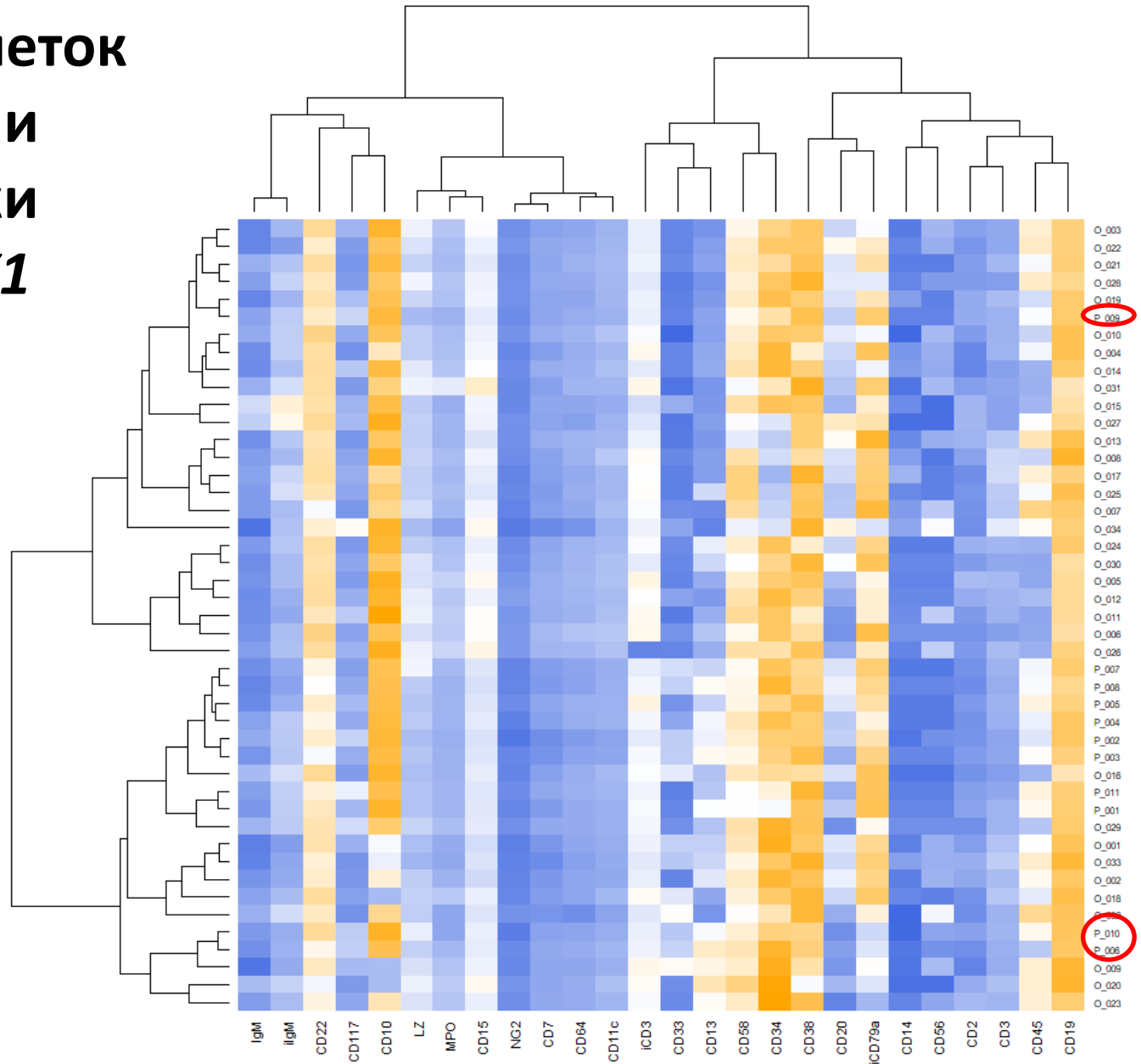


B-cell precursors

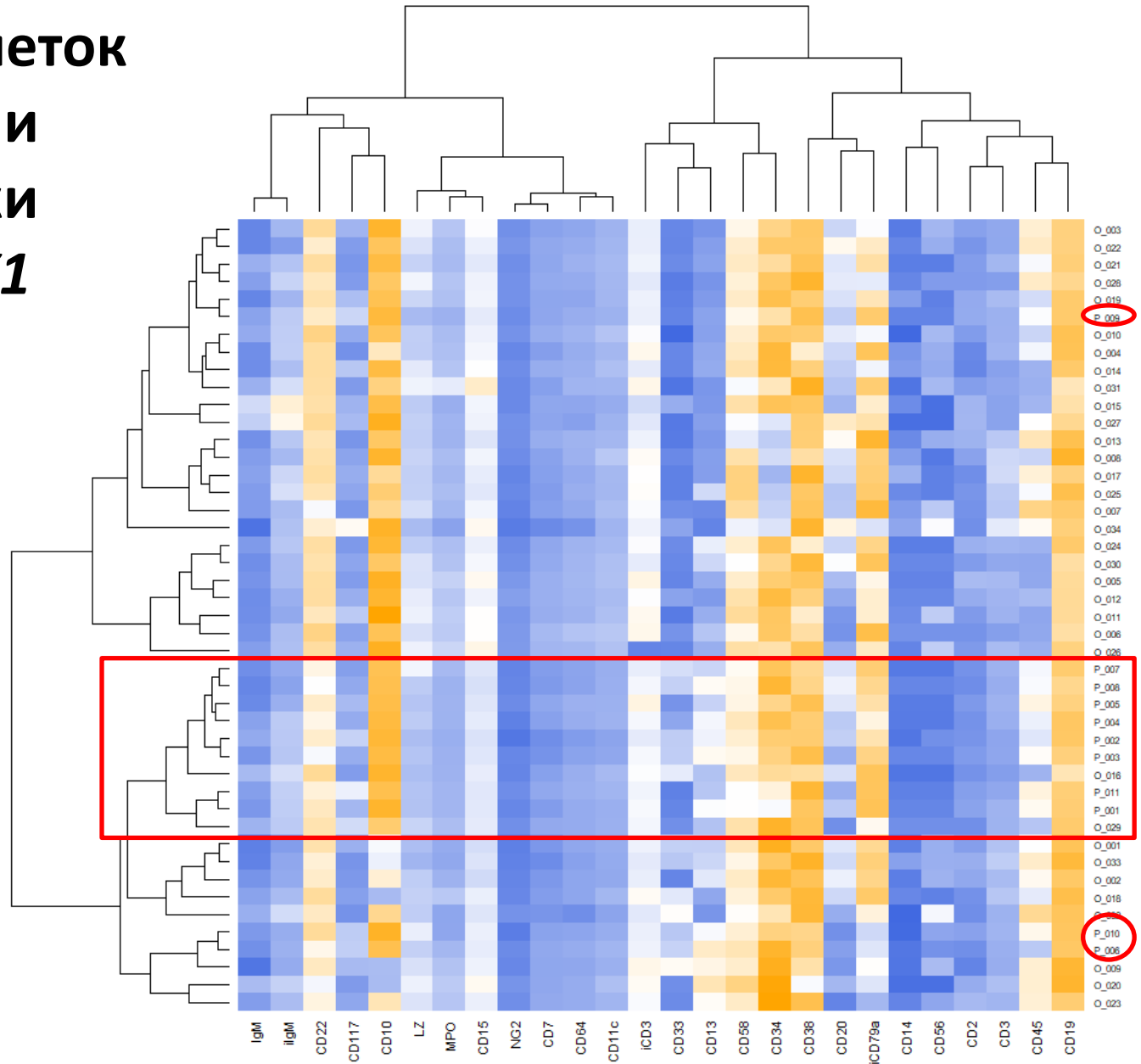


t (12;21) -

Иммунофенотип опухолевых клеток при наличии перестройки *ETV6-RUNX1*

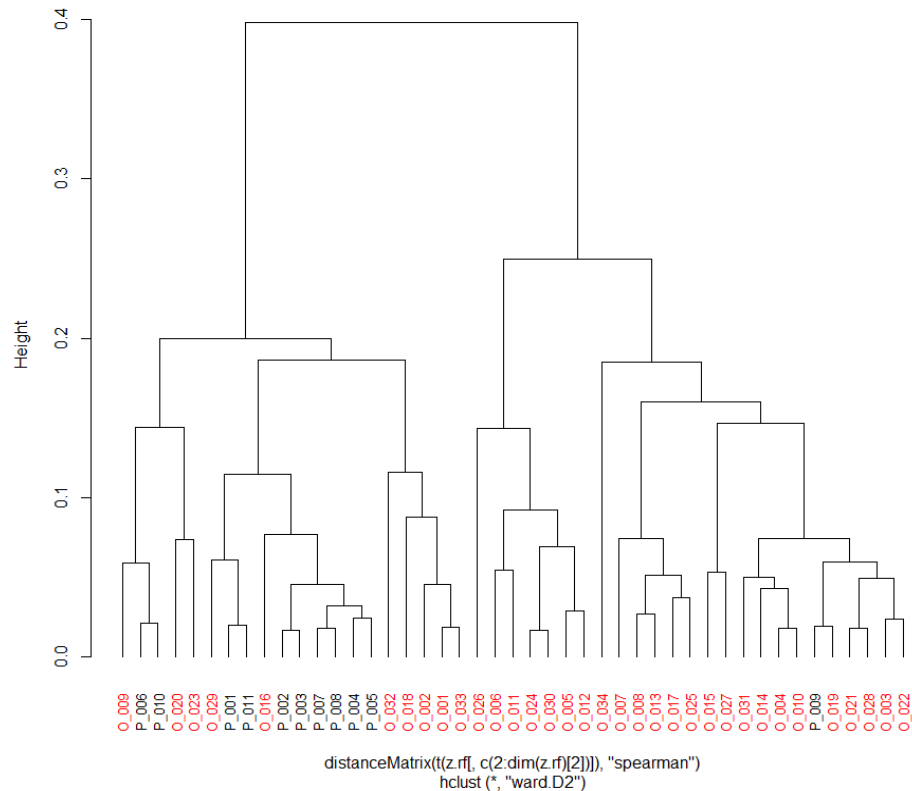


Иммунофенотип опухолевых клеток при наличии перестройки *ETV6-RUNX1*

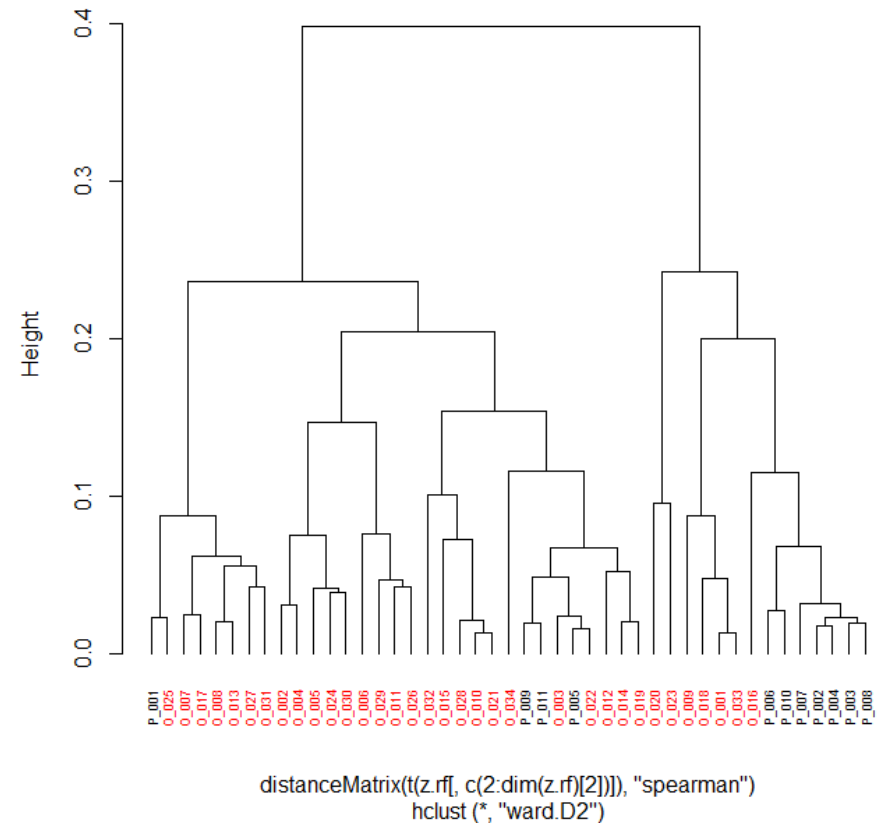


Иммунофенотип опухолевых клеток при наличии перестройки *ETV6-RUNX1*

Анализ всего иммунофенотипа

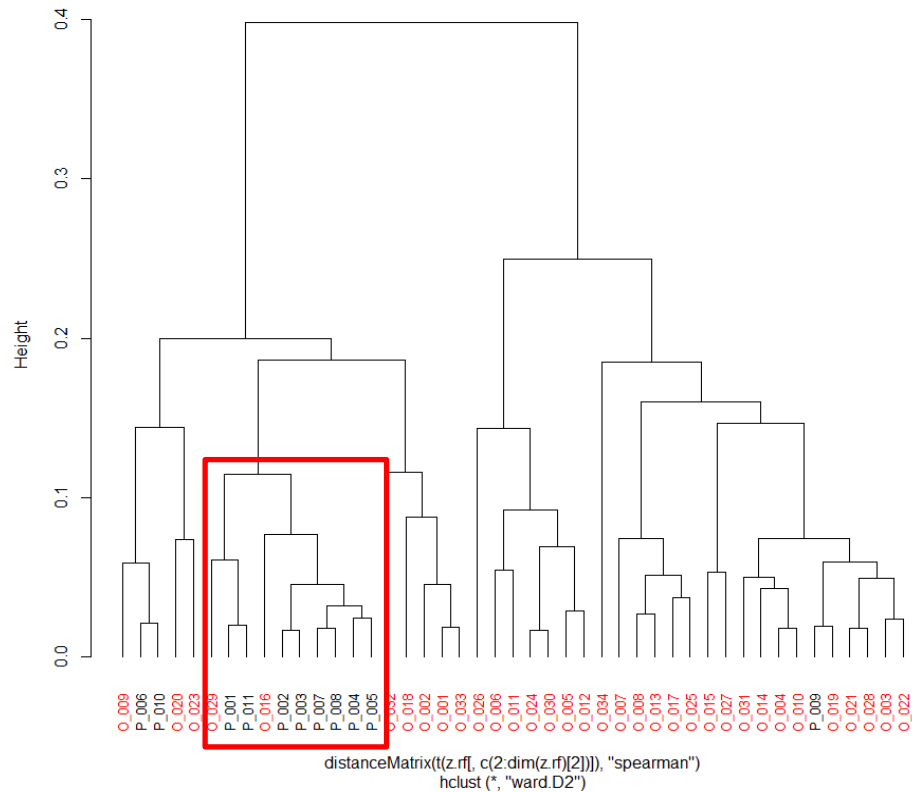


Анализ экспрессии антигенов, ассоциированных с ВП-ОЛЛ

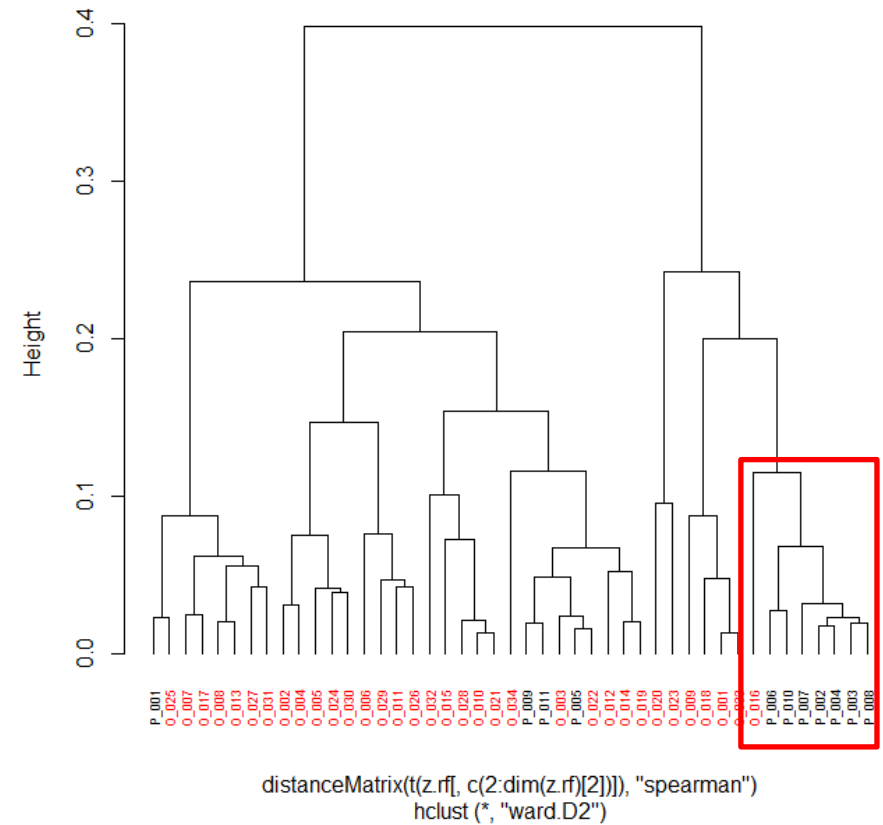


Иммунофенотип опухолевых клеток при наличии перестройки *ETV6-RUNX1*

Анализ всего иммунофенотипа

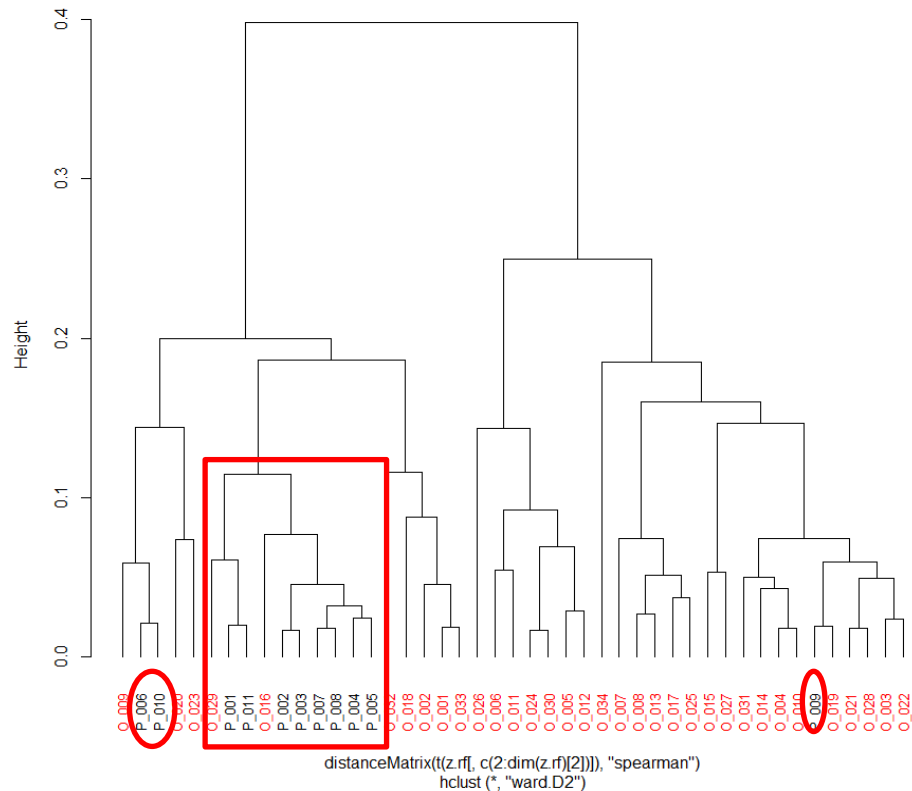


Анализ экспрессии антигенов, ассоциированных с ВП-ОЛЛ

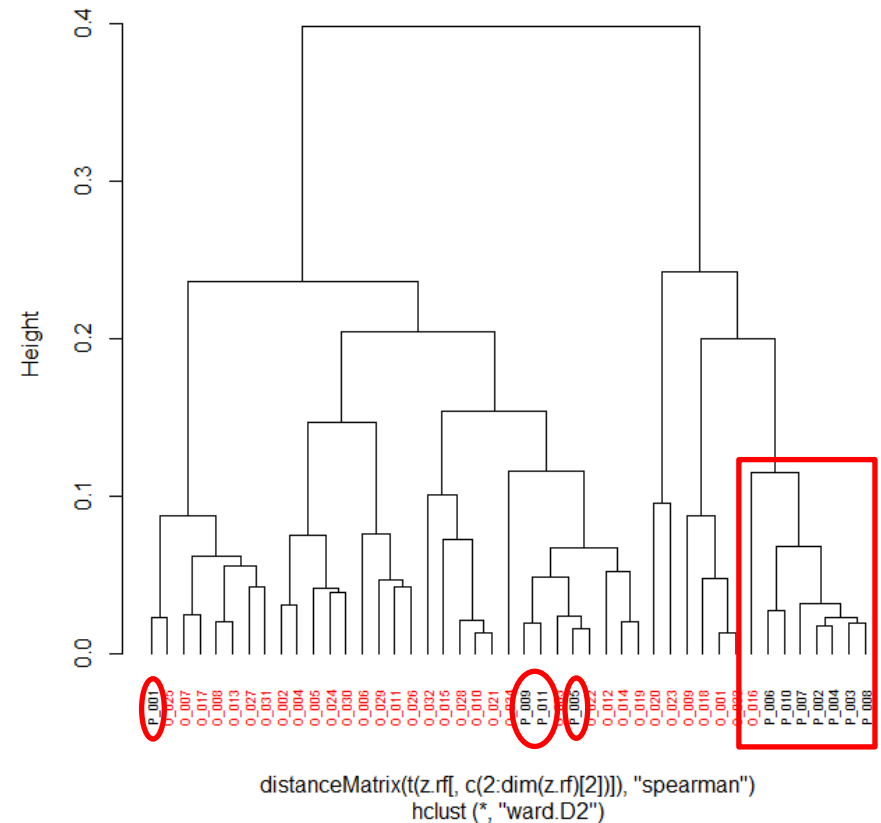


Иммунофенотип опухолевых клеток при наличии перестройки *ETV6-RUNX1*

Анализ всего иммунофенотипа

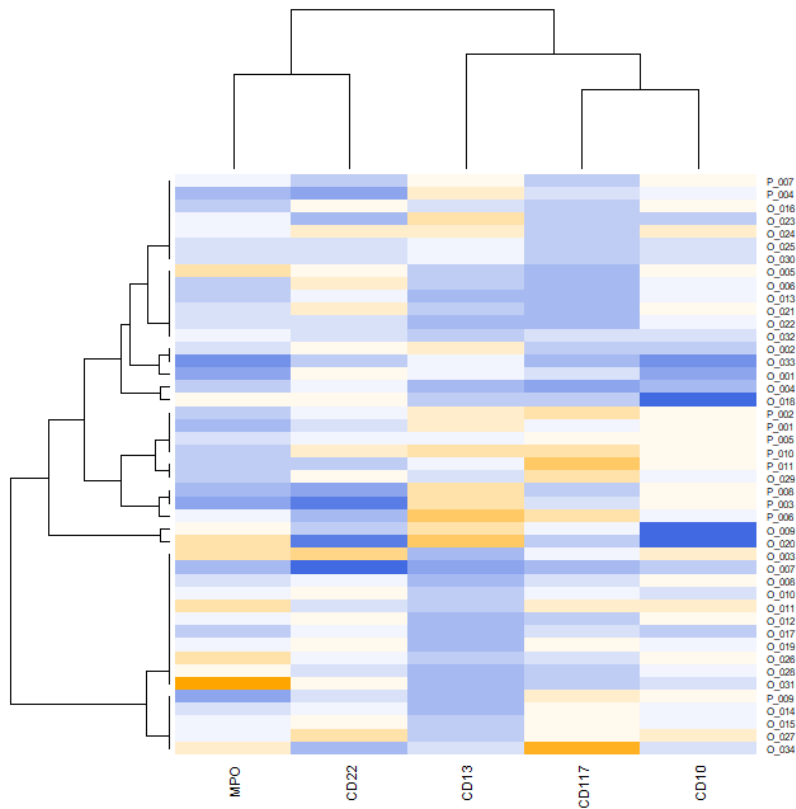


Анализ экспрессии антигенов, ассоциированных с ВП-ОЛЛ

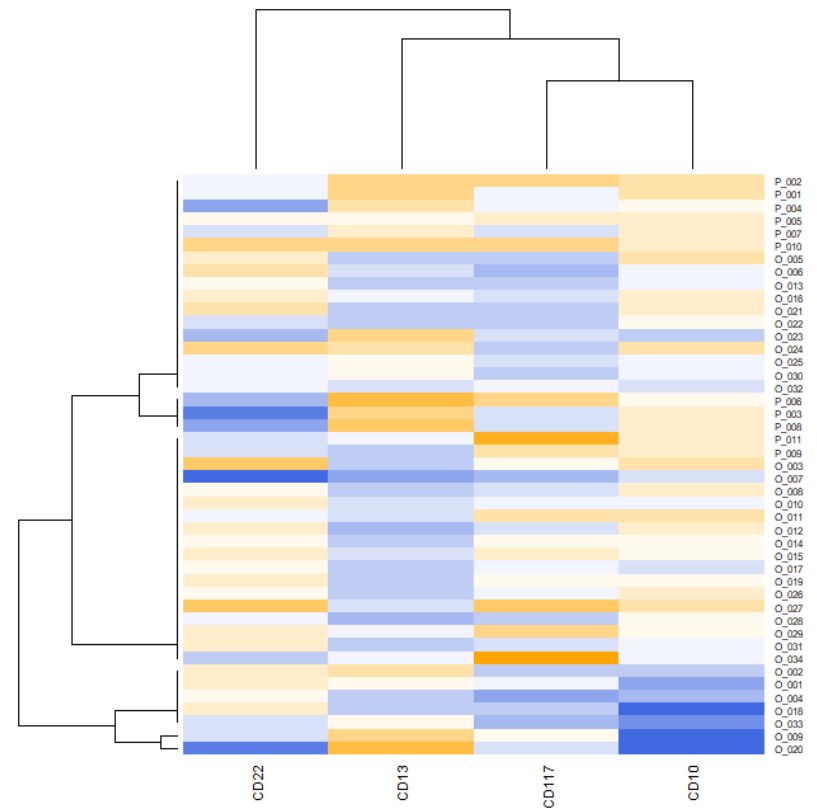


Иммунофенотип опухолевых клеток при наличии перестройки *ETV6-RUNX1*

Анализ всего иммунофенотипа

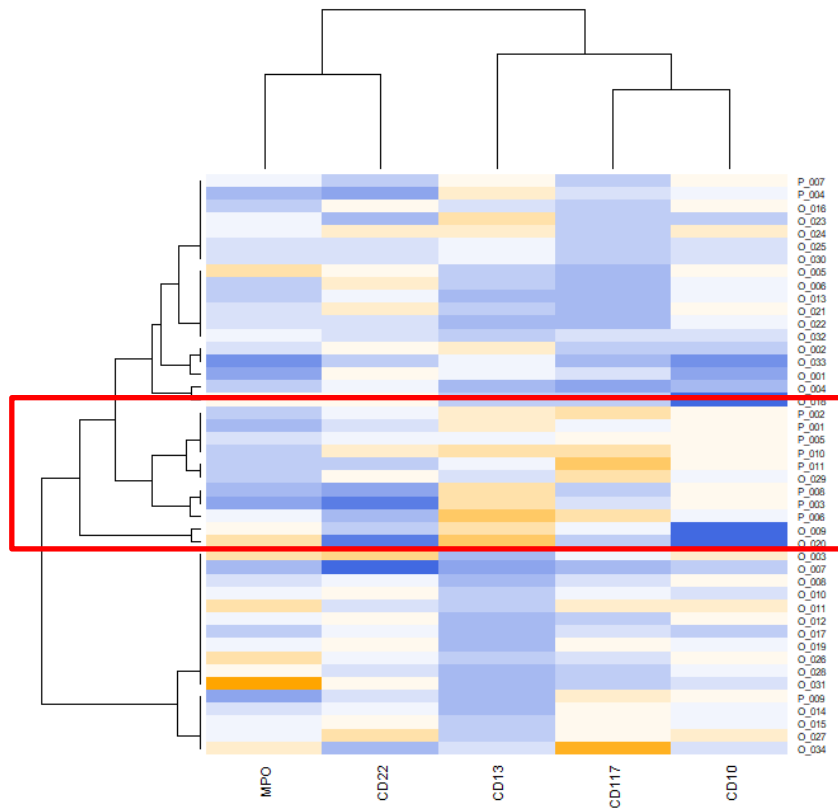


Анализ экспрессии антигенов, ассоциированных с ВП-ОЛЛ

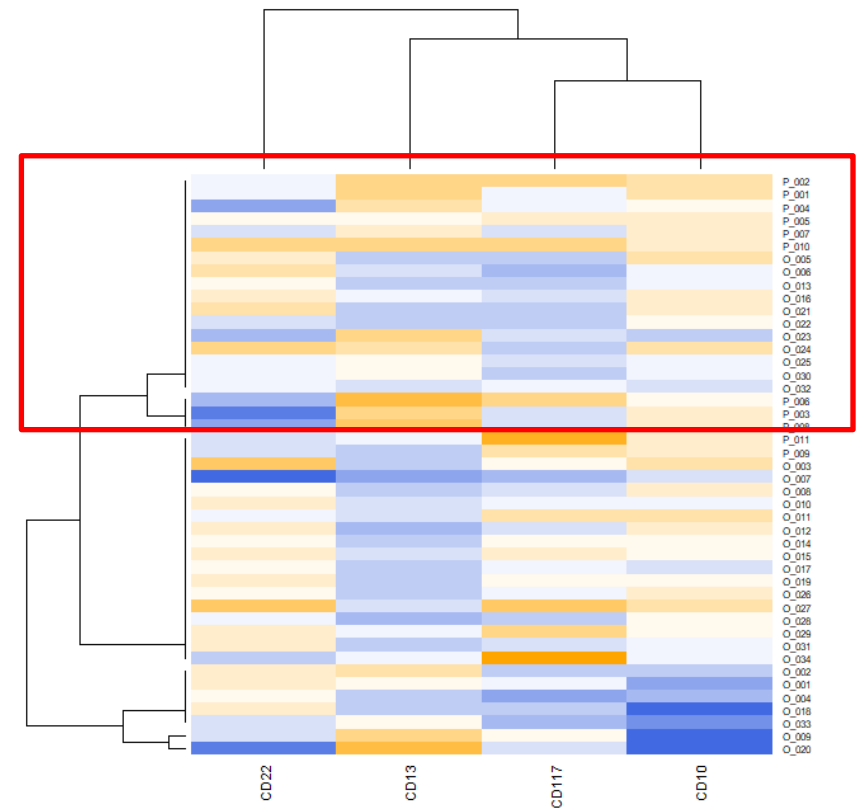


Иммунофенотип опухолевых клеток при наличии перестройки *ETV6-RUNX1*

Анализ всего иммунофенотипа

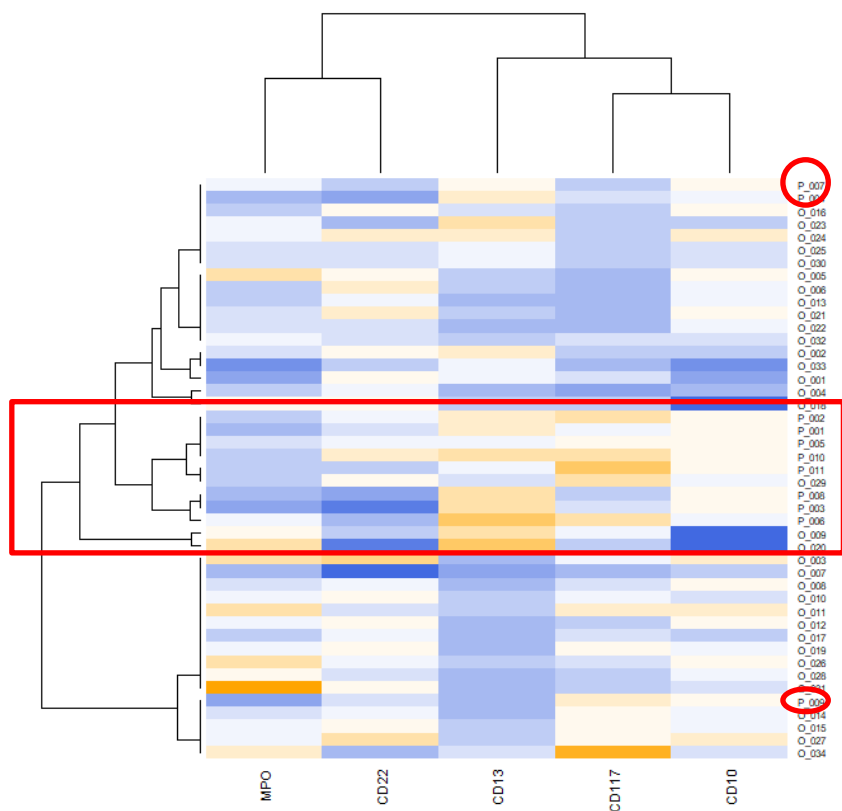


Анализ экспрессии антигенов, ассоциированных с ВП-ОЛЛ

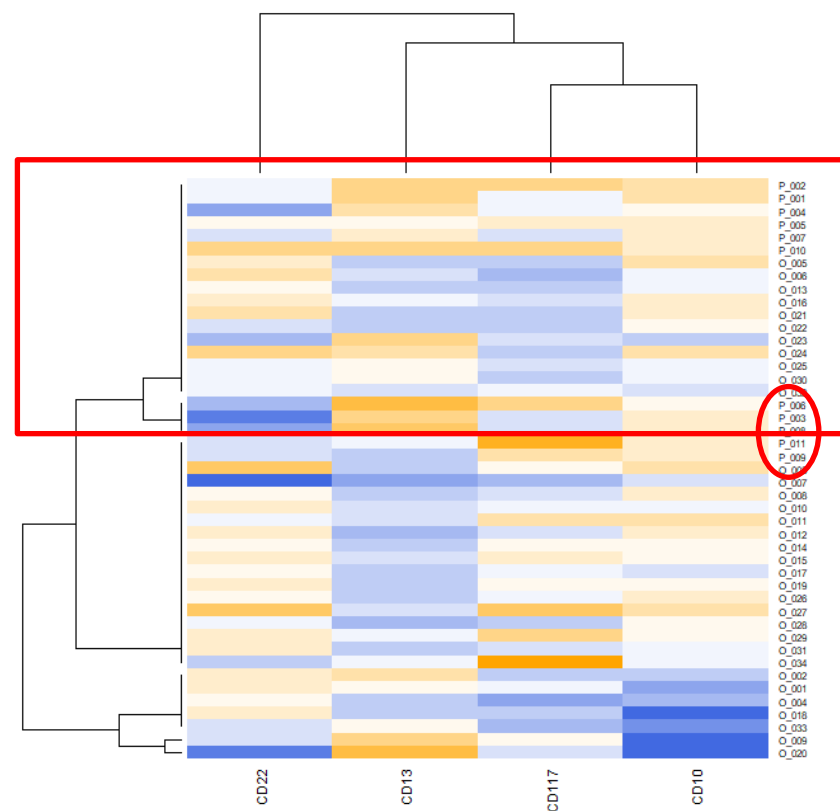


Иммунофенотип опухолевых клеток при наличии перестройки *ETV6-RUNX1*

Анализ всего иммунофенотипа



Анализ экспрессии антигенов, ассоциированных с ВП-ОЛЛ



Наиболее распространенные программные алгоритмы

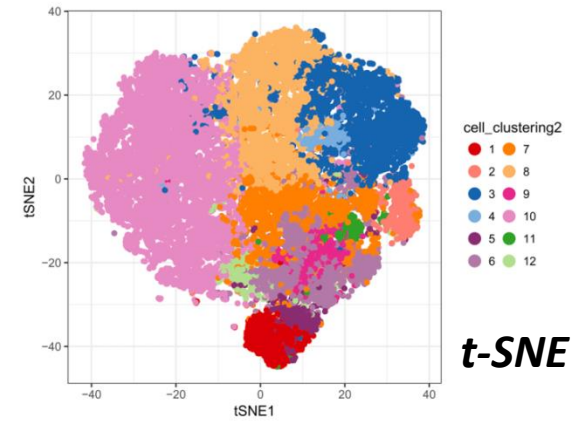
PCA



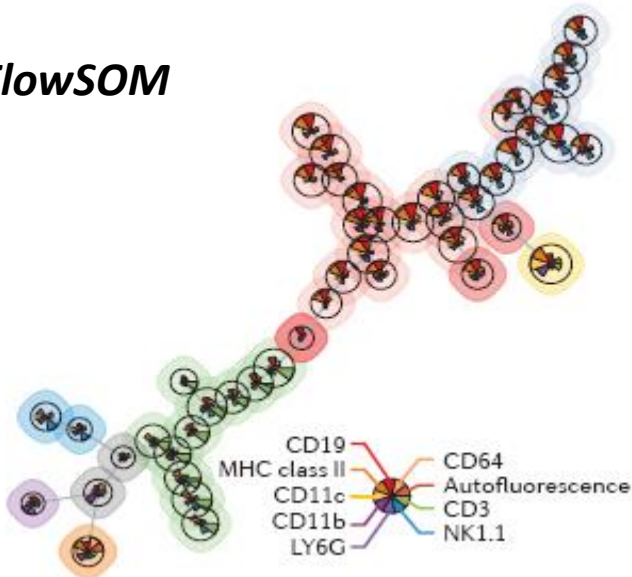
APS1



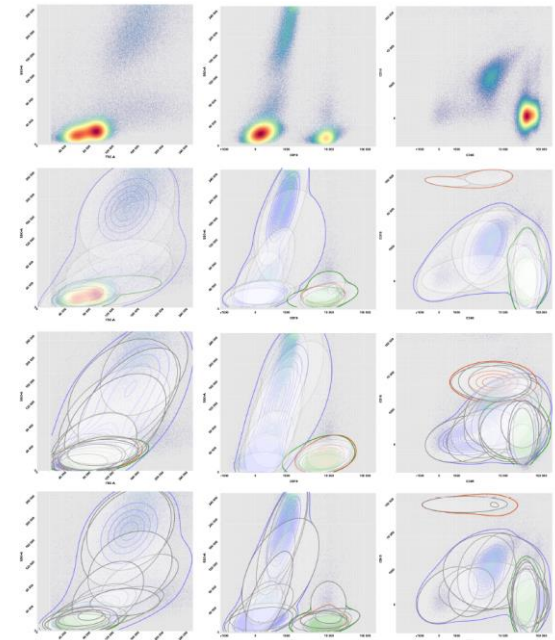
APS2



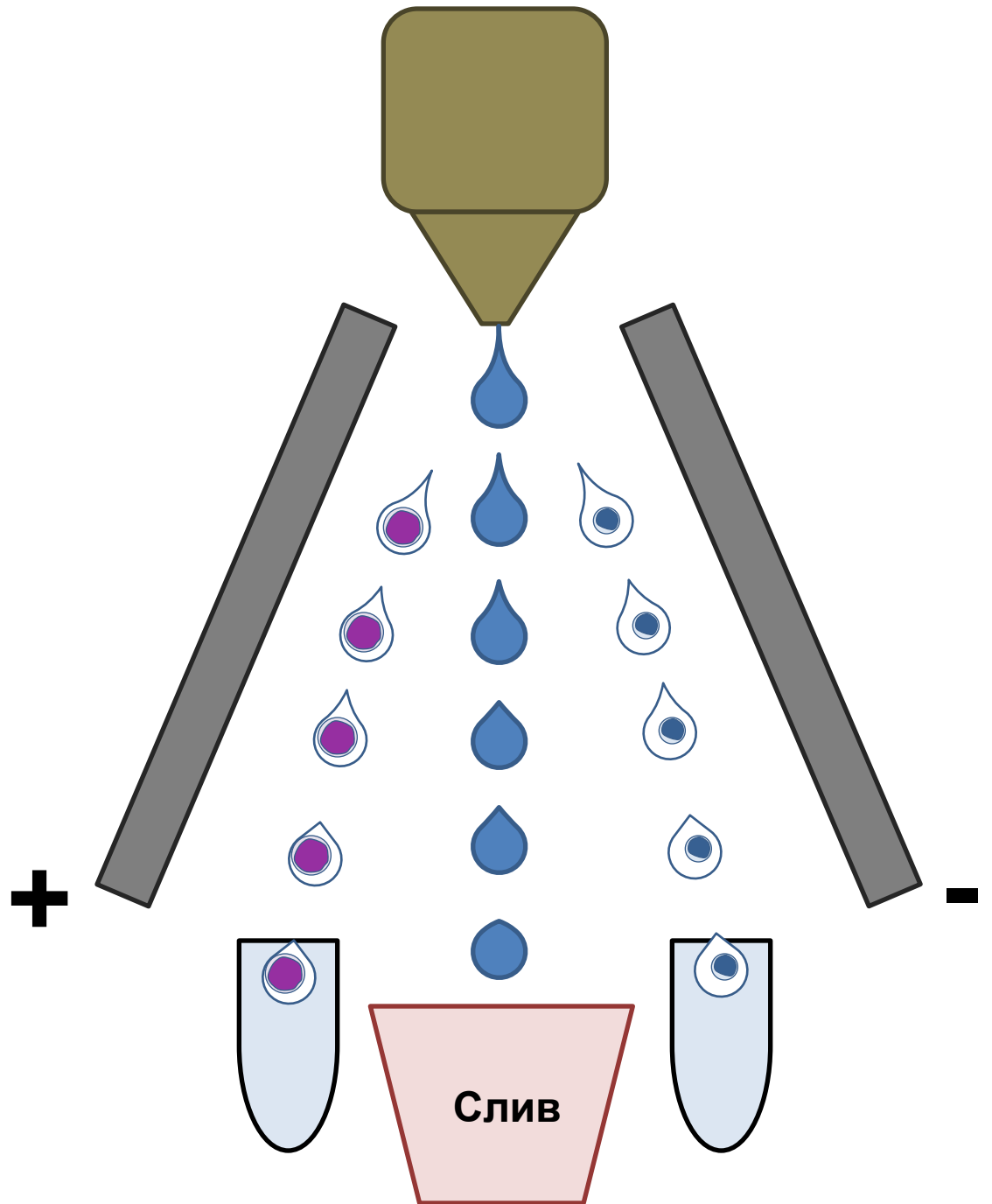
FlowSOM

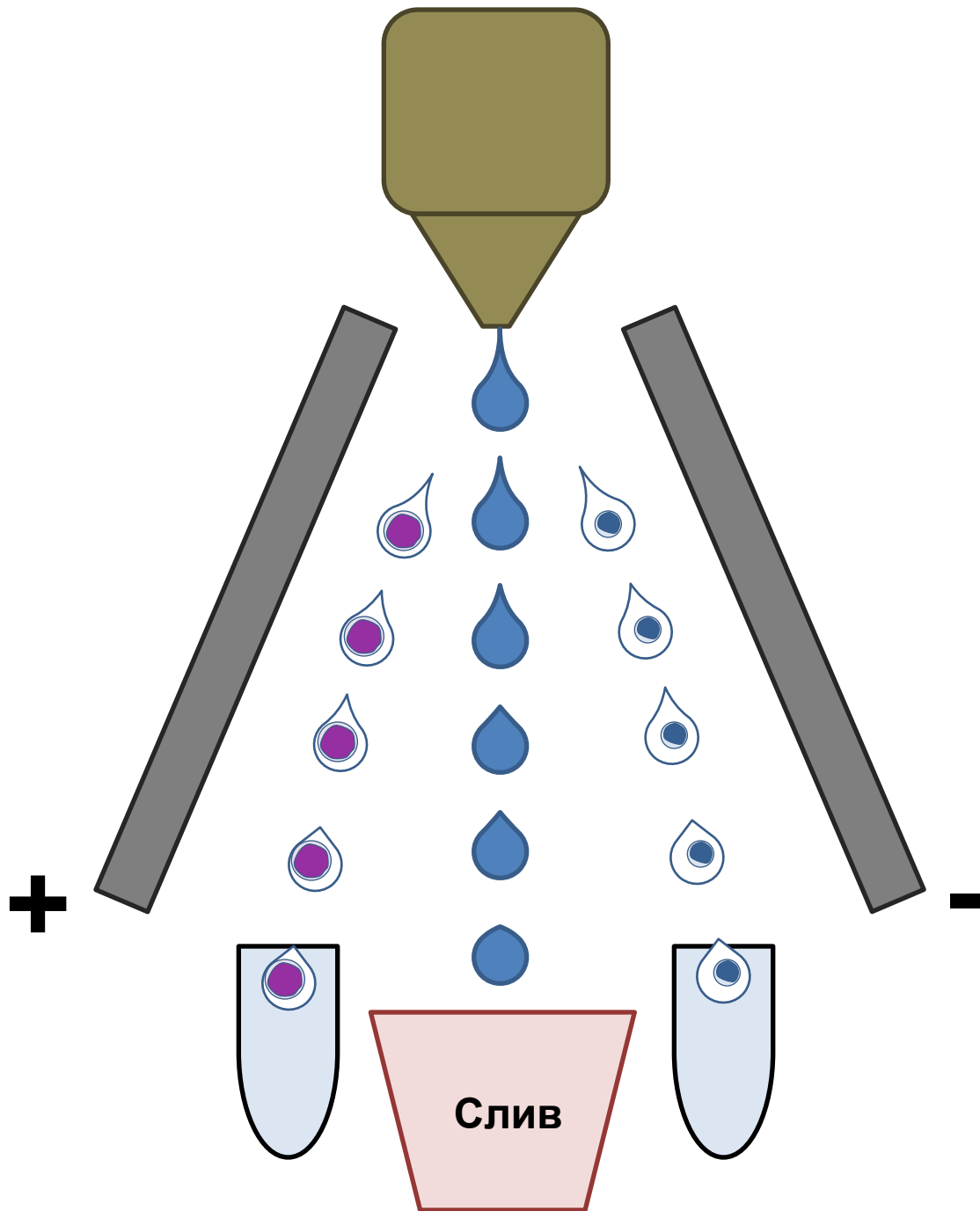
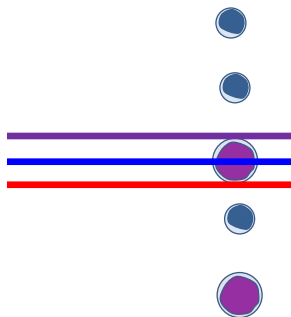


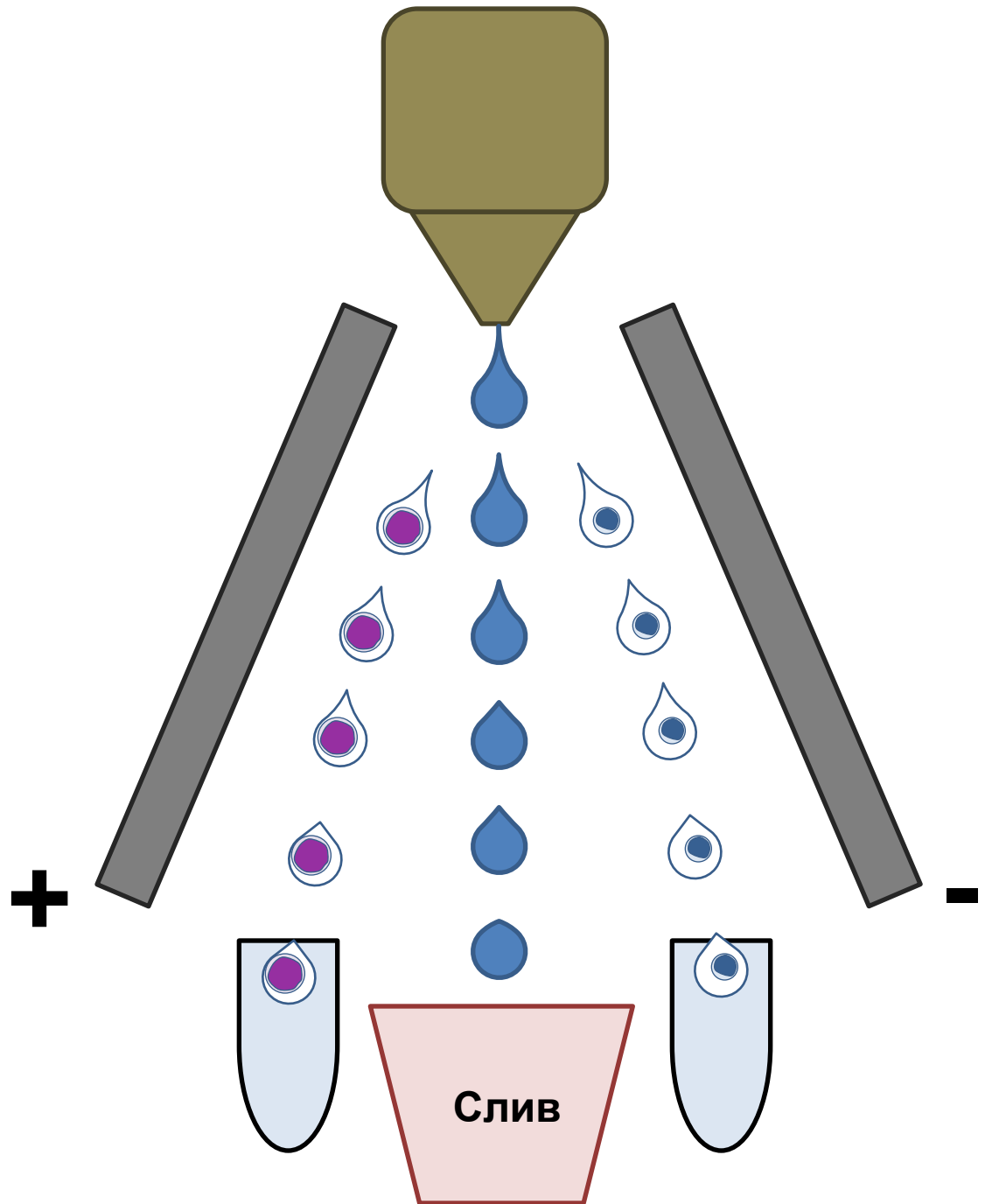
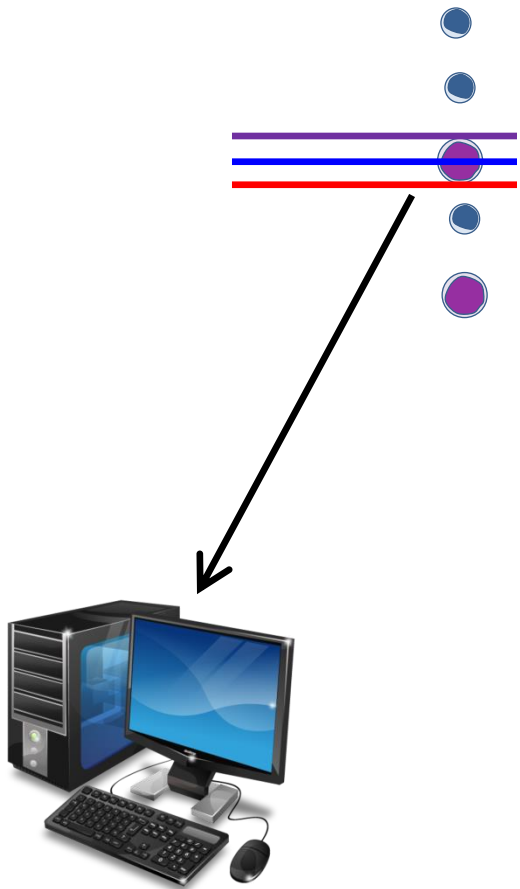
GMM

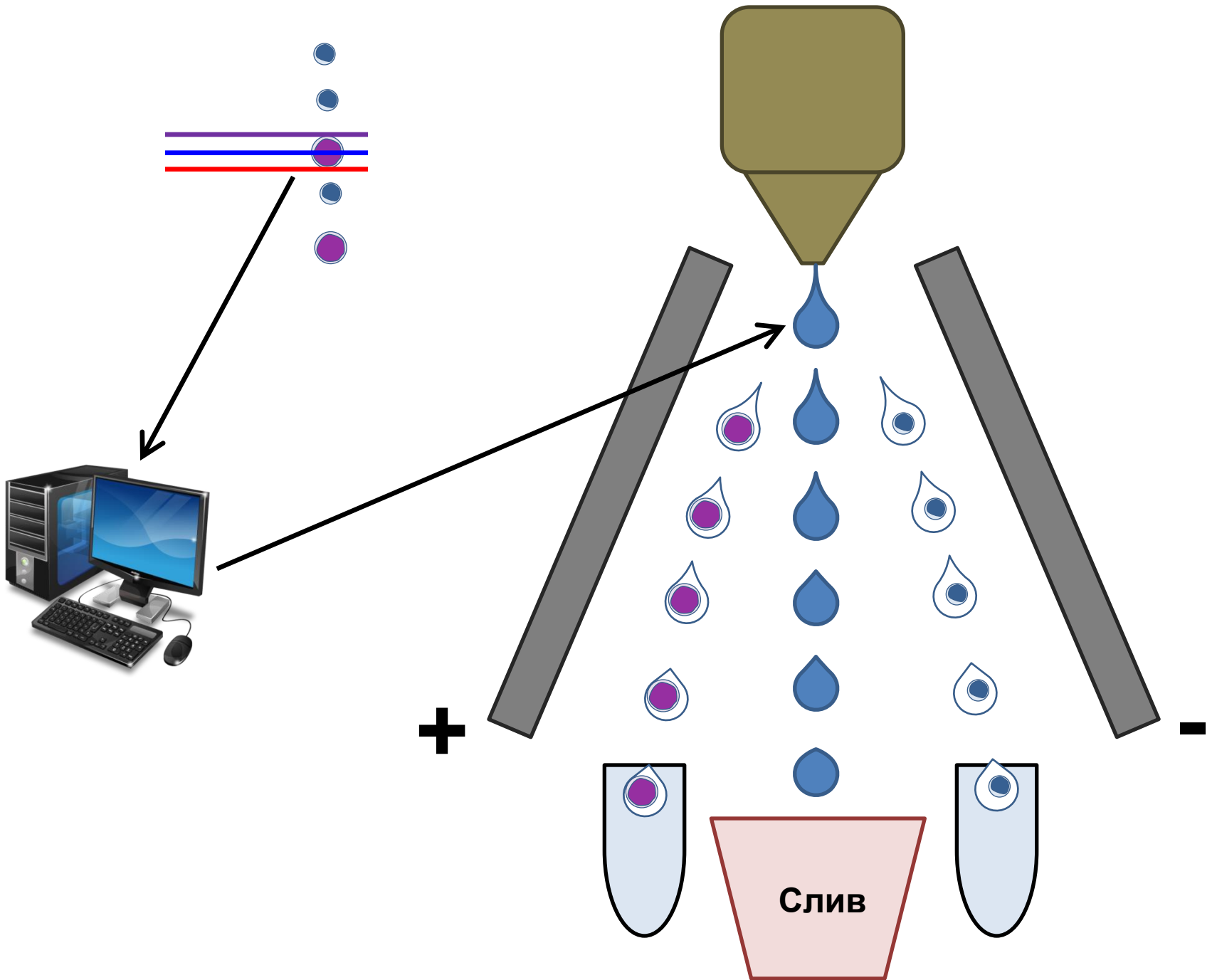


Проточная сортировка клеток

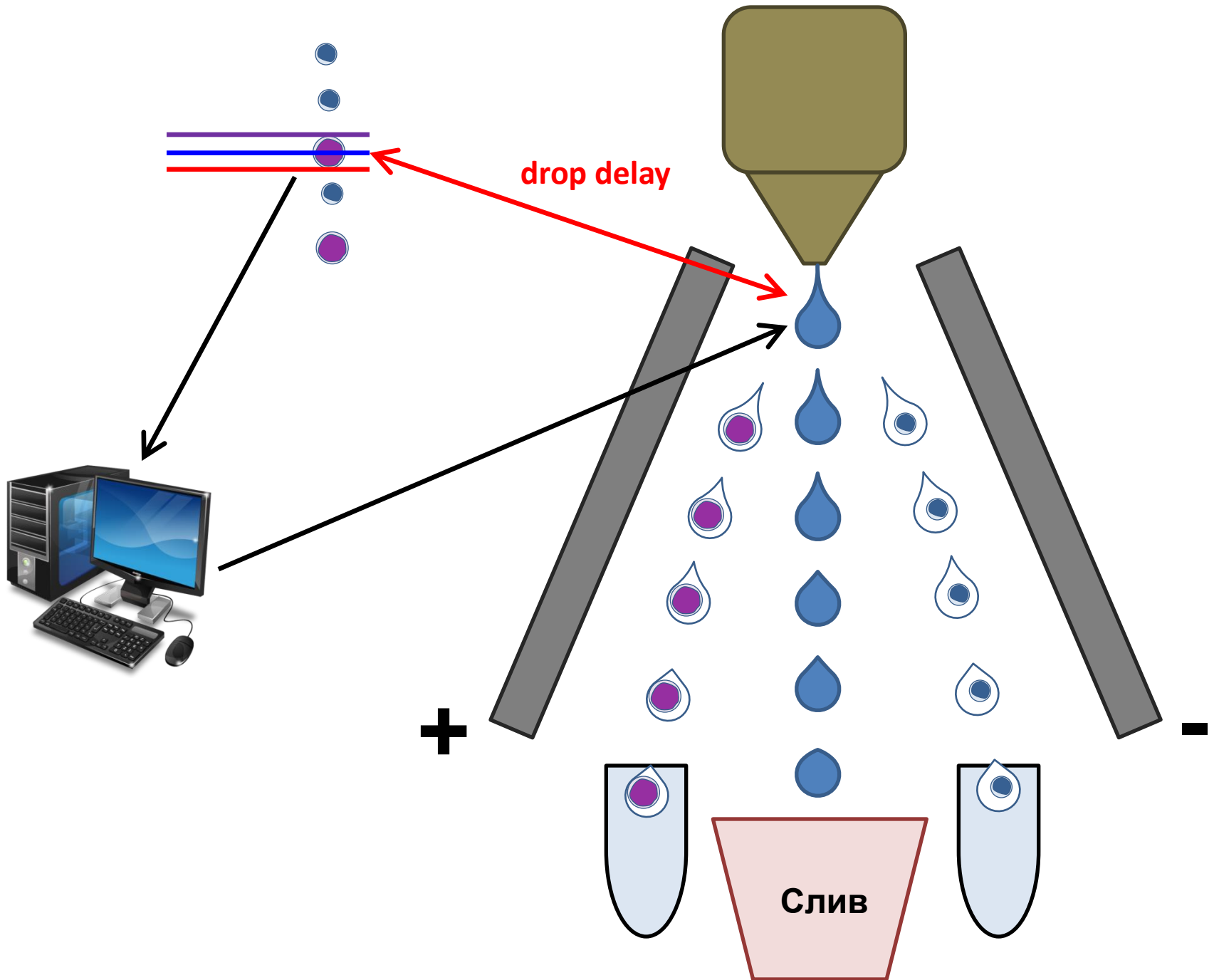


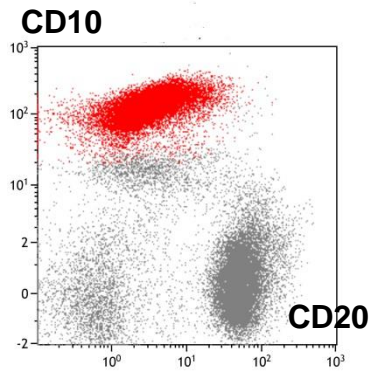
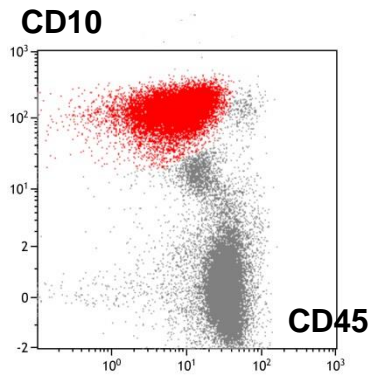
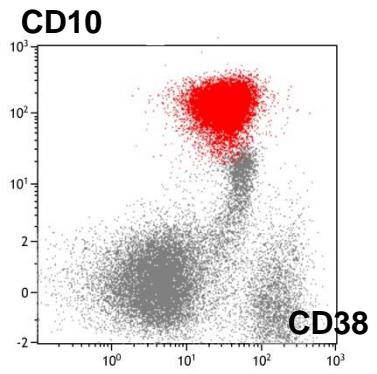


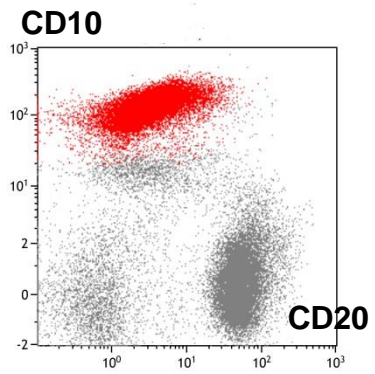
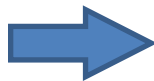
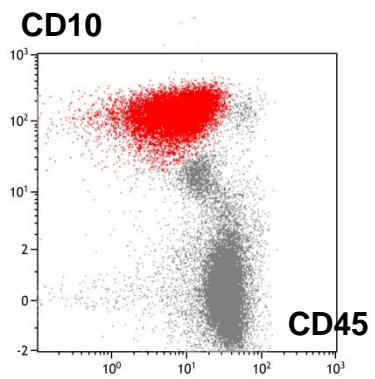
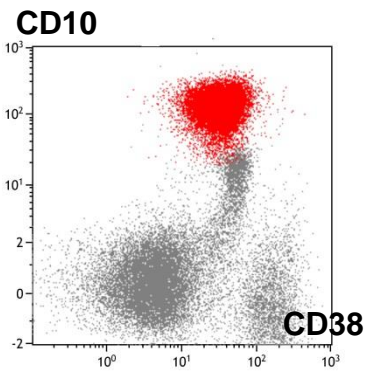


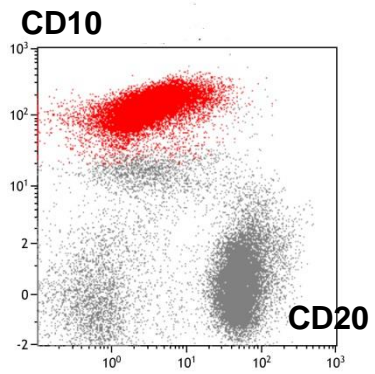
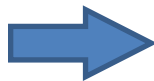
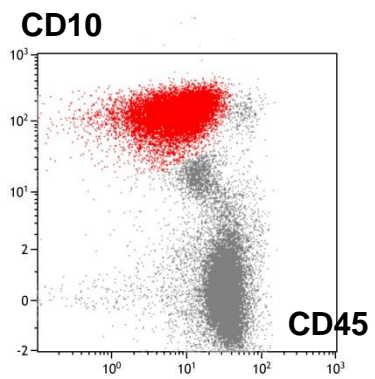
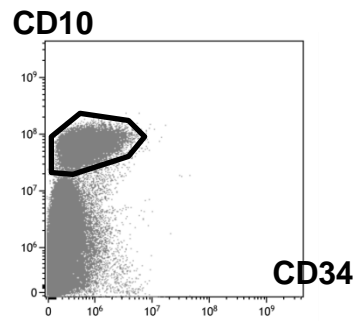
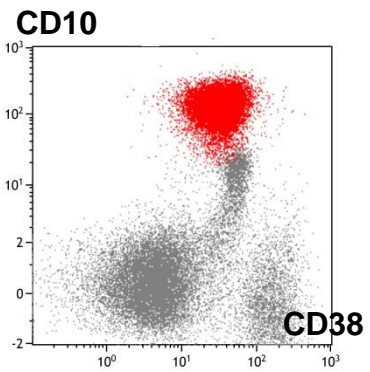


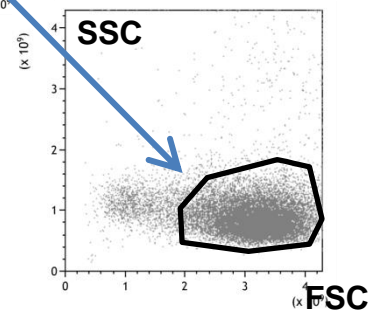
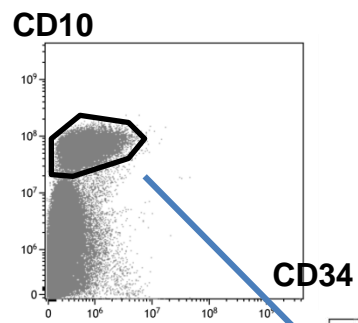
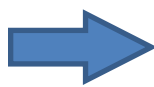
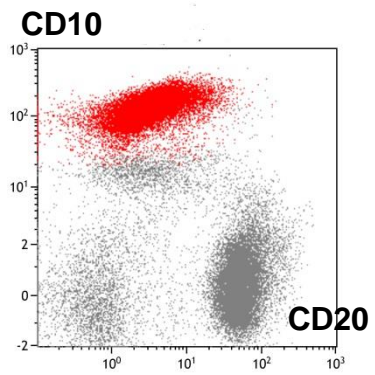
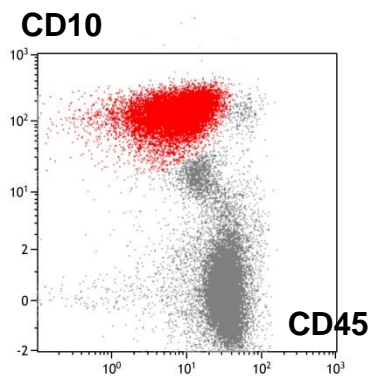
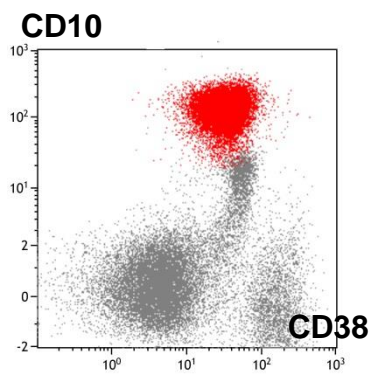
drop delay

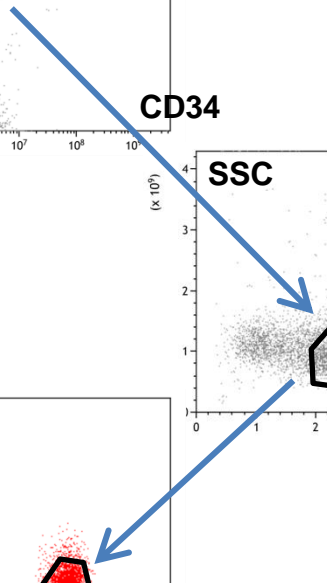
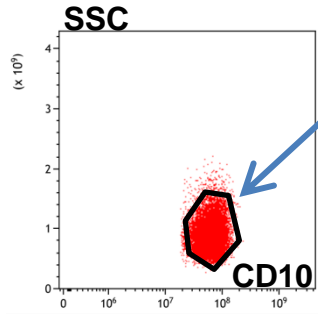
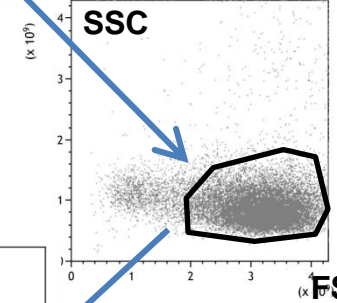
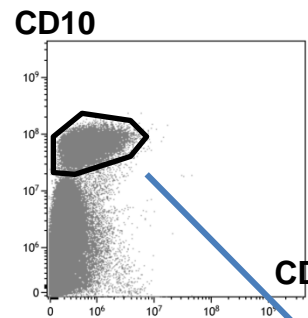
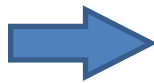
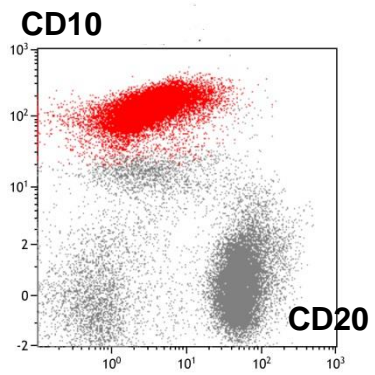
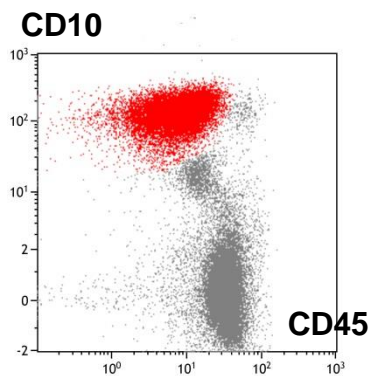
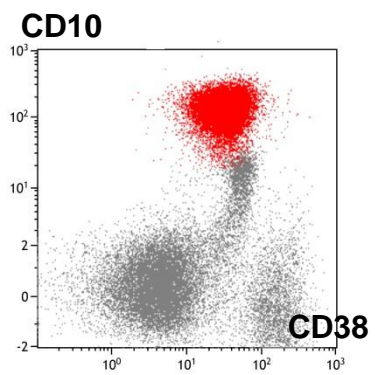


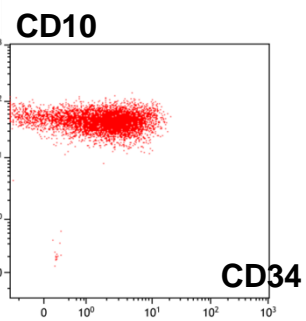
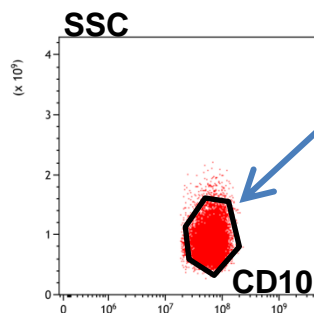
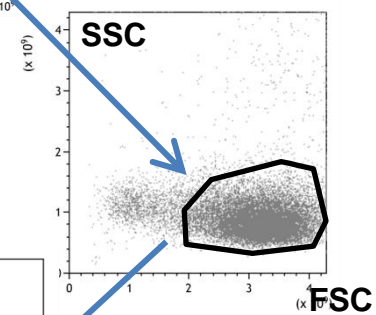
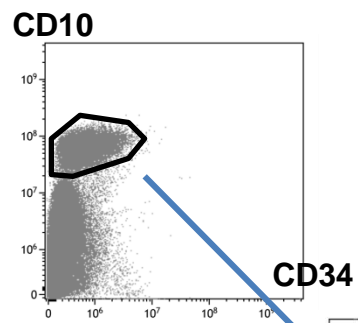
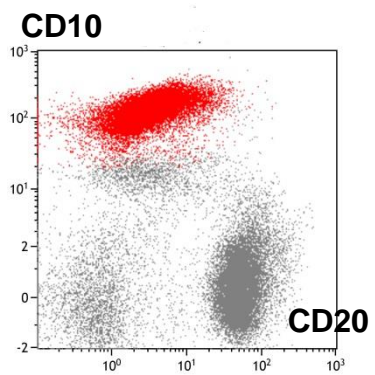
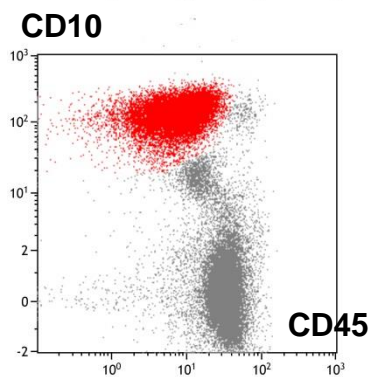
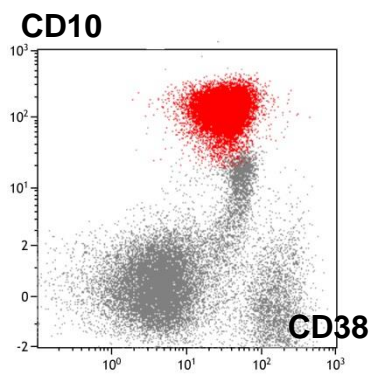




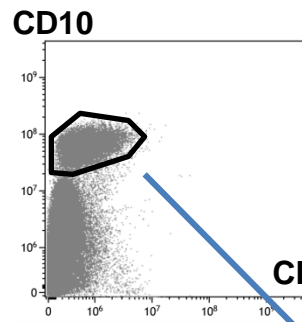
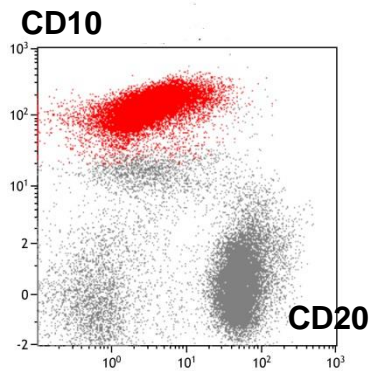
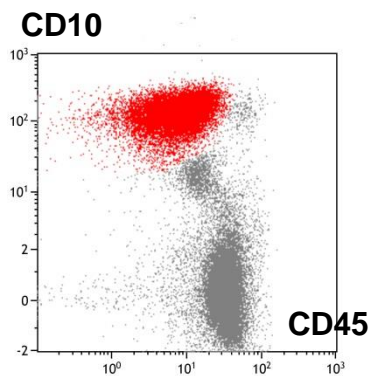
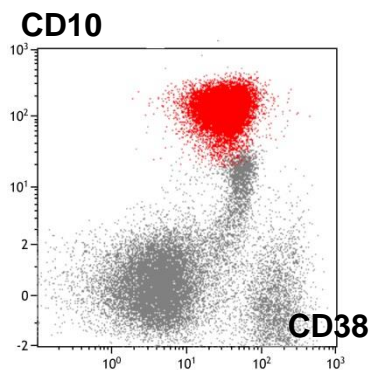




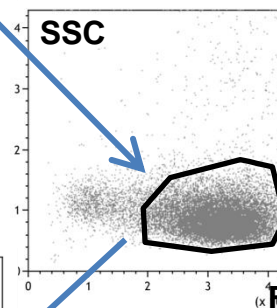




ДНК-цитометрия

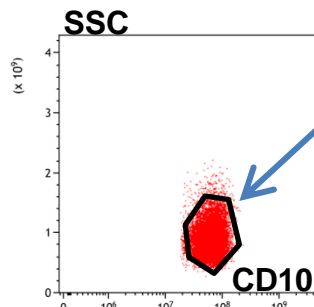


CD34



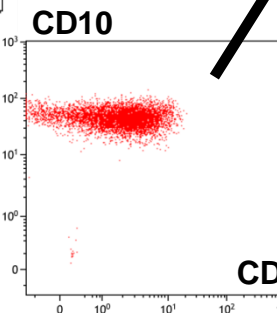
SSC

FSC



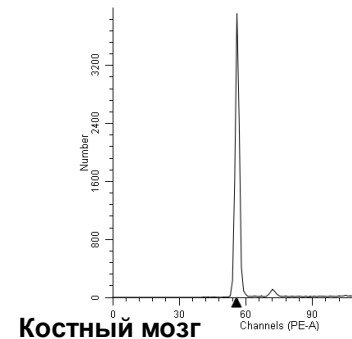
SSC

CD10

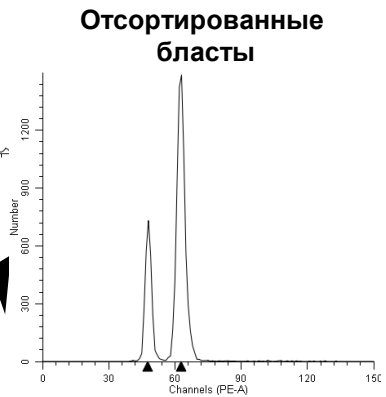


CD10

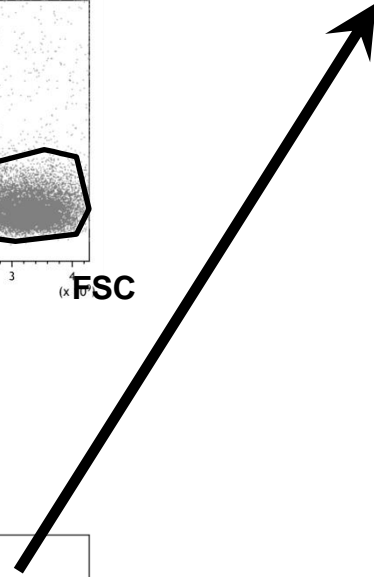
CD34



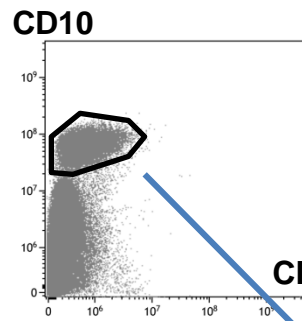
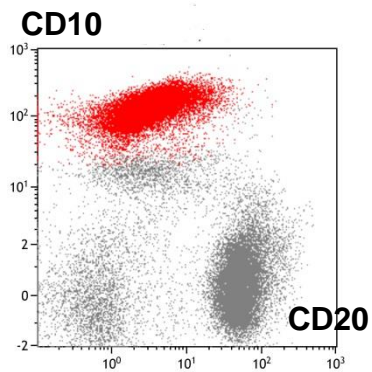
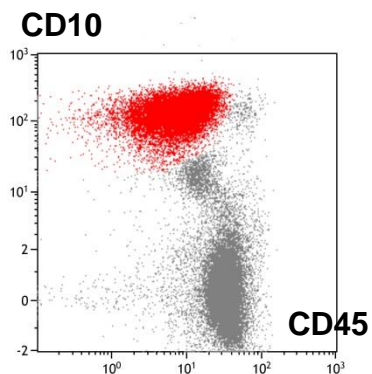
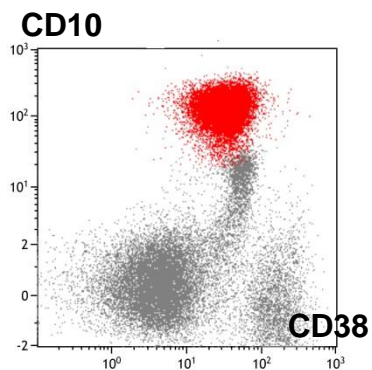
Костный мозг



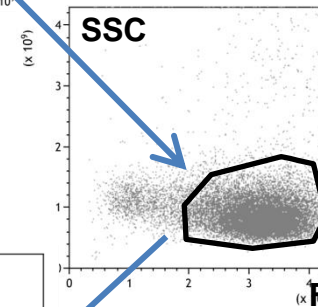
Отсортированные бласты



ДНК-цитометрия

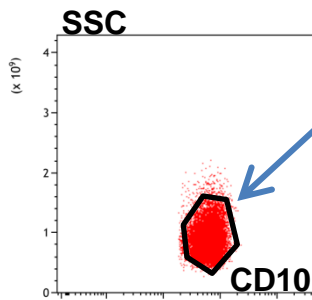


CD34



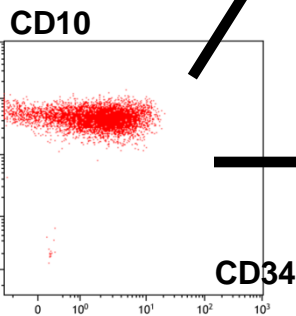
SSC

FSC



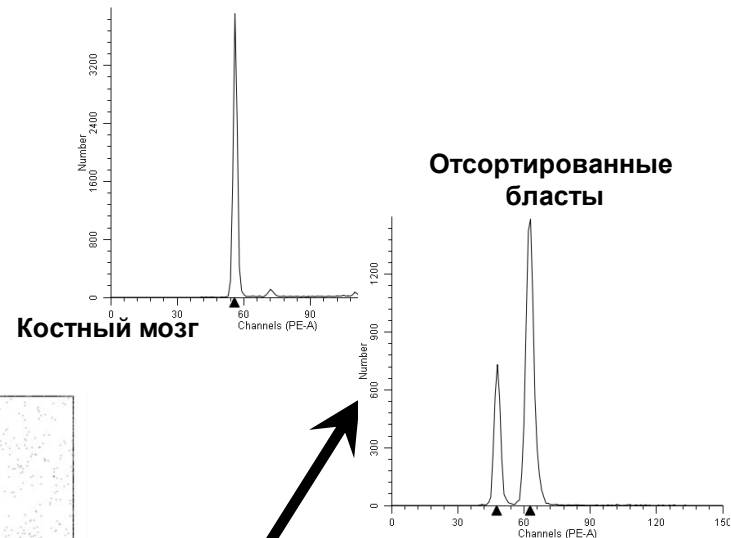
SSC

CD10



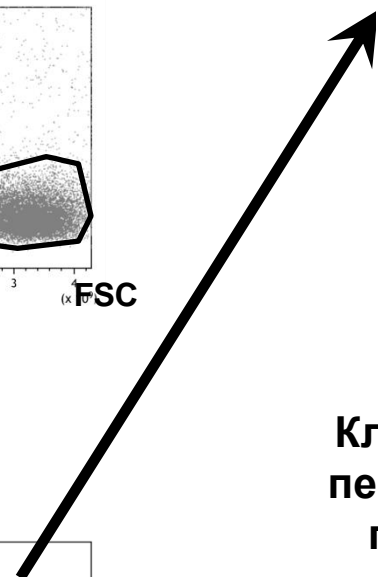
CD10

CD34

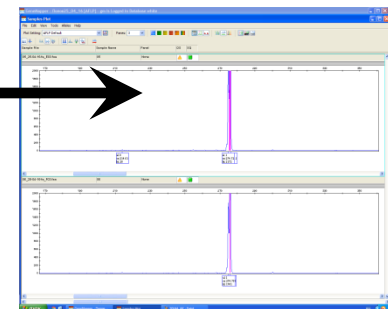


Костный мозг

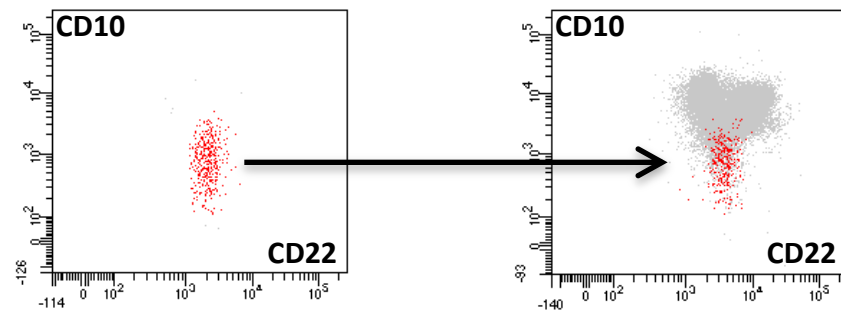
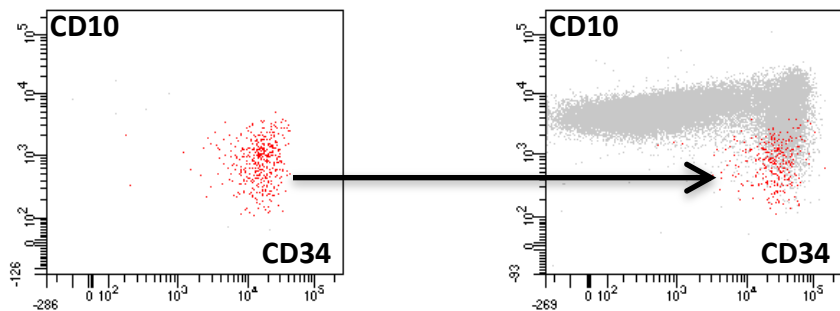
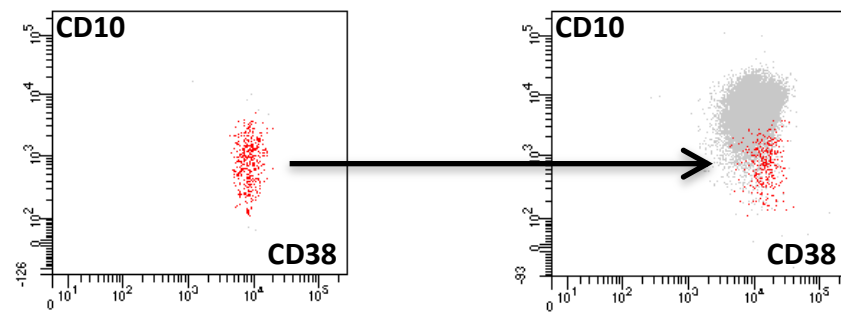
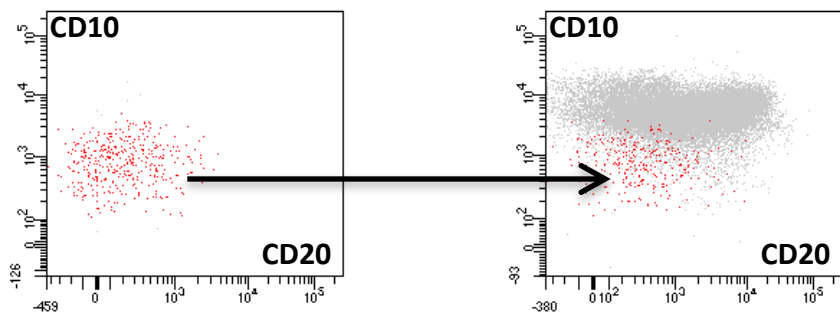
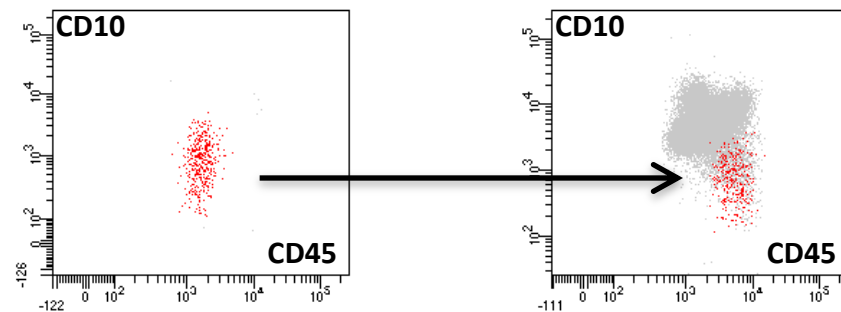
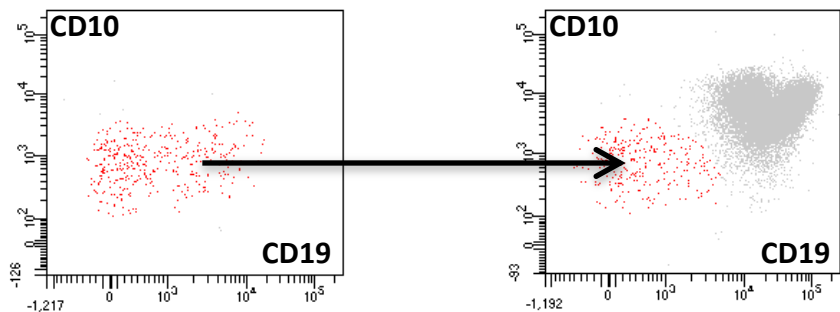
Отсортированные бласты



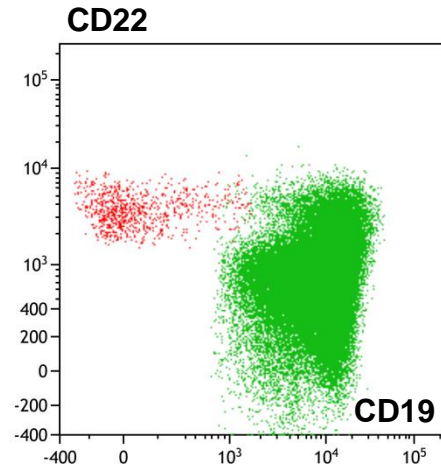
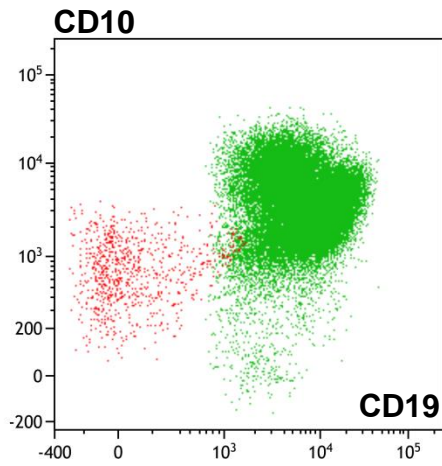
Клональные перестройки генов *IgH*



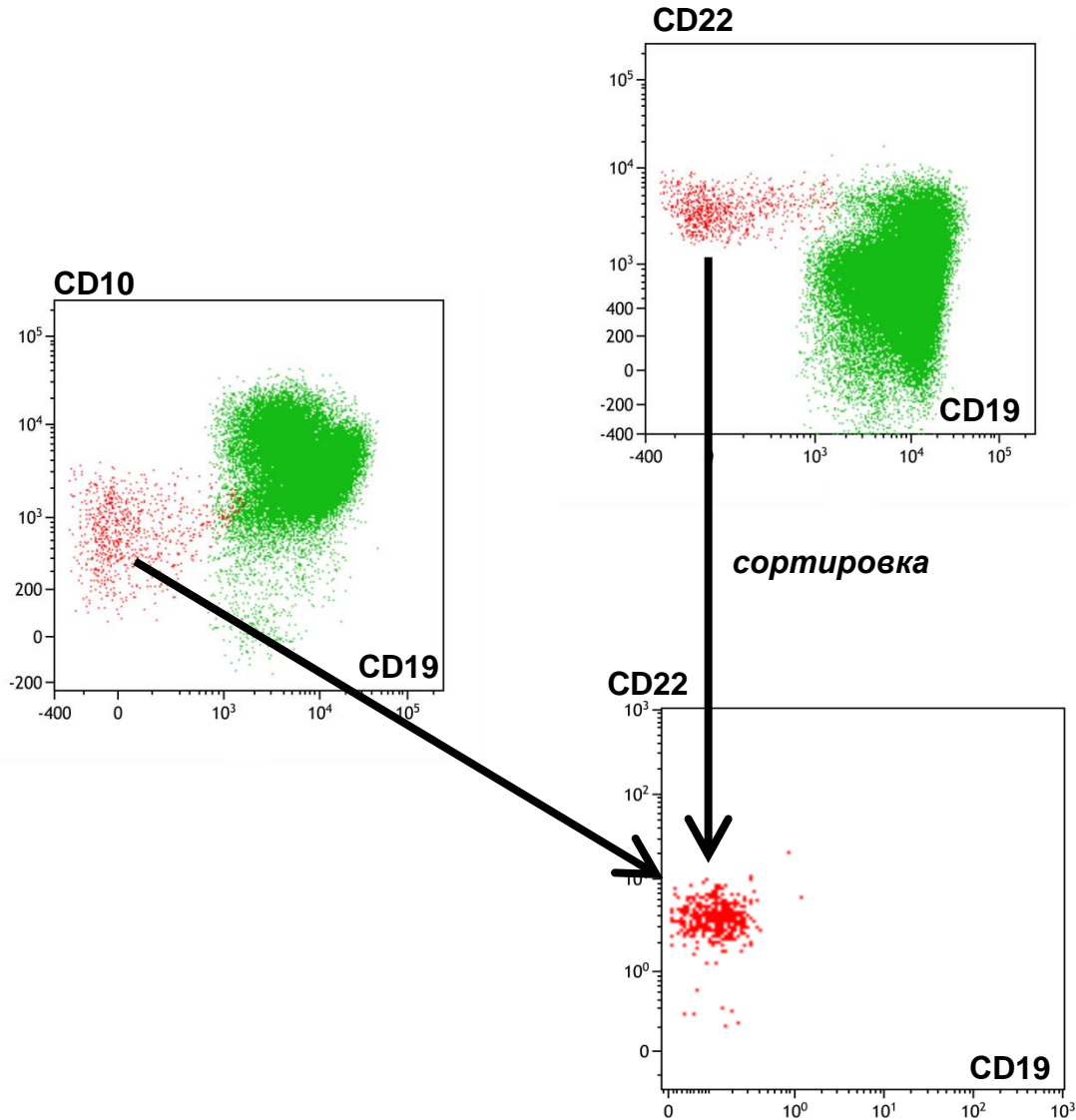
Мониторинг МОБ при терапии Блинатумумабом



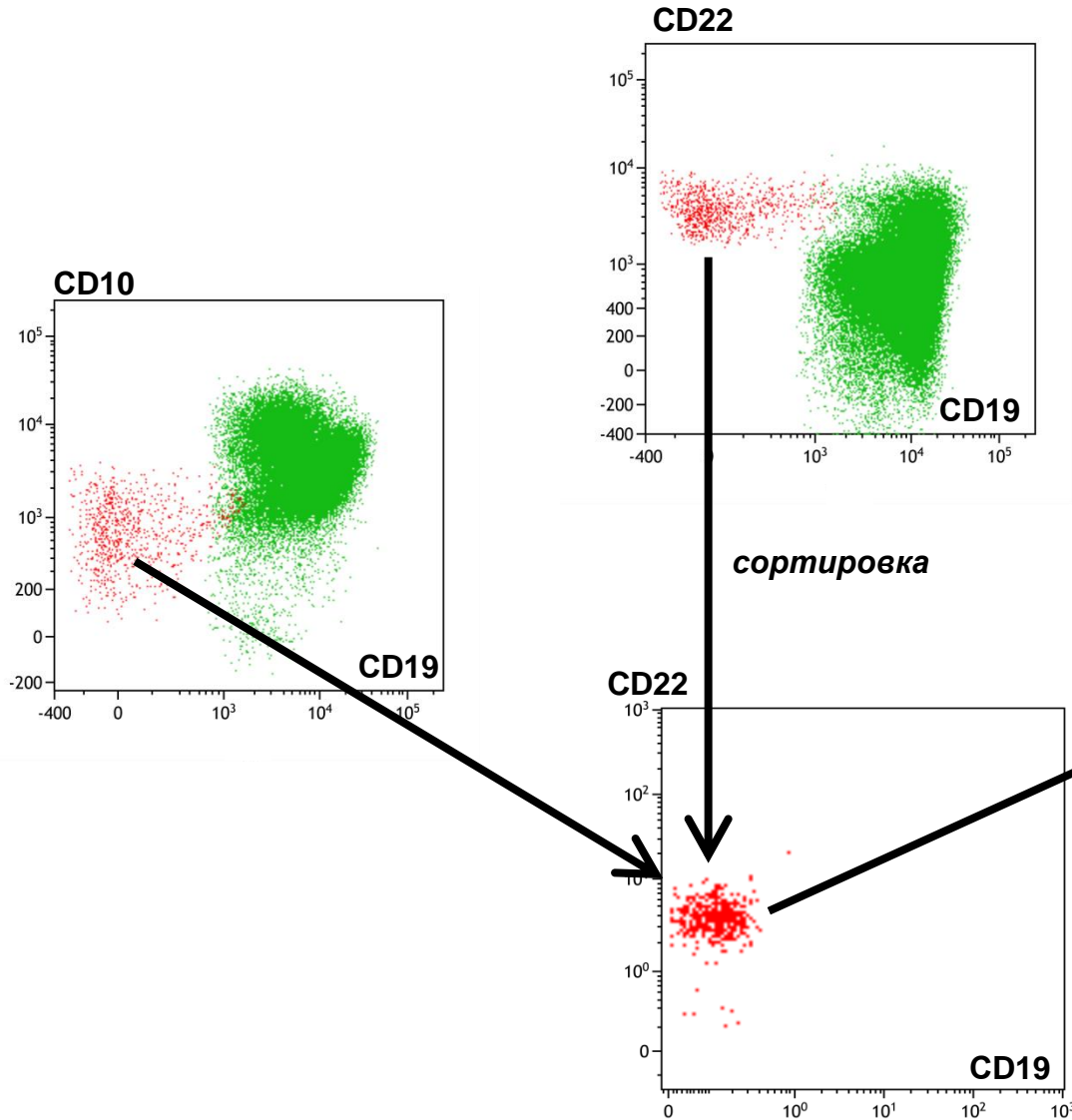
CD19-CD22+ клетки



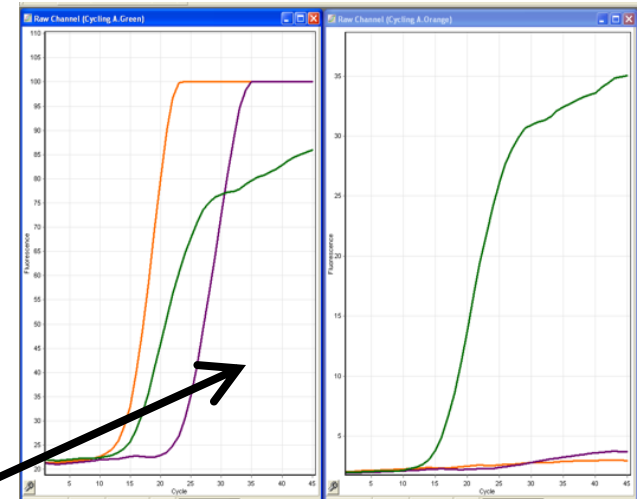
CD19-CD22+ клетки



CD19-CD22+ клетки

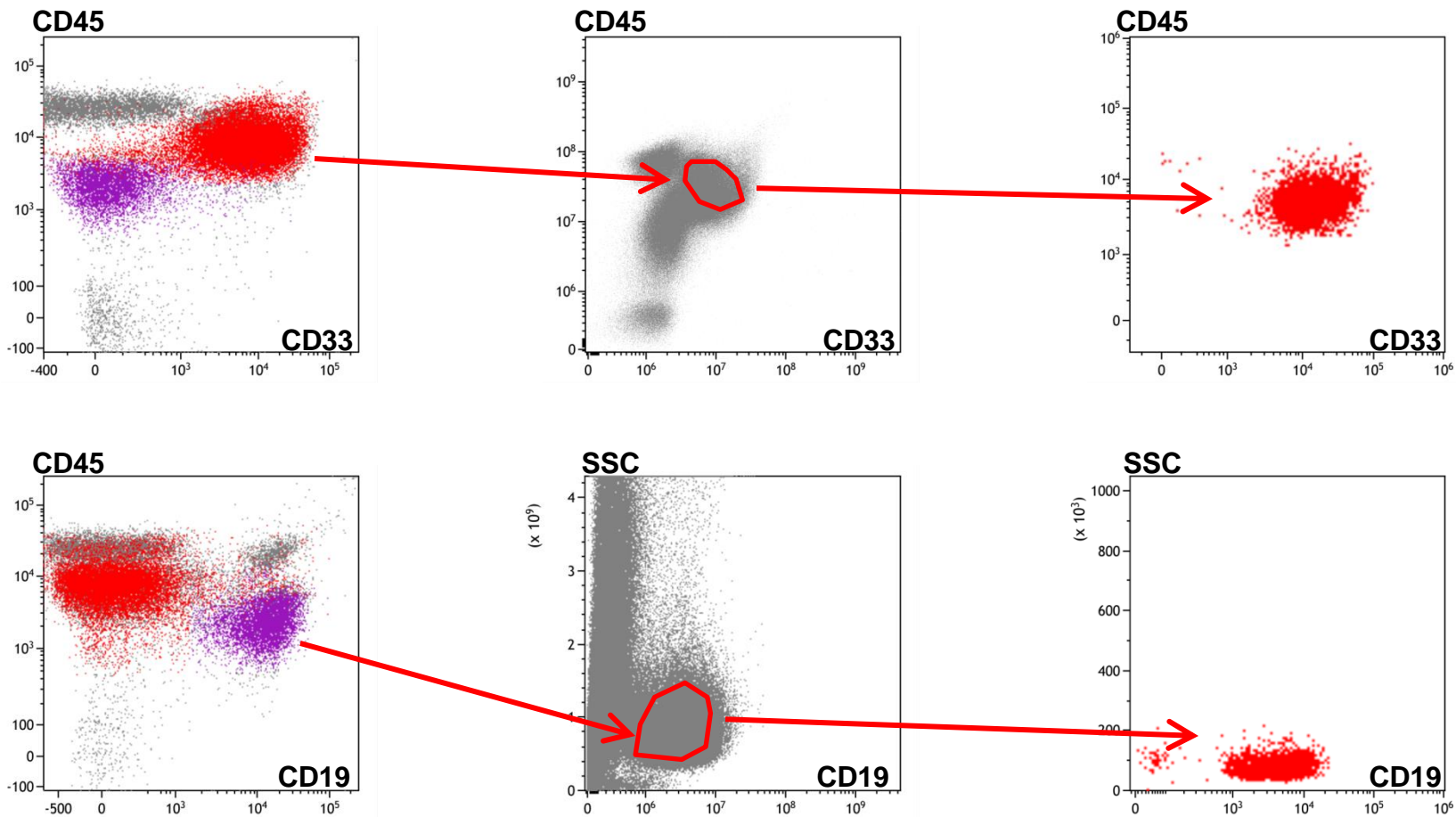


донорский химеризм – 97%

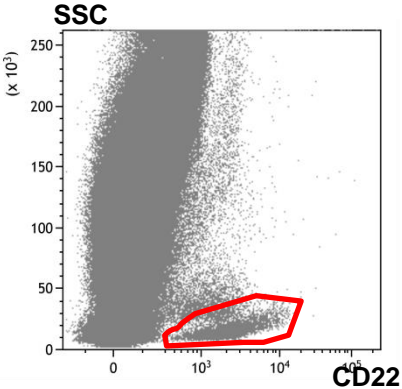


Сортер ≠ цитометр

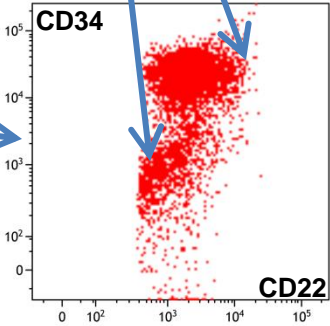
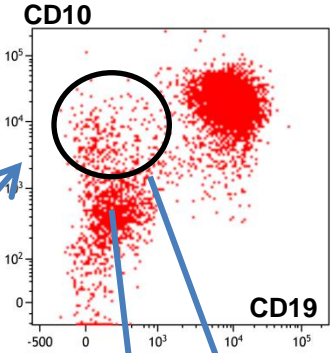
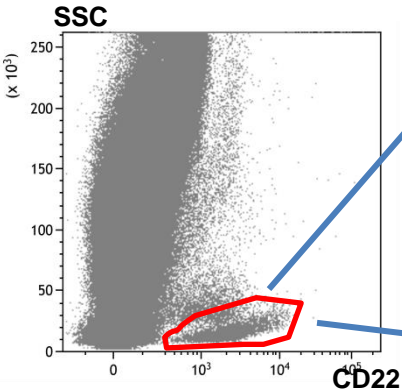
Сортер vs цитометр



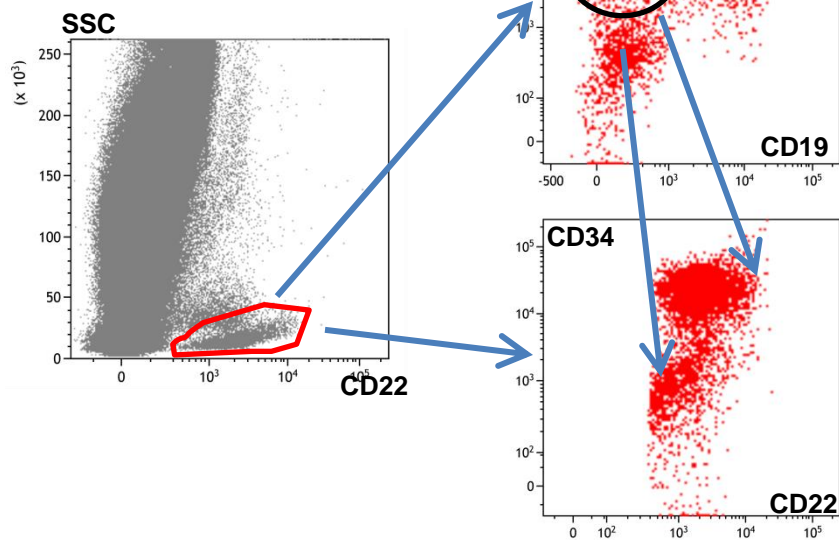
FACS Canto II



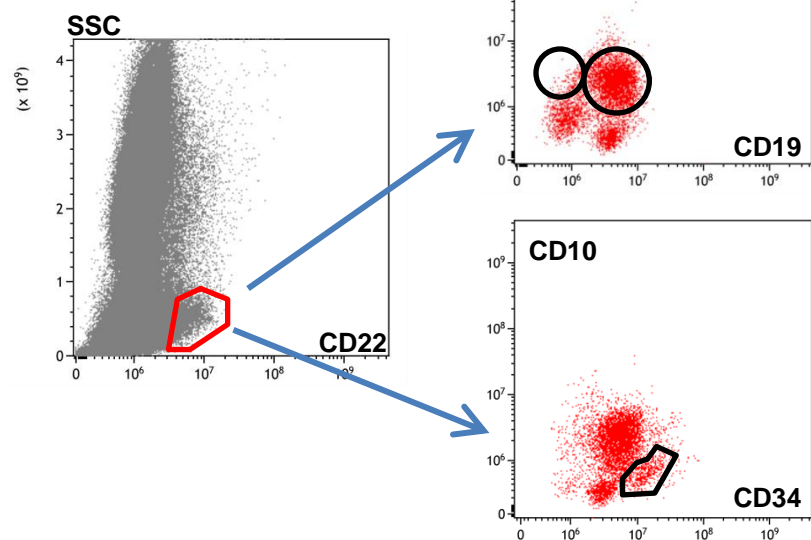
FACS Canto II



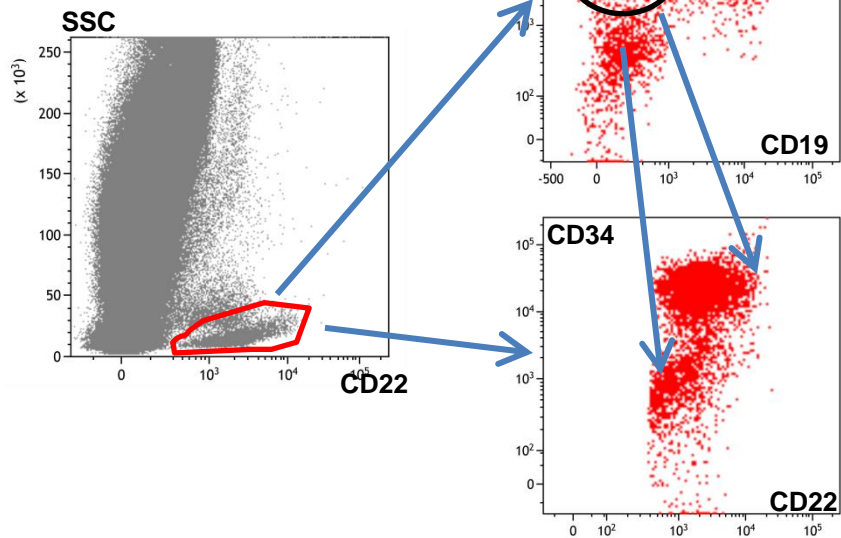
FACS Canto II



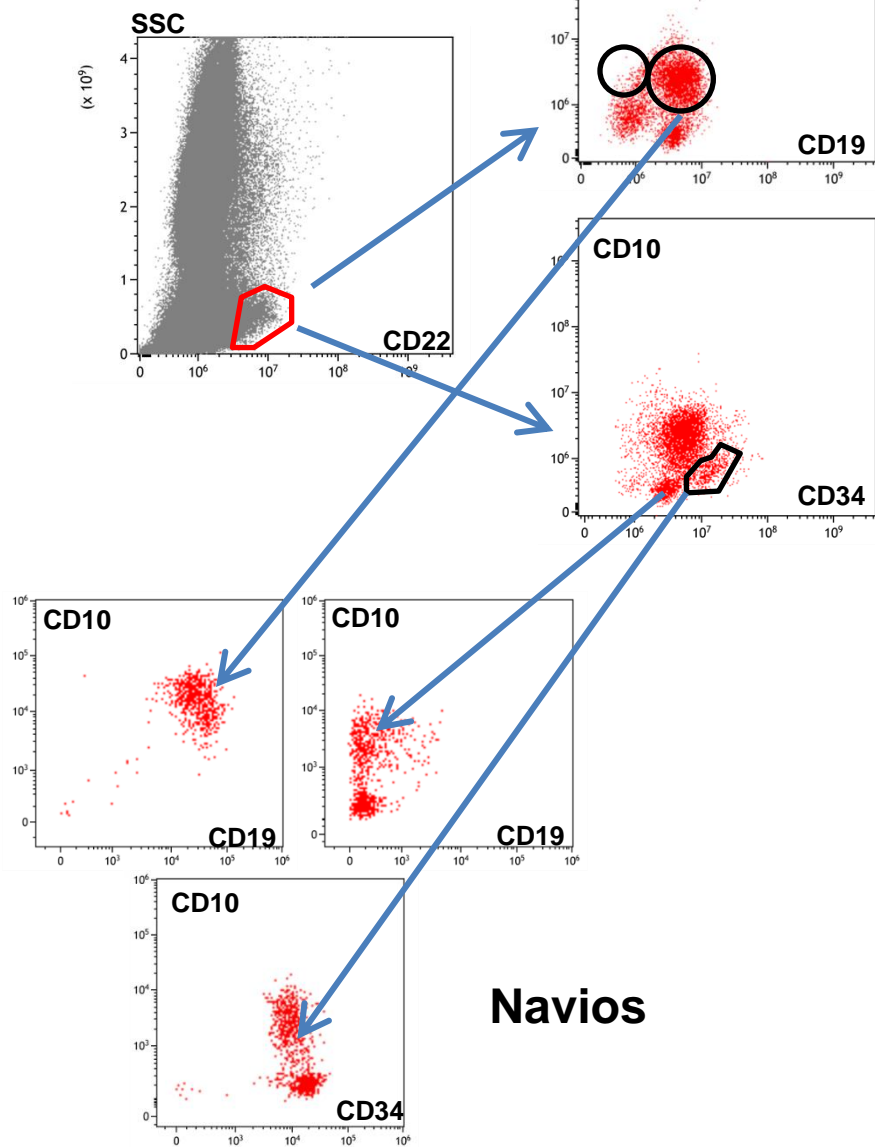
MoFlo XDP



FACS Canto II

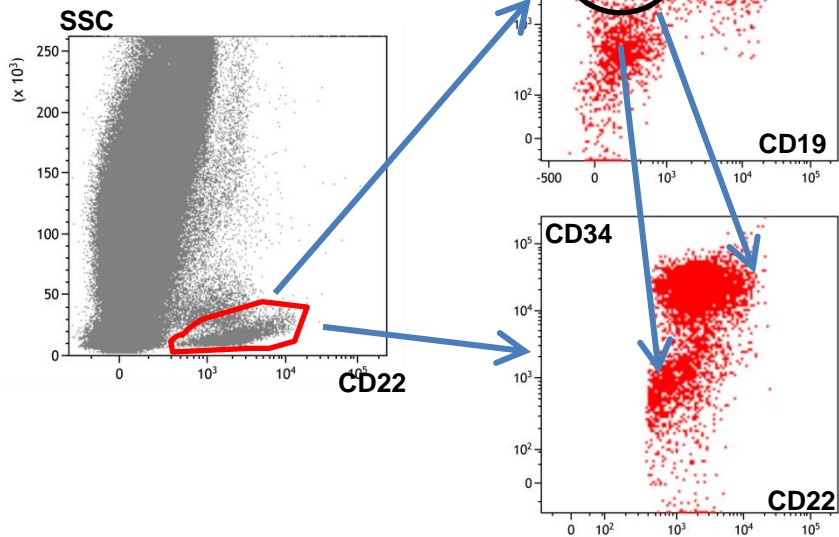


MoFlo XDP

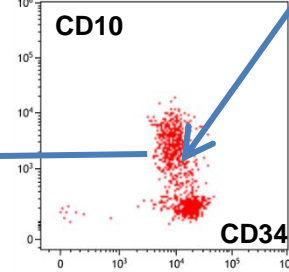
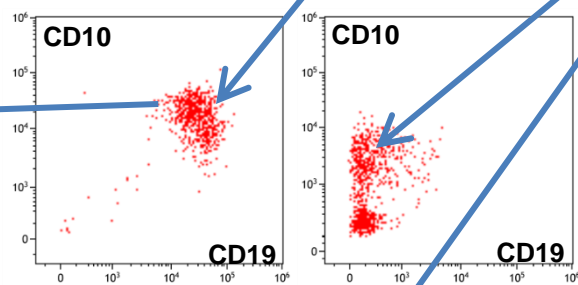
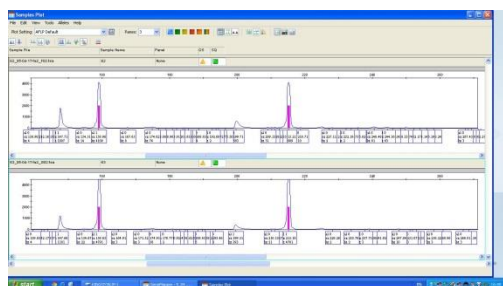
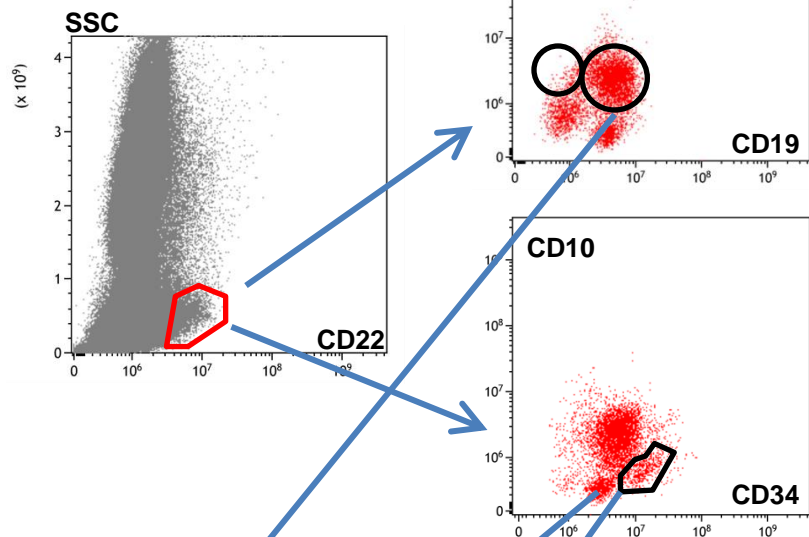


Navios

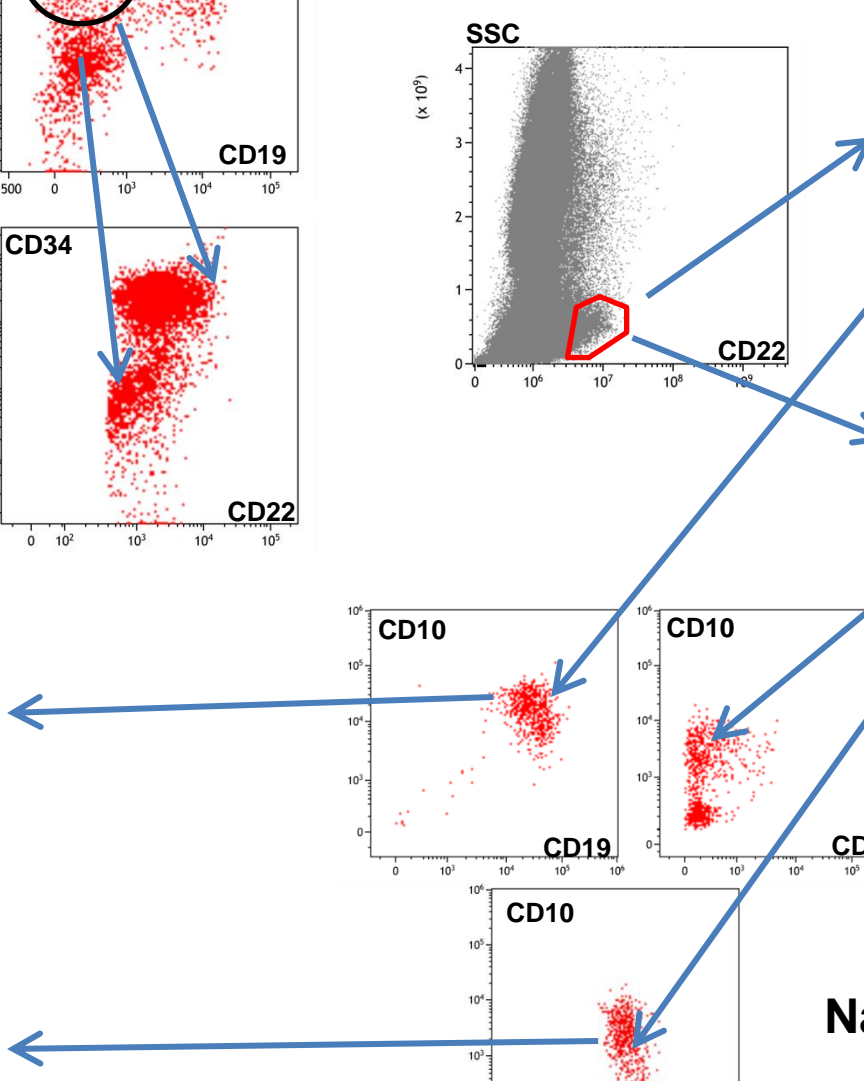
FACS Canto II



MoFlo XDP

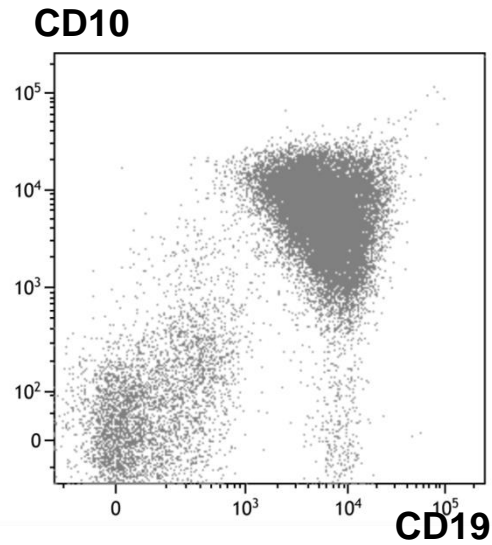


Navios

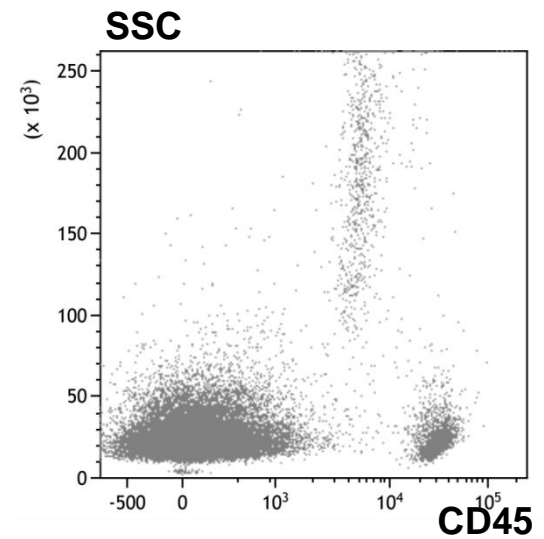
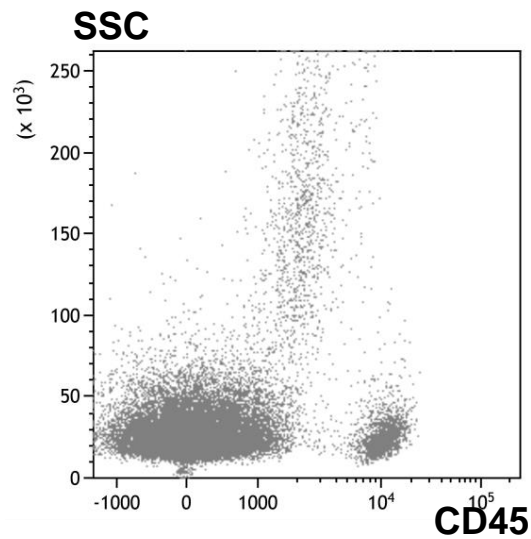
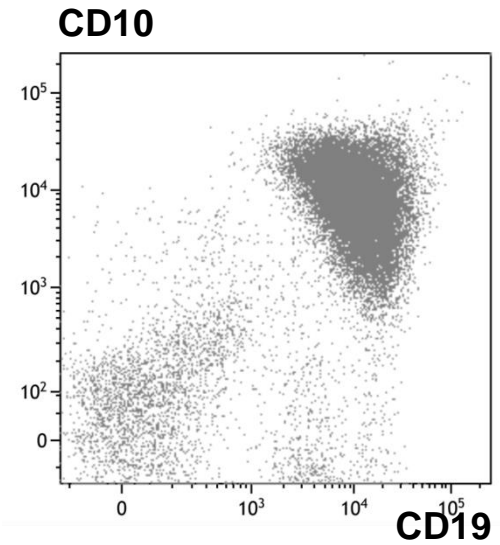


Сортер vs цитометр

FACS Aria

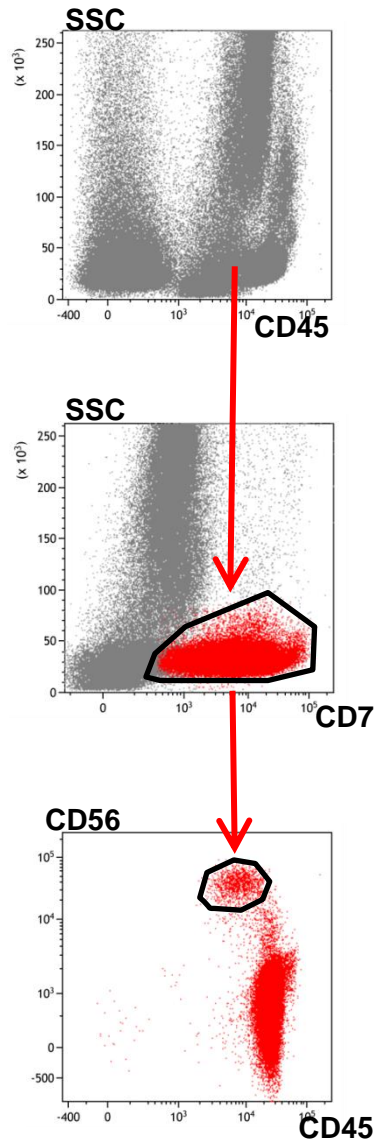


FACS Canto II



Пациент М. (плевральный выпот)

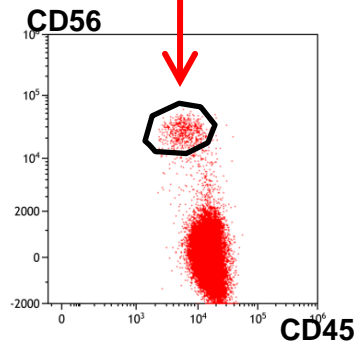
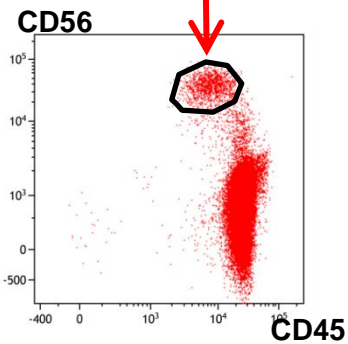
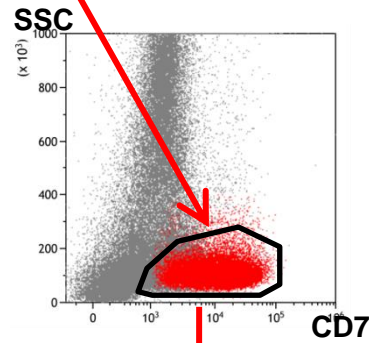
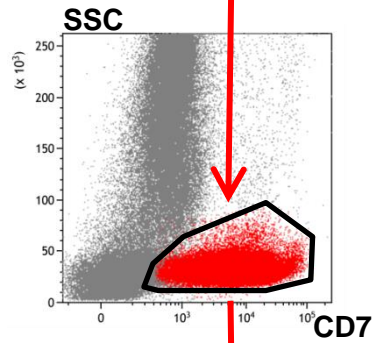
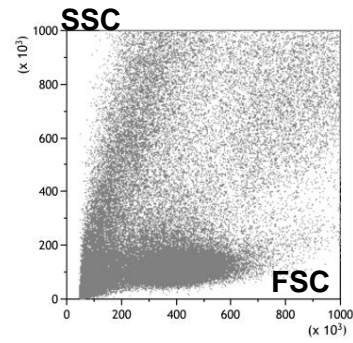
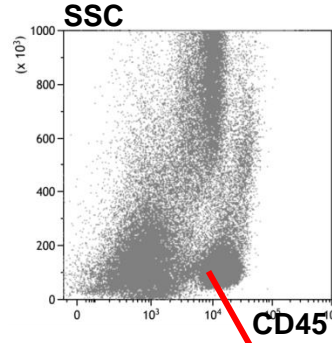
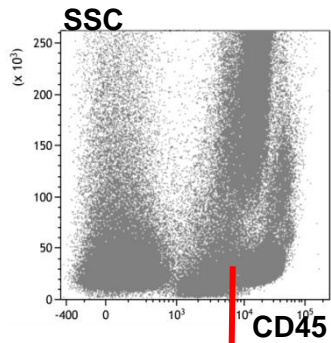
FACS Canto II



Пациент М. (плевральный выпот)

FACS Canto II

SH800

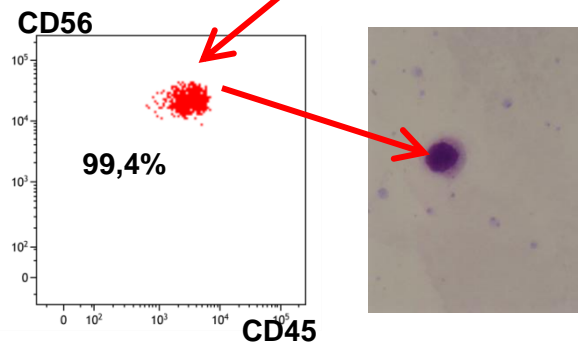
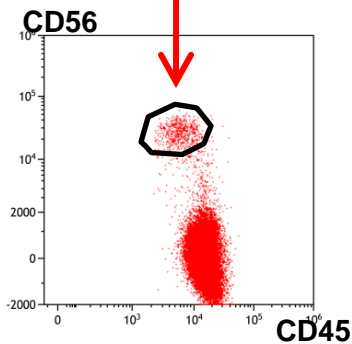
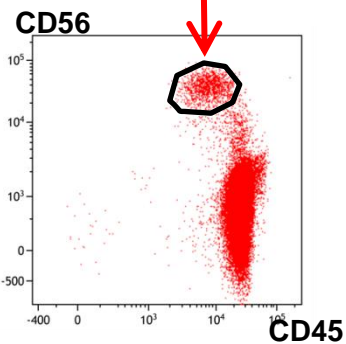
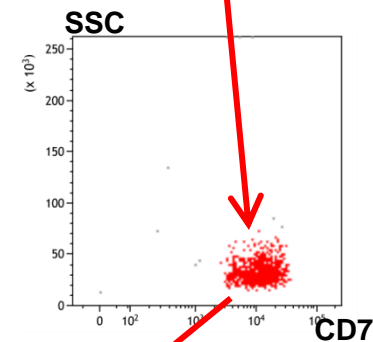
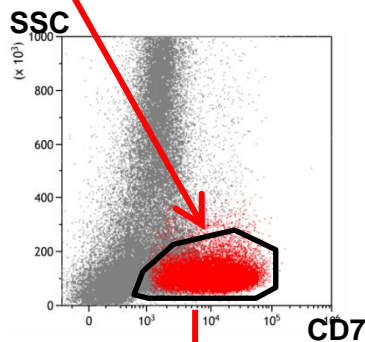
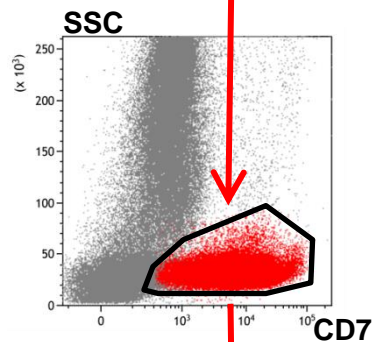
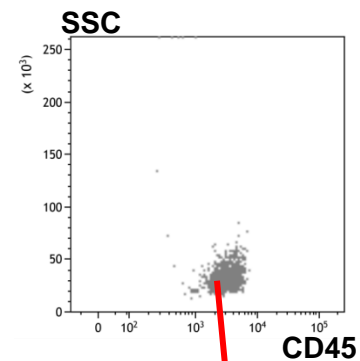
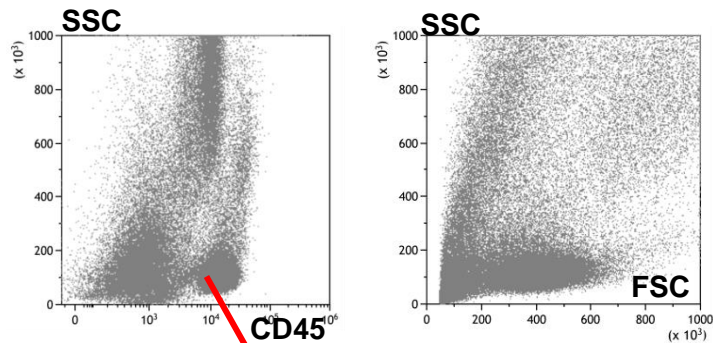
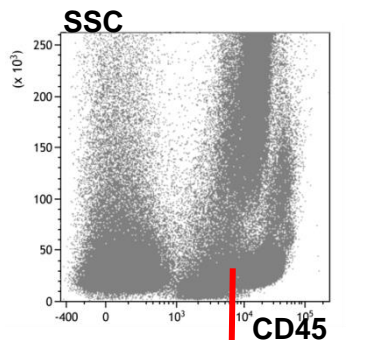


Пациент М. (плевральный выпот)

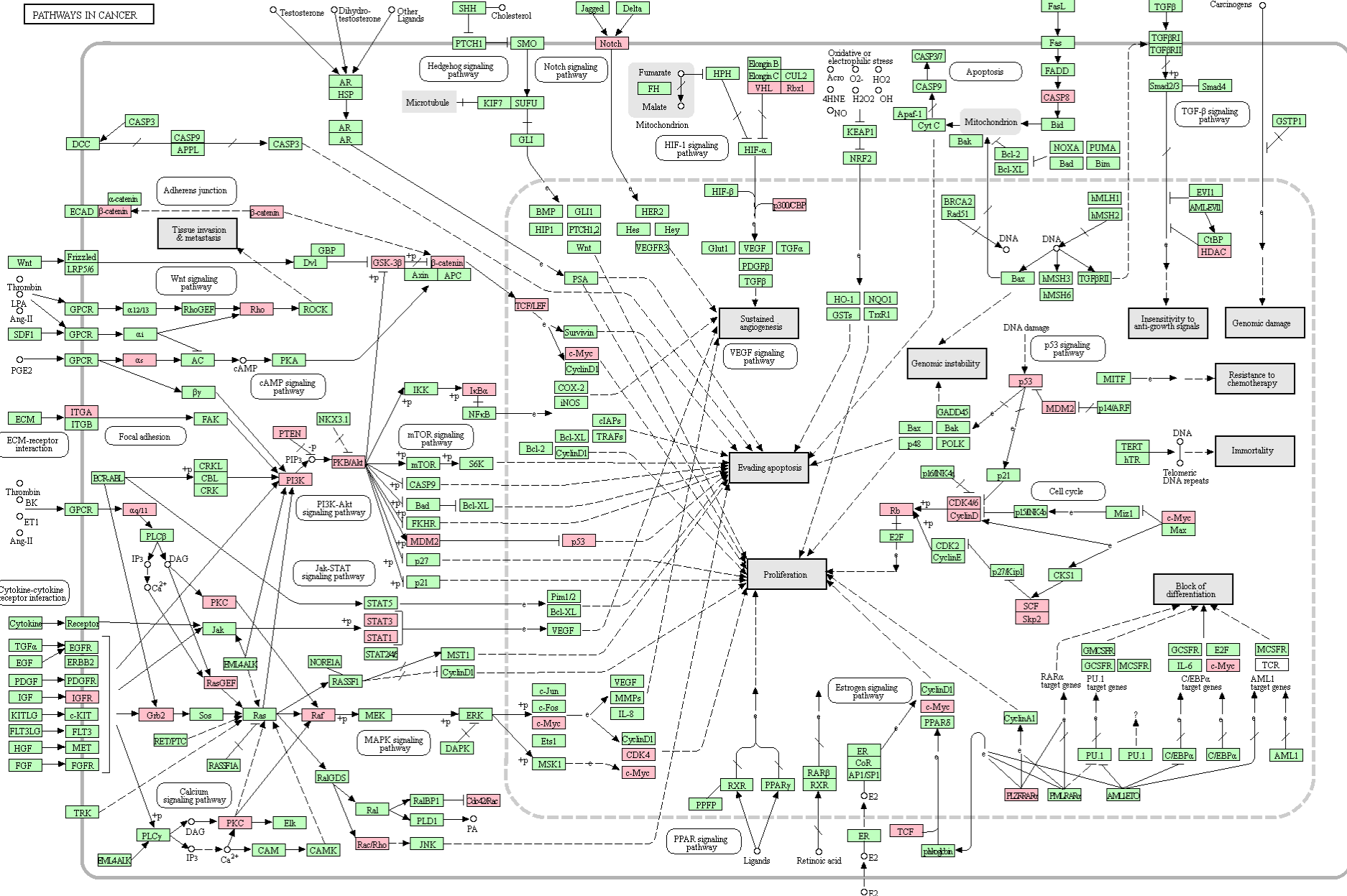
FACS Canto II

SH800

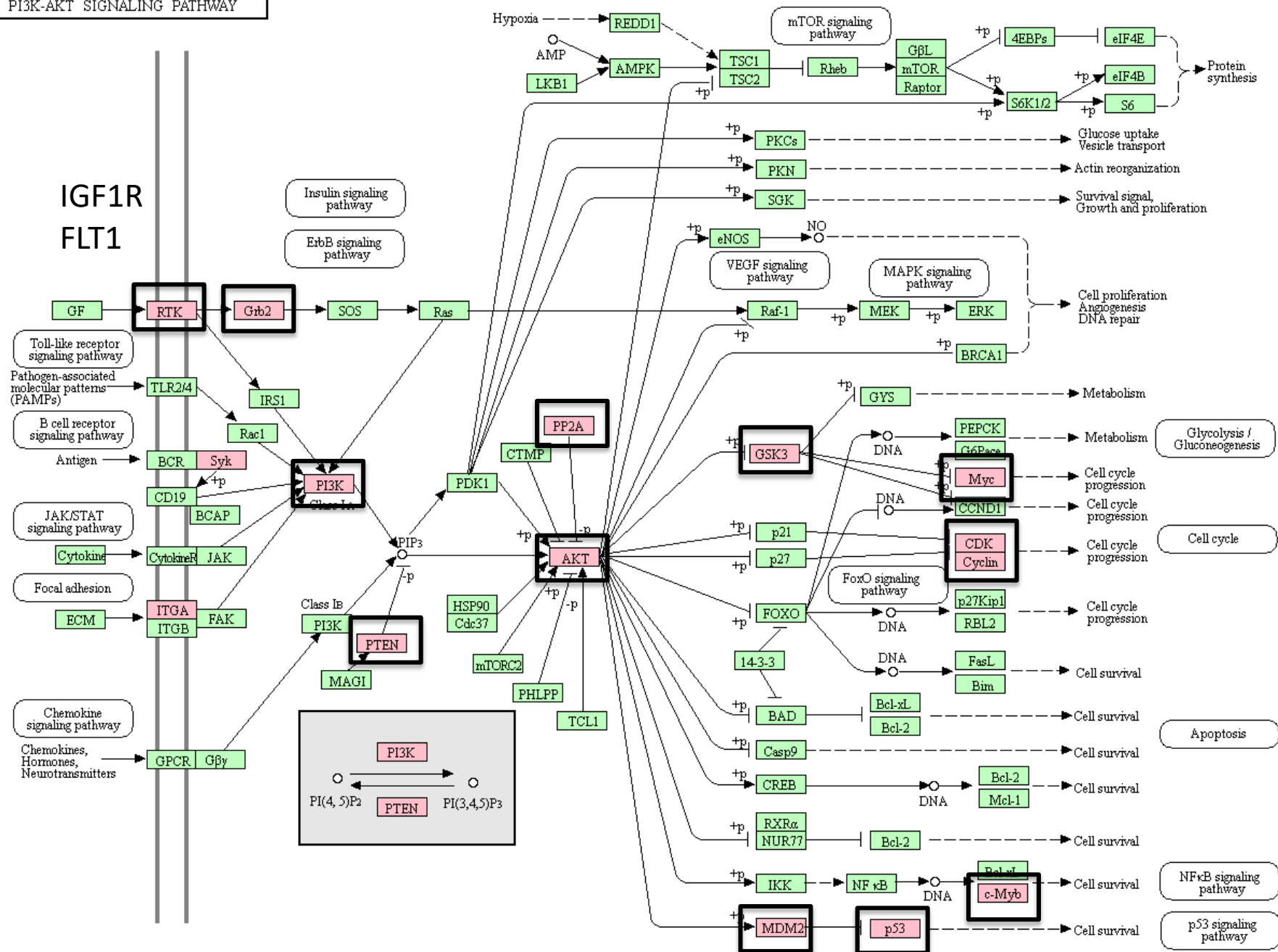
FACS Canto II



PATHWAYS IN CANCER

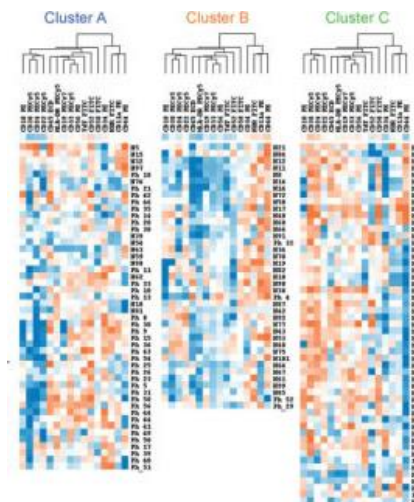


PI3K-AKT SIGNALING PATHWAY



Перспективы развития иммунофенотипирования ОЛ

✓ **Определения профиля экспрессии антигенов**



✓ **Автоматизация и стандартизация диагностики**

✓ **Определение связи антигенного профиля с генетическими нарушениями**

✓ **Определение клинически значимого антигенного профиля**

✓ **Выявление минорных субпопуляций опухолевых клеток и ЛСК**

✓ **Мониторинг МОБ**

✓ **Определение показаний и мишеней для таргетной терапии**

✓ **Обогащение опухолевой популяции для молекулярно-генетических исследований**

Ультрамногоцветные цитометры



LSR Fortessa X20

Ультрамногоцветные цитометры



LSR Fortessa X20



Cytoflex LX



ZE5 (Yeti)

Ультрамногоцветные цитометры



LSR Fortessa X20



Cytoflex LX

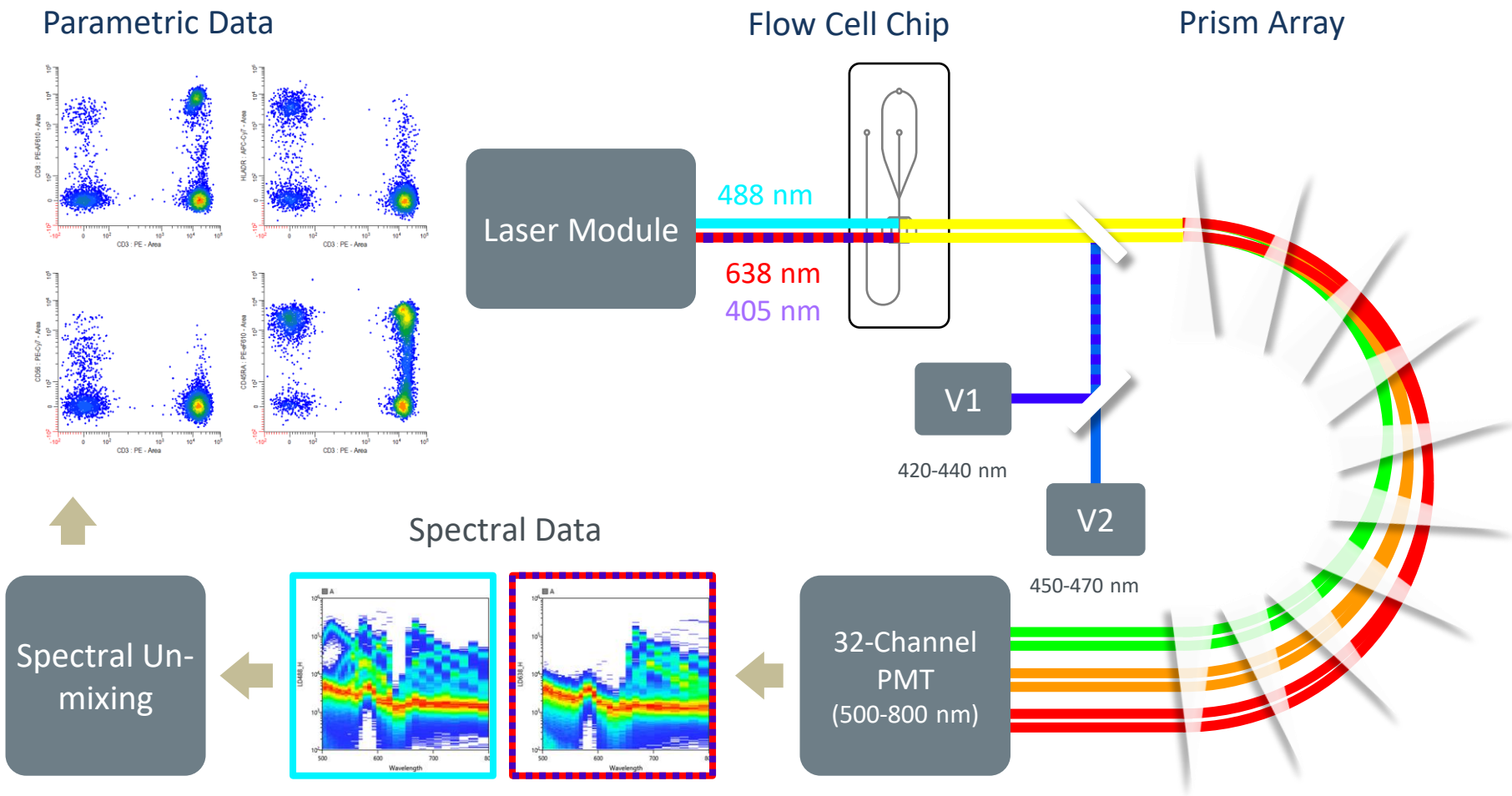


FACS Symphony

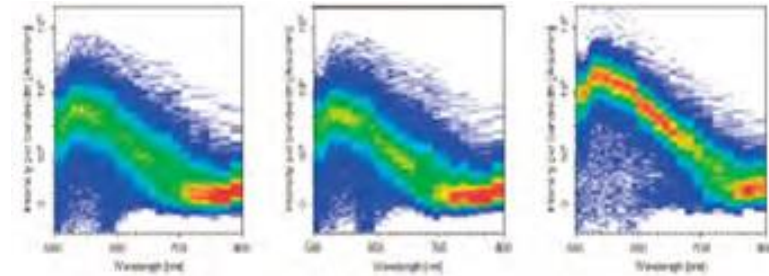
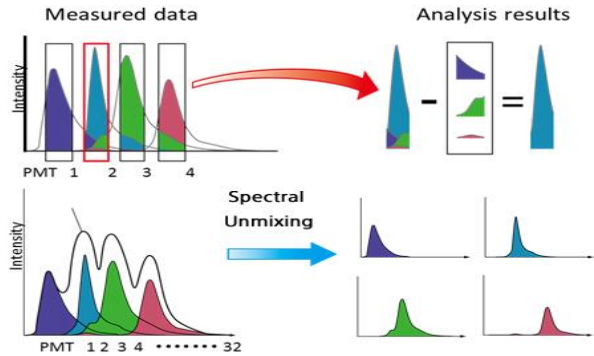


ZE5 (Yeti)

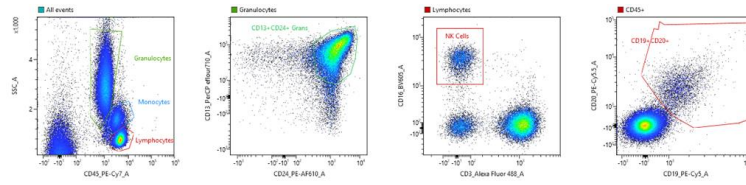
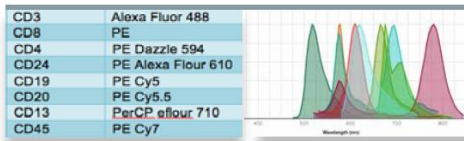
Спектральный анализатор



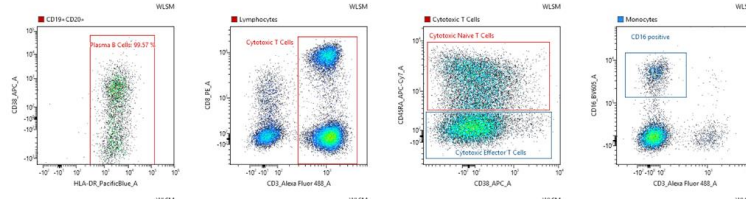
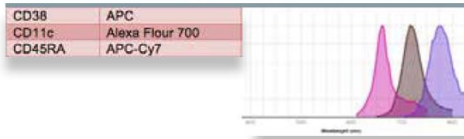
Спектральный анализатор



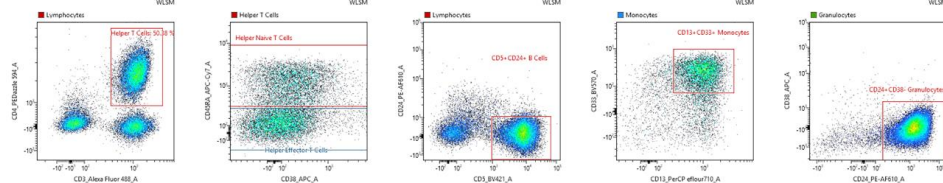
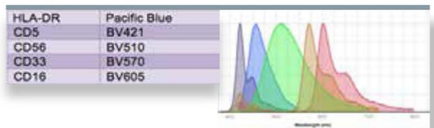
488nm Laser



638nm Laser



405nm Laser



Благодарность

Иммунофенотипирование:

Илларионова О.И.

Кашпор С.А.

Демина И.А.

Новикова И.А.

Бусурин П.С.

Читанава А.Л.

Определение химеризма:

Бриллиантова В.В.

Сортировка клеток:

Жогов В.В.

Семченкова А.А.

Молекулярная генетика:

Зеркаленкова Е.А.

Мирошниченкова А.В.

Ольшанская Ю.В.



Данные пациентов и статистика:

Лагойко С.Н.

Румянцева Ю.В.

Быданов О.И.

Червова А.А.

Биоинформатика:

Бочарова Н.А. (BD)

Andrea Zangrando (Padova)

Ценные советы😊:

Barbara Buldini (Padova)

Giuseppe Basso (Padova)

Michael Dworzak (Vienna)

Angela Schumich (Vienna)