

Pregledni članek / Review article

POMEN DOLOČANJA MINIMALNE REZIDUALNE BOLEZNI PRI ZDRAVLJENJU AKUTNE LIMFOBLASTNE LEVKEMIJE V PEDIATRIJI

IMPORTANCE OF THE DETERMINATION OF MINIMUM RESIDUAL DISEASE IN TREATMENT OF ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKAEMIA IN PAEDIATRICS

T. Prelog, J. Jazbec

*Klinični oddelek za hematologijo in onkologijo, Pediatrična klinika Ljubljana, Univerzitetni
klinični center Ljubljana, Ljubljana, Slovenija*

IZVLEČEK

Akutna levkemija je pri otrocih najpogostejša maligna bolezen in predstavlja 20–30 % vseh malignih bolezni otroške dobe. V grobem jo lahko delimo na akutno limfoblastno in akutno nelimfoblastno levkemijo. Prva je mnogo pogostejša in predstavlja 75 do 80 % vseh akutnih levkemij. Ker je zdravljenje akutne limfoblastne levkemije v zadnjih dveh desetletjih izrazito napredovalo, lahko pričakujemo, da bo zdravljenje levkemij v prihodnosti veliko pozornosti posvečalo intenzivnosti zdravljenja in omejevanju stranskih učinkov zdravljenja. To bo mogoče doseči s pomočjo ugotavljanja, kako se bolezen odziva na zdravljenje oziroma z ugotavljanjem minimalne rezidualne bolezni. V prispevku predstavljamo pregled metodologije za ugotavljanje minimalne rezidualne bolezni in možnosti njene klinične uporabe.

Ključne besede: akutna limfoblastna levkemija, minimalna rezidualna bolezen, pretočna citometrija, verižna reakcija s polimerazo.

ABSTRACT

Acute leukaemia is the most common paediatric malignant disease, representing 20–30 % of all childhood malignancies. In general it can be divided into acute lymphoblastic leukaemia and acute nonlymphoblastic leukaemia. The first is much more common and represents 75 to 80 % of all cases of acute leukaemia. Since there has been great progress in the treatment of acute lymphoblastic leukaemia in the last two decades, it is expected that, in future, much attention will be focused on the intensity of treatment and limiting the side effects of therapy. This could be achieved through assessment of disease response to therapy and the determination of minimal residual disease. We present a summary of the methodology for determining minimum residual disease and its possible clinical applications.

Key words. Acute lymphoblastic leukaemia, minimal residual disease, flow cytometry, polymerase chain reaction.

UVOD

Incidenca levkemije v pediatriji znaša 1:2.000 otrok, od tega jih okoli 80 % zboli za akutno limfoblastno levkemijo (ALL), kar v Sloveniji pomeni povprečno 13 bolnikov na leto (1).

V letih od 1979 do 1983 je bilo v svetu pri otrocih z ALL 3-letno preživetje brez ponovitve bolezni le 30 %, 3-letno splošno preživetje pa 44 %. S postopnim uvajanjem različnih zdravil ter terapevtskih metod se je preživetje dramatično povečalo. Tako v zadnjih letih 10-letno preživetje brez ponovitve bolezni dosega 93 % pri bolnikih s standardnim tveganjem ter do 16 % pri bolnikih z visokim tveganjem (2).

Veliko vlogo pri napovedi izida bolezni ima tveganje za ponovitev bolezni, na podlagi katerega je posamezni bolnik uvrščen v skupino. V katero skupino bo posameznik uvrščen, je odvisno od starosti bolnika, števila levkocitov v periferni krvi v času postavitve diagnoze, števila blastnih celic v periferni krvi v času postavitve diagnoze, prisotnosti specifičnih translokacij pri levkemičnih celicah, ploidnosti malignih celic ter od odzivnosti na zdravljenje. Odzivnost na zdravljenje določamo z ugotavljanjem prisotnosti blastnih celic v periferni krvi 8. dan zdravljenja ter s citološko analizo kostnega mozga 15. in 33. dan zdravljenja (3).

V pediatriji je zdravljenje akutnih limfoblastnih levkemij s preходом na nove protokole (npr. protokol ALL-BFM 2002) postalo tako učinkovito, da cilj zdravljenja ni več le boljše preživetje ALL, temveč tudi, da zdravljenje prilagodimo potrebam posameznega bolnika. Tako bi lahko v skupini bolnikov s standardnim tveganjem poiskali in dodatno zdravili tiste, ki imajo večjo verjetnost za ponovitev bolezni. Poleg tega ni zanemarljivo dejstvo, da bi lahko pri otrocih iz skupine z nizkim tveganjem in z zelo dobro napovedjo izida v primeru odsotnosti minimalne rezidualne bolezni (MRD) omejili intenzivnost zdravljenja in s tem zmanjšali toksične učinke zdravljenja in možnost zapletov, povezanih z zdravljenjem.

UGOTAVLJANJE MINIMALNE REZIDUALNE BOLEZNI

Prisotnost MRD lahko prikažemo kot absolutno število malignih celic na mikroliter preiskovanega vzorca (kostnega mozga) ali z relativnim številom malignih celic v odnosu do celotne monojedrne populacije celic kostnega mozga. Zadnji prikaz v praksi uporabljamo bistveno pogosteje.

Pri preučevanju, kakšen je odziv bolezni na zdravljenje, ugotavljamo prisotnost blastnih celic v periferni krvi in kostnem mozgu. O popolni remisiji govorimo, ko je blastov v kostnem mozgu manj kot 5 % vseh mononuklearnih celic, vendar pa je tudi v primeru popolne remisije (blastov je manj kot 5 %) lahko prisoten ostanek malignih celic in s tem tveganje za ponovitev bolezni. S pomočjo natančnejših analiz so ugotovili, da je pri manj kot 5 blastov na 100.000 celic verjetnost ponovitve bolezni 4 %, medtem ko je pri več kot 15 blastov na 100.000 tveganje za ponovitev bolezni kar 47 % (4).

Prisotnost MRD lahko ugotavljamo na več načinov, med katerimi je najosnovnejši način klasično mikroskopiranje, pri čemer opazujemo morfologijo celic. Omenjena metoda je razmeroma nespecifična in lahko zaradi morfološke podobnosti malignih celic normalnim celicam kostnega mozga govorimo o rezidualni bolezni šele takrat, ko najdemo v vzorcu 5 % ali več levkemičnih oziroma blastnih celic. Ker pa so mejne vrednosti MRD, ki kažejo na povečano tveganje za relaps, bistveno nižje od omenjenih 5 %, jih pogosto zgolj z morfološko analizo težko zaznamo. Tako lahko glede na morfološko preiskavo bolnika opredelimo, da je v remisiji, ob tem pa je prisoten ostanek malignih blastnih celic, ki izrazito prispeva k verjetnosti za ponovitev bolezni. Seveda so pri morfološki analizi celic možni tudi lažno pozitivni rezultati, ko zdrave celice opredelimo kot maligne. Zato v namen natančnejše opredelitve uporabljamo bistveno bolj občutljivi metodi za ugotavljanje ostanka levkemičnih celic, in sicer imunofenotipizacijo in verižno reakcijo s polimerazo (angl. *Polymerase Chain Reaction*, PCR). Obe metodi temeljita na dejstvu, da se ob maligni preobrazbi celice spremeni molekularna zgradba označevalcev v celični citoplazmi ali na celični površini, ali pa pride do sprememb v zaporedju segmentov v DNA.

IMUNOFENOTIPIZACIJA ALI METODA PRETOČNE CITOMETRIJE:

Pretočna citometrija je nepogrešljiva metoda pri diagnostiki, klasifikaciji in spremljanju poteka maligne hematološke bolezni. Z imunofenotipizacijo iščemo in dokazujemo prisotnost določenega imunofenotipa oziroma prisotnost bodisi T-celičnih receptorjev ali pa imunoglobulinov, ki se pri patološko spremenjenih celicah razlikujejo od molekul, prisotnih pri zdravi celični populaciji. Omenjene markerje dokazujemo tako na celični membrani kot v citoplazmi. Celice s prisotno spremenjeno kombinacijo beljakovin oziroma markerjev lahko najdemo pri različnih hematoloških boleznih, kot so akutna limfoblastna levkemija, kronična limfoblastna levkemija, limfom, paroksizmalna nočna hemoglobinurija, bolezen mastocitov ter tudi pri mielodisplastičnem sindromu in mieloproliferativnih motnjah.

S pretočno citometrijo lahko pri malignih hematoloških boleznih poleg diagnoze natančno opredelimo tudi prisotno celično linijo ter določimo stopnjo zrelosti celic v preiskovanem vzorcu. Pri B-celičnih akutnih limfoblastnih levkemijah lahko na primer ugotavljamo prisotnost antigenov CD10, CD19 in drugih antigenov, pri T-celičnih levkemijah pa antigena CD2, CD3, CD5, CD7 in druge. Vendar pa nam imunofenotipizacija ne služi le za natančno opredelitev tipa levkemije. Rezultati pretočne citometrije imajo namreč poleg diagnostične pogosto tudi prognostično vrednost, saj lahko z njo dokazujemo prisotnost MRD ter na njeni osnovi prepoznamo bolnike z neustreznim odzivom na zdravljenje, ter temu prilagodimo nadaljnje zdravljenje.

Pri pretočni citometriji je zanimivo tudi dejstvo, da ni potrebno dokazovati za levkemične celice specifičnih molekul. Dokazujemo namreč antigene (med drugim tudi CD10, CD19 in CD34), ki so prisotni tako na malignih kot tudi na zdravih progenitornih celicah kostnega mozga. Pri tolmačenju rezultatov je zato pomembna tako intenzivnost posameznega signala kot tudi kombinacija prisotnih označevalcev. Poleg tega ni zanemarljivo dejstvo, da so normalne celice hematopoetske vrste zelo občutljive na kemoterapijo in zato ob kemoterapiji hitro propadejo. V primeru, da kljub zdravljenju še vedno uspemo dokazati prisotnost večjega števila določenih označevalcev,

lahko sklepamo, da so v vzorcu prisotne maligne in na kemoterapijo bolj odporne celice.

Pretočna citometrija je ena izmed najbolj občutljivih metod dokazovanja maligno spremenjenih celic, vendar pa je občutljivost odvisna od tipa bolezni oziroma od razlik med imunofenotipom malignih in zdravih celic ter od števila celic v preiskovanem vzorcu. Običajno se imunofenotip malignih celic od zdrave populacije razlikuje v taki meri, da omogoča odkritje 1 levkemične celice na 10.000 normalnih celic (5). Na natančnost preiskave vpliva tudi število iskanih antigenov na površini celic ter stabilnost njihovega izražanja, saj lahko med razvojem bolezni pride do sprememb imunofenotipa in s tem do izgube iskanega signala. Posledica takih sprememb je seveda lažno negativen rezultat iskanja MRD.

Prednost pretočne citometrije pred PCR je v tem, da zaznava le žive celice, medtem ko pri PCR lahko dedni material iz uničenih celic prispeva k lažno povečani vrednosti dobljenega signala oziroma lažno povečanemu številu prisotnih malignih celic. Seveda pa ima imunofenotipizacija tudi svoje omejitve. Tako je lahko negativen rezultat posledica bodisi premajhnega vzorca pregledanih celic ali pa napake, ki je posledica motenega signala zaradi šuma ozadja. Pomembno je tudi dejstvo, da lahko maligne celice sčasoma spremenijo svoj imunofenotip. Tako lahko na primer pride do izpada določenega antigena na površini celic, ki smo ga predhodno ugotovili ob postavitvi diagnoze, in s tem do lažno negativnega rezultata pretočne citometrije. Omenjenim napakam se najlažje izognemo z uporabo dokazovanja večje skupine antigenov, ki smo jih prepoznali ob postavitvi diagnoze. Tako ob izpadu posameznega antigena ne pride do popolne izgube signala in s tem lahko spremembi navkljub še vedno zanesljivo določimo ostanek malignih celic v preiskovanem vzorcu. Specifičnost metode pa je lahko manjša tudi na račun dejstva, da občasno zdrave hematopoetske celice na svoji površini izražajo za levkemijo značilne antigene, kar ima lahko za posledico lažno pozitivne rezultate.

Pri ugotavljanju MRD pa ne igra vloge le metoda dokazovanja prisotnosti ostanka bolezni, temveč tudi čas preiskave, merjen od pričetka zdravljenja. Tako so s pretočno citometrijo ugotavljali prisotnost

MRD v kostnem mozgu v štirih časovnih točkah v času zdravljenja, in sicer po 15 in 33 dneh ter po 12 in 22–24 tednih od uvedbe zdravljenja. Vsa časovna obdobja so bila pomembna glede napovedi izida, največjo napovedno vrednost pa so imeli rezultati dokazovanja MRD pri 33 dneh ter pri 12 tednih zdravljenja, ko je bila v primeru, da je bil prisoten 1 ali več blastov na mikroliter, verjetnost za relaps 100 %, za razliko od bolnikov z manj kot 1 blastom na mikroliter, ko je bilo tveganje za ponovitev bolezni le 6 % (6).

PCR

PCR je metoda, s katero namnožimo želeni odsek DNK celic v preiskovanem vzorcu. Na ta način lahko pomnožimo za levkemične celice specifičen zapis DNK, s čimer dokažemo prisotnost malignih celic v vzorcu. Za dokazovanje malignih celic najpogosteje uporabljamo gene za zapis bodisi imunoglobulinov bodisi T-celičnih receptorjev, saj pri njih pride do naključnih in zato za maligni klon specifičnih delecij in insercij nukleotidov. Specifični odsek sprva identificiramo ob postavitvi diagnoze bolezni, nato pa lahko med zdravljenjem s pomočjo PCR metode sledimo pojavljanju omenjenih odsekov in na ta način prisotnosti MRD. PCR je tudi v primerjavi z imunofenotipizacijo izjemno občutljiva metoda, saj lahko z njo zaznamo že 1–5 blastnih celic na 100.000 zdravih celic, zaradi česar je trenutno najbolj občutljiva metoda za dokazovanje MRD (4). Tudi PCR pa ima pomanjkljivosti, saj pri malignih celicah med zdravljenjem neredko pride do ponovne prerazporeditve v genih za imunoglobuline in T-celične receptore, s čimer se izgubi iskana informacija. Posledica omenjenih sprememb so seveda lažno negativni rezultati. Poleg omenjenega lahko natančnost metode moti tudi prisotnost večjega števila prerazporeditev genov v isti populaciji levkemičnih celic. Tako lahko na primer subpopulacija celic s specifično prerazporeditvijo ostane ob diagnozi zaradi nizkega števila celic neodkrita, med razvojem bolezni pa se namnoži in spremeni prerazporeditev genov v vzorcu, ki smo jo odkrili. Omenjenim težavam se lahko, podobno kot pri pretočni citometriji, izognemo z uporabo večjega števila tarčnih odsekov DNA.

Ob dejstvu, da imamo v grobem na voljo 2 metodi za dokazovanje MRD, se nam lahko porodi vprašanje, katera metoda je primernejša. Vsaka ima svoje prednosti in pomanjkljivosti. Pretočna citometrija je tako v primerjavi s PCR hitra in natančna metoda, ki je tudi lažje dostopna, vendar tolmačenje zahteva veliko znanja, ki presega le odkrivanje imunofenotipa malignih celic. Poleg tega na primernost metode vpliva tudi faza zdravljenja, v kateri je bolnik. Tako je po 15 dneh primernejša metoda imunofenotipizacija, saj je za PCR potrebno več časa za izvedbo preiskave, pretočna citometrija pa je dovolj občutljiva za odkritje klinično pomembne MRD. Ob koncu zdravljenja pa je prav zaradi izjemno visoke občutljivosti pogosto primernejša metoda PCR.

MRD IN PREŽIVETJE

Pri določevanju za napoved izida bolezni najpomembnejšega in zato tudi za dokazovanje MRD najprimernejšega obdobja v zdravljenju ALL je med različnimi raziskavami precej nasprotujočih si podatkov. Nekateri predlagajo dokazovanje prisotnosti malignih celic v kostnem mozgu 33. dan in 22.–24. teden (4), drugi trdijo da je najpomembnejše stanje kostnega mozga 15. in 33. dan po začetku zdravljenja (3), vsi pa so si edini, da je prisotnost MRD pomemben neodvisni napovedni dejavnik tveganja za ponovitev bolezni. Po protokolu, ki se za zdravljenje akutne limfoblastne levkemije pri otrocih uporablja pri nas, stanje bolezni na ravni morfološkega pregleda ugotavljamo 15. in 33. dan bolezni.

Pri določanju MRD lahko pričakujemo, da bo število MRD-pozitivnih bolnikov med zdravljenjem upadalo. Tako lahko pri kar 89 % bolnikov ugotovimo prisotnost MRD po 15 dneh zdravljenja, po 22–24 tednih pa delež pozitivnih bolnikov pade na 4,3 % (6). Zanimiva je ugotovitev, da prisotnost MRD 15. dan po začetku zdravljenja nima velike napovedne vrednosti in ne vpliva bistveno na možnost ponovitve bolezni. Ker je hitrost odziva bolezni na zdravljenje pri posameznikih različna in ker zapozneli odziv ne pomeni slabše napovedi izida, se mejna vrednost MRD, pri kateri ugotovimo povečano tveganje za ponovitev bolezni, s trajanjem zdravljenja niža. Tako imajo večje tveganje za ponovi-

tev boleznih bolniki, pri katerih je 15. dan vrednost MRD večja ali enaka 1 % oz. večja ali enaka 100 blastov na mikroliter, 33. dan večja ali enaka 0,1 % oziroma večja ali enaka 10 blastov na mikroliter, 12. teden večja ali enaka 0,01 % oziroma večja ali enaka 1 blast na mikroliter ter 22–24. teden prisotnost vsakršne vrednosti MRD (6). Nekatere raziskave so pokazale, da pri bolnikih z vrednostmi pretočne citometrije, nižjimi od omenjenih, do relapsa ni prišlo niti v enem primeru. Izkazalo se je tudi, da je glede napovedi izida najpomembnejše obdobje 33 dni oziroma 12 tednov po pričetku zdravljenja. V omenjenih dveh časovnih točkah pa se pojavi nova težava. V kostnem mozgu namreč do takrat pride že do razrasta zdravih celičnih prekurzorjev, ki zaradi podobnega signala na pretočni citometriji, kot ga imajo maligne celice, zmanjšujejo specifičnost preiskovalne metode.

MRD IN PRESADITEV KRVOTVORNIH MATIČNIH CELIC

MRD ima napovedno vrednost tudi pri bolnikih v remisiji, doseženi po ponovitvi bolezni ter pri bolnikih po presaditvi krvotvornih matičnih celic. Pri zadnjih dokazujemo MRD pred samo presaditvijo. Tako imajo bolniki z dokazano MRD pred presaditvijo verjetnost dveletnega preživetja brez ponovitve bolezni le 17 %, medtem ko imajo bolniki z negativno MRD kar 73-odstotno verjetnost, da bodo še najmanj 2 leti po presaditvi brez ponovitve bolezni (4).

KLINIČNA UPORABA MRD PRI OTROŠKIH LEVKEMIJAH

Glavni cilj ugotavljanja MRD ni le, da ugotovimo povečano tveganje za ponovitev bolezni, temveč temu tveganju prilagoditi zdravljenje. Tako so na podlagi statističnih podatkov prišli do ugotovitev, da lahko skupino, ki je ob diagnozi opredeljena kot skupina z visokim tveganjem, s pomočjo MRD razdelimo v skupino z višjim tveganjem za neugoden razplet, ki bi jo lahko poleg klasične kemoterapije zdravili še z dodatnimi metodami (presaditev kostnega mozga), ter v skupino z boljšo napovedjo izida bolezni, ki bi ji morda lahko koristila le intenzivna kemoterapija

brez dodatnih metod. Poleg tega je pomembno, da pri bolnikih s standardnim ter srednjim tveganjem in prisotno MRD skoraj zagotovo pride do ponovitve bolezni in tako predstavljajo skupino bolnikov, ki bi imeli korist od povečanja intenzivnosti zdravljenja. Prav tako bi lahko bolnikom, pri katerih je bil začetni odziv na zdravljenje počasen, s ponovnim povečanjem intenzivnosti zdravljenja omogočili večjo verjetnost preživetja brez ponovitve bolezni, v primeru zgodnje odsotnosti MRD pa lahko napovemo dobro napoved izida ter morda zmanjšamo intenzivnost obstoječega zdravljenja in s tem znižamo toksične učinke zdravlil.

Prisotnost MRD nam služi tudi kot dejavnik, na podlagi katerega bolnike med zdravljenjem razporejamo v skupine glede tveganja. Raziskava skupine International Berlin-Frankfurt-Munster (I-BFM) je bolnike na podlagi rezultatov, dobljenih z metodo PCR razdelila v tri skupine, in sicer skupino z nizkim tveganjem za relaps (MRD- negativni 33. in 78. dan), pri katerih je do ponovitve bolezni prišlo v 2 %, skupino z visokim tveganjem (MRD 0,1 % ali več v obeh časovnih obdobjih), pri katerih je bilo tveganje 75 %, ter skupino z vmesnim tveganjem, pri katerih je do ponovitve bolezni prišlo v 23 % (5).

V novem protokolu ALL IC-BFM 2009 je predstavljena hipoteza, ki predvideva, da bi ugotavljanje MRD v kostnem mozgu 15. dan zdravljenja in razporeditev bolnikov v skupine tveganja na podlagi teh rezultatov, imela pozitiven vpliv na skupno preživetje bolnikov z ALL. Tako bi bolnike, ki so ob diagnozi uvrščeni v skupino s standardnim tveganjem, ob prisotnosti MRD uvrstili v bodisi skupino s srednjim bodisi z visokim tveganjem. Tej razporeditvi bi seveda sledilo tudi povečanje intenzivnosti zdravljenja, ki bi predvidoma imelo pozitiven učinek na skupno preživetje bolnikov z ALL.

Pomembno vlogo igra MRD tudi pri ugotavljanju ponovitve bolezni. Zelo pomembno je namreč dejstvo, da MRD ne kaže le na zgodnji odziv malignih celic na kemoterapijo, temveč lahko odkrije tudi klinično nemo ponovitev bolezni, kar omogoča hitrejši odziv in zgodnejše zdravljenje ponovitve bolezni.

MRD ne vpliva le na intenzivnost zdravljenja, temveč tudi določa smernice za presaditev krvotvornih

matičnih celic. Tako se v nekaterih centrih za presaditev odločijo, če je 46. dan prisotna MRD v 1 % ali več ali če je med vzdrževalnim zdravljenjem vrednost MRD 0,1 % ali več (6). Pomembna je tudi MRD po presaditvi sami, saj lahko pri bolnikih prisotnost MRD kaže na ostanke bolezni, ki jih z dajanjem limfocitov dajalca lahko uničimo in tudi s tem preprečimo ponovitev bolezni.

ZAKLJUČEK

Z dokazovanjem MRD lahko natančno ocenimo odziv levkemije na zdravljenje, tveganje za ponovitve bolezni ter, kar je najpomembnejše, prilagodimo zdravljenje posamezniku glede na napoved izida bolezni pri njem. Pri bolnikih s slabšim odzivom lahko namreč povečamo intenzivnost zdravljenja in s tem pri večini dosežemo remisijo, pri bolnikih z boljšo napovedjo izida pa lahko intenzivnost zdravljenja zmanjšamo in s tem dosežemo manj toksičnih učinkov zdravljenja. Ker je dolgotrajno preživetje bolnikov z ALL močno povezano z ostankom bolezni po kemoterapiji, je pri dokazovanju minimalne rezidualne bolezni smiselna uporaba občutljivih in specifičnih metod, kot sta imunofenotipizacija in PCR.

LITERATURA

1. Jazbec J, Rajič V, Karas-Kuželički V. Levkemije otroške dobe. Zdrav Vestn 2008; 77 (1): 1 25-30.
2. Campana D. Molecular Determinants of Treatment Response in Acute Lymphoblastic Leukemia. Hematology 2008; 1: 366-73.
3. Möricke A, Zimmermann M, Reiter A, Henze G, Schrauder A, Gadner H et al. Long-term results of five consecutive trials in childhood acute lymphoblastic leukemia performed by the ALL-BFM study group from 1981 to 2000. Leukemia 2010; 24 (2): 265-84.
4. Stock W, Estrov Z, Larson RA, Connor RF. Detection of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia. UpToDate 2010. Dosegljivo na: http://www.uptodate.com/online/content/topic.do?topicKey=leukemia/16279&selectedTitle=1%7E150&source=search_result#
5. Campana D. Status of minimal residual disease testing in childhood hematologic malignancies. Br J Haematol 2008; 143(4): 481-9.
6. Dworzak MN, Fröschl G, Printz D, Mann G, Pötschger U et al. Prognostic significance and modalities of flow cytometric minimal residual disease detection in childhood acute lymphoblastic leukemia. Blood 2002; 99 (6): 1952-8.

Kontaktna oseba / Contact person:

Tomaž Prelog, dr. med.

Klinični oddelek za pediatrično hematologijo in onkologijo

Pediatrična klinika

Univerzitetni klinični center Ljubljana

Bohoričeva 20

SI-1000 Ljubljana

Slovenija

e-naslov: prelog.tomaz@gmail.com

Prispelo / Received: 15.8.2010

Sprejeto / Accepted: 25.8.2010