



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO



INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES PARA LOS
TRABAJADORES DEL ESTADO

CENTRO MÉDICO NACIONAL 20 DE NOVIEMBRE

**IMPACTO DE LA ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL POSITIVA,
MEDIDA POR CITOMETRÍA DE FLUJO, EN LA SUPERVIVENCIA
LIBRE DE ENFERMEDAD DE PACIENTES CON LEUCEMIA
LINFOBLÁSTICA AGUDA PH_{NEG}**

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN MEDICINA
(HEMATOLOGÍA)

PRESENTA:

DR. ORLANDO GABRIEL PALMA MORENO

ASESOR DE TESIS:

DRA. MARTHA ALVARADO IBARRA

CIUDAD DE MÉXICO, 2019.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DR. MAURICIO DI SILVIO LÓPEZ
JEFE DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

DRA. MARTHA ALVARADO IBARRA
TITULAR DEL CURSO DE HEMATOLOGÍA

DRA. MARTHA ALVARADO IBARRA
ASESOR DE TESIS

DR. ORLANDO GABRIEL PALMA MORENO
TESISTA

INDICE

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO	1
RESUMEN	4
INTRODUCCIÓN	5
ANTECEDENTES	9
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	11
JUSTIFICACIÓN	11
HIPÓTESIS	12
OBJETIVOS.....	14
METODOLOGÍA	15
VARIABLES	18
RESULTADOS	21
DISCUSIÓN	23
CONCLUSIÓN	25
CONSIDERACIONES ÉTICAS Y DE BIOSEGURIDAD	25
RECURSOS	26
CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	27
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27

RESUMEN

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es una neoplasia clonal de células madre hematopoyéticas, que ha visto, a lo largo de su estudio, avances significativos en cuanto a su clasificación, tratamiento y factores pronósticos. Uno de ellos es el estudio de la Enfermedad Mínima Residual (EMR). La EMR es una técnica que se utiliza para detectar blastos en pacientes con remisión clínica y morfológica de la LLA; los estudios iniciales se realizan en niños, en los cuales se observa que algunos pacientes, a pesar de tener remisión morfológica, presentarían recaída de forma temprana, infiriéndose y posteriormente confirmándose, que existía enfermedad por técnicas más sofisticadas como la citometría de flujo. Estudios posteriores permitieron entender el rol pronóstico de gran importancia en cualquier edad de tener EMR detectable. En nuestra unidad, la EMR es evaluada con la técnica de citometría de flujo; los valores de cohorte para considerarla positiva son de 0.01%. En diversos estudios a nivel internacional se ha encontrado una relación entre la EMR positiva y el riesgo de recaída, en paciente con leucemia linfoblástica aguda.

El presente estudio, de cohorte, observacional, ambilectivo, realizado en el Centro Médico Nacional 20 de Noviembre, tiene como objetivo la evaluación de la sobrevida libre de enfermedad (SLE) en pacientes con LLA según su estatus de EMR.

INTRODUCCIÓN

Más del 80 por ciento de los adultos con LLA logran una remisión completa (RC) y hasta la mitad de estos pacientes pueden experimentar una supervivencia libre de enfermedad prolongada y ser "curados" de su enfermedad¹. La LLA es biológicamente diferente en distintas edades, lo que supone que la respuesta en distintas etapas de la vida tenga mayor riesgo de volver a presentar la enfermedad¹⁷; muchos experimentarán recaída y morirán de leucemia^{1,2}. Se cree que la recidiva es el resultado de las células leucémicas residuales que permanecen después del logro de la remisión completa morfológica, pero están por debajo de los límites de detección mediante la evaluación morfológica convencional. Estos niveles subclínicos de leucemia residual se denominan "enfermedad mínima residual" (EMR) o "enfermedad residual medible" y pueden evaluarse usando métodos sensibles⁴.

La EMR se determina rutinariamente, desde hace tiempo, en pacientes con LLA; inicialmente se estudió en los niños^{5,6} y cada vez más en adultos⁷. Se ha definido a la ERM como positiva si existen más de 0.01% de células leucémicas en una muestra tomada por aspiración de la médula ósea; así esta conceptuada en el Manual Operativo de nuestro Servicio^{8,9}.

Las determinaciones de EMR, durante y después de la terapia de inducción, tienen importancia pronóstica en relación con la probabilidad de recaída¹⁰. El objetivo principal de la terapia de inducción para LLA es el logro de una remisión completa inicial (RC), definida como la desaparición de todas las manifestaciones clínicas atribuidas a la enfermedad, normalización de la biometría hemática y una Médula ósea con 0 a 5% de blastos, y hematopoyesis normal⁹. Aunque la RC se ha definido históricamente sobre la base de criterios clínicos y morfológicos, una evaluación de EMR, de mayor sensibilidad, puede definir una respuesta más estricta que es mejor para definir el pronóstico. Existen varias dificultades para aseverar que la evaluación microscópica y cuantificación de blastos es suficiente para establecer una respuesta; por ejemplo, las hematogonias son células benignas de precursores linfoides difíciles de distinguir de los blastos; el error de muestra se caracteriza por tener una representación muy pequeña de toda la médula ósea en una sola muestra de aspirado y finalmente errores en detección, generalmente dependiente del observador¹¹.

Un paciente en remisión clínica y citomorfológica puede albergar hasta 10^{10} células leucémicas, equivalente a un límite de detección de aproximadamente una célula maligna por cada 20 a 100 células normales¹¹.

Se han estudiado diversas técnicas para la detección de enfermedades residuales, incluyendo citogenética, sistemas de cultivo celular, hibridación fluorescente in situ

(FISH), Southern blot, citometría de flujo multicolor, reacción en cadena de la polimerasa (PCR)¹² y secuenciación profunda. La citometría de flujo multicolor utiliza un láser para determinar características inmunofenotípicas específicas de hasta miles de células por segundo. La EMR puede ser identificada usando citometría de flujo basada en la expresión aberrante de antígenos. Las técnicas actuales de citometría de flujo utilizan seis a ocho colores para evaluar la EMR con una sensibilidad que es de aproximadamente 10^4 , o aproximadamente 0.5 a 1 log inferior a la de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Las técnicas de citometría de flujo de próxima generación que utilizan ocho o más colores (por ejemplo, algoritmos basados en EuroFlow¹³). En nuestro Servicio se dispone de ésta tecnología que permite una sensibilidad de $<10^4$.

La información sobre el uso de EMR en niños es amplia^{5,6,7}, sin embargo, la bibliografía sobre EMR para la evaluación de LLA en adultos no es tanta. Los diferentes estudios apuntan a una relación entre la EMR y el pronóstico en cuanto a tasas de recaídas, SG y SLE^{1,3}.

Cada vez hay más pruebas de que la EMR también tiene una fuerte asociación con el pronóstico en pacientes adultos con LLA. En 196 pacientes con riesgo estándar, Bruggeman et al.¹⁴ identificaron el 10% de los pacientes con una disminución rápida de la EMR inferior a 0,01% en el día 11 y día 24 (grupo de bajo riesgo) con una tasa de recaída de 3 años de 0%; El 23% de los pacientes tenían un EMR de 0,01%, o

más, hasta la semana 16 (alto riesgo) y tenían una tasa de recaída del 94%; Los pacientes restantes (riesgo intermedio) tuvieron una tasa de recaída del 47%. El mismo grupo también informó de un análisis prospectivo de las muestras post-consolidación en 105 pacientes que estaban en remisión hematológica, había completado la quimioterapia de primer año, y había probado negativo de EMR antes de la inscripción en el estudio. Veintiocho pacientes mostraron ahora positividad de EMR; de ellos 17 habían recaído, con un tiempo mediano de recaída en la citometría a la clínica de 9,5 meses. Por el contrario, sólo 5 de los 77 pacientes continuamente negativos con EMR habían recaído¹⁵. En 2008 el grupo polaco¹⁶ publica en 2008 evidencias similares y finalmente, se generaliza el estudio del status de la EMR como pronóstico confiable. Un estudio reveló, en 116 pacientes con LLA Ph-negativa, que la EMR igual o mayor a 0.1% después de la inducción fue un predictor adverso independiente tanto en los grupos de riesgo estándar como de alto riesgo.

En México, hay diferentes publicaciones, incluidas las de la experiencia de nuestro centro en cuanto a LLA, las cuales no han evaluado los resultados de los pacientes con LLA, en remisión completa convencional, posterior al tratamiento según su estatus de EMR.

En un estudio realizado en nuestro hospital en 2016¹⁷, en donde se evaluaron a adolescentes y adultos jóvenes con quimioterapia basada en protocolos pediátricos, se encontró que la SLE a los cinco años es de 0.58. La cuenta de más del 5% de

blastos en la médula ósea el día 14 de la inducción y el retraso en la aplicación de las fases del programa de QT son los dos factores pronósticos de mayor peso; sin embargo, no se hace mención en dicho estudio sobre la importancia de la EMR. En otro estudio publicado en nuestro hospital, se encontró que la recaída era el evento más importante en pacientes con LLA Ph_{neg}.¹⁸ esto sin tomar en cuenta la EMR.

En la literatura internacional se considera a la EMR como un factor pronóstico independiente, por lo que el objetivo de este trabajo es evaluar el impacto de esta prueba para conocer la SLE y SLL.

ANTECEDENTES

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es una transformación maligna y proliferación de progenitores linfoides en la médula ósea, sangre periférica y sitios extramedulares¹⁹. En Estados Unidos se reporta una incidencia de 1.6/100mil habitantes²⁰. Los esquemas intensos han mejorado la sobrevida global (SG) y la sobrevida libre de enfermedad (SLE) en niños, sin embargo, en los pacientes adultos el panorama no es tan bueno, ya que la remisión a largo plazo solo alcanza tasas de entre 30-40%²¹. En nuestro país la población adulta no se cuenta con gran cantidad de estudios reportados acerca de la epidemiología ni sobrevida. En un estudio que evaluaba una década de experiencia en un centro médico en la ciudad mexicana de Monterrey²², se estudiaron 94 adultos mayores de edad, del 2005-

2015, y se evaluó la sobrevida global y sobrevida libre de enfermedad, encontrando un 71.3% de Respuestas completas (RC), una Sobrevida Libre de Enfermedad (SLE) a 5 años de 23.4% y una Sobrevida Global (SG) de 31.1% en el mismo tiempo; No se analizó el destino de los pacientes sometidos a trasplante ni se evaluó el estatus de EMR en esta población. La clasificación morfológica se utiliza en gran medida en países en donde no hay disponibilidad de estudios moleculares, por lo que la clasificación propuesta por la FAB^e se sigue empleando. En el año 1997²³ y en el 2008²⁴, la WHO perfecciona la forma en la que se clasifican las neoplasias linfoides, sobre todo para ofrecernos datos sobre la sobrevida libre de enfermedad, sobrevida libre de recaída, así como facilitar el diagnóstico. La última actualización se realiza en 2016 por la WHO^h, con la adición de dos entidades provisionales a la sección de anomalías citogenéticas recurrentes. Si bien, con esta nueva forma de clasificación, se consideran en gran medida alteraciones genéticas y mutacionales que confieren mejor o peor pronóstico, se empezó a ver que habían algunas otras variables que podían predecir peores pronósticos, como la cuenta de blastos al diagnóstico, edad >35 años^{25,26}. Adicionalmente a estas características, desde hace muchos años se sabe que la respuesta inicial a la quimioterapia puede predecir recaída. En los años 70's y 80's, con la clasificación de la FAB vigente, solamente se podía evaluar la respuesta al tratamiento por morfología mediante microscopía de luz. A partir de los años 90's se puede definir la estirpe de un tumor usando citometría de flujo y en la última década (a partir de 2005) la aplicación de la EMR en la LLA se ha expandido de forma significativa²⁷⁻²⁹. Varios estudios han mostrado la importancia de la medición de la EMR para evaluar el riesgo de recaída³⁰⁻³⁷. Bruggemann³², basándose en el estatus de la EMR, re-estadificó a los pacientes en

riesgos estándar, intermedio y alto, con tasas de recaída de 0%, 47% y 94% respectivamente. El grupo Pethema encuentra igualmente valor pronóstico en pacientes adultos con LLA Ph_{neg} según la positividad del EMR³⁸.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existen evidencias^(1,3) que nos indican que a pesar de existir una remisión clínico-citomorfológica, 80% de los pacientes adultos con LLA tendrán positividad para EMR que predice recaída. En la actualidad se considera que parte de la evaluación de riesgo en la LLA, es la medición de la EMR. En un estudio realizado por Gupta et al³⁹, en donde se comparan la utilidad de la evaluación de remisión morfológica versus EMR, en niños a adultos jóvenes. Se midieron al final de la inducción (día 29) la cantidad de blastos, considerando remisión tener menos de 5% en médula ósea; así como la EMR. Se encontró que la remisión morfológica solamente se correlaciona en un 5-20% con remisión medida mediante EMR, por lo que se recomendaba el empleo de EMR en todos los pacientes. Con estudios posteriores, la medición de la EMR para la estratificación del riesgo en la LLA se volvió una regla en la mayoría de los grandes grupos cooperativos. Incluso, el Medical Research Council (MRC)⁴⁰ han propuesto una nueva definición de falla a la inducción de acuerdo a la positividad o negatividad de la EMR, independientemente de la remisión morfológica. En nuestra unidad, parte de la evaluación integral de remisión incluye la evaluación morfológica al final de la inducción, pero al contar en

nuestra unidad con citometría de flujo y un protocolo estandarizado para medir la EMR en los pacientes adultos con LLA surge la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es el Impacto de la Enfermedad Mínima Residual, (positiva o negativa) medida por Citometría de Flujo, en la Supervivencia Libre de Enfermedad de pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda Ph_{neg}?

JUSTIFICACIÓN

La LLA es una neoplasia importante por el número de casos. Si bien en nuestro país no existen estudios epidemiológicos grandes para inferir la incidencia nacional del problema, en nuestro Servicio es la causa más frecuente de morbilidad. En México, el año 2002 se realizó el Registro epidemiológico de las neoplasias onco-hematológicas; se registraron, aproximadamente, 10,400 nuevos casos de LLA, correspondiendo al 9.6% de los casos de cáncer diagnosticados ese año. Una incidencia entre 4-5 por 100,000 habitantes en niños y de 1 en 100,000 habitantes después de los 50 años. La tasa de mortalidad reportada fue de 6.1 por cada 100,000 habitantes, a partir de los 35 años la mortalidad se duplica hasta volverse una enfermedad con altas tasas de mortalidad después de los 35 años (Cenetec).

Quizá el mayor estudio sobre LLA en México sea el de Creso y Alvarado, con la participación de 6 instituciones diferentes de la Ciudad de México, se analiza la

sobrevida de 559 adultos con LLA, entre 2009-2015, sin embargo, como limitante de dicho estudio, es que no se evaluó la EMR, puesto que no hay disponibilidad en todos los centros participantes.

En nuestro Servicio del año 2001 al 2016, hubieron 13,764 ingresos a hospitalización, 28% de estos ingresos debidos a LLA, posicionándolo como la patología con morbilidad más frecuente. En éste mismo periodo de tiempo, la mortalidad estimada es del 5.3%, con una letalidad del 44.7%. Este impacto en la mortalidad, que suele seguir a la recaída, podrá ser menor si la EMR permite modificar el tratamiento de aquellos con positividad de la misma.

Este estudio tiene como finalidad conocer la utilidad de la ERM en cuanto al pronóstico de los pacientes con LLA. Con ello, los médicos del Servicio de Hematología podremos conocer el riesgo de recaída y la supervivencia esperada en los pacientes con LLA. La toma de decisiones derivadas del conocimiento del status de la ERM es importante de igual manera para establecer criterios más estrictos de RC, diseñar programas de quimioterapia adicional en quienes tengan ERM positiva o instrumentar programas precoces de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. Paralelamente nos acercará más a los estándares de manejo a nivel internacional. En nuestro hospital contamos actualmente con los recursos humanos y materiales para la ejecución de este estudio sin incrementar los costos ya existentes.

HIPÓTESIS

Los pacientes con ERM positiva tienen SLE menor comparada con aquellos con ERM negativa a dos años de seguimiento.

Hipótesis alternativa: Los pacientes con EMR positiva tienen una SLE mayor a aquellos con ERM negativa a dos años de tratamiento.

Hipótesis nula: Los pacientes con ERM positiva tienen la misma SLE a un a dos años de tratamiento que aquellos con ERM negativa.

OBJETIVOS

Objetivo general:

1. Cuantificar la duración de la SLE, en relación con la positividad de la EMR.

Objetivos específicos:

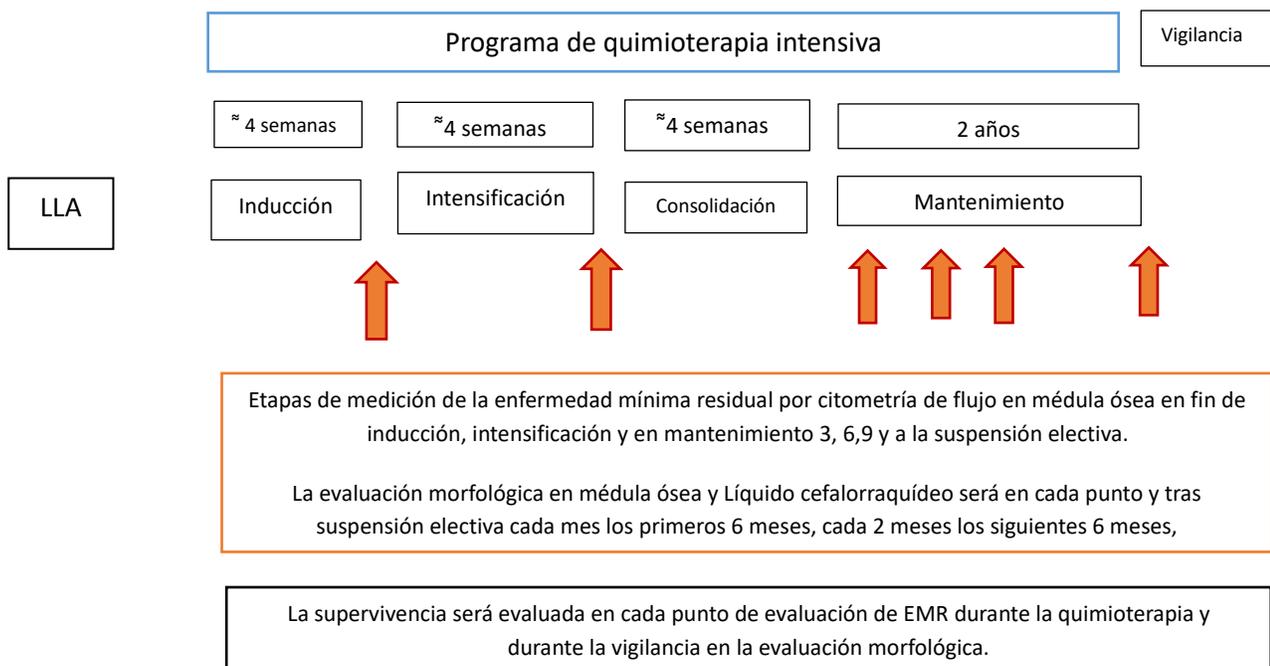
1. Identificar el número de pacientes con ERM positiva y negativa al final de la inducción
2. Identificar el número de pacientes con ERM positiva y negativa al final de la intensificación.
3. Conocer las características demográficas, etareas, clínicas y hematológicas asociadas a ERM positiva.
4. Reconocer la relación entre la ERM y el número de blásts, en la médula ósea, evaluados en el día 14 , a partir del inicio de la inducción.

5. Determinar la relación entre inmunofenotipo y cariotipo al diagnóstico y ERM positiva.
6. Determinar el impacto del retraso en la administración de quimioterapia en la SLE.

METODOLOGÍA

Diseño y tipo de estudio: Estudio de cohorte, observacional, longitudinal, analítico, ambilectivo y unicéntrico.

En el estudio, los pacientes con diagnóstico confirmado de LLA (más de 20% de blastos en médula ósea), de estirpe linfoide por citometría de flujo inicial, con estudio por cariotipo negativo a t(9;22) y/o BCR/ABL negativos, candidatos a quimioterapia intensiva, se evaluarán al final de la inducción, intensificación y cada 3 meses en los mantenimientos, así como a la suspensión electiva. Se considerará EMR positiva aquella \geq o igual a 0.01%. Las muestras serán tomadas de MO y deberán de ser evaluadas en las primeras 24hrs para conservar su viabilidad. La recaída se tomará con criterio morfológico (reaparición de más del 20% de blastos en MO y/o infiltración extramedular). El equipo utilizado para la evaluación de las muestras será EuroFlow con software Infinicyt. Los resultados serán evaluados por un experto en citometría de flujo.



Población de estudio: Pacientes mayores 18 años, con diagnóstico de LLA de novo, manejados con quimioterapia intensiva, a los cuales se les haya realizado ERM según el protocolo establecido en nuestro Servicio: al final de la Inducción a dos años de seguimiento.

Universo de trabajo: Todos los pacientes de 18 años o más, con diagnóstico de LLA de novo, que hayan recibido QT intensiva en cualquiera de los dos protocolos de nuestra unidad (LALIN o LALA).

Definición del grupo control: En el estudio no habrá grupo de control. Las comparaciones serán entre pacientes con ERM positiva y negativa

Definición del grupo a intervenir: Todos los pacientes mayores de 18 años, con diagnóstico de LLA de novo, que hayan recibido QT intensiva en cualquiera de los dos protocolos de nuestra unidad (LALIN o LALA).

Criterios de inclusión:

1. Pacientes de cualquier sexo
2. Edad mayor a 18 años
3. ECOG 0-2
4. Con diagnóstico de LLA de novo
5. Que reciban QT el protocolo de LAL-6 (para menores de 41 años) o LAL-10 (para mayores de 40 años)
6. Con realización de ERM por citometria de flujo con paneles de EuroFlow, al final de la Inducción y de la Consolidación.
7. Que continúen en el Programa Terapéutico asignado.

Criterios de exclusión:

1. Pacientes con tratamiento antineoplásico previo.
2. Pacientes que no acepten ser incluidos en el programa de quimioterapia propuesto.

Criterios de eliminación:

1. Pacientes con expediente incompleto
2. Pacientes que no completen el esquema de QT correspondiente

VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN	TIPO DE VARIABLE	CLASIFICACION	MEDICION
Nombre	Iniciales correspondientes a la primera letra de cada nombre y apellido del paciente	Cualitativa Nominal	Politómica, independiente, nominal	Escala nominal: iniciales de los nombres
Sexo	Variable biológica y genética que divide a los seres humanos en dos posibilidades: hombre o mujer	Cualitativa Nominal	Dicotómica, Independiente, Unidimensional	Escala Nominal: Femenino o Masculino
Edad	Tiempo que ha vivido una persona	Cuantitativa Discreta	Unidimensional Independiente, Politómica	Relación. (0, 1, 2, 3, 4, 5, ...) Unidad: años
Evolución previa	Tiempo de evolución de la enfermedad hasta el diagnóstico de LLA	Cuantitativa Discreta	Unidimensional, independiente, politómica	Relación (0, 1, 2, 3...) Unidad: días
Hemorragias	Presencia de síndrome hemorrágico al diagnóstico (sangrado a algún nivel, ej. Petequias, gingivorragia)	Cualitativa Nominal	Dicotómica, independiente, unidimensional	Escala nominal: Si o No
Fiebre	Presencia de temperatura superior a 38.3 grados celsius, medida por el paciente	Cualitativa nominal	Dicotómica, independiente, unidimensional	Escala nominal: Si o No
Hígado	Tamaño del hígado al diagnóstico, medido por ultrasonografía o Tomografía Axial Computarizada al diagnóstico	Cuantitativa continua	Unidimensional, independiente, politómica, continua	Tamaño en centímetros. Unidad: Centrimetros
Bazo	Tamaño del bazo al diagnóstico, medido por ultrasonografía o Tomografía Axial Computarizada al diagnóstico	Cuantitativa continua	Unidimensional, independiente, politómica, continua	Tamaño en centímetros. Unidad: Centrimetros
Ganglios	Presencia de adenomegalias al diagnóstico	Cualitativa Nominal	Dicotómica, independiente, unidimensional	Escala nominal: Si o No
Infiltración	Presencia de afección extramedular de la LLA diferente a hígado, bazo o ganglios	Cualitativa Nominal	Dicotómica, independiente, unidimensional	Escala nominal: Si o No
Hematocrito	Hematocrito al diagnóstico	Cuantitativa Continua	Unidimensional Independiente, Politómica	Relación (15, 16, 17....) Unidad de medición: porcentaje

Leucocitos	Número de leucocitos diagnóstico	de al	Cuantitativa Continua	Unidimensional Independiente, Politómica	Relación (1000,2000,3000....) Unidad de medición: células/mm3
Neutrófilos	Número de neutrófilos diagnóstico	de al	Cuantitativa Continua	Unidimensional Independiente, Politómica	Relación (1000,2000,3000....) Unidad de medición: células/mm3
Plaquetas	Número de plaquetas diagnóstico	de al	Cuantitativa Continua	Unidimensional Independiente, Politómica	Relación (1000,2000,3000....) Unidad de medición: células/mm3
Blastos SP	Porcentaje de blastos en el frotis de sangre periférica al diagnóstico	de al	Cuantitativa Continua	Unidimensional Independiente, Politómica	Relación (15, 16, 17....) Unidad de medición: porcentaje
Blastos MO	Porcentaje de blastos en médula ósea al diagnóstico	de al	Cuantitativa Continua	Unidimensional Independiente, Politómica	Relación (15, 16, 17....) Unidad de medición: porcentaje
Tipo	Tipo de Leucemia según la clasificación de la FAB		Cualitativa ordinal	Unidimensional, independiente, nominal, politómica	Escala ordinal: 1: L1, 2: L2, 3:L3
DHL	Cantidad de Deshidrogenasa láctica, enzima relacionada con la actividad de la enfermedad, medida al ingreso del paciente		Cuantitativa Continua	Unidimensional Independiente, Politómica	Relación (150, 160, 170....) Unidad de medición: mg/dl
Glucemia	Glucemia central detectada al ingreso del paciente		Cuantitativa Continua	Unidimensional Independiente, Politómica	Relación (150, 160, 170....) Unidad de medición: mg/dl
Creatinina	Creatinina, producto final del metabolismo de la creatina, relacionado a la función renal, al ingreso del paciente		Cuantitativa Continua	Unidimensional Independiente, Politómica	Relación (0.1, 0.2, 0.3....) Unidad de medición: mg/dl
Ácido úrico	Producto final del metabolismo de las purinas, que se relaciona a lisis de células malignas		Cuantitativa Continua	Unidimensional Independiente, Politómica	Relación (3, 4, 5....) Unidad de medición: mg/dl
Inmunofenotipo	Caracterización de las células según los marcadores inmunológicamente activos que hay en su superficie		Cualitativa ordinal	Unidimensional, independiente, nominal, politómica	Escala ordinal: 1: B 2: CD20, 3:T
Citogenética	Rama de la genética que estudia las alteraciones genéticas de los cromosomas		Cualitativa Nominal	Politómica, independiente, nominal	Escala nominal: Alteraciones cromosómicas identificadas

QT recibida	Manejo terapéutico recibido al momento del ingreso	Cualitativa ordinal	Unidimensional, independiente, nominal, politómica	Escala ordinal: 1. LALIN, 2: LALA 3: Otro
Inducción	Tratamiento inicial otorgado al paciente, inducción a la remisión, según protocolos del servicio LAL-6 o LALA-FLU	Cualitativa Nominal	Dicotómica, Independiente, Unidimensional	Escala Nominal: Si o No
Blastos día 14	Células inmaduras (blastos) detectados al día 14 de la inducción a la remisión	Cuantitativa Continua	Unidimensional dependiente, Politómica	Relación (15, 16, 17....) Unidad de medición: porcentaje
Blastos día 28	Células inmaduras (blastos) detectados al día 14 de la inducción a la remisión	Cuantitativa Continua	Unidimensional dependiente, Politómica	Relación (15, 16, 17....) Unidad de medición: porcentaje
EMR	Enfermedad residual mínima detectada por citometría de flujo	Cuantitativa Continua	Unidimensional dependiente, Politómica	Relación (0.01, 0.02, 0.03....) Unidad de medición: porcentaje
Intensificación	Tratamiento de intensificación dado posterior a la inducción a la remisión según protocolo	Cualitativa Nominal	Dicotómica, Independiente, Unidimensional	Escala Nominal: Si o No
Consolidación	Tratamiento de consolidación, dado después de la intensificación según protocolo utilizado	Cualitativa Nominal	Dicotómica, Independiente, Unidimensional	Escala Nominal: Si o No
Mantenimiento	Tratamiento de mantenimiento utilizado posterior a consolidación	Cualitativa Nominal	Dicotómica, Independiente, Unidimensional	Escala Nominal: Si o No
Recaída	Incremento en el número de blastos, aparición de enfermedad extramedular asociada a la leucemia o enfermedad residual mínima residual positiva, después de alcanzar una respuesta	Cualitativa Nominal	Dicotómica, dependiente, Unidimensional	Escala Nominal: Si o No
Sitio	Lugar en donde se detecta la recaída	Cualitativa ordinal	Unidimensional, independiente, nominal, politómica	Escala ordinal: 0. Ninguno 1. Médula, 2. SNC, 3. Otro
Retraso %	Porcenta de pacientes que presentan retraso en administración de quimioterapia	Cuantitativa Continua	Unidimensional Independiente, Politómica	Relación (1, 2, 3, 4....) Unidad de medición: porcentaje

Defunción	Cese de signos vitales detectables, con ausencia de actividad eléctrica cardíaca	Cualitativa Nominal	Dicotómica, dependiente, Unidimensional	Escala Nominal: Si o No
Causa	Motivos que ocasionaron la defunción	Cualitativa Nominal	Politómica, ordinal, independiente, Unidimensional	Escala ordinal: 0. Ninguna, 1. Infección, 2. Hemorragia, 3. otra
Eliminado	Pacientes en los cuales se justifica salida del estudio	Cualitativa Nominal	Dicotómica, Independiente, Unidimensional	Escala Nominal: Si o No
Causa	Motivos por los que los pacientes salen del estudio	Cualitativa Nominal	Politómica, ordinal, independiente, Unidimensional	Escala ordinal: 0. Ninguna, 1. Abandono, 2. otra
Seguimiento	Tiempo de seguimiento de los pacientes, desde el diagnóstico hasta defunción, abandono o recaída	Cuantitativa Discreta	Unidimensional, independiente, politómica	Relación (0, 1, 2, 3...) Unidad: días

RESULTADOS

Se evaluaron datos de 50 pacientes. El análisis de las características basales incluyó al total de pacientes, de los cuales el 100% tenían EMR medible. De los 50 pacientes, el 100% fueron elegibles para análisis de SLE. Dentro de las características de los pacientes, la mediana de edad al diagnóstico fue de 33 años (IQR, 24-45). La proporción hombre-mujer fue ligeramente más elevada para el sexo masculino (58% fueron hombre), la edad menor a 35 años se observó en 56% de la población estudiada. La EMR se evaluó con citometría de flujo por Euroflow en el 100% de los pacientes y la EMR basar fue de $\geq 10^{-3}$ en el 72% de los pacientes. La mayoría de los pacientes tenían persistencia de la EMR (80%). El 19% tuvo reaparición de la EMR. La mediana de tiempo de negativización de la EMR a positividad fue de 4.2 meses. En cuanto a la duración de la remisión fue de 18.5 meses, después de la evaluación de la EMR. A los 36 meses, el 38% de los

pacientes seguían en respuesta completa hematológica. La mediana de duración de remisión fue más larga en pacientes con EMR más baja: 2.0, 10.9, 18.5, y 42.4 meses después de la EMR basal, of $\geq 10^{-1}$, 10^{-2} to $<10^{-1}$, 10^{-3} to $<10^{-2}$, and 10^{-4} to $<10^{-3}$, respectivamente ($p < 0.0001$). La mediana de duración fue más larga en pacientes con leucocitos al diagnóstico $30,000/\mu\text{L}$ vs. $\geq 30,000/\mu\text{L}$. Otra diferencia observada fue en pacientes de menos de 60 años, en la que los pacientes jóvenes tenían una duración de la respuesta mediana de 28 meses vs 18 meses. En el análisis multivariado, la edad menor a 60 años ($p = .08$), menos de 30mil leucocitos al diagnóstico ($p = 0.005$), y menor EMR basal ($p = 0.002$), se asociaron con mayor duración de la remisión. La mediana de RFS fue de 12.4 meses (IC 95%, 10.0–19.0) después de la evaluación basal de EMR. A los 36 meses, el RFS estimado fue del 33% (IC 95%, 27-39%). La mediana de RFS fue más larga en pacientes con una MRD basal más baja: 2.0, 9.7, 10.6 y 31.3 meses después de la EMR basal de $\geq 10^{-1}$, 10^{-2} a $<10^{-1}$, 10^{-3} a $<10^{-2}$ y 10^{-4} a $<10^{-3}$, respectivamente ($P = .0003$; Figura 2 (B) y Tabla 2). El recuento bajo de glóbulos blancos en el diagnóstico original de LLA también se asoció con una mediana de RFS más larga ($P = .005$). En un modelo multivariable, EMR basal más bajo ($P = .003$), leucocitos más bajos en el diagnóstico ($P = .007$), persistencia de MRD vs. reaparición ($P = .11$) y menor vs. la edad avanzada ($p = 0,05$) se asoció con un RFS más largo. Al igual que con DoR, el año de diagnóstico no fue significativo en el análisis univariado ($p = 0,91$) y no se incluyó en el modelo multivariable. La mediana de RFS fue ligeramente más corta cuando los pacientes fueron censurados en HSCT (Figura 2 complementaria).

DISCUSIÓN

Este fue un análisis de BCP-ALL del paciente y un paciente medible con un BCP-ALL ph-negativo y una MRD medible. Se incluyó una amplia sección transversal de pacientes que aumentó la robustez y la generalización de los resultados de estos estudios. El nivel basal de MRD parecía estar influenciado por el DoR, RFS y OS, al demostrar el nivel de MRD. Los pacientes con MRD basal muy alta ($\geq 10^{-1}$) tenían una DoR muy corta, mientras que aquellos con MRD entre $22,1$ ($12,9-30,3$) $5,6$ ($2,8-19,0$) 10^{-4} y 10^{-3} tenían un DoR mucho más largo. Es un hecho que se ha demostrado que ha habido una resonancia magnética progresiva. En pacientes con MRD por encima de 10^{-2} , debe tenerse en cuenta que ha sido limitado. Con niveles más altos de MRD, el resultado incluso con alloHSCT no es tan beneficioso en comparación con niveles más bajos de MRD o MRD indetectable. Los pacientes con reaparición de MRD en la población de nuestro estudio tuvieron peores resultados en comparación con aquellos con persistencia de MRD. La detección de la reaparición de MRD depende de la frecuencia de las pruebas de MRD de seguimiento. La evaluación de seguimiento para detectar la reaparición de MRD no es rutinaria en muchos países y explica el número relativamente bajo de pacientes con reaparición de MRD en la población estudiada. El manejo de la reaparición de MRD puede diferir de la persistencia de MRD. Mientras que el MRD persiste en recaída. Otros factores que se asociaron con los resultados, incluidos. Alto diagnóstico del factor WBC en un factor establecido que predice un peor pronóstico [25]. Aunque el efecto biológico detrás de este factor clínico no se describe hasta ahora, parece que el impacto adverso del recuento elevado de glóbulos blancos en el momento del diagnóstico se mantiene en el momento de la medición de MRD, ya

que confiere una enfermedad más agresiva. Del mismo modo, en la LLA recidivante / refractaria, el recuento de leucocitos en el primer diagnóstico mantiene un impacto en la supervivencia [26]. Los pacientes más jóvenes tenían la SG más larga, mientras que los pacientes más viejos tenían la SG más corta, de acuerdo con la literatura publicada [10]. Las posibles explicaciones son la disminución de la tasa de trasplante y la quimioterapia de baja intensidad en pacientes mayores y el aumento de la mortalidad relacionada con aloHCTH en el grupo de mediana edad. Sin un estándar de atención reconocido para la LLA MRD-positiva durante el período de estudio, DoR y RFS se mantuvieron relativamente estables durante los períodos de tiempo estimados de 2000 a 2014. Sin embargo, los pacientes diagnosticados más recientemente (2011 o más tarde) parecieron tener un poco más OS en comparación con pacientes diagnosticados en años anteriores. Una proporción cada vez mayor de pacientes se sometieron a aloHSCT en general [27] y en este estudio. Esto puede deberse al hecho de que el impacto negativo de MRD fue reconocido en mayor medida, lo que lleva a una clara indicación de alloHSCT, que ahora es parte de diferentes guías y protocolos de primera línea [18]. Las mejoras en alloHSCT pueden haberse reducido para la mortalidad en pacientes más jóvenes [28]. Es posible que con los datos de seguimiento, el efecto de alloHSCT sobre la supervivencia entre pacientes con MRD-positivo podría ser incluso mayor de lo observado. La principal limitación de este estudio es que fue retrospectivo. Cada país o grupo de estudio siguió su protocolo, que especificaba cuándo realizar evaluaciones MRD. Esta recopilación de datos fue limitada. El régimen respiratorio puede asociarse con la supervivencia [34], pero estos detalles no estaban

disponibles. La falta de estos resultados es sesgar los resultados del estudio a no ser significativos en lugar de causar los efectos observados. No es necesario utilizar diferentes métodos, como alloHSCT. Puede haber cierta incertidumbre, pero no en la dirección de la mejora de los resultados. Este estudio incluyó pacientes durante un período de 14 años. Los cambios en alloHSCT pueden no realizarse plenamente en este estudio. El efecto principal fue probablemente la mayor tasa de realización de alloHSCT a lo largo de los años. Finalmente, fue posible determinar diferencias con valores de $P < .05$.

CONCLUSIÓN

En conclusión, MRD es un fuerte factor pronóstico para los resultados clínicos. Estos datos proporcionan una referencia para los resultados de adultos con BCP-ALL MRD-positivo que reciben terapias estándar que incluyen alloHSCT. El logro de la negatividad de MRD es un objetivo de la estrategia de tratamiento moderna, incluso los pacientes asignados a la consolidación alloHSCT. Es posible mejorar el alloHSCT MRD negativo. Aunque no fue un problema, debe tenerse en cuenta que no fue un problema.

CONSIDERACIONES ÉTICAS Y DE BIOSEGURIDAD

De acuerdo con los Artículos 16, 17 y 23 del CAPÍTULO I, TÍTULO SEGUNDO: De los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos, del REGLAMENTO de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud. El presente proyecto es retrospectivo, documental sin riesgo, que estrictamente no amerita el consentimiento informado. Los investigadores confirmamos que la revisión de los

antecedentes científicos del proyecto justifican su realización, que contamos con la capacidad para llevarlo a buen término, nos comprometemos a mantener un estándar científico elevado que permita obtener información útil para la sociedad, a salvaguardar la confidencialidad de los datos personales de los participantes en el estudio, pondremos el bienestar y la seguridad de los pacientes sujetos de investigación por encima de cualquier otro objetivo, y nos conduciremos de acuerdo a los estándares éticos aceptados nacional e internacionalmente según lo establecido por la Ley General de Salud, Las Pautas Éticas Internacionales Para la Investigación y Experimentación Biomédica en Seres Humanos de la OMS, así como la Declaración de Helsinki.

Bioseguridad: El estudio se ajustara al reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación en Salud. Título segundo, Capítulo 1, Art. 17, referente a una “investigación sin riesgo” ya que se trata de un estudio que contempla investigación documental retroelectiva

RECURSOS

Todos los recursos humanos y materiales serán proporcionados por el servicio de Hematología del CMN 20 de noviembre.

Recursos humanos:

Dr. Juan Manuel Pérez Zúñiga

Dr. Orlando G. Palma Moreno

Dra. Martha Alvarado Ibarra

Personal médico y paramédico adscrito al Servicio de Hematología adultos

Médicos residentes de Hematología

Recursos materiales:

Computadora con Microsoft Office

Expediente clínico electrónico y escrito.

Hoja de captura de datos de pacientes.

Impresora.

Hojas blancas.

Programa SPSS 20

Recursos financieros:

El estudio no requiere recursos financieros adicionales para su realización, ya que los estudios necesarios para su realización son un estándar en el seguimiento de los pacientes.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

	Abril-Mayo 2019	Junio-Julio 2019	Agosto-October 2019
Evaluación por comités	X		
Desarrollo del estudio		X	
Análisis de información y tesis			X

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Campana, D. (2010). Minimal Residual Disease in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Hematology*, 2010(1), 7-12. doi:10.1182/asheducation-2010.1.7

2. Bekkum, D. W. (1984). Residual Reflections on the Detection and Treatment of Leukemia. *Minimal Residual Disease in Acute Leukemia*, 385-396. doi:10.1007/978-94-009-5670-4_31

3. Campana, D. (2009). Role of Minimal Residual Disease Monitoring in Adult and Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 23(5), 1083-1098. doi:10.1016/j.hoc.2009.07.010

4. Nagafuji, K., Miyamoto, T., Eto, T., Kamimura, T., Taniguchi, S., Okamura, T., . . . Harada, M. (2013). Monitoring of minimal residual disease (MRD) is useful to predict prognosis of adult patients with Ph-negative ALL: results of a prospective study (ALL MRD2002 Study). *Journal of Hematology & Oncology*, 6(1), 14. doi:10.1186/1756-8722-6-14

5. Stackelberg, A. V., Seeger, K., Henze, G., & Eckert, C. (2004). Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia after first relapse. *Leukemia*, 18(10), 1727-1728. doi:10.1038/sj.leu.2403475

6. Carr, T., & Stevens, R. (1994). Minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *The Lancet*, 343(8891), 190. doi:10.1016/s0140-6736(94)90986-5

7. Berry, D. A., Zhou, S., Higley, H., Mukundan, L., Fu, S., Reaman, G. H., . . . Radich, J. P. (2017). Association of Minimal Residual Disease With Clinical Outcome

in Pediatric and Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. *JAMA Oncology*, 3(7).
doi:10.1001/jamaoncol.2017.0580

8. Alvarado Ibarra, M., MD. (2017). Meeting Report: Institute for Social Security and Services for State Workers (ISSSTE) on Acute Lymphoblastic Leukaemia. Meeting Report: Institute for Social Security and Services for State Workers (ISSSTE) on Acute Lymphoblastic Leukaemia, México City, México, 3rd to 4th October 2016,6(6), 21-69. Retrieved from www.ijmrhs.com.

9. López Hernández Manuel, Alvarado Martha Ibarra et al (2016). Manual de Procedimientos diagnósticos y terapéuticos 2016. ISSSTE.

10. Mortuza, F. Y. (2002). Minimal Residual Disease Tests Provide an Independent Predictor of Clinical Outcome in Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. *Journal of Clinical Oncology*, 20(4), 1094-1104.
doi:10.1200/jco.20.4.1094

11. Tyagi, S. (2011). Chapter-21 Minimal Residual Disease (MRD) Detection in Acute Leukemia. *Recent Advances in Hematology-3*, 246-260.
doi:10.5005/jp/books/11240_21

12. V H J Van Der Velden, Hochhaus, A., Cazzaniga, G., Szczepanski, T., Gabert, J., & Dongen, J. J. (2003). Detection of minimal residual disease in hematologic malignancies by real-time quantitative PCR: principles, approaches, and laboratory aspects. *Leukemia*, 17(6), 1013-1034. doi:10.1038/sj.leu.2402922

13. Kalina, T., Flores-Montero, J., V H J Van Der Velden, Martin-Ayuso, M., Böttcher, S., Ritgen, M., . . . Orfao, A. (2012). EuroFlow standardization of flow cytometer instrument settings and immunophenotyping protocols. *Leukemia*, 26(9), 1986-2010. doi:10.1038/leu.2012.122

- 14.** Bruggemann, M. (2005). Clinical significance of minimal residual disease quantification in adult patients with standard-risk acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 107(3), 1116-1123. doi:10.1182/blood-2005-07-2708
- 15.** Raff, T., Gokbuget, N., Luschen, S., Reutzel, R., Ritgen, M., Irmer, S., . . . Bruggemann, M. (2006). Molecular relapse in adult standard-risk ALL patients detected by prospective MRD monitoring during and after maintenance treatment: data from the GMALL 06/99 and 07/03 trials. *Blood*, 109(3), 910-915. doi:10.1182/blood-2006-07-037093
- 16.** Holowiecki, J., Krawczyk-Kulis, M., Giebel, S., Jagoda, K., Stella-Holowiecka, B., Piatkowska-Jakubas, B., . . . Hellmann, A. (2008). Status of minimal residual disease after induction predicts outcome in both standard and high-risk Ph-negative adult acute lymphoblastic leukaemia. The Polish Adult Leukemia Group ALL 4-2002 MRD Study. *British Journal of Haematology*, 142(2), 227-237. doi:10.1111/j.1365-2141.2008.07185.x
- 17.** Lopez-Hernández, M. A., & Alvarado-Ibarra, M. (2016, 26 noviembre). Destino a largo plazo de adolescentes y adultos jóvenes con leucemia aguda linfoblástica (LAL) de novo tratados con un protocolo de tipo pediátrico. Recuperado de <http://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=68910>
- 18.** Lopez-Hernández, M. A., Alvarado-Ibarra, M., & Ortiz-Zepeda, M. (2017, 22 julio). Disease-free survival in patients over 40 years of age with Ph-neg acute lymphoblastic leukemia with an intensive protocol.
- 19.** T. Terwilliger, M Abdul-Hay. Acute Lymphoblastic leukemia: A comprehensive review and 2017 update. *Blood Cancer Journal* (2017), e577.

20. National Cancer Institute. SEER cancer statistics review, 1975-2013:Leukemia, annual incidence rates (acute lymphocytic leukemia).
21. Jabbour E, O'Brien S, Konopleva M, Kantarjian H. New insights into the pathophysiology and therapy of adult acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* 2015; 121: 2517–2528.
22. Jaime-Perez JC et al. Survival Rates of Adults With Acute Lymphoblastic Leukemia in a Low-Income Population: A Decade of Experience at a Single Institution in Mexico. *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia* , Volume 17 , Issue 1 , 60 – 68.
23. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR et al. Proposals for the classification of the acute leukemias. FAB cooperative group. *Br J Haematol* 1976; 33; 451-458.
24. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Muller-Hermelink HK, Vardiman J et al. World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hemato- poietic and lymphoid tissues: report of the Clinical Advisory Committee meeting-Airlie House, Virginia, November 1997. *J Clin Oncol* 1999; 17: 3835–3849.
25. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009; 114: 937–951
26. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid

- neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009; 114: 937–951
- 27.d Rowe JM, Buck G, Burnett AK, Chopra R, Wiernik PH, Richards SM et al. Induction therapy for adults with acute lymphoblastic leukemia: results of more than 1500 patients from the international ALL trial: MRC UKALL XII/ECOG E2993. *Blood* 2005; 106: 3760–3767
- 28.Faderl S, Kantarjian HM, et al, T.U.o.T.M.D.A.C.C. Department of Leukemia, Houston, Texas, T.U.o.T.M.D.A.C.C. Department of Leukemia, P.O. Box 428, 1515 Holcombe Blvd., Houston, TX 77030, S. Jeha, T.U.o.T.M.D.A.C.C. Department of Leukemia, Houston, Texas, The biology and therapy of adult acute lymphoblastic leukemia. *Cancer*, 2017; 98: 1337–1354
29. Van Dongen JJ, Seriu T, Panzer-Gruñmayer ER, et al. Prognostic value of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukaemia in childhood. *Lancet*. 1998;352(9142):1731-1738
30. Raff T, Gökbüget N, Lütschen S, et al; GMALL Study Group. Molecular relapse in adult standard-risk ALL patients detected by prospective MRD monitoring during and after maintenance treatment: data from the GMALL 06/99 and 07/03 trials. *Blood*. 2007;109(3): 910-915
31. Gökbüget N, Kneba M, Raff T, et al; German Multicenter Study Group for Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. Adult patients with acute lymphoblastic leukemia and molecular failure display a poor prognosis and are candidates for stem cell transplantation and targeted therapies. *Blood*. 2012;120(9): 1868-1876

32. Bruggemann M, Raff T, Flohr T, Gokbuget N, Nakao M, Droese J et al. Clinical significance of minimal residual disease quantification in adult patients with standard-risk acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2006; 107: 1116–1123.
33. Jacquy C, Delepaut B, Van Daele S, Vaerman JL, Zenebergh A, Brichard B et al. A prospective study of minimal residual disease in childhood B-lineage acute lymphoblastic leukaemia: MRD level at the end of induction is a strong predictive factor of relapse. *Br J Haematol* 1997; 98: 140–146.
34. Sutton R, Venn NC, Tolisano J, Bahar AY, Giles JE, Ashton LJ et al. Clinical significance of minimal residual disease at day 15 and at the end of therapy in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 2009; 146: 292–299.
35. Bassan R, Spinelli O, Oldani E, Intermesoli T, Tosi M, Peruta B et al. Improved risk classification for risk-specific therapy based on the molecular study of minimal residual disease (MRD) in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood* 2009; 113: 4153–4162.
36. Campana D. Minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia. *Semin Hematol* 2009; 46: 100–106.
37. Raff T, Gökbuget N, Lüschen S, Reutzel R, Ritgen M, Irmer S et al. Molecular relapse in adult standard-risk ALL patients detected by prospective MRD monitoring during and after maintenance treatment: data from the GMALL 06/99 and 07/03 trials. *Blood* 2007; 109: 910–915.
38. Ribera JM, Oriol A, Morgades M, Montesinos P, Sarra J, Gonzalez-Campos J et al. Treatment of high-risk Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia in adolescents and adults according to early cytologic response and minimal residual disease after consolidation assessed by flow

cytometry: final results of the PETHEMA ALL-AR-03 trial. *J Clin Oncol* 2014; 32: 1595–1604.

39. Gupta Sumit et al. Minimal residual disease assessment of remission after induction therapy is superior to morphologic assessment for risk stratification in childhood ALL: A report of the Children's oncology group. *Blood* 2016; 128:758.

40. O'Connor D, Moorman AV, Wade R et al. Use of minimal residual disease assessment to redefine induction failure in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol*. 2017; 35:660-667.