

# Leucemia linfoblástica aguda pediátrica, evaluación de enfermedad mínima residual

## Acute lymphoblastic leukemia, analysis of minimal residual disease

Soria M<sup>1</sup>; Ferraro C<sup>1</sup>; Morán L<sup>1</sup>; Gutiérrez M<sup>1</sup>; Prada S<sup>1</sup>; Gaillard M<sup>2</sup>; Drelichman G<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Unidad de Hematología - Hospital de Niños "R. Gutiérrez". CABA. Argentina

<sup>2</sup> Servicio de Inmunología - Hospital de Niños "R. Gutiérrez". CABA. Argentina

marcela.e.soria@gmail.com

Fecha recepción: 11/8/2020  
Fecha aprobación: 25/8/2020



PEDIATRÍA  
ARTÍCULO  
ORIGINAL

HEMATOLOGÍA  
Volumen 24 n° 2: 80-90  
Mayo - Agosto 2020

**Palabras claves:** enfermedad mínima residual, leucemia linfoblástica aguda, pediatría.

**Keywords:** minimal residual disease, acute lymphoblastic leukemia, pediatrics.

### Resumen

La enfermedad mínima residual (EMR) demostró ser un factor pronóstico independiente de riesgo de recaída, permitiendo la adecuación del tratamiento según grupos de riesgo<sup>(1)</sup>. Entre junio de 2010 y mayo de 2019 se evaluaron 137 pacientes (p) pediátricos con diagnóstico *de novo* de leucemia linfoblástica aguda (LLA), tratados de acuerdo al protocolo ALLIC BFM-GATLA 2010, incluyendo la EMR al día 15 para estratificar grupos de riesgo. El punto de corte utilizado para definir EMR al día 15 positiva fue 0.1 %. La EMR al día 15 > 0.1% (87 p, 63%) se asoció con recaídas, no así con SLE y SG. La EMR al día 33 > 0,05 (20 p) se asoció significativamente con riesgo, recaída, SG y SLE. La SG a 24 meses de pacientes EMR al día 33 (-)/al día 72 (-) fue 88%, EMR al día 33 (+)/al día 72 (-) 71% y EMR al día 33 (+)/al día 72 (+) 40% (p= 0.001). La SLE a 24 meses fue 89%, 61% y 40% (p= 0.000) para los mismos grupos de pacientes. La EMR al día 33  $\geq$  0.05 fue la única variable independiente asociada a recaída (p= 0,02), *hazard risk* (HR) 4.1 (IC 95 1.72-10.055), lo que muestra que tener EMR + al día 33 aumenta 4 veces el riesgo de recaída.

### Summary

Minimal residual disease (MRD) has proven to be an independent predictor for risk of relapse, allowing the adequacy of treatment according to risk groups. Between June 2010 and May 2019, 137 patients were evaluated with diagnosis of acute lymphoblastic leukemia treated using the ALLIC BFM-GATLA 2010 protocol. Evaluation at day 15 was used as indicator to stratify risk groups. The cut-off used for MRD on day 15 was 0.1%. Although MRD > 0.1% (87 patients, 63%) was associated with risk and relapse, neither overall survival (OS) nor disease-free survival (DFS) has shown a significance correlation. Moreover, MRD at day 33 > 0.05% (20 patients) was highly associated with risk, relapse, OS and DFS. OS at month 24 for MRD day 33 negative/day 72 negative was 88%, MRD at day 33 positive/at day 72 negative was 71% and MRD at day 33 positive/at day 72 positive was 40% (p= 0.001). DFS at month 24 for MRD at day 33 negative/at day 72 negative was 89%, MRD at day 33 positive/at day 72 negative was 61% and MRD at day 33 positive/at day 72 positive was 40% (p= 0.0001).

The MRD at day 33 with 0.05% or higher was the only that shows association with relapse (p 0.02), hazard risk 4,1 (IC 95 1.72-10.055) which suggests that MRD day 33 positive increases 4 times the risk of relapse.

### Introducción

El monitoreo de enfermedad residual mínima (EMR) se ha convertido en un estudio de evaluación de respuesta al tratamiento en los pacientes con leucemia linfoblástica aguda (LLA) infantil. El diagnóstico de EMR demostró ser un factor pronóstico independiente, permitiendo la adecuación del tratamiento según grupos de riesgo<sup>(1)</sup>, considerándose también como factor pronóstico en la sobrevida libre de eventos (SLE) y sobrevida global (SG) en niños con LLA. Evalúa la respuesta al tratamiento y permite estratificar a los pacientes, adecuando la intensidad del tratamiento y / o asignar pacientes a terapias complementarias a la quimioterapia, como el trasplante de células madre hematopoyéticas en primera remisión<sup>(2-6)</sup>.

Los protocolos contemporáneos incorporan el monitoreo de EMR como el principal criterio de estratificación para tratamiento adaptado al riesgo. Estudios recientes han demostrado que el tratamiento personalizado basado en EMR puede mejorar el resultado en niños con LLA<sup>(7-11)</sup>. Existe fuerte correlación entre los niveles de EMR y el riesgo de recaída. Este concepto incluye la intensificación del tratamiento para niños con niveles más altos de EMR y disminución de la intensidad de tratamiento en niños con enfermedad mínima residual negativa.

La elección de la técnica de detección para evaluación de EMR depende del propósito clínico. Se ha discutido ampliamente que tanto la citometría de flujo como la reacción en cadena de polimerasa cuantitativa en tiempo real tienen requisitos específicos, ventajas, desventajas y concordancia de los resultados<sup>(12,13,10)</sup>.

En muchos protocolos pediátricos de LLA, los días 8 y 15 de la terapia de inducción son los primeros puntos de control para probar, *in vivo*, la sensibilidad individual del clon leucémico del paciente. La rápida reducción o eliminación del clon es altamente predictivo de mejor sobrevida libre de recaídas<sup>(14, 17, 18, 19, 20)</sup>.

El protocolo actual de la *Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediatrica Berlin-Frankfurt-Münster* (AIEOP-BFM) ALL 2009 considera

alto riesgo (AR) a pacientes que tengan factores de AR, o día 15  $\geq 10\%$  por citometría de flujo o a la semana 12  $\geq 0.05\%$  por PCR, o LLA estirpe B al día 33  $\geq 0.05\%$  y semana 12 positivo  $< 0.05\%$  por PCR<sup>(20)</sup>. El grupo *Dutch Children's Oncology Group* (DCOG) ALL-10 considera AR a pacientes con factores de alto riesgo a día 33  $\geq 0.05\%$ ; a día 79  $\geq 0.05\%$  y muy alto riesgo a pacientes que no logran la remisión con más de 5% al día 29<sup>(21)</sup>. El *Children's Oncology Group* (COG) AALL 08B1 considera AR a pacientes sin factores desfavorables; a día 29  $\geq 0.01\%$  o a pacientes que eran riesgo estándar (NCI), sin factores desfavorables; a día 8  $\geq 1\%$ ; a día 29  $< 0.01\%$ , o AR (NCI) a día 29  $< 0.01\%$  y muy alto riesgo a pacientes riesgo estándar o alto con factores desfavorables a día 29  $\geq 0.01\%$ <sup>(2-4)</sup>.

Los pacientes analizados en este trabajo fueron tratados según el protocolo ALLIC GATLA 2010 y se estratifican según el mismo, incluyendo EMR al día 15 en médula ósea (MO). El objetivo de este trabajo es evaluar las características hematológicas y demográficas de pacientes pediátricos con LLA ingresados en este protocolo en la Unidad de Hematología del Hospital General de Niños R. Gutiérrez, SLE y SG de los mismos incluyendo EMR al día 15 y determinar asociación de EMR al día 33 con variables hematológicas y SLE/SG. Evaluar SLE/SG en tres grupos de pacientes: EMR al día 33 (-)/ al día 72 (-), al día 33 (+)/al día 72 (-) y al día 33 (+)/al día 72 (+).

### Materiales y métodos

Se realizó un estudio descriptivo retrospectivo en el período comprendido entre junio de 2010 y mayo de 2019. Ingresaron 165 pacientes con diagnóstico LLA de entre 1 y 18 años de edad tratados según protocolo ALLIC/BFM/GATLA 2010. Se realizó detección de EMR en MO por citometría de flujo de 6 colores (2010/2012) y 8 colores (2013/2019) con citómetro Facsanto II Becton Dickinson utilizando para LLAB los siguientes paneles:

Tubo 1: CD20FITC/ CD10PE/ CD34PerCPcy5,5/ CD38PEcy7/ CD45APC/ CD19APCH7.

Tubo 2: CD58FITC/ CD10PE/ CD34PerCPcy5,5/ CD38PEcy7/ CD45APC/ CD19APCH7.

Tubo 3: Syto/ CD123PE/ CD34PerCPcy5,5/ CD38PEcy7/ CD45APC/ CD19APCH7.

Tubo 1 (8 colores) CD20V450/ CD45V500/ Syto/ CD123CD66c/ CD34PerCPcy5,5/ CD19PEcy/ CD10APC/ CD38APCH7.

Para LLAT el panel utilizado fue:

Tubo 1: Syto/ CD3PE/ CD45Percp/ CD7APC.

Tubo 2: CD99FITC/ CD7PE/ CD5PerPcy5,5/ CD56PECy7/ CD45APC.

Tubo 3: CD8FITC/ CD4PE/ CD3PercP/CD45APC.

Tubo 4 :TDTFITC/ CD7PE/ CD3citPercP/ CD-3supAPC.

Tubo 1 (8 colores) CD3citV450/ CD45V500/ Syto/ CD99PE/ CD5Percpcy5.5/ CD56Pecy7/ CD7APC/ CD3supAPCH7.

Tubo 2 CD4V450/ CD45V500/ CD2FITC/ CD-10PE/ CD8Percpcy5.5/ CD56Pecy7/ CD7APC/ CD3supAPCH7

La adquisición de los datos se realizó con Facs-Diva6 (programa BD Biosciences). El análisis fue realizado con el programa INFINICYT 1.6 (Cytognos). Se adquirieron entre 300.000 y 1.000.000 de eventos Syto+. Se consideró evaluable una muestra cuando el porcentaje de eritroblastos fue mayor o igual a 2% y se obtuvieron 30 eventos o más para la población patológica. El punto de corte para EMR positiva fue 0.1% o  $1 \times 10^{-3}$  al día 15 y mayor o igual a 0.05% a días 33 y 72.

Todos los pacientes fueron tratados según protocolo ALLIC GATLA 2010, ALLIC BFM 2009, aprobado por ANMAT, padres o tutores de los pacientes firmaron consentimiento informado, previo al inicio del tratamiento, acorde a normativas vigentes. Según el protocolo, se consideró riesgo estándar a pacientes menores de 6 años, recuento de glóbulos blancos al diagnóstico menor o igual  $20.000/\text{mm}^3$ , sin marcadores citogenéticos ni moleculares de alto riesgo, buena respuesta a prednisona BRP (menos de 1.000 blastos en sangre periférica al día 8 de tratamiento) y EMR en MO al día 15  $< 0.1\%$ . Riesgo intermedio a pacientes que no son riesgo estándar ni alto. Riesgo alto a pacientes con mala respuesta a la prednisona o citogenético con hipodiploidía ( $< 44$  cromosomas) o t(4;11) o MLL/AF4 (+) o pacientes que al día 15 de la inducción presenten EMR  $\geq 10\%$  o al día 33 sin remisión completa.

El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS 22.0. El análisis univariado se realizó con T-test para variables continuas y con  $\chi^2$  o test de Fisher para variables categóricas. El análisis de supervivencia se estimó según el método de Kaplan Meier. El análisis multivariado se realizó por regresión múltiple. Se consideró estadísticamente significativa a valores de  $p < 0.05$ .

## Resultados

Ingresaron 165 pacientes (p), entre 01/06/2010 y 31/05/2019, evaluables 137. Se excluyeron: 8 p Phi+, 4 p que fallecieron en inducción, 4 p derivados a otra institución y 12 p en los que no se puede evaluar EMR al día 15. La media de seguimiento fue 53.9 meses (rango: 4.6-110.5 meses), la media de edad al diagnóstico fue de 7 años (rango: 1.04-15.9 años). Fueron menores de 6 años 71 p (51.8%). Sexo femenino 51 p (37.2%), masculino 86 p (62.8%). El fenotipo más frecuente según clasificación EGIL II fue estirpe B (89.8%). Las características hematológicas de los pacientes se detallan en la tabla 1.

Los grupos de riesgo teniendo en cuenta todos los factores excepto EMR al día 15 fueron: riesgo estándar 40 p (29.2%), riesgo intermedio 63 p (46%) y riesgo alto 34 p (28.2%). Este protocolo es el primer protocolo pediátrico que estratifica a los pacientes en grupos de riesgo teniendo en cuenta la EMR al día 15, con lo que se observó una disminución en el número de pacientes con riesgo estándar, 17 p (12.4%), aumento en el riesgo intermedio, 82 p (59.9%) y en el riesgo alto 38 p (32.7%). La EMR al día 15 fue evaluable en 137 pacientes, siendo mayor a 0.1% en 85 p (62%) de los cuales 62 p (73%) presentan EMR entre 0.1-10% y 23 p (27%) EMR  $> 10\%$ , y menor a 0.1% en 52 p (38%). Recayeron 25 p (18.24%). En la asociación recaída con grupos de riesgo se observa que recaen 2 p de riesgo estándar (8% de los recaídos) ( $p = 0.46$ ), 11 p (44%) de riesgo intermedio ( $p = 0.074$ ) y 12 p (48%) de riesgo alto ( $p = 0.012$ ), siendo significativa la asociación de riesgo alto con recaída (Tabla 2).

La EMR al día 33 fue evaluable en 128 p (93.14%), en este protocolo no se la utilizó para estratificar pacientes en grupos de riesgos. Consideramos como punto de corte al día 33 EMR 0.05%.

Asociación de variables hematológicas y demográficas con EMR al día 15 ( $n = 137$ )

Cuando se analiza EMR al día 15 y variables hematológicas se observa asociación entre EMR al día 15 con fenotipo pre B, riesgo y recaída (de los 25 p recaídos sólo 4 tenían EMR  $< 0.1\%$  al día 15,  $p = 0.019$ ). No se observó diferencia estadísticamente significativa cuando se asoció EMR al día 15 con edad ( $p = 0.49$ ), recuento de GB  $< 20000/\text{mm}^3$  ( $p = 0.12$ ), sexo ( $p = 0.82$ ), fenotipo B común ( $p = 0.72$ ), pro B ( $p = 0.9$ ) y T ( $p = 0.068$ ), respuesta al día 8 ( $p = 0.13$ ). Fue

estadísticamente significativa la asociación de EMR al día 15 con riesgo estándar ( $p= 0.000$ ) y alto ( $p= 0.000$ ). No fue significativa cuando se asoció EMR al día 15 con riesgo intermedio ( $p= 0.73$ ). Se asoció EMR al día 15 con recaída; de 25 p recaídos, 21 p tuvieron  $EMR \geq 0.1\%$  ( $p= 0.019$ ) (Tabla 3).

La SLE a 36 meses fue de 69% en pacientes con EMR (+) al día 15 y de 85 % en pacientes con EMR (-) al día 15 ( $p= 0.14$ ) (Figura 1). La SG a 36 meses en pacientes con EMR (+) al día 15 fue de 76% y en pacientes con EMR (-) de 90% ( $p= 0.121$ ) (Figura 2). La falta de asociación entre EMR al día 15 con SG y SLE podría deberse a que los pacientes se estratifican y adecúan el riesgo y tratamiento según la misma, lo cual hace que no se vean diferencias significativas en sobrevividas.

#### Asociación de variables hematológicas y demográficas con EMR al día 33 (n= 128)

La EMR al día 33 se asoció con recuento de GB al debut: de 20 p con EMR al día 33  $> 0.05\%$ , 13 p tuvieron más de 20.000/mm<sup>3</sup> leucocitos al debut ( $p= 0.000$ ). No se observaron diferencias estadísticamente significativas cuando se asoció con edad al diagnóstico ( $p= 0.68$ ) y sexo ( $p= 0.09$ ). Se asoció con fenotipo: de 20 p con EMR  $> 0.05\%$ , 8 p son B común ( $p= 0.001$ ), 2 p pre B, 3 p proB ( $p= 0.014$ ) y 8 p fenotipo T (de 14 pacientes LLA T) ( $p= 0.000$ ). Fue significativa la asociación con MLL/AF4, de 3 p positivos, 2 p tuvieron EMR  $>0.05\%$  al día 33 ( $p= 0.008$ ).

Se asoció EMR al día 33 con respuesta a prednisona: de 18 p que tuvieron mala respuesta (MRP), 6

**Tabla 1.** Características hematológicas de los pacientes n:137

	n	%
<b>GB &lt; 20000 mm<sup>3</sup></b>	96	70.1
<b>Fenotipo</b>		
<b>B común</b>	101	73.7
<b>Pre B</b>	19	13.9
<b>Pro B</b>	3	2.2
<b>T</b>	14	10.2
<b>Citogenético (evaluables 115 p)</b>		
<b>Normales</b>	65	47.4
<b>Pseudodiploides</b>	17	12.4
<b>Hipodiploides</b>	2	1.5
<b>Hiperdiploides</b>	32	28.4
<b>Biología molecular (evaluables 128 p)</b>		
<b>MLL-AF4</b>	3	2.2
<b>RUNX1-ETV6</b>	22	16.1
<b>E2A-PBX1</b>	6	4.4
<b>SNC</b>		
<b>I</b>	117	85.4
<b>II</b>	10	7.3
<b>III</b>	10	7.3
<b>Respuesta a prednisona</b>		
<b>Buena respuesta</b>	118	91.8
<b>Recaída</b>	25	18.2

**Tabla 2.** Asociación riesgo/recaídas

Riesgo	Recaída n: 25 (%)	p
Estándar 17 p	2 (8%)	0.46
Intermedio 82 p	11 (44%)	0.074
Alto 38 p	12 (48%)	<b>0.012</b>

presentaron EMR >0.05%, y de 110 p con buena respuesta (BRP), 14 tuvieron EMR >0.05% (p= 0.026). También hubo asociación con grupos de riesgo: ningún paciente riesgo estándar tuvo EMR >0.05% al día 33 (p= 0.05). De 75 pacientes con riesgo intermedio, 3 tuvieron EMR 0.05% y de 36 p con AR 17 p tuvieron EMR al día 33 >0.05%, (p= 0.0000). Recaen 25 pacientes y 15 de ellos tienen EMR >0.05% al día 33 (p 0.000).

Cuando se evalúa EMR al día 33, utilizando como punto de corte 0.05%, se observa que la SLE a 36 meses en pacientes con EMR (+) fue 43% y en pacientes con EMR (-) 81% (p= 0.00) (Figura 3). La SG a 36 meses fue 52% en pacientes con EMR (+) al día 33 y 87% en pacientes con EMR (-) al día 33 (p=0.000).

Cuando analizamos a los pacientes teniendo en

cuenta la EMR a días 33 y 72, podemos agruparlos en pacientes con: EMR al día 33 (-)/ al día72 (-) (Grupo 1: 108 p), al día 33 (+)/al día 72 (-) (Grupo 2: 15 p) y al día 33 (+)/al día72 (+) (Grupo 3: 5 p). De los 5 p positivos a días 33 y 72 fueron: 2 p fenotipo B (1,6% de todas las LLA B 123 p) y 3 fenotipo T (21.4% de todas las LLA T 14 p). Los 2 p con LLA B del grupo 3 amplificaron enfermedad y fallecieron; de los pacientes con LLA T, 2 están vivos en remisión completa (1 p post TMO relacionado) y un paciente recayó y falleció.

La SG a 24 meses de pacientes del grupo 1 fue 88%, grupo 2 71% y grupo 3 40% (p= 0.001). (Figura 5). La SLE a 24 meses fue 89%, 61% y 40% en los grupos 1, 2 y 3 (p= 0.000) (Figura 6).

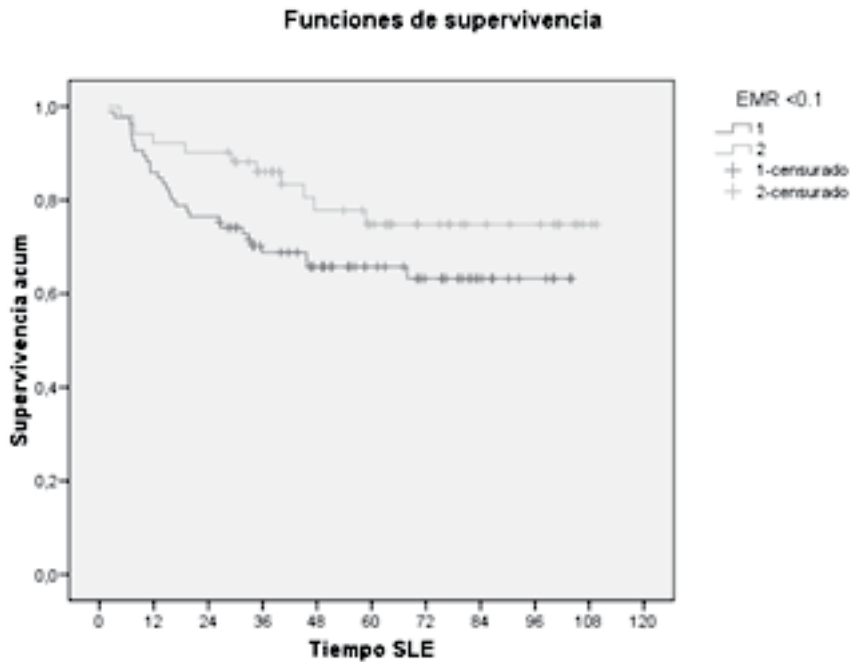
El análisis multivariado fue realizado con modelo de regresión de Cox. Se buscó asociación de todas las

**Tabla 3.** Asociación de variables hematológicas con EMR a días 15 y 33 (n:137)

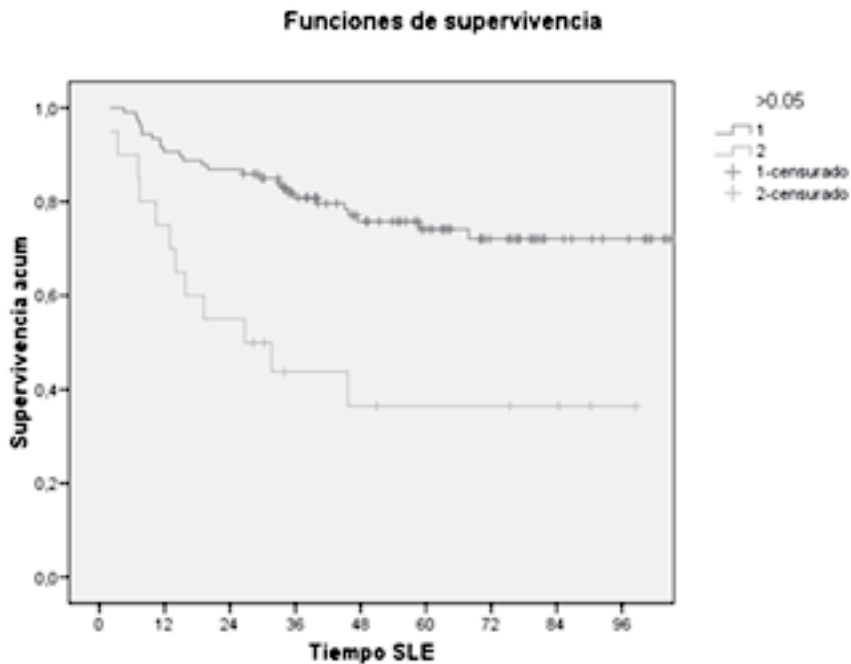
EMR (%) n: 137	D15 < 0.1 n: 137 (%)	D15 > 0.1 n: 137 (%)	p	D33 < 0.05 n: 128 (%)	D33 > 0.05 n: 128 (%)	p
<b>Edad &lt; 6a</b>	24 (17.5)	47 (34.3)	0.49	54 (42.2)	9 (7)	0.68
<b>Edad &gt;6a</b>	26 (19)	40 (29.2)		54 (42.2)	11 (8.6)	
<b>GB &lt; 20.000</b>	39 (28.5)	57 (41.6)	0.12	81 (63.3)	7 (5.5)	<b>0.000</b>
<b>GB &gt; 20.000</b>	11 (8)	30 (21.9)		27 (21.1)	13 (10.2)	
<b>Sexo masculino</b>	32(23.4)	54(39.4)	0.82	65(50.8)	16(12.5)	0.091
<b>Fenotipo</b>						
<b>B común</b>	36 (26.3)	65 (47.4)	0.72	84 (65.6)	8 (6.3)	<b>0.001</b>
<b>Pre B</b>	11 (8)	8 (5.8)	<b>0.037</b>	17 (13.3)	2 (1.6)	0.5
<b>Pro B</b>	1 (0.7)	2 (1.5)	0.9	1 (0.8)	2 (1.6)	<b>0.014</b>
<b>T</b>	2 (1.5)	12 (8.8)	0.068	6 (4.7)	8 (6.3)	<b>0.000</b>
<b>Citogenético</b>						
<b>Hipodiploide</b>	1 (0.9)	1 (0.9)	0.7	0.7	1 (0.9)	0.17
<b>Hiperdiploide</b>	10 (8.7)	22 (19.1)	0.39	0.39	5 (4.6)	0.72
<b>Pseudiploide</b>	7 (6.1)	10 (8.7)	0.72	0.72	4 (3.7)	0.27
<b>Eudiploide</b>	26 (22.6)	39 (33.9)	0.51	0.51	7 (6.5)	0.11
<b>B. molecular</b>						
<i>MLL AF4</i>	1 (0.8)	2 (1.6)	0.88	1 (0.8)	2 (1.7)	<b>0.008</b>
<i>TEL AML1</i>	9 (7.1)	13 (10.2)	0.74	18 (15.1)	1 (0.8)	0.25
<i>E2A PBX1</i>	3 (7.5)	3 (7.5)	0.32	0 (0)	6 (15.4)	0.44
<b>BRP</b>	46 (33.6)	72 (52.6)	0.13	96 (76)	14 (10.2)	<b>0.026</b>
<b>MRP</b>	4 (2.9)	15 (10.9)		12 (9.4)	6 (4.4)	
<b>Riesgo</b>						
<b>Estándar</b>	17 (12.4)	0	<b>0.000</b>	17 (13.3)	0 (0)	<b>0.05</b>
<b>Intermedio</b>	29 (21.2)	53 (38.7)	0.73	72 (56.3)	3 (2.3)	<b>0.000</b>
<b>Alto</b>	5 (3.6)	33 (24.1)	<b>0.000</b>	19 (14.8)	17 (13.3)	<b>0.000</b>
<b>Recaída</b>	4 (2.9)	21 (15.3)	<b>0.019</b>	10 (7.8)	15 (10.9)	0.000

variables en estudio y riesgo de recaída, mostrando que la única variable independiente para predecir recaída fue tener EMR al día 33  $\geq 0.05$  ( $p= 0,02$ ) mostrando un HR de 4.1 (IC 95 1.72-10.055), por

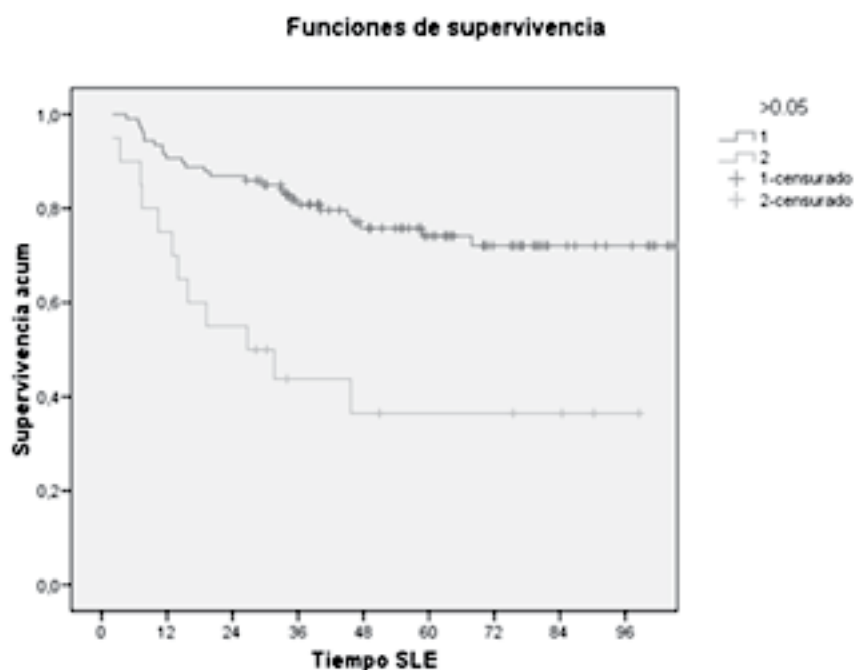
lo tanto, tener EMR + al día 33 aumenta 4 veces el riesgo de recaída. Tener EMR al día 15 positiva no se asoció significativamente con recaída ( $p 0.147$ ), HR 0.42 (IC 95 0.133-1.35).



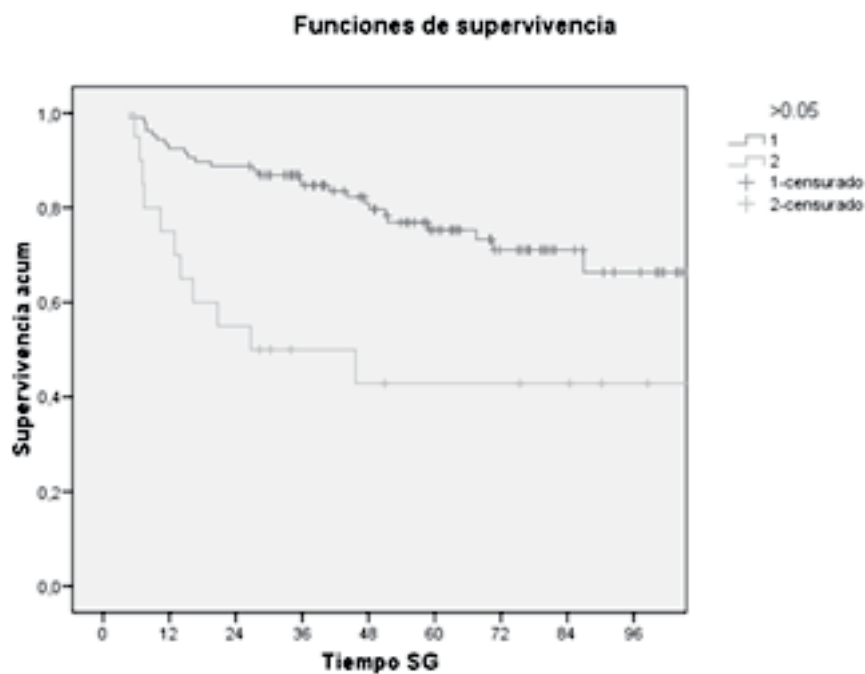
**Figura 1.** SLE estimación Kaplan Meier según EMR día 15. Línea verde (superior) corresponde a EMR <0.1% y la línea azul (inferior) a EMR  $\geq$  a 0.1%.



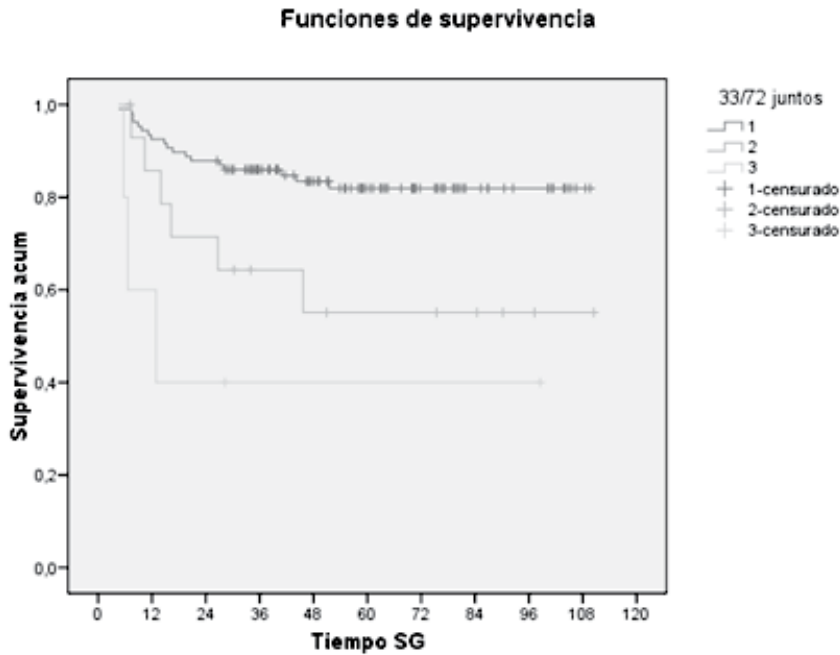
**Figura 2.** SG estimación Kaplan Meier según EMR día 15, la línea verde (superior) corresponde a EMR < 0.1% y la línea azul (inferior) a EMR  $\geq$  a 0.1%.



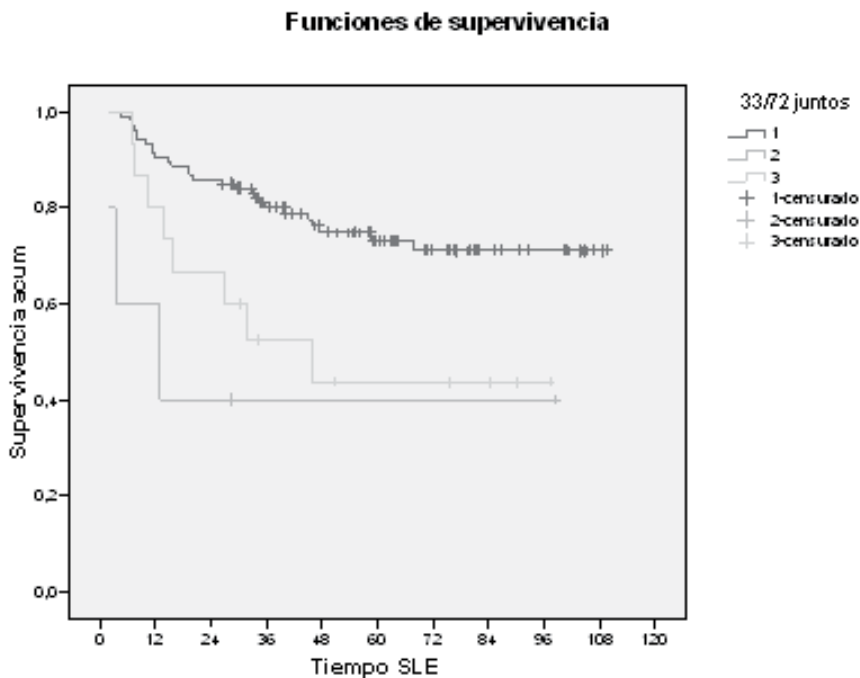
**Figura 3.** SLE estimación Kaplan Meier según EMR día 33. Línea verde (inferior) corresponde a EMR < 0.05% y la línea azul (superior) a EMR ≥ a 0.05%.



**Figura 4.** SG estimación Kaplan Meier según EMR día 33. Línea verde (inferior) corresponde a EMR < 0.05% y la línea azul (superior) a EMR ≥ a 0.05%.



**Figura 5.** SG estimación Kaplan Meier según EMR a días 33 y 72. Línea azul (superior) corresponde a EMR al día 33-/al día 72-, línea verde (media) a EMR al día 33+/al día 72-, línea amarilla (inferior) a EMR al día 33+/al día 72+.



**Figura 6.** SLE estimación Kaplan Meier según EMR a días 33 y 72. Línea azul (superior) corresponde a EMR al día 33-/al día 72-, línea verde (inferior) a EMR al día 33+/al día 72-, línea amarilla (media) a EMR al día 33+/al día 72+.



## Discusión

La importancia pronóstica de EMR en LLA pediátrica está bien establecida en numerosos estudios clínicos<sup>(2, 22-26)</sup>. Protocolos actuales de tratamiento recomiendan monitoreo de EMR en diferentes momentos para evaluar la efectividad de la quimioterapia. La medición de EMR en etapas tempranas (a día 15/19) y final de la inducción (a día 29/33) se considera el principal predictor del resultado del tratamiento y una herramienta fundamental para la estratificación de riesgos, dirigida tanto a la intensificación como a la reducción del mismo<sup>(2, 21, 22, 27, 28, 29)</sup>. Se encuentran, principalmente, dos diferencias entre LLA B y T: la primera es que la medición de EMR al final de la inducción (día 33) es más informativa en LLA B que en T, mientras que EMR a la semana 12 (o día 72) es más informativa en LLA T. La segunda es que los niveles de EMR se pueden correlacionar con el riesgo de recaída sistémica en LLA B, mientras que EMR en LLA T es predictivo de recaída sistémica y extramedular<sup>(5,30)</sup>. Estos resultados obtenidos por citometría de flujo cambiaron la definición del grupo de alto riesgo en pacientes tratados con protocolo AIEOP-BFM<sup>(22)</sup>. La estratificación por grupos de riesgo, incluyendo EMR fue similar a la estimada en el protocolo. En el protocolo previo, ALLIC GATLA 2002, no se estratificaron a los pacientes teniendo en cuenta EMR al día 15, en ese protocolo se observó que la EMR positiva al día 15 se asoció con riesgo alto, mayor porcentaje recaída y menor SLE y SG. En el protocolo siguiente, ALLIC GATLA 2010 se uti-

lizó la EMR al día 15 para la estratificación de los pacientes en grupos de riesgo y observamos que la EMR al día 15 > 0.1% se asoció con recaída, no así con SLE y SG. Esto podría deberse a la adecuación del tratamiento según grupos de riesgo. Este protocolo no estratifica a los pacientes según EMR al día 33 y observamos que la EMR al día 33 > 0,05% se asoció significativamente con riesgos, recaída, SG y SLE. Esto muestra que sería importante incluir EMR al día 33 en protocolos futuros para estratificar a los pacientes, adecuando el tratamiento en pacientes que persistan positivos al día 33. El punto de corte al día 29 o 33 de la inducción varía según los distintos protocolos, considerando algunos grupos 0.01% y otros 0.05%. También se observó que el grupo de pacientes con EMR al día 33 (+)/al día 72 (+) son el grupo de mayor riesgo de recaída con peor SG y SLE.

En concordancia con lo publicado, este trabajo muestra que la EMR positiva al día 33 es una variable independiente para predecir recaída, aumentado 4 veces el riesgo de recaer. Será importante incluir en próximos protocolos la EMR a días 33 y 72 para estratificar a los pacientes e intensificar el tratamiento en el grupo que persiste con EMR positiva. El punto de corte para los días 33 y 72 varía según los distintos los grupos cooperativos. Una vez finalizado este protocolo será necesario incluir a todos pacientes que ingresaron al mismo y así tener un nuevo análisis con una muestra más grande, principalmente para evaluar el comportamiento del pequeño grupo de pacientes que persiste positivo a días 33 y 72.

**Conflictos de interés:** Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

### References

- van Dongen JJM, van der Velden VHJ, Brüggemann M & Orfao A. Minimal residual disease diagnostics in acute lymphoblastic leukemia: need for sensitive, fast, and standardized technologies. *Blood*. 2015;125:3996-4009.
- Borowitz MJ et al. Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia and its relationship to other prognostic factors: a Children's Oncology Group study. *Blood*. 2008;111:5477-5485.
- Berry DA et al. Association of Minimal Residual Disease With Clinical Outcome in Pediatric and Adult Acute Lymphoblastic Leukemia: A Meta-analysis. *JAMA Oncol*. 2017;3: e170580.
- Campana D & Pui CH. Minimal residual disease-guided therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2017;129:1913-1918.
- Schrapppe M et al. Late MRD response determines relapse risk overall and in subsets of childhood T-cell ALL: results of the AIEOP-BFM-ALL 2000 study. *Blood*. 2011;118:2077-2084.
- Borowitz MJ et al. Prognostic significance of minimal residual disease in high risk B-ALL: a report from Children's Oncology Group study AALL0232. *Blood*. 2015;126:964-971.
- Coustan-Smith E et al. A simplified flow cytometric assay identifies children with acute lymphoblastic leukemia who have a superior clinical outcome. *Blood*. 2006;108:97-102.
- Campana D. Progress of minimal residual disease studies in childhood acute leukemia. *Curr Hematol Malig Rep*. 2010;5:169-176.
- Schrapppe M. Minimal residual disease: optimal methods, timing, and clinical relevance for an individual patient. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2012:137-142.
- Campana D. Minimal residual disease monitoring in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Curr Opin Hematol*. 2012;19:313-318.
- Gaipa G, Basso G, Biondi A & Campana D. Detection of minimal residual disease in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*. 2013;84:359-369.
- Brüggemann M et al. Standardized MRD quantification in European ALL trials: proceedings of the Second International Symposium on MRD assessment in Kiel, Germany, 18-20 September 2008. *Leukemia*. 2010;24:521-535.
- van der Velden VHJ et al. Analysis of minimal residual disease by Ig/TCR gene rearrangements: guidelines for interpretation of real-time quantitative PCR data. *Leukemia*. 2007;21:604-611.
- Möricke et al. Risk-adjusted therapy of acute lymphoblastic leukemia can decrease treatment burden and improve survival: treatment results of 2169 unselected pediatric and adolescent patients enrolled in the trial ALL-BFM 95. *Blood*. 2008;111:4477-4489. *Blood*. 2009;113:4478-4478.
- Lauten M et al. Prediction of outcome by early bone marrow response in childhood acute lymphoblastic leukemia treated in the ALL-BFM 95 trial: differential effects in precursor B-cell and T-cell leukemia. *Haematologica*. 2012;97:1048-1056.
- Möricke A 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;24:265-284.
- Gaynon PS et al. Long-term results of the children's cancer group studies for childhood acute lymphoblastic leukemia 1983-2002: A Children's Oncology Group Report. *Leukemia*. 2010;24:285-297.
- Conter V et al. Long-term results of the Italian Association of Pediatric Hematology and Oncology (AIEOP) Studies 82, 87, 88, 91 and 95 for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 2010;24:255-264.
- Fronkova E et al. Minimal residual disease (MRD) analysis in the non-MRD-based ALL IC-BFM 2002 protocol for childhood ALL: is it possible to avoid MRD testing? *Leukemia*. 2008;22:989-997.
- Conter V et al. Molecular response to treatment redefines all prognostic factors in children and adolescents with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: results in 3184 patients of the AIEOP-BFM ALL 2000 study. *Blood*. 2010;115:3206-3214.
- Pieters R et al. Successful Therapy Reduction and Intensification for Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Based on Minimal Residual Disease Monitoring: Study ALL10 From the Dutch Childhood Oncology Group. *J Clin Oncol*. 2016;34:2591-2601.
- Basso G et al. Risk of relapse of childhood acute lym-

- phoblastic leukemia is predicted by flow cytometric measurement of residual disease on day 15 bone marrow. *J Clin Oncol.* 2009;27:5168-5174.
23. van Dongen JJ et al. Prognostic value of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukaemia in childhood. *Lancet.* 1998;352:1731-1738.
  24. Coustan-Smith E et al. Clinical importance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2000;6:2691-2696.
  25. Coustan-Smith E et al. Prognostic importance of measuring early clearance of leukemic cells by flow cytometry in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2002;100:52-58.
  26. Dworzak MN et al. Prognostic significance and modalities of flow cytometric minimal residual disease detection in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2002;99:1952-1958.
  27. Pui CH et al. Clinical utility of sequential minimal residual disease measurements in the context of risk-based therapy in childhood acute lymphoblastic leukaemia: a prospective study. *Lancet Oncol.* 2015;16:465-474.
  28. Stow P et al. Clinical significance of low levels of minimal residual disease at the end of remission induction therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2010;115:4657-4663.
  29. Pui CH et al. Clinical impact of minimal residual disease in children with different subtypes of acute lymphoblastic leukemia treated with Response-Adapted therapy. *Leukemia.* 2017;31:333-339.
  30. Schrappe M. Detection and management of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2014:244-249.



**Atribución – No Comercial – Compartir Igual (by-nc-sa):** No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original. Esta licencia no es una licencia libre.