

Enfermedad mínima residual en leucemia linfática crónica

Minimal residual disease
in chronic lymphocytic leukemia

Riveros D

*Servicio de Hematología. Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas
"Norberto Quirno" (CEMIC)*

dardoriveros@hotmail.com



ENFERMEDAD
MÍNIMA RESIDUAL

HEMATOLOGÍA
Volumen 21 N° Extraordinario: 159-165
XXIII Congreso Argentino
de Hematología
Noviembre 2017

Palabras claves: pronóstico,
inmunoquimioterapia,
nuevos agentes.

Keywords: prognosis,
immunochemotherapy,
novel agents.

1- Introducción

La persistencia de células malignas residuales en sangre periférica o en médula ósea luego del tratamiento es un dato de comprobada importancia para la estimación del pronóstico en varios tipos de leucemia. Métodos biológicos de sensibilidad y factibilidad variadas permiten detectar diferentes niveles de carga tumoral que impactan en el comportamiento clínico de la enfermedad. Este dato, conocido como enfermedad mínima residual (EMR), es una herramienta de gran utilidad para la personalización en el tratamiento de las neoplasias hematológicas. En la leucemia mieloide crónica se demostró en forma categórica la importancia del monitoreo de

las respuestas con la cuantificación de la EMR en el tratamiento con inhibidores de tirosina-quinasa, y últimamente se ha extendido la utilización de esa metodología al manejo terapéutico de las leucemias agudas⁽¹⁻³⁾.

En base a estas comprobaciones y antecedentes, conseguir la EMR negativa se ha convertido también en un objetivo deseable y realista en la leucemia linfática crónica (LLC) y en el mieloma^(4,5).

2- El tratamiento inicial de la leucemia linfática crónica

La inmunoquimioterapia (IQT) ha producido un

cambio significativo en el tratamiento de la LLC, mejorando la supervivencia libre de progresión (SLP) y la supervivencia global (SG) en relación a los resultados obtenidos con quimioterapia convencional.

El estudio CLL8 del Grupo Alemán comparó la combinación de fludarabina-ciclofosfamida-rituximab (FCR) con fludarabina-ciclofosfamida (FC) en pacientes funcionalmente aptos y con LLC activa. La triple combinación fue superior, con 40-50% de respuestas completas y prolongación de la SLP con respecto al grupo tratado con FC. El agregado de rituximab prolongó también de manera significativa la SG, efecto que no se había alcanzado en otros estudios aleatorizados anteriores. El beneficio se observó en todos los subgrupos de pacientes, excepto en aquellos con *17p- / mut P53*. De esta manera, FCR se adoptó como tratamiento estándar en primera línea para casos sin esa alteración genómica, que tuvieran enfermedad activa y un bajo índice de comorbilidades expresado por un CIRS ≤ 6 y una tasa de filtración glomerular ≥ 70 mL/min^(6,7).

En el estudio CLL10 el mismo grupo comparó bendamustina-rituximab (BR) con FCR en pacientes aptos para recibir IQT. La combinación BR fue inferior en eficacia a FCR, pero en el subgrupo de pacientes con más de 65 años no hubo diferencias significativas en la SLP entre ambas ramas y BR tuvo menos toxicidad. Por esta razón se considera que BR es una buena alternativa a FCR en individuos mayores de 65 años con buen estado funcional⁽⁸⁾.

Para pacientes con comorbilidades (CIRS > 6 y tasa de filtración glomerular < 70 mL/min) se aprobó posteriormente la utilización de obinutuzumab-clorambucilo o de ofatumumab-clorambucilo o bendamustina, luego de los resultados obtenidos en los estudios CLL11 y COMPLEMENT-1 con esos dos nuevos agentes anti-CD20 combinados con alquilantes^(9,10).

La única excepción al tratamiento inicial con IQT es la de pacientes con *17p-/mut P53*, ya que tienen un pésimo pronóstico con esas combinaciones independientemente de otros factores. Últimamente se han desarrollado agentes que han demostrado actividad notable en todos los subgrupos genómicos, incluidos el ya mencionado. Entre ellos se destacan el ibrutinib, un inhibidor de la tirosina-quinasa de Bruton, y el venetoclax, que actúa como antagonista de la proteína anti-apoptótica BCL2. Además de su

eficacia comprobada, estos compuestos tienen otras ventajas: pueden administrarse por vía oral y su perfil de seguridad es superior en líneas generales al de la IQT⁽¹¹⁻¹³⁾.

Los organismos regulatorios han aprobado ibrutinib para pacientes que, luego de haber recibido una o más líneas terapéuticas, han recaído o son refractarios (R/R), y también para el tratamiento inicial en aquellos con *17p-/mutP53*. La aprobación de venetoclax está referida a pacientes R/R que tienen esa alteración genética. Recientemente, luego de los resultados del estudio RESONATE-2 realizado en pacientes mayores de 65 años sin *17p-/mutP53*, ibrutinib se aprobó en Europa para la primera línea independientemente del estado mutacional, facilitando así su utilización en adultos mayores vírgenes de tratamiento en los que la IQT puede tener toxicidad excesiva^(14,22).

3- Aspectos metodológicos

Junto a la capacidad para predecir eventos clínicos definidos, el método ideal para la detección de EMR debe ser cuantitativo, simple, relativamente no invasivo y debidamente estandarizado para permitir la comparación entre laboratorios y estudios clínicos. La detección sensible de la ERM es posible por metodologías que se basan en la citometría de flujo (CF) o en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), reconociéndose actualmente dos técnicas consideradas estándar: la CF-4 colores y la ASO IGHV RQ-PCR (*allelo-specific oligonucleotide RQ-PCR*). La sensibilidad de detección es de 1 célula leucémica cada 10.000 leucocitos (10^{-4} ó 0,01%) en el caso de la CF-4 y de 1 célula cada 100.000 (10^{-5} ó 0,001%) para la ASO IGHV RQ-PCR. Las guías y recomendaciones actuales en LLC definen a la ERM negativa como la que corresponde a un nivel por debajo de 1 célula/10.000 y que la técnica aceptable para su detección es la que tiene una sensibilidad de $\geq 10^{-4}$ ó 0,01%^(15,16).

La CF-4 es cuantitativa, puede realizarse tanto en sangre periférica (SP) como en médula ósea (MO), es muy utilizada en los estudios de investigación y se adapta con facilidad a las necesidades de la práctica clínica. Debe realizarse dentro de las 48 horas de extraída la muestra y es ampliamente dependiente de la cantidad de leucocitos, por lo que su sensibilidad es menor en especímenes hipocelulares.

La ASO IGHV RQ-PCR es paciente-específica y se

le reconocen las siguientes ventajas sobre la CF-4: tiene más sensibilidad y no se necesitan leucocitos frescos para su realización, por lo que puede efectuarse sobre material histórico almacenado a temperatura ambiente. Entre sus desventajas se contabilizan la laboriosidad del procedimiento y el mayor costo económico, por lo que su adaptabilidad clínica es más problemática.

Estos métodos han sido refinados merced a avances tecnológicos recientes, dando lugar a nuevas técnicas con mayor sensibilidad, como son la CF de 6, 8 y 10 colores o la PCR-HTS (*high-throughput sequencing*). Sin embargo estas modalidades deben ser validadas en estudios clínicos antes de ser adoptadas en forma amplia⁽¹⁶⁾.

Todo análisis sobre metodología para la detección de EMR en LLC no debe soslayar el carácter ubicuo de la enfermedad, con múltiples compartimentos comprometidos por la presencia tumoral. La ausencia de células malignas en SP o en MO no significa que en los ganglios o en el bazo no persista residuo de enfermedad. En una patología básicamente nodal como es el linfoma difuso a células grandes B, la existencia de ADN tumoral libre en plasma fue más sensible que la detección de EMR en la fracción celular⁽¹⁷⁾. Este hallazgo puede impulsar futuros desarrollos en el área de la LLC.

4- La enfermedad mínima residual luego del tratamiento inicial

Considerando que el origen de las recaídas son las células leucémicas que persisten luego del tratamiento de inducción, se puede concluir que una alta carga residual se asocia con malos resultados clínicos, y que la cuantificación de la EMR con una técnica sensible puede ser una alternativa para predecir la SLP y la SG. Los resultados de numerosos estudios clínicos parecen confirmar esta presunción en la primera línea terapéutica (Tabla 1).

En el año 2008 un estudio fase 2 del M.D. Anderson Cancer Center (MDACC) comprobó que del grupo de pacientes tratados con fludarabina en ese centro, el esquema FCR demostró ser el más potente predictor determinante de la SG⁽¹⁸⁾. Además, los pacientes con EMR negativa al final del tratamiento tenían mejor SLP que los que persistían con células malignas en MO (mediana 85 vs 49 meses) y mejor SG a los 6 años (84% vs 65%). En dicho estudio se utilizaron técnicas de CF y PCR para la detección de

la EMR, pero los niveles de positividad para definir la negatividad así también como la sensibilidad de los métodos eran diferentes a los considerados estándares actuales.

Posteriormente y también el grupo del MDACC comunicó su experiencia con la evaluación prospectiva de 237 pacientes tratados con FCR, utilizando en esta oportunidad la técnica de CF-4 en muestras de MO a los 3 meses del tratamiento y a 2 meses de concluido el mismo⁽²¹⁾. EMR negativa se comprobó en 17% de los pacientes a los 3 meses y en 43% al final, siendo los más beneficiados aquéllos con trisomía 12 o con mutación IGHV. Alcanzar la negatividad molecular fue asociada con mayor SLP y SG, independientemente del número de ciclos recibidos. Este último hallazgo posibilitaría la suspensión precoz del tratamiento luego de obtenerse la EMR negativa a los 3 meses, hipótesis que debe ser evaluada en estudios clínicos adecuados.

El estudio CLL8 aportó información valiosa con respecto a la obtención de la EMR con FCR, considerado el tratamiento de elección para pacientes con buen estado funcional y enfermedad activa⁽¹⁹⁾. En muestras obtenidas de SP al final del tratamiento y evaluadas con CF-4 colores, la mediana de SLP a los 6 años para pacientes con $<10^{-4}$ células (EMR negativa) fue de 69%, con $\geq 10^{-4}$ a $<10^{-2}$ (nivel intermedio de enfermedad residual) fue de 41%, y con $\geq 10^{-2}$ (nivel alto) fue de 15%. En lo que se refiere a la SG y para los mismos niveles de detección fue: no alcanzada, no alcanzada y 48% respectivamente. Se comprobó en este estudio que la EMR negativa al final del tratamiento es un factor determinante para lograr remisiones prolongadas y mejoría en la SG, independientemente del tratamiento realizado, pero que FCR es más eficaz que FC para alcanzar ese objetivo (63% vs 35%). Estos datos fueron confirmados en una actualización reciente con una mediana de seguimiento de 6 años, especialmente en el subgrupo de pacientes con IGHV mutada⁽⁷⁾.

En el estudio CLL10 que comparó FCR con BR, la triple combinación fue significativamente superior para la obtención de la EMR negativa al final del tratamiento, a los 12 y a los 18 meses del seguimiento, tanto en SP como en MO⁽²⁰⁾. Esta superioridad se trasladó a la duración de la remisión (53 vs 39 meses), confirmando los resultados del CLL8.

El diseño de anticuerpos anti-CD20 que actúan a través de mecanismos diferentes a los del rituximab

permitió evaluar en ellos su capacidad para producir EMR negativa⁽⁹⁾. En este sentido, obinutuzumab asociado a clorambucilo fue superior a rituximab-clorambucilo, advirtiéndose también que la SLP a los 3 años era mayor en los pacientes que habían logrado ese objetivo al final del tratamiento comparados con los que no lo habían conseguido (no alcanzada vs 19 meses).

Actualmente hay varios ensayos en curso que evalúan la eficacia y seguridad de los nuevos agentes ibrutinib y venetoclax combinados con anticuerpos monoclonales y/o con quimioterapia en el tratamiento inicial de la LLC. Se aguardan con mucho interés los resultados en ese escenario de los estudios ILLUMINATE (ibrutinib-obinutuzumab versus clorambucilo-obinutuzumab) y FLAIR (FCR versus ibrutinib-rituximab), que aportarán datos también sobre la obtención de la ERM⁽²²⁾.

Sin embargo ya hay comunicaciones recientes de otros estudios, demostrando que la incorporación de ibrutinib o venetoclax en el tratamiento inicial produce una tasa elevada de respuestas, incluida la EMR negativa. Un hallazgo muy importante en este sentido es que esa eficacia se consigue tempranamente en el curso del tratamiento y en una población de pacientes adultos mayores y con alto índice de comorbilidades^(23,24). En esta misma línea, y avanzando en la idea de estrategias libres de IQT, deben destacarse los resultados con lenalidomida en pacientes añosos vírgenes de tratamiento, en los que se consiguió remisión completa hematológica con EMR negativa en 8% de los casos⁽²⁵⁾.

Esto permitiría personalizar efectivamente el tratamiento de la LLC, preservando a la población más vulnerable de los efectos de esquemas terapéuticos excesivos y potencialmente tóxicos.

Tabla 1. Frecuencia de EMR negativa según tipo de terapia. Impacto clínico sobre la SLP/SG entre el estado de EMR negativa o positiva por citometría de flujo al final del tratamiento ($<10^{-4}$ vs $\geq 10^{-4}$ respectivamente)

Referencia	Estudio/ Tratamiento	EMR neg. (%)	SLP	p	SG	p
Tam ⁽¹⁸⁾	Fase 2/FCR	72 (MO)	85 vs 49 meses	<0,001	84 vs 65 meses	<0,001
Strati ⁽²¹⁾	Fase 2/FCR	43 (MO)	HR 0,1	0,03	HR 0,06	0,02
Bötcher ⁽¹⁹⁾	Fase3/ FCR vs FC	63 FCR 35 FC (SP)	69 vs 15-40 meses	<0,0001	NA vs 48 meses	<0,0001
Eichhorst ⁽²⁰⁾	Fase 3/ FCR vs BR	59 FCR 26 BR (SP)	NR	----	NR	----
Goede ⁽⁹⁾	Fase 3/ O+CBL vs R+CBL	20 O+CBL 3 R+CBL (SP)	19 meses vs NA	<0,001	NR	----

EMR: enfermedad mínima residual. **SLP:** supervivencia libre de progresión. **SG:** supervivencia global.

FCR: fludarabina-ciclofosfamida-rituximab. **BR:** bendamustina-rituximab. **O+CBL:** obinutuzumab-clorambucilo.

MO: médula ósea. **SP:** sangre periférica. **HR:** hazard ratio. **NA:** no alcanzada. **NR:** no reportada.

5- El paciente recaído o refractario al tratamiento inicial

Los pacientes R/R tienen opciones terapéuticas más limitadas. Para ellos, la introducción de los nuevos agentes en la práctica clínica ha ampliado la posibilidad de conseguir respuestas más profundas y duraderas. En el 2005 Wierda demostró que para los pacientes R/R el esquema FCR era superior a otros tratamientos disponibles en ese momento en cuanto a la obtención de las respuestas hematológicas, pero

no había diferencias estadísticas significativas en la SLP entre los que obtenían o no la EMR negativa⁽²⁶⁾. A partir de la introducción de los nuevos agentes se reunió información sobre el efecto de otras opciones terapéuticas en la EMR y de su impacto en el comportamiento clínico luego de la recaída o del estado refractario, inclusive en los grupos con muy alto riesgo citogenético (**Tabla 2**).

Tabla 2. EMR al final del tratamiento y su correlación con la evolución en pacientes recaídos/refractarios

Referencia	Tratamiento	EMR negativa	SLP	p	SG (meses)
Moreton ⁽²⁷⁾	Alemtuzumab	53% (MO)	20 meses vs NA	<0,001	41 vs NA P<0,001
Pettitt ⁽²⁸⁾	Alemtuzumab + ADMP	36% (MO)	24 vs 10 meses	0,009	NR
Stilgenbauer ^{(29)*}	Venetoclax	27% (SP)	100% vs 79%	-----	NR
Roberts ⁽³⁰⁾	Venetoclax + rituximab	49% (MO)	-----	-----	-----
Rawstron ⁽³¹⁾	Ibrutinib + obinutuzumab	44% (SP)	NR	-----	NR
Logan ⁽³²⁾	Trasplante allogénico de MO	38% (SP)	93% vs 38% (a 4 años)	<0,001	NR

EMR: enfermedad mínima residual. **SLP:** supervivencia libre de progresión. **SG:** supervivencia global. **ADMP:** altas dosis de metilprednisolona. **MO:** médula ósea. **SP:** sangre periférica. **NA:** no alcanzada. **NR:** no reportada.

*Pacientes con 17p-

6- Conclusiones

Los resultados de múltiples estudios han demostrado en forma consistente que la obtención de EMR negativa al final del tratamiento se asocia con un comportamiento clínico favorable, evaluado según SLP y SG. Recientemente Kwok confirmó que esto se observa con las más diversas modalidades terapéuticas, en pacientes sin tratamiento previo o en R/R, y luego de períodos prolongados de seguimiento⁽³³⁾. El trabajo colaborativo de grupos internacionales permitió desarrollar métodos de detección válidos y reproducibles, basados en CF y PCR. Por estos motivos, las dudas sobre el valor pronóstico de la EMR han sido superadas.

Sin embargo quedan interrogantes por resolver antes de que este instrumento sea aplicado libremente en el cuidado diario del paciente con LLC, práctica que debe tener también en consideración otros aspectos, como son la calidad de vida y la toxicidad o carga financiera de los tratamientos. Siguiendo este concepto, uno de los temas no resueltos es el referido a la decisión de disminuir o aumentar la intensidad y/o duración terapéutica según se obtenga o no la EMR negativa al finalizar la inducción⁽¹⁶⁾.

Otro aspecto que debe ser jerarquizado es que el impacto pronóstico de la EMR está consistentemente demostrado con la IQT, pero que debe ser confirmado con las nuevas moléculas que actúan sobre la señalización: no debe olvidarse que ibrutinib mejora

la SLP en el contexto de respuestas parciales con linfocitosis. Este hecho, además de cuestionar la importancia de la EMR con los nuevos tratamientos, pone en discusión la propuesta de utilizarla como subrogante de los puntos finales clínicos de los estudios de investigación con la finalidad de adelantar las conclusiones⁽⁴⁾.

Además, en una enfermedad ubicua y de compartimentos múltiples como la LLC, no hay certezas sobre el mejor sitio disponible para obtener la muestra para la detección de la EMR. Los más accesibles son SP y MO, y en el futuro los resultados pueden mejorarse con metodología de mayor sensibilidad⁽¹⁷⁾.

Deben realizarse estudios nuevos y bien diseñados para resolver estos y otros temas, antes que el recurso de la EMR se traslade al campo de la clínica diaria con el objetivo de utilizarlo en el manejo personalizado de la LLC.

Declaración de conflictos de interés:

El autor declara que no posee conflictos de interés.

Bibliografía

1. Branford S, Yeung DT, Parker WT y col. Prognosis for patients with CML and >10% BCR-ABL1 after 3 months of imatinib depends on the rate of BCR-ABL1 decline. *Blood*. 2014; 124(4): 511-518.

2. Chen X, Xie H, Wood BL y col. Relation of clinical response and minimal residual disease and their prognostic impact on outcome in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol.* 2015; 33: 1258-1264.
3. Litzow MR. Finally moving forward in adult ALL. *Blood.* 2015; 125(16): 2453-2454.
4. Little RF y Mc Shane LM. Measure for measure: minimal residual disease in CLL. *Blood.* 2016; 128(24): 2747-2748.
5. Paiva B, Cedena M-T, Puig N y col. Minimal residual disease monitoring and immune profile in multiple myeloma in elderly patients. *Blood.* 2016; 127(25): 3165-3174.
6. Hallek M, Fischer K, Fingerle-Rowson G y col. Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet.* 2010; 376(9747):1164-1174.
7. Fischer K, Bahlo J y Fink AM. Long-term remissions after FCR chemoimmunotherapy in previously untreated patients with CLL: updated results of the CLL8 trial. *Blood.* 2016; 127(2):208-215.
8. Eichhorst B, Fink A, Busch R y col. Front-line chemoimmunotherapy with fludarabine (F), cyclophosphamide (C), and rituximab (R) (FCR) shows superior efficacy in comparison to bendamustine (B) and rituximab (BR) in previously untreated and physically fit patients (pts) with advanced chronic lymphocytic leukemia (CLL): final analysis of an international, randomized study of the German CLL Study Group (GCLLSG) (CLL10 Study). *Blood.* 2014; 124 (21):19.
9. Goede V, Fischer K, Busch R y col. Obinutuzumab plus chlorambucil in patients with CLL and coexisting conditions. *N Engl J Med.* 2014; 370(12):1101-1110.
10. Hillmen P, Robak T, Janssens A y col. Chlorambucil plus ofatumumab versus chlorambucil alone in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukaemia (COMPLEMENT 1): a randomised, multicentre, open-label phase 3 trial. *Lancet.* 2015; 385 (9980):1873-1883.
11. Byrd JC, Brown JR, O'Brien S et al. Ibrutinib versus ofatumumab in previously treated chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med.* 2014; 371: 213-223.
12. O'Brien S, Jones JA, Coutre S y col. Efficacy and safety of ibrutinib in patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia or small lymphocytic leukemia with 17p deletion: results from the phase II RESONATE-17 Trial [abstract]. *Blood.* 2014; 124 (21):Abstract 327.
13. Roberts AW, Ma S, Brander DM y col. Determination of recommended phase 2 dose of ABT-199 (GDC-0199) combined with Rituximab (R) in patients with relapsed/Refractory (R/R) chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Blood.* 2014; 124 (21):325-325.
14. Burger JA, Tedeschi A, Barr PM y col. Ibrutinib as initial therapy for patients with chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med.* 2015; 373: 2425-2437.
15. Böttcher S, Hallek M, Ritgen M, and Kneba M. The role of minimal residual disease measurements in the therapy for CLL. *Hematol Oncol Clin N Am.* 2013; 27: 267-288.
16. Thompson PA y Wierda WG. Eliminating minimal residual disease as a therapeutic end point: working toward cure for patients with CLL. *Blood.* 2016; 127 (3):279-286.
17. Muringampurath-John D, Jaye DL, Flowers CR, y col. Characteristics and outcomes of diffuse large B-cell lymphoma presenting in leukaemic phase. *Br J Haematol.* 2012; 158(5):608-614.
18. Tam CS, O'Brien S, Wierda W y col. Long-term results of the fludarabine, cyclophosphamide and rituximab as initial therapy of chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2008; 112: 975-980.
19. Bötcher S, Ritgen M, Fischer K y col. Minimal residual disease quantification is an independent predictor of progression-free and overall survival in CLL: a multivariate analysis from de randomized GCLLSG8 trial. *J Clin Oncol.* 2012; 30:980-988.

20. Eichhorst B, Fink A-M, Bahlo J y col. First-line chemoimmunotherapy with bendamustine and rituximab versus fludarabine, cyclophosphamide and rituximab in patients with advanced chronic lymphocytic leukemia (CLL10): an international, open-label, randomised, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet Oncol.* 2016. Published Online May 20, 2016. [http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(16\)30051-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(16)30051-1).
21. Strati P, Keating MJ, O'Brien SM y col. Eradication of bone marrow minimal residual disease may prompt early treatment discontinuation in CLL. *Blood.* 2014; 123 (24):3727-3732.
22. Wendtner C-M. Prioritizing therapies in CLL. *Hematology Education: the education program for the annual congress of the EHA.* 2017; 11 (1):76-78.
23. Fischer K, Fink A-M, Bishop H y col. Results of the Safety Run-in Phase of CLL14 (BO25323): A Prospective, Open-Label, Multicenter Randomized Phase III Trial to Compare the Efficacy and Safety of Obinutuzumab and Venetoclax (GDC-0199/ABT-199) with Obinutuzumab and Chlorambucil in Patients with Previously Untreated CLL and Coexisting Medical Conditions. Presented at: 57th American Society of Hematology Annual Meeting; Orlando, Florida; December 5-8, 2015. Abstract 496.
24. Jain N, Thompson P, Burger J y col. Ibrutinib, fludarabine, cyclophosphamide, and obinutuzumab for previously untreated patients with CLL with mutated IGHV and non-del (17p). Presented at 22nd Congress of the EHA; Madrid, June 22-25, 2017. Abstract S463.
25. Badoux XC, Keating MJ, Wen S et al. Lenalidomide as initial therapy of elderly patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2011; 118(13):3489-3498.
26. Wierda W, O'Brien S, Wen S y col. Chemoimmunotherapy with fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab for relapsed and refractory chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol.* 2005; 23 (18):4070-4078.
27. Moreton P, Kennedy B, Lucas G y col. Eradication of minimal residual disease in B-cell chronic lymphocytic leukemia after alemtuzumab therapy is associated with prolonged survival. *J Clin Oncol.* 2005; 23 (13):2971-2979.
28. Pettitt AR, Jackson R, Carruthers S y col. Alemtuzumab in combination with methylprednisolone is a highly effective induction regimen for patients with chronic lymphocytic leukemia and deletion of TP53: final results of the national cancer research institute CLL206 trial. *J Clin Oncol.* 2012; 30(14):1647-1655.
29. Stilgenbauer S, Chyla B, Eichhorst B y col. Venetoclax in relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia with 17P deletion: outcome and minimal residual disease from the full population of the pivotal M13-982 trial Presented at 22nd Congress of the EHA; Madrid, June 22-25, 2017. Abstract S771.
30. Roberts AW, Ma S, Brander DM et al. Venetoclax (ABT-199/GDC-0199) combined with rituximab induces deep responses in patients with relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia [abstract]. *Haematologica.* 2015;100(Suppl 1):154. Abstract S431.
31. Rawstron A, Munir T, Muñoz-Vicente S y col. Adding obinutuzumab to ibrutinib enhances depletion of CLL cells in peripheral blood and bone marrow after 1 & 6 months combined therapy initial results from the bloodwise tap ICICLE extension study. Presented at 22nd Congress of the EHA; Madrid, June 22-25, 2017. Abstract P245.
32. Logan AC, Zhang B, Narasimhan B et al. Minimal residual disease quantification using consensus primers and high-throughput IGH sequencing predicts post-transplant relapse in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia.* 2013; 27(8):1659-1665.
33. Kwok M, Rawstron AC, Varghese A et al. Minimal residual disease is an independent predictor for 10-year survival in CLL. *Blood.* 2016; 128 (24):2770-2773.