XXV
JORNADAS
CIENTÍFICAS DE
ANÁLISES CLÍNICAS
E GENÉTICA HUMANA

IMPORTÂNCIA DA PESQUISA DA DOENÇA RESIDUAL MENSURÁVEL NAS LEUCEMIAS AGUDAS E NA DECISÃO TERAPÊUTICA

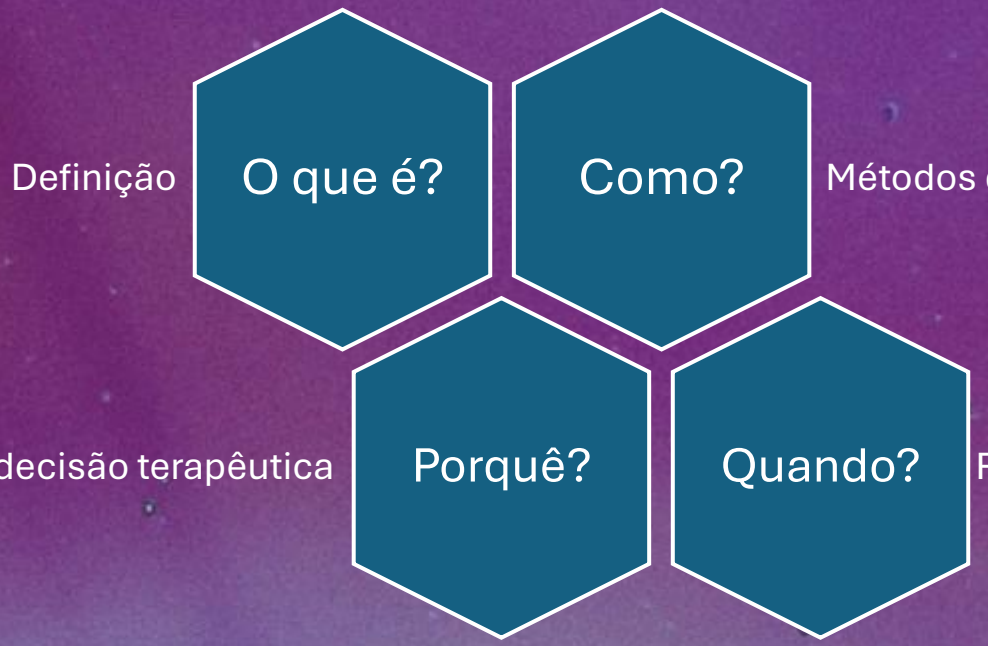
Marta Henriques

Serviço de Hematologia Clínica

ULS de São João

ORDEM DOS FARMACÊUTICOS 1835

Doença Residual Mensurável (DRM)

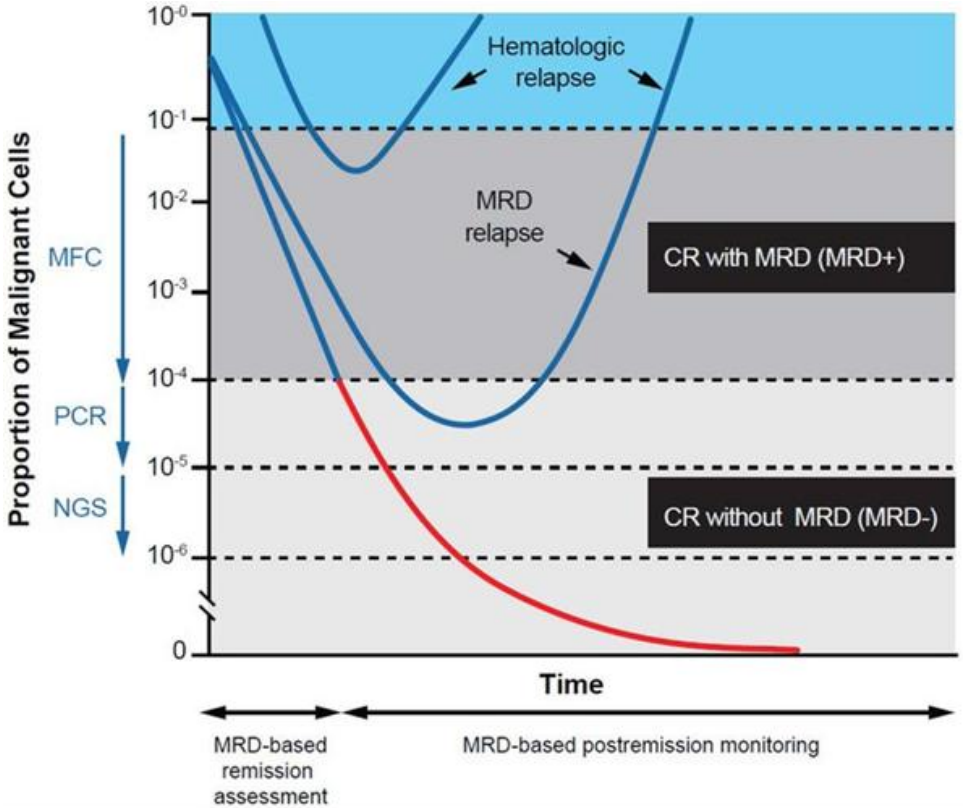


XXV
JORNADAS
CIENTÍFICAS DE
ANÁLISES CLÍNICAS
E GENÉTICA HUMANA

Definição de DRM

- Persistência de células neoplásicas detetáveis por métodos mais sensíveis dos que as técnicas morfológicas convencionais.

- A sensibilidade das metodologias convencionais (ex: número de células identificadas no mielograma ou biópsia óssea) geralmente é 10^{-2}.



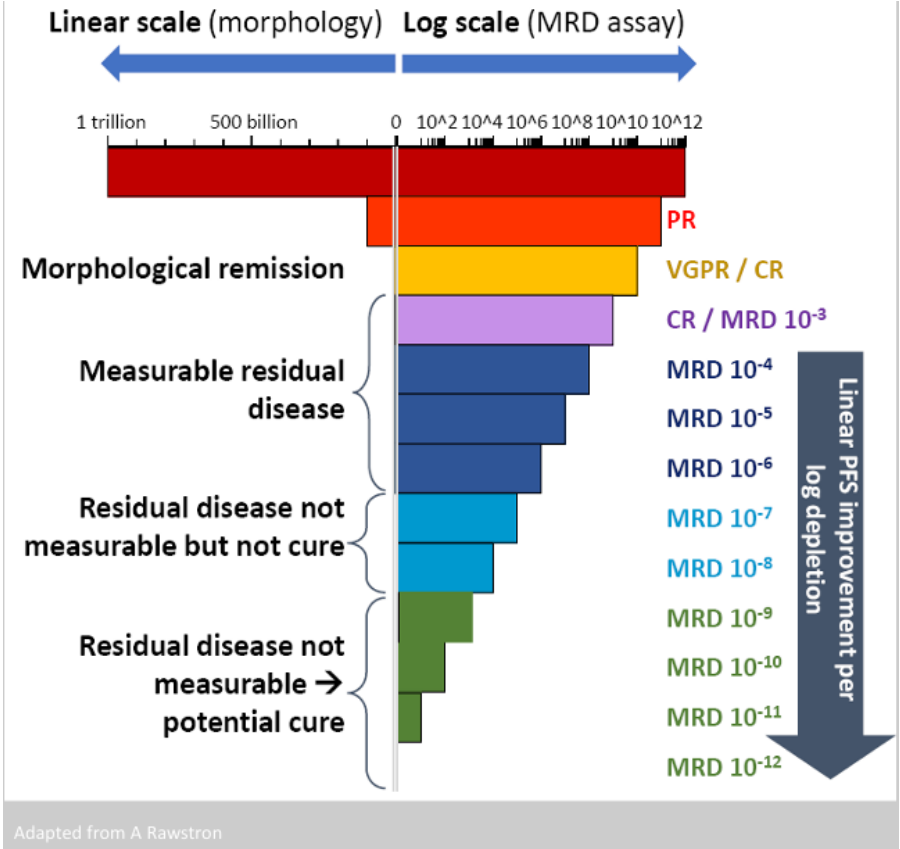
Short et al. *Am J Hematol.* 2019;94(2):257-265

ORDEM DOS FARMACÊUTICOS

Definição de DRM

- **Marcador de eficácia terapêutica:** DRM negativa é indicadora de maior profundidade de resposta.

- Presença de DRM associada a menor sobrevivência livre de progressão (PFS) e sobrevivência global (OS).



ORDEM DOS FARMACÊUTICOS

Definição de DRM

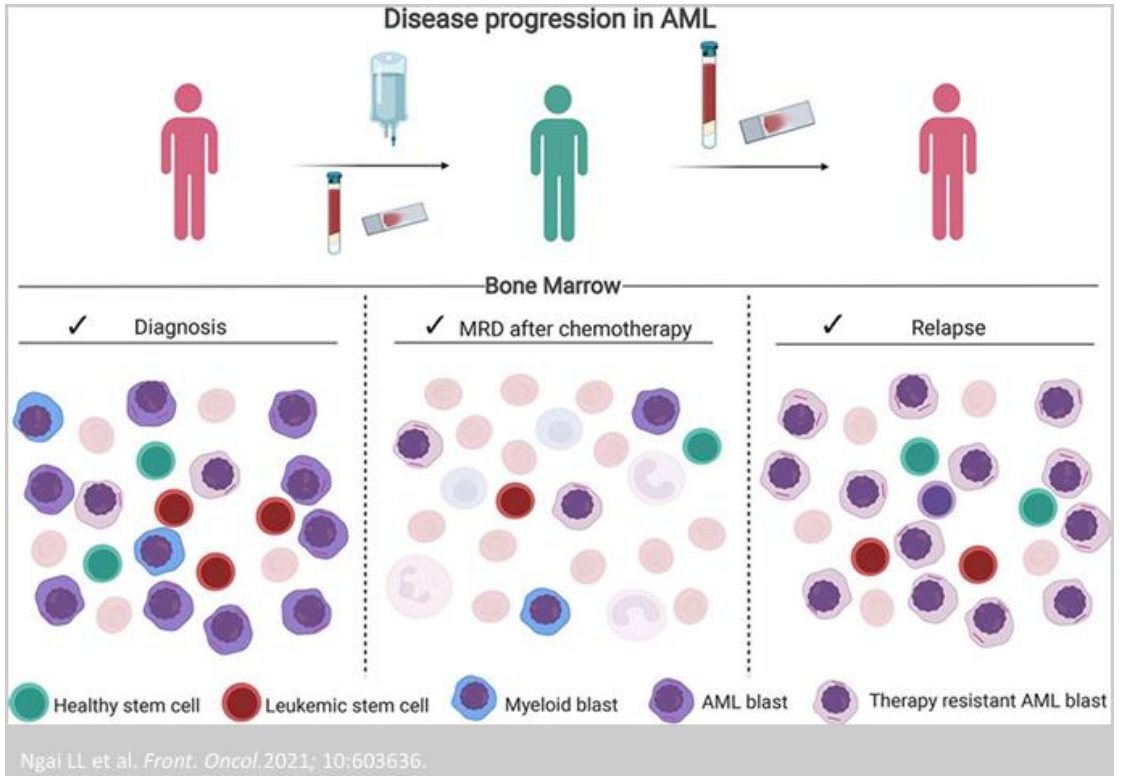
- **Fator de prognóstico:**

→ Antecipa recaída/progressão doença;

→ Estratifica os doentes em grupos de risco;

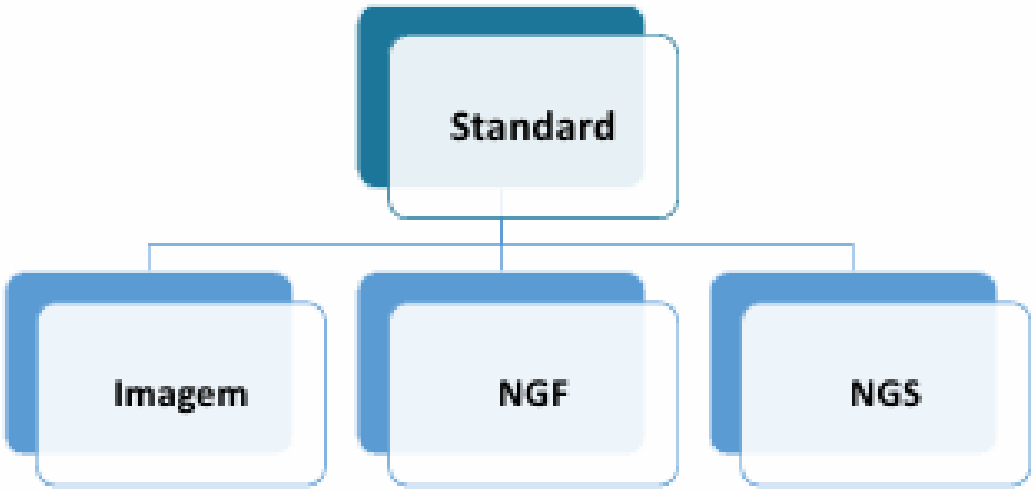
→ Guia a seleção de terapêutica (ex: consolidação em Leucemia Mielóide Aguda).

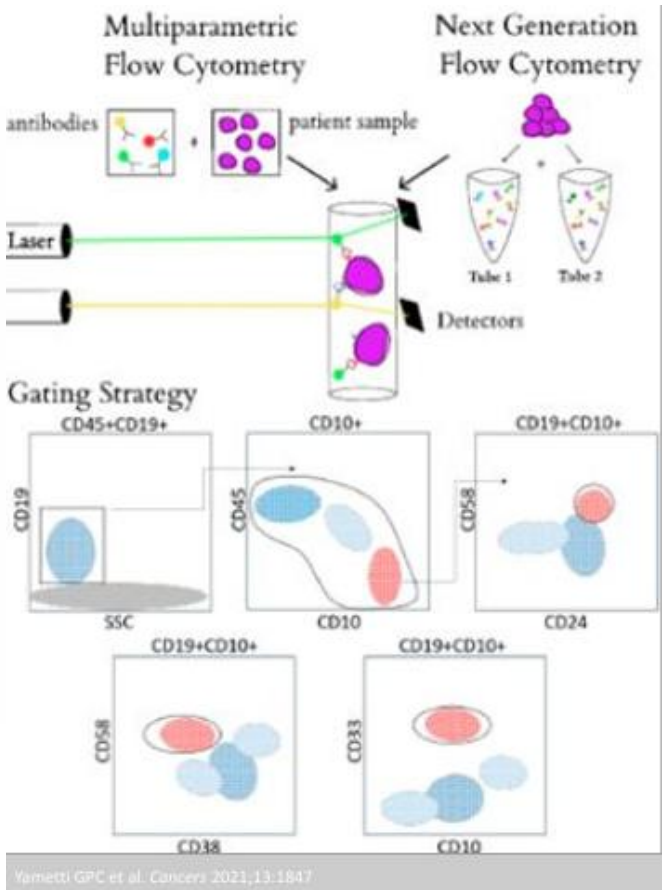
- Metodologia, limite de deteção e *timepoint* de avaliação variáveis de acordo com a patologia.

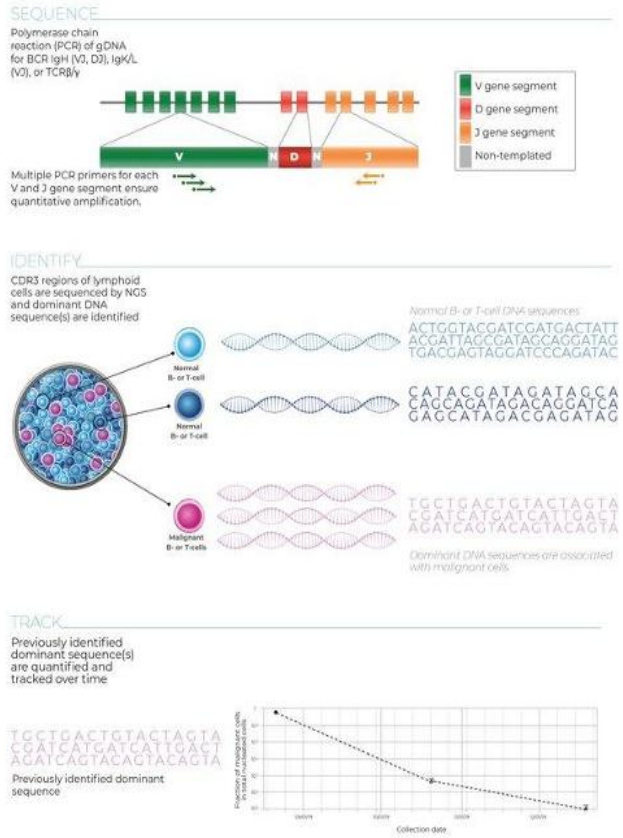


ORDEM DOS FARMACÊUTICOS

Métodos de Deteção de DRM







Como?

NGF: *Next Generation Flow*

NGS: *Next Generation Sequencing*

Métodos de Deteção de DRM

- **A técnica perfeita:** avaliação direta do componente tumoral, estável durante o curso da doença, informativa para todos os doentes, fácil, rápida, barata... numa amostra reduzida e transportável;
- **Elevada sensibilidade:** capacidade de detetar a presença de níveis reduzidos de doença (ex: 1 célula em 1 000 000 de células analisadas);
- **Elevada especificada:** capacidade de distinguir células normais de células neoplásicas;
- **Utilidade clínica comprovada**;
- **Reproduzível e standardizável:** validação e reprodutibilidade dos resultados.

Como?

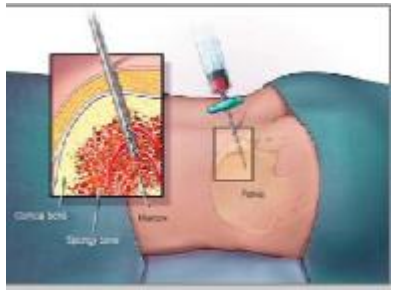
ORDEM DOS FARMACÊUTICOS

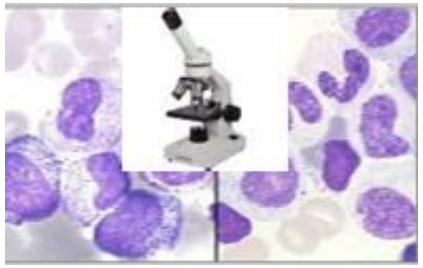
Métodos de Deteção de DRM – sensibilidade da amostra

- **Hemodiluição:**

→ Usar o primeiro aspirado (*first pull*); aspirar 2ml de amostra (nunca mais de 4-5mL);

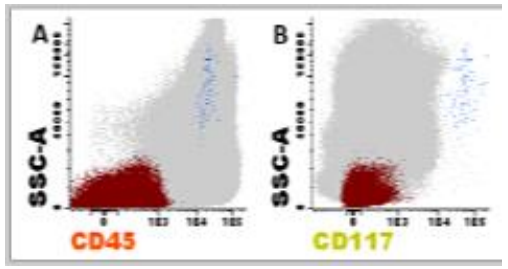
→ Avaliação da extensão da hemodiluição.

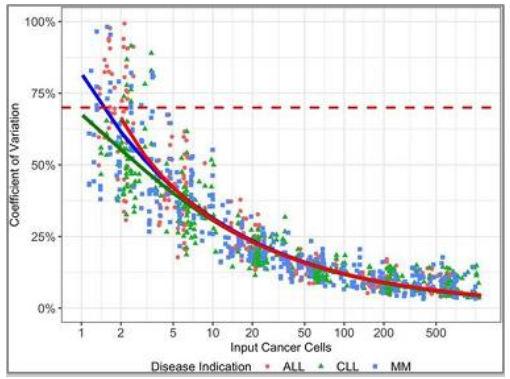




- **Sangue periférico (SP) *versus* medula óssea (MO):**

→ Possível em SP em algumas doenças (Leucemia linfocítica crónica, Leucemia linfoblástica aguda de células B).





Como?

ORDEM DOS FARMACÊUTICOS

Impacto na decisão terapêutica

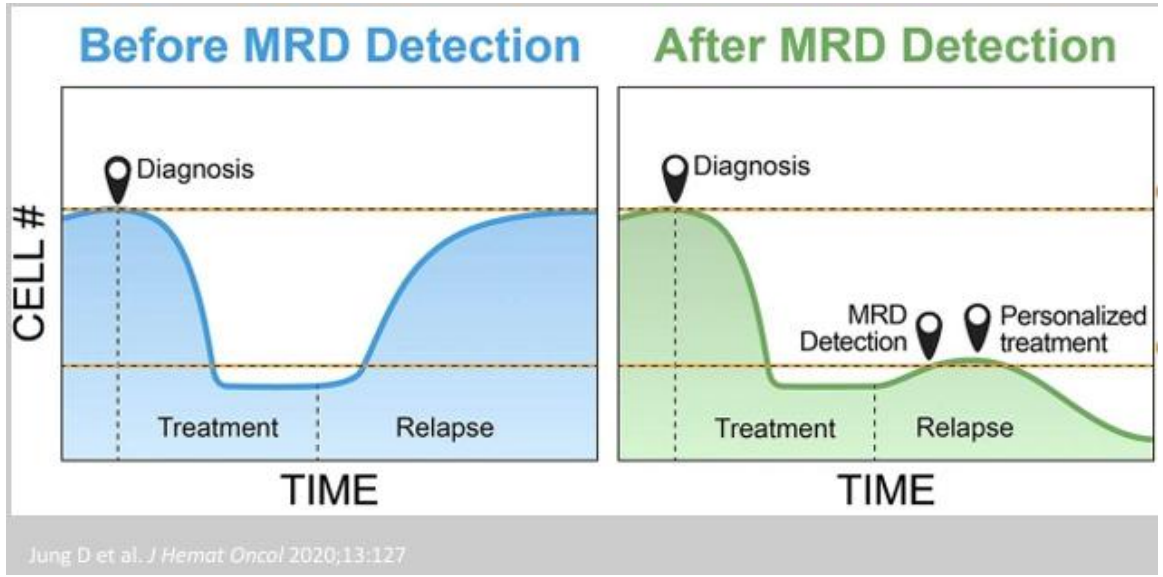
- **O que muda com a DRM?**

→ Indica eficácia do tratamento

A resposta ao mesmo; confirma e monitoriza a remissão e deteta doença em recaída/refratária mais cedo.

→ Guia decisões terapêuticas

Identifica doentes com maior risco de recaída e doentes que necessitam de reiniciar/intensificar terapêutica.



Porquê?

ORDEM DOS FARMACÊUTICOS

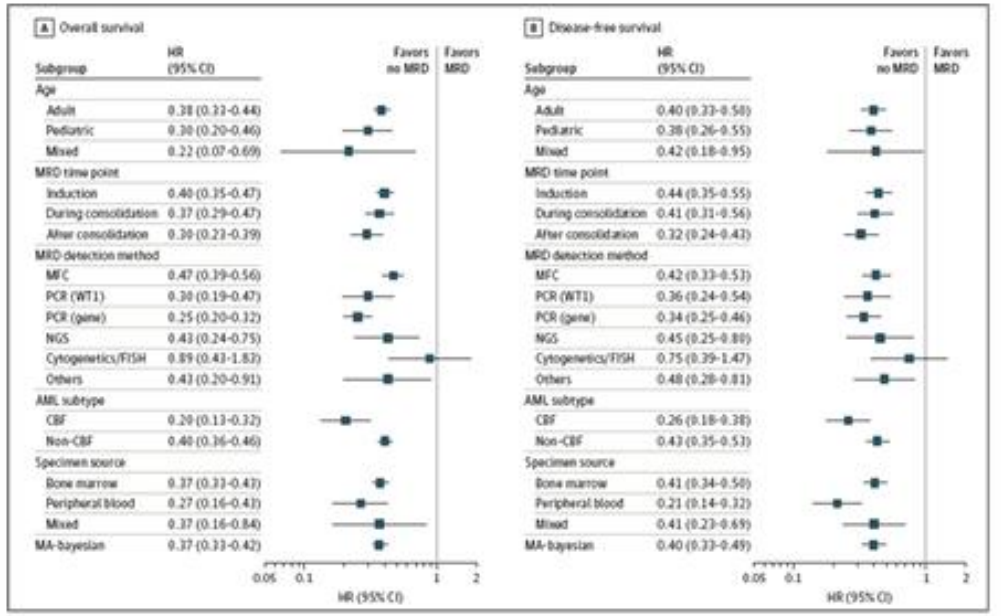
Impacto na decisão terapêutica – o exemplo da LMA

- **Leucemia Mielóide Aguda (LMA)**

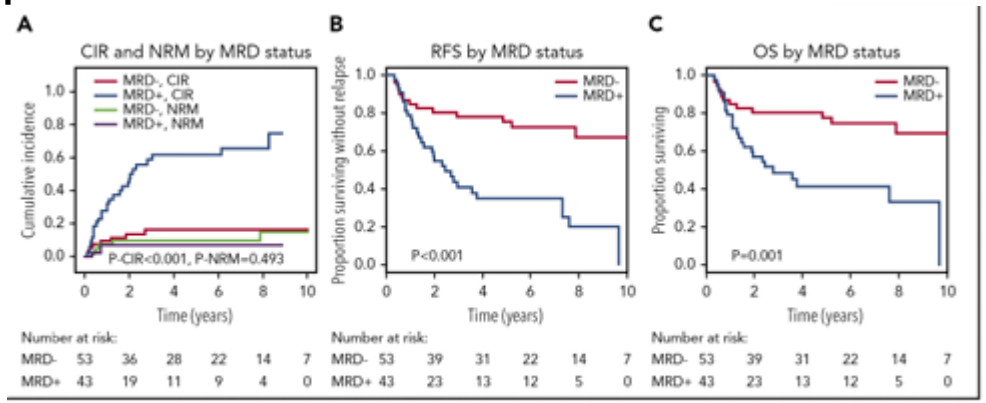
→ Preditiva de eficácia terapêutica quando determinada após indução e antes de transplante alogénico de medula óssea;

→ DRM positiva associada a maior sobrevivência livre de doença (DFS) e pior sobrevida global (OS);

→ Fator prognóstico independente.



Shen Z et al. *BMC Cancer* 2018;18:755



Thol F et al. *Blood* 2018;132(16):1703-1713

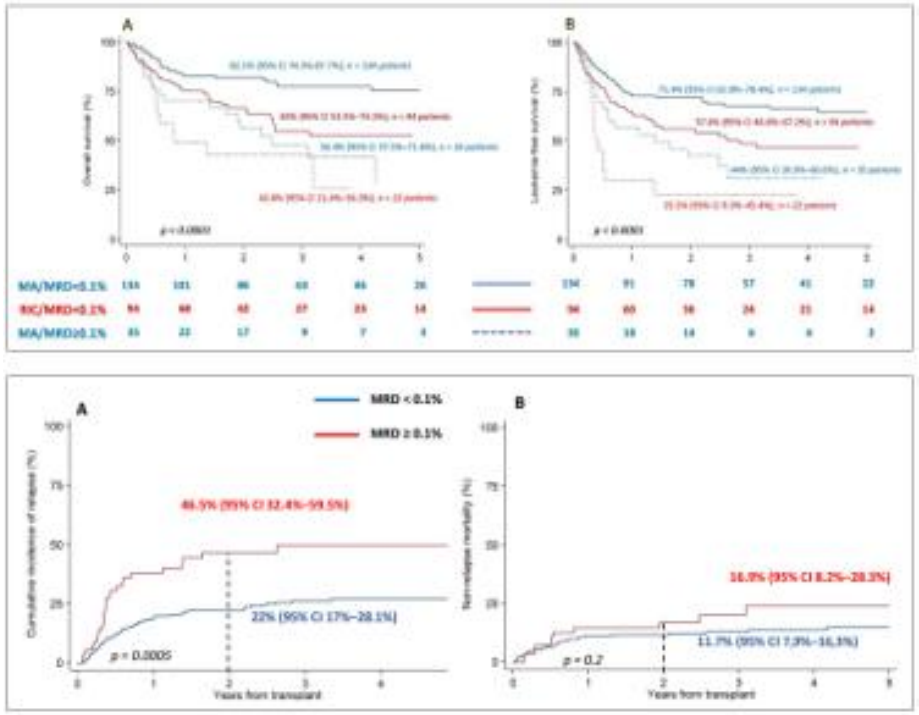
Porquê?

ORDEM DOS FARMACÊUTICOS

Impacto na decisão terapêutica – o exemplo da LMA

→ OS e LFS (*leukemia free survival*) superior em doentes DRM- independentemente do regime de condicionamento;

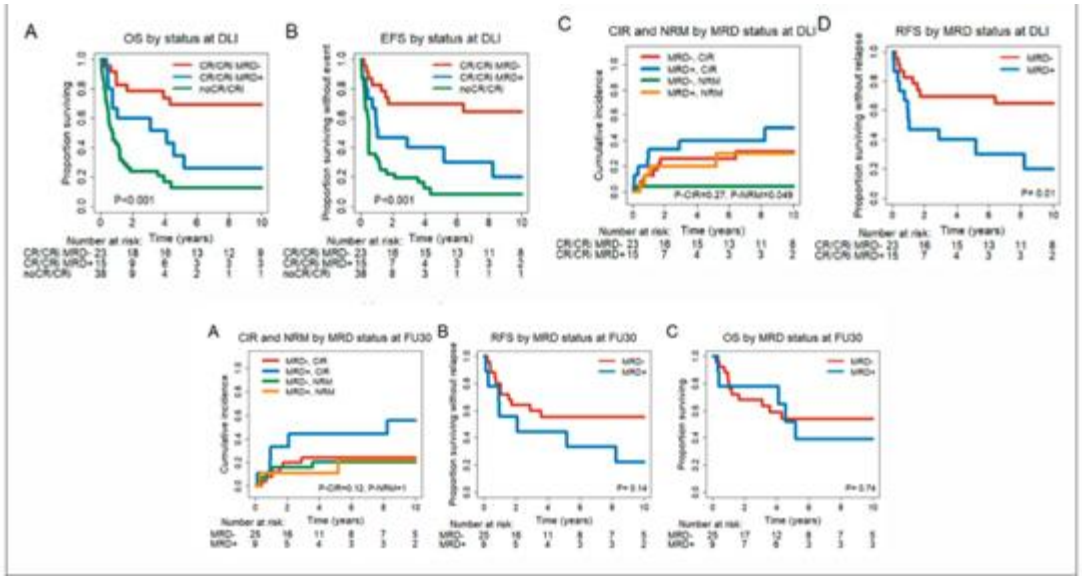
→ DRM+ aos 100 dias após alotransplante associado a mau prognóstico – recaída de 93.3%.



Caballero-Velázquez T et al. *Concers* 2023; 15:1609

→ Avaliação do papel da DRM em doentes tratados com DLI (*donor lymphocyte infusions*) após alotransplante;

→DMR+ antes e após DLI com pior prognóstico (menor OS e EFS).



Porquê?

ORDEM DOS FARMACÊUTICOS

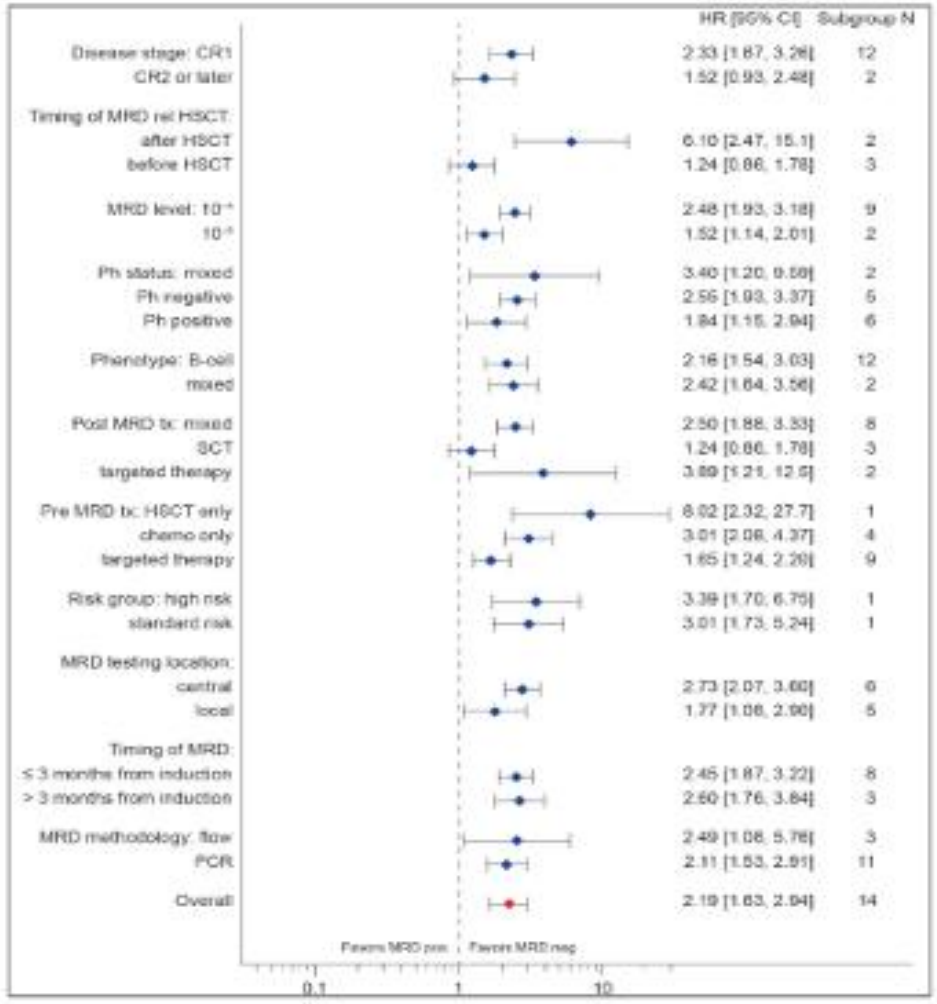
Impacto na decisão terapêutica – o exemplo da LLA-B

- **Leucemia Linfoblástica Aguda de células B (LLA-B)**

→ Preditiva de eficácia terapêutica quando determinada após indução e antes de transplante alogénico de medula óssea (ATMO);

→ DRM positiva associada a maior risco de recaída (PFS) e pior OS;

→ Fator prognóstico independente.

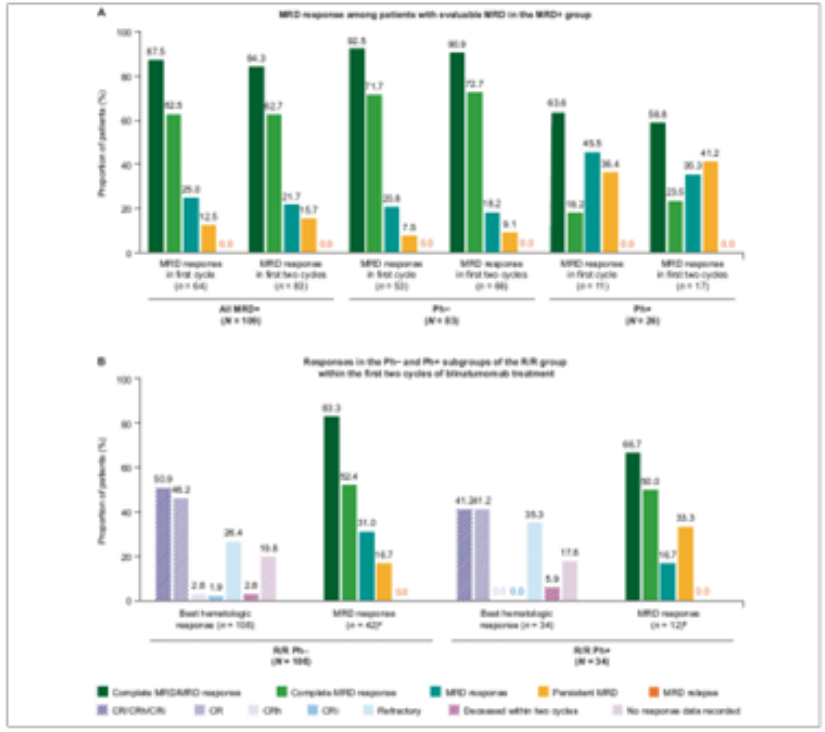


Bassan R et al. *Haematologica* 2019;104(10):2028-2039

Porquê?

Impacto na decisão terapêutica – o exemplo da LLA-B

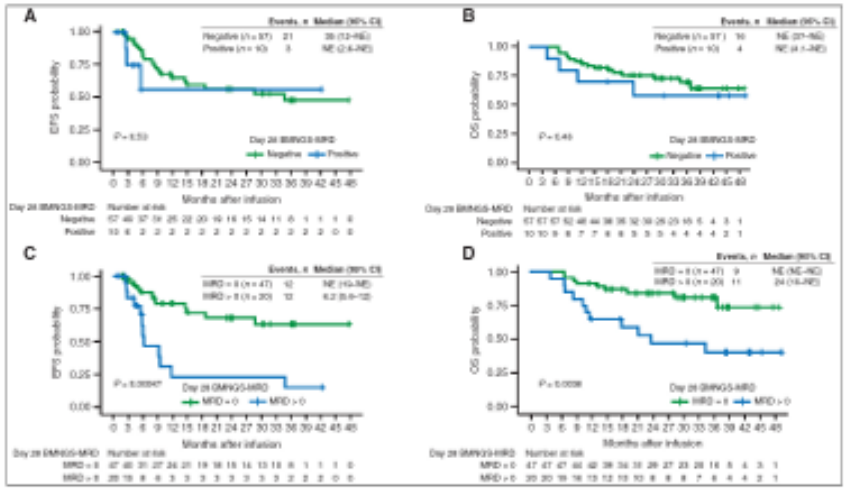
→ **Estudo de vida real NEUF**: doentes com LLA-B recaída/refratária (R/R) e DRM+ tratados com blinatumumab com avaliação de resposta após 1 e 2 ciclos.

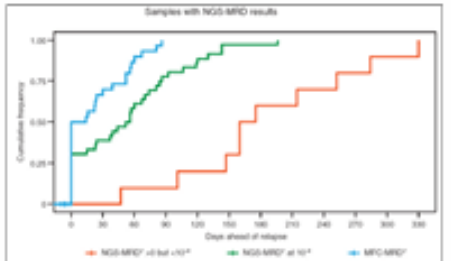


Boissel N et al. *Blood Cancer Journal* 2023; 13:2

→**Estudo ELIANA e ENSIGN *trial***: avaliam as respostas dos doentes tratados com tisagenlecleucel aos 28 dias, 3m, 6m, 9 m e 12m.

→DMR+ é o melhor biomarcador de risco de recaída durante o 1º ano (MO – NGS).





Pulsipher M et al. *Blood Cancer Discov* 2022

Porquê?

Impacto na decisão terapêutica – o exemplo da LLA-B em AYA

- **Leucemia Linfoblástica Aguda de células B em adolescentes e adultos jovens (AYA)**

Estudo ALL06: descreve os drivers genómicos em adolescentes e adultos jovens (15-39 anos) e correlaciona as alterações genómicas (divididas entre risco *standard* e alto risco) com DRM.

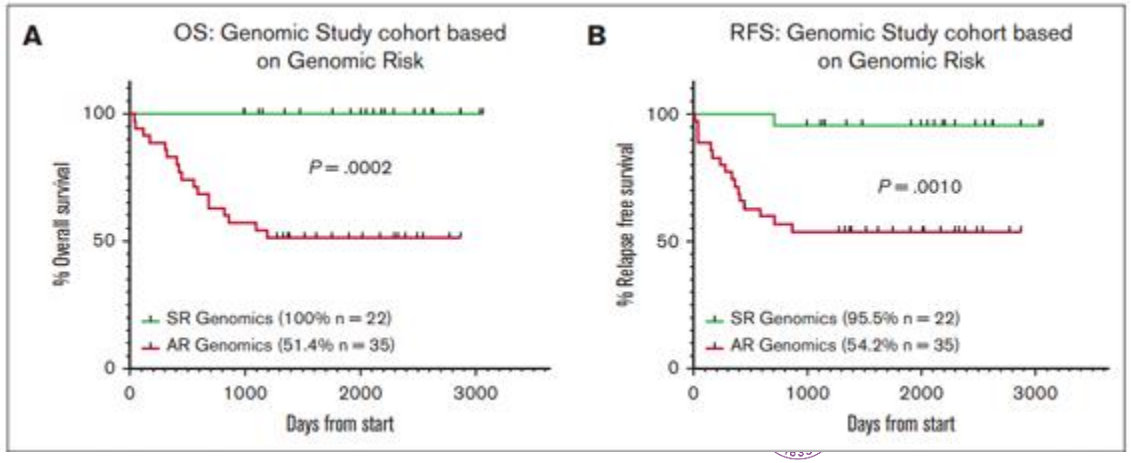
→ Doentes com alterações genómicas de alto risco com pior OS e *relapse free survival* (RFS);

REGULAR ARTICLE

blood neoplasia

Diagnostic genomic analysis is prognostic in AYA patients with ALL treated on an MRD-stratified pediatric protocol

David T. Yeung,[1-4,*] Laura N. Eadie,[1,2,*] Jacqueline Rehn,[1,2] Susan L. Heatley,[1,2] Barbara J. McClure,[1,2] Elyse C. Page,[1,2] Caitlin E. Schutz,[1,2] Michael P. Osborn,[1-5] Toby Trahair,[6,7] Rosemary Sutton,[6,8] Michelle J. Henderson,[6,8] John Kwan,[4,9,10] Sally Mapp,[4,11] Luciano Dalla-Pozza,[12] Kenneth Bradstock,[4,9,13] Matthew Greenwood,[4,13,14,†] and Deborah L. White[1,2,4,†]



Porquê?

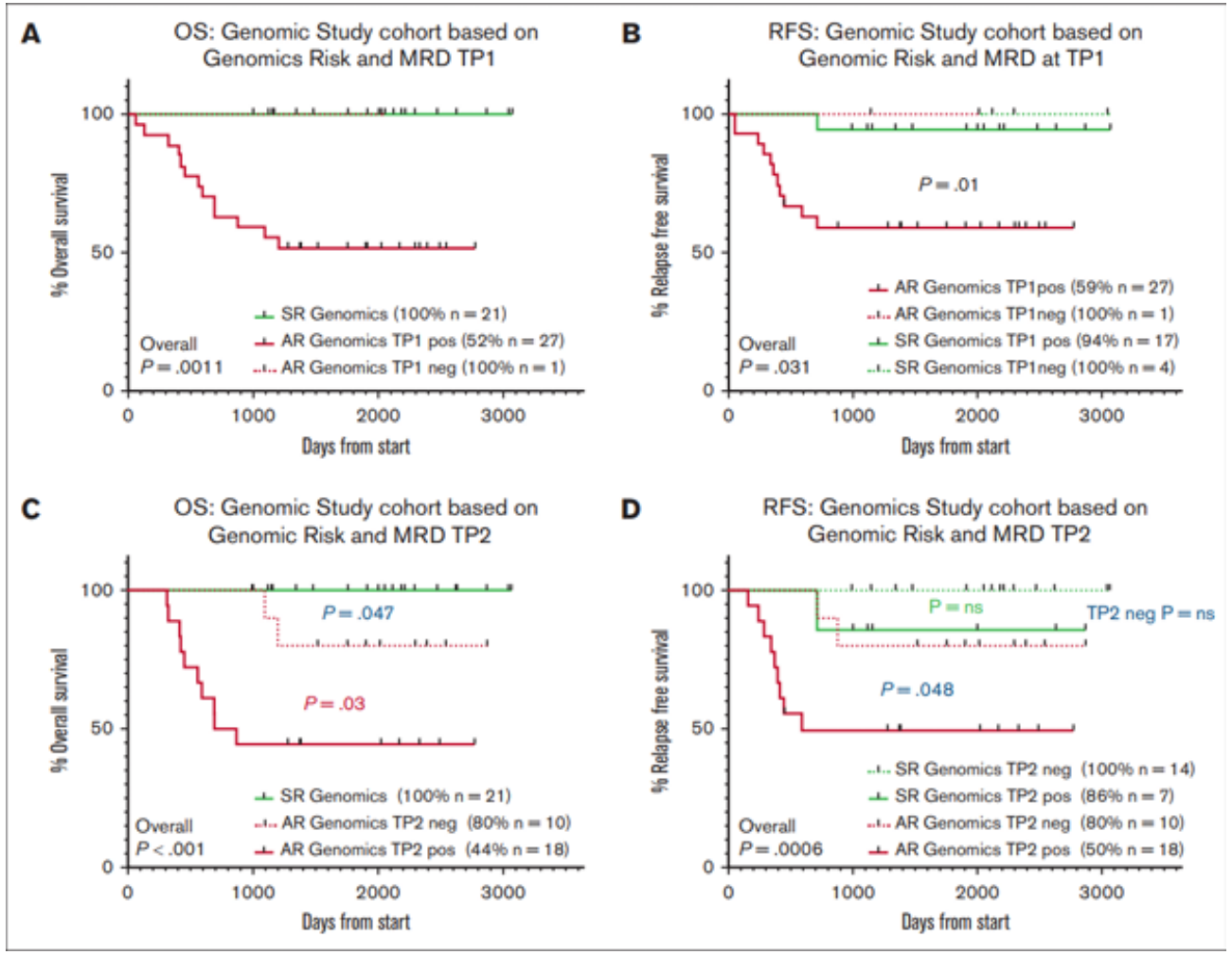
Impacto na decisão terapêutica – o exemplo da LLA-B em AYA

- **Leucemia Linfoblástica Aguda de células B em adolescentes e adultos jovens (AYA)**

→ Doentes com alterações genómicas de alto risco e DRM negativa com melhor OS e RFS;

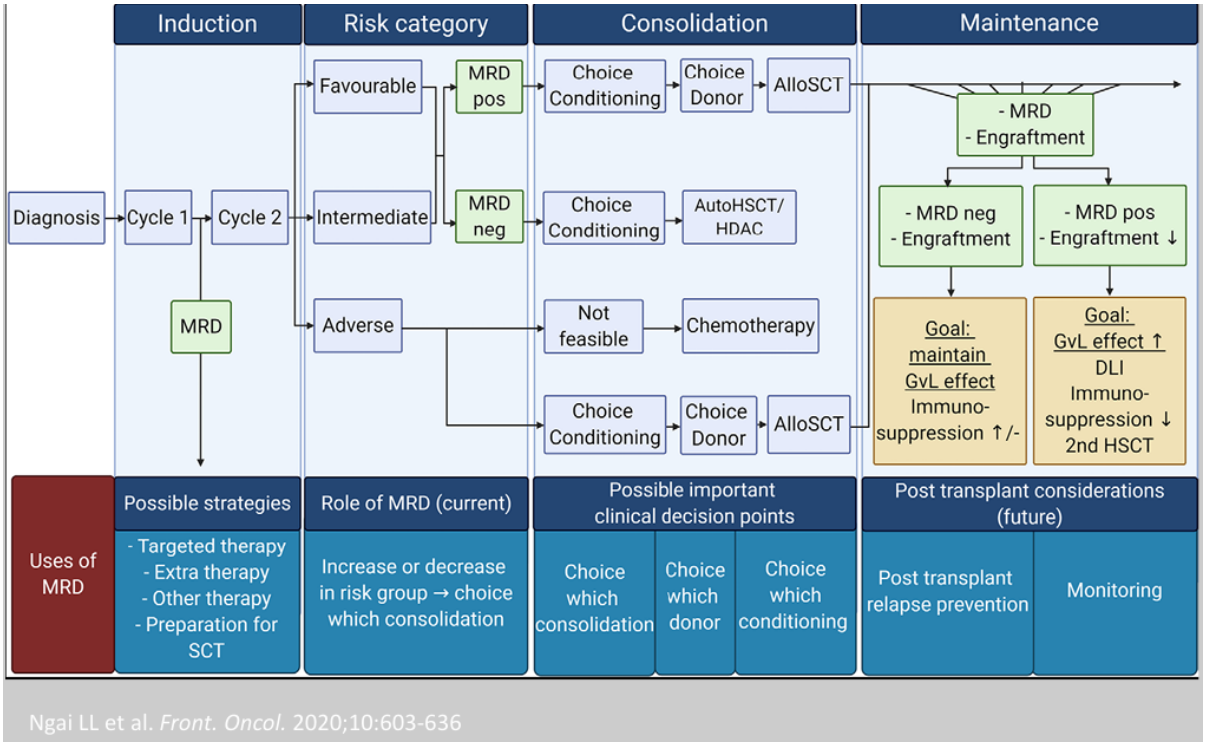
→ Doentes DRM positivos que se converteram em DRM negativos com melhor OS e RFS que doentes que se mantiveram DRM positivos;

→ *Timepoint* para avaliação de DRM com maior impacto prognóstico – final da quimioterapia de consolidação.

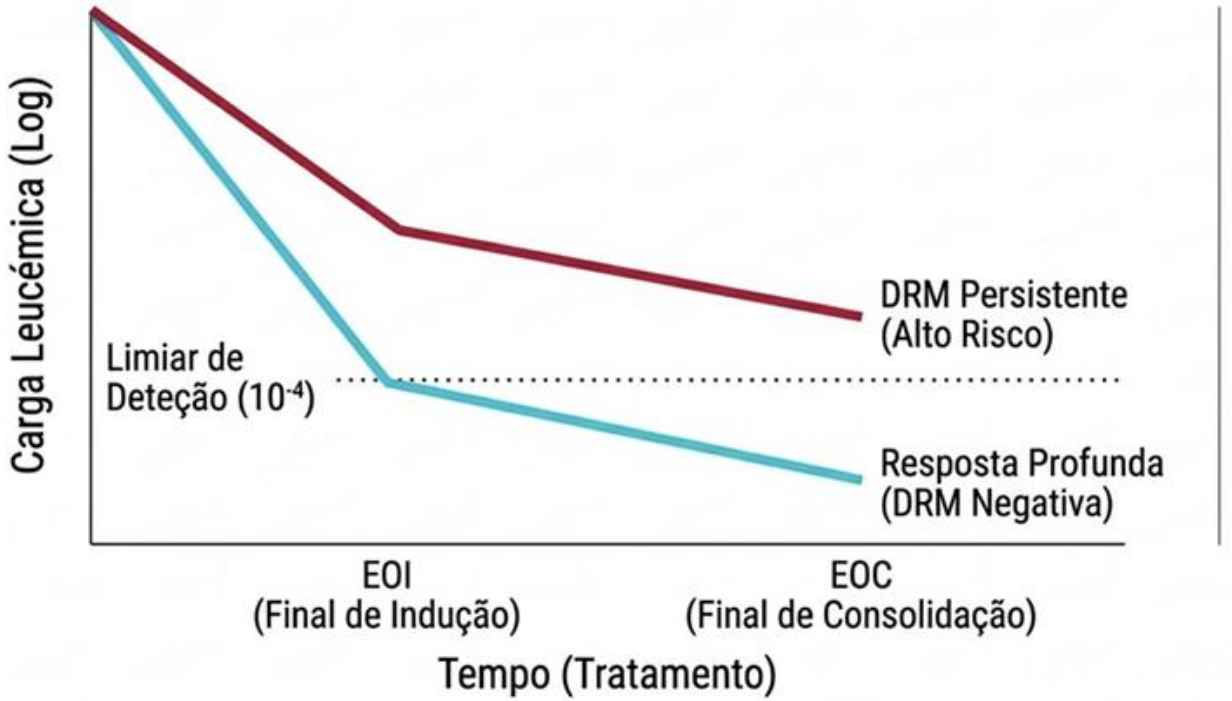


Porquê?

Recomendações para o uso de DRM



Ngai LL et al. *Front. Oncol.* 2020;10:603-636

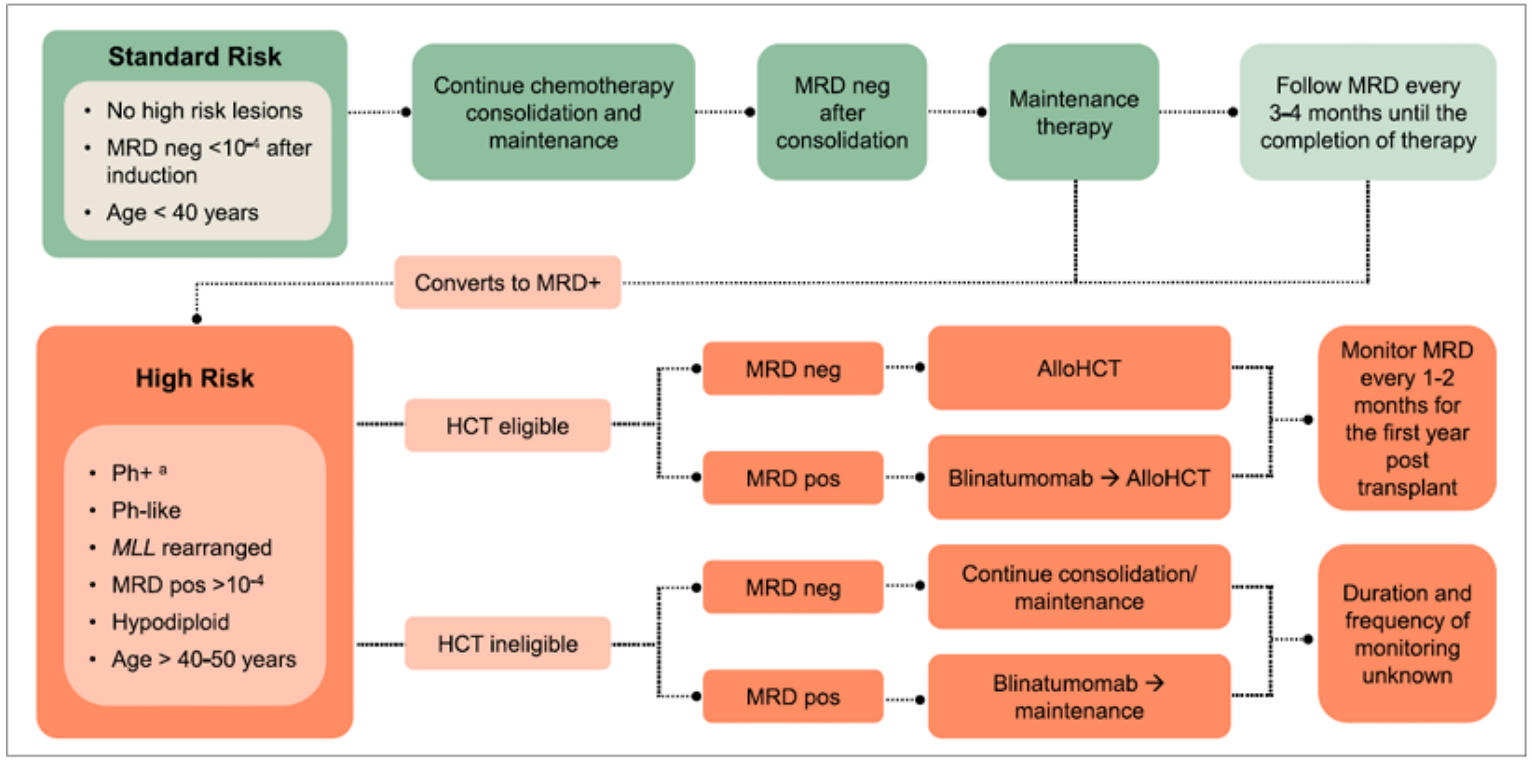


Quando?

ORDEM DOS FARMACÊUTICOS

Recomendações para o uso de DRM - LLA

- Recomendações para a incorporação da avaliação da DRM na rotina clínica (*European Leukemia Net* – **ELN**)
- Papel do alotransplante como "intensificação" de resposta
- Estratificador de risco



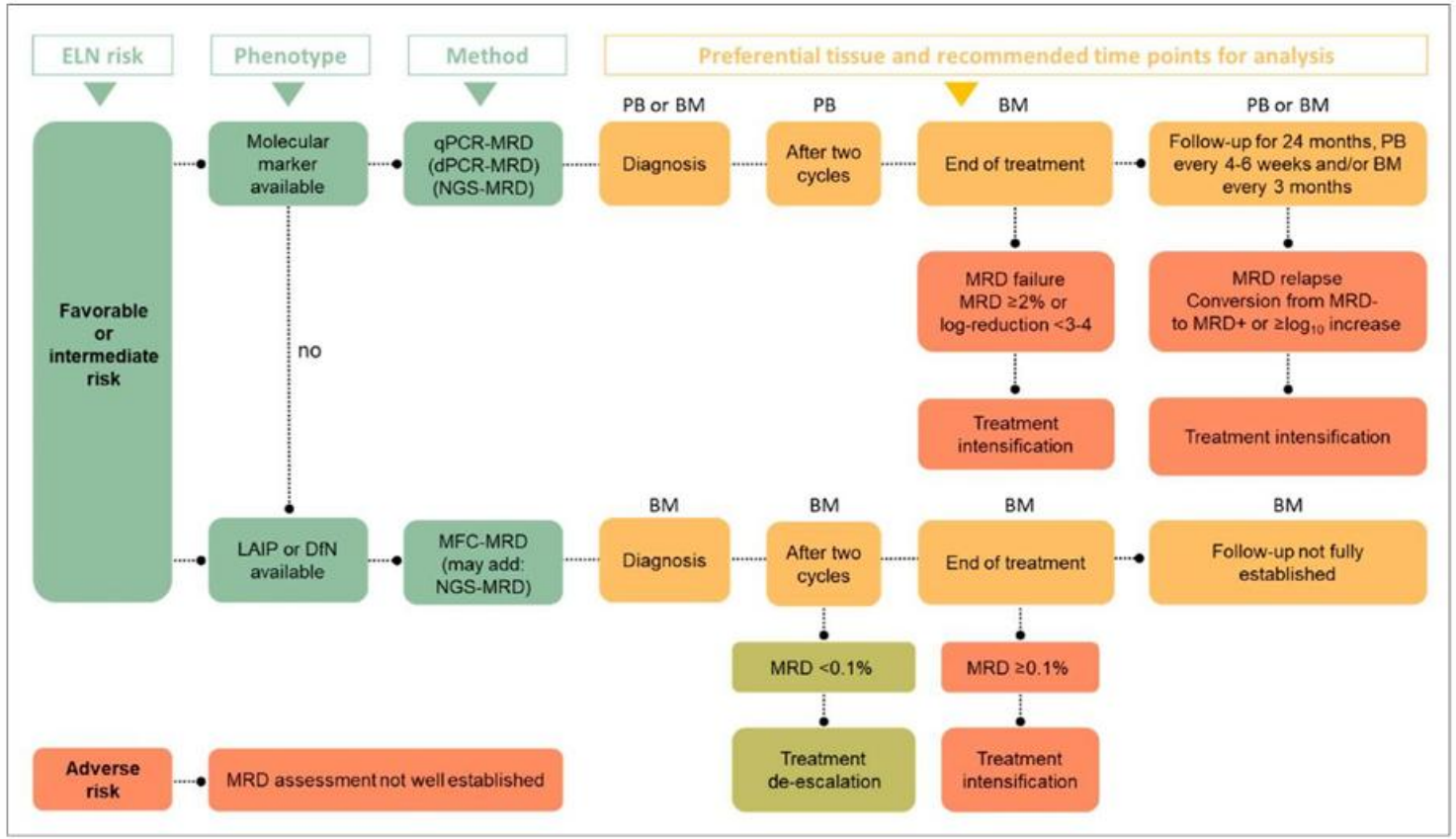
Dekker S et al. *ASCO edbook* 2023 Jun 13

Quando?

ORDEM DOS FARMACÊUTICOS

Recomendações para o uso de DRM - LMA

- Recomendações para a incorporação da avaliação da DRM na rotina clínica (*European Leukemia Net* – **ELN**)
- Papel na seleção de opções terapêuticas
- Importância prognóstica



Dekker S et al. *ASCO edbook* 2023 Jun 13

Quando?

ORDEM DOS FARMACÊUTICOS

Recomendações para o uso de DRM – o exemplo da LMA

2021 Update on MRD in acute myeloid leukemia: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party

Molecular MRD recommendation
Techniques for molecular MRD assessment should reach an LOD of 10^{-3} or lower. To achieve this LOD, qPCR, dPCR, or error-corrected NGS using UMIs is recommended.
Leukemia-specific PCR assays (eg, for *NPM1*, *PML-RARA*, or *CBF* AML) are preferred over fewer specific markers, such as *WT1* or *EVI1* expression.
Targeted NGS-MRD using specific mutations identified at diagnosis vs agnostic panel approaches has different strengths and limitations, but both approaches can be considered, depending on sensitivity, turnaround time, resource use, setting (research, clinical trial, or clinical routine), and ability to standardize methodology and reporting.

Clinical MRD recommendation
MRD should be assessed to refine relapse risk in patients who achieve morphologic remission, with full or partial hematologic recovery (CR/CR$_l$/CR$_p$/CR$_h$).
For patients with mutant *NPM1*, CBF AML (*RUNX1-RUNX1T1* or *CBFB-MYH11*), or APL (*PML-RARA*), we recommend molecular MRD assessment by qPCR or dPCR.
AML patients who are not included in the molecularly defined subgroups should be monitored for MRD by MFC.
NGS-MRD monitoring is useful to refine prognosis in addition to MFC but, to date, there are insufficient data to recommend NGS-MRD as a stand-alone technique.

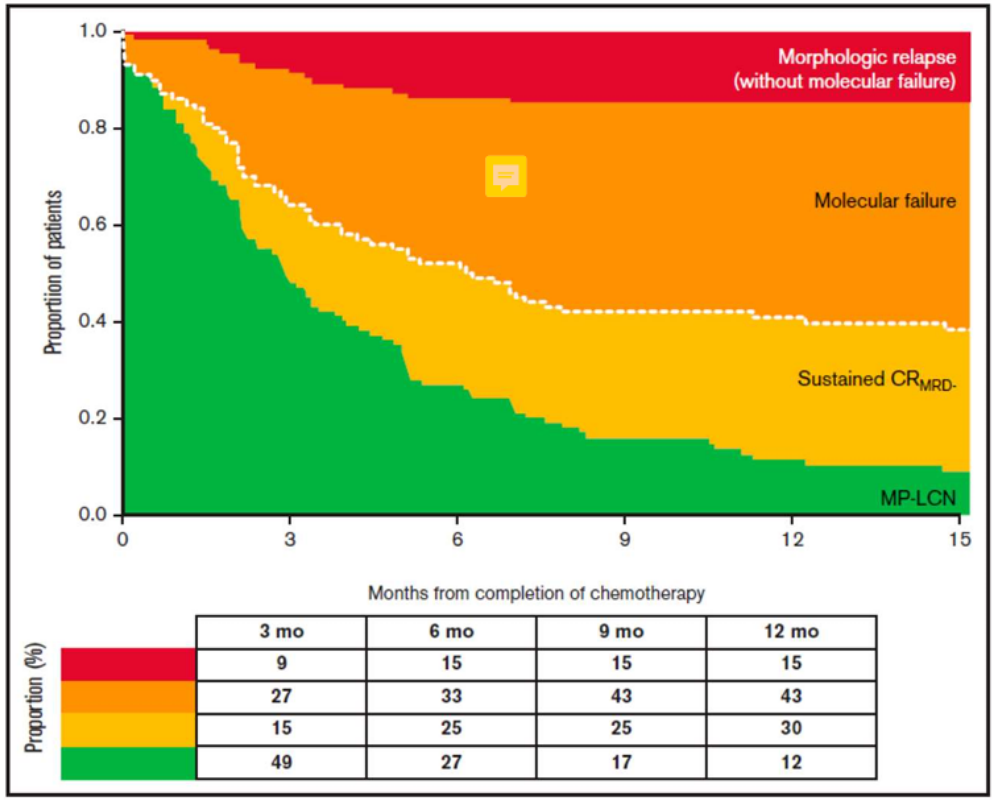
Quando?

Recomendações para o uso de DRM – o exemplo da LMA NMP1+

Clinical impact of *NPM1*-mutant molecular persistence after chemotherapy for acute myeloid leukemia

Key Points

- Postchemotherapy, of 100 CR_{MRD+} patients, 42% remained progression free at 1 year (spontaneous CR_{MRD-} or low-level *NPM1*mut persistence).
- Relapse is associated with *FLT3*-ITD and poor *NPM1*mut MRD response after chemotherapy. MRD-directed preemptive therapy may prolong remission.



Proportion (%)	3 mo	6 mo	9 mo	12 mo
	9	15	15	15
	27	33	43	43
	15	25	25	30
	49	27	17	12

Tiong IS *et al*. Blood Advances 2021

Quando?

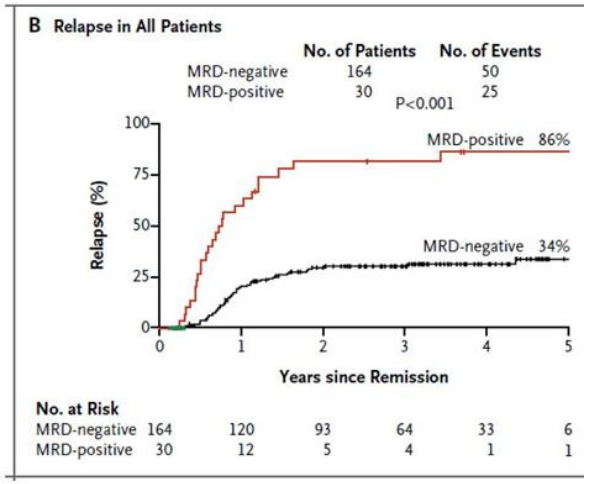
ORDEM DOS FARMACÊUTICOS

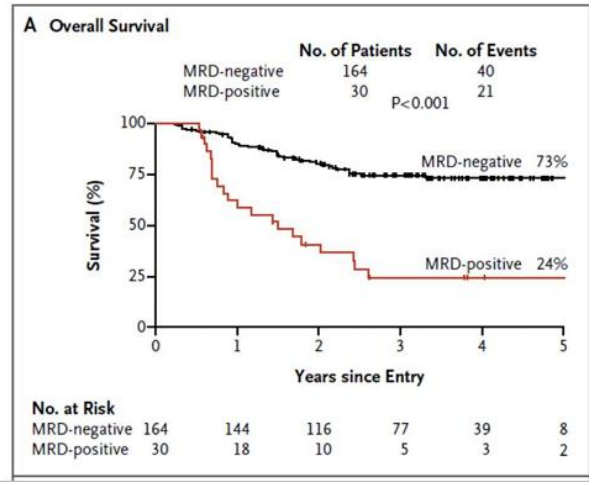
Recomendações para o uso de DRM – o exemplo da LMA NMP1+

Valor prognóstico de DRM NPM1mut no SP após 2 ciclos de QT

RESULTS

Molecular profiling highlighted the complexity of *NPM1*-mutated AML, with segregation of patients into more than 150 subgroups, thus precluding reliable outcome prediction. The determination of minimal-residual-disease status was more informative. Persistence of *NPM1*-mutated transcripts in blood was present in 15% of the patients after the second chemotherapy cycle and was associated with a greater risk of relapse after 3 years of follow-up than was an absence of such transcripts (82% vs. 30%; hazard ratio, 4.80; 95% confidence interval [CI], 2.95 to 7.80; P<0.001) and a lower rate of survival (24% vs. 75%; hazard ratio for death, 4.38; 95% CI, 2.57 to 7.47; P<0.001). The presence of minimal residual disease was the only independent prognostic factor for death in multivariate analysis (hazard ratio, 4.84; 95% CI, 2.57 to 9.15; P<0.001). These results were validated in an independent cohort. On sequential monitoring of minimal residual disease, relapse was reliably predicted by a rising level of *NPM1*-mutated transcripts. Although mutations associated with preleukemic clones remained detectable during ongoing remission after chemotherapy, *NPM1* mutations were detected in 69 of 70 patients at the time of relapse and provided a better marker of disease status.





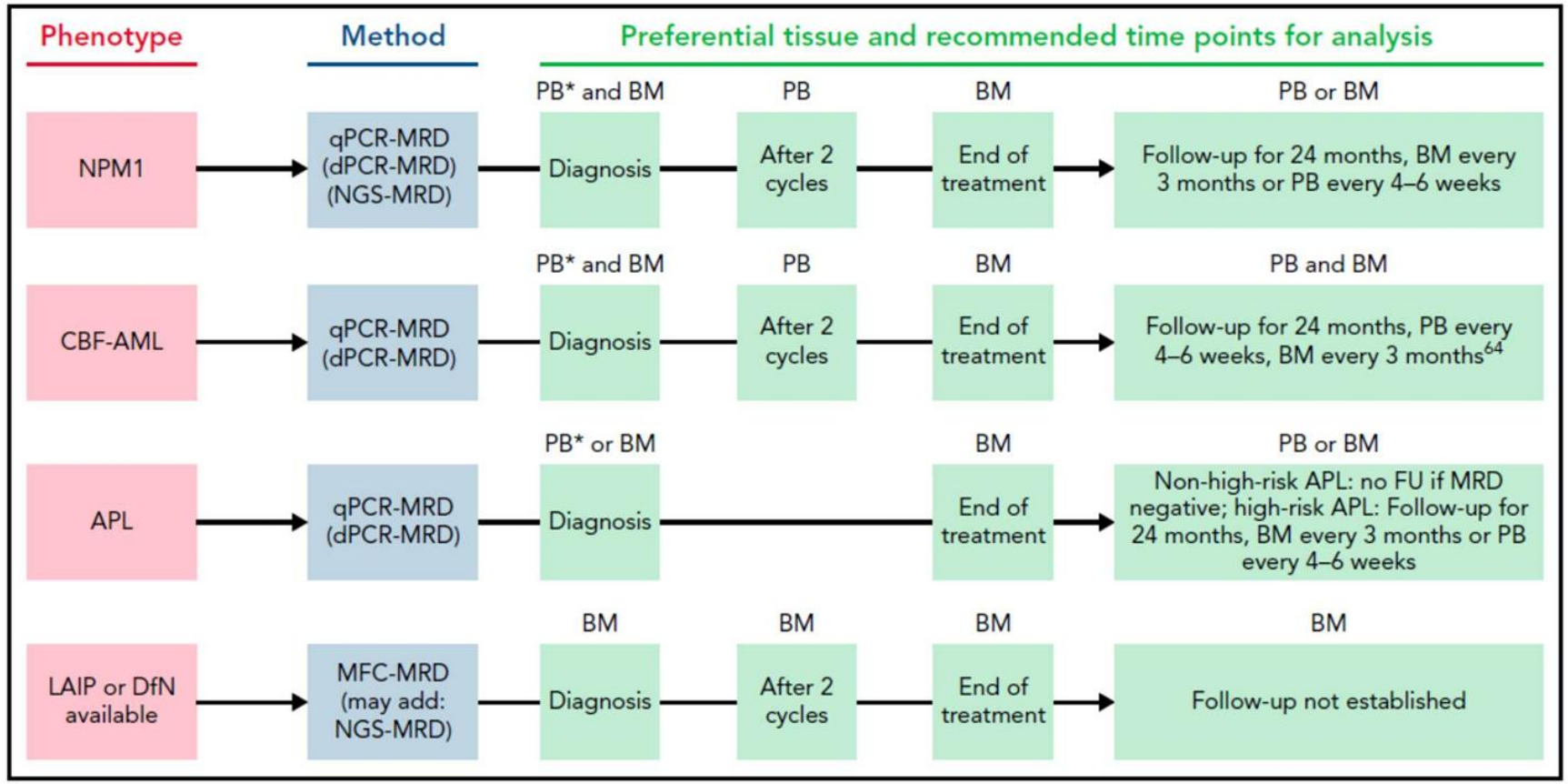
Ivey A. *et al* NEJM2016

Quando?

ORDEM DOS FARMACÊUTICOS

Recomendações para o uso de DRM – o exemplo da LMA

2021 Update on MRD in acute myeloid leukemia: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party

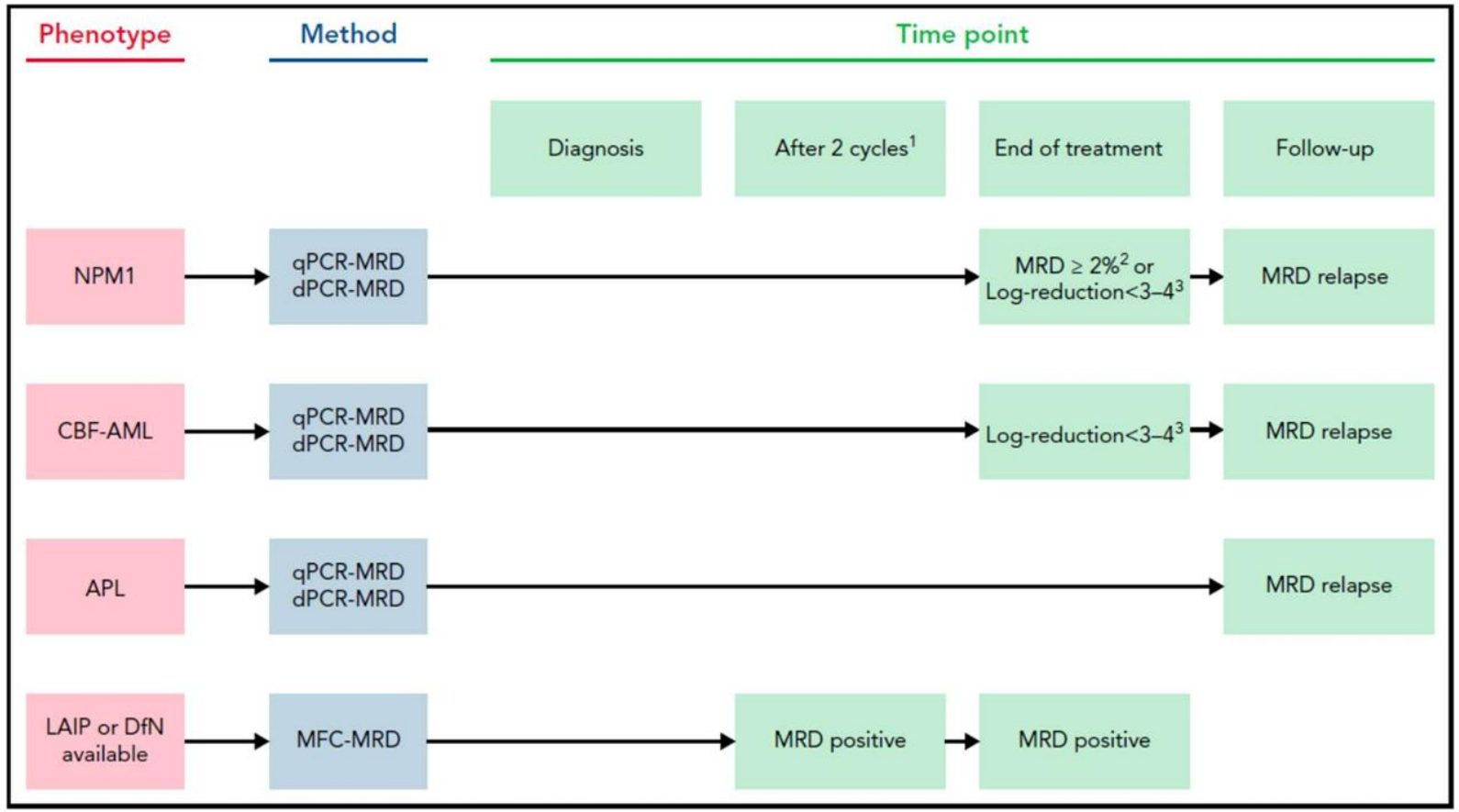


Quando?

Heuser *et al*. Blood. 2021

Recomendações para o uso de DRM – o exemplo da LMA

2021 Update on MRD in acute myeloid leukemia: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party



Quando?

Heuser *et al*. Blood. 2021

Recomendações para o uso de DRM – o exemplo da LMA

2022 *European Leukemia Net* – **ELN** AML RECOMMENDATIONS

Table 7. Methods for detection of MRD in AML

	Method	Target	Sensitivity	Applicable in % of AML	Turn-around time	Limitations/ problems
Established	Multi-parameter flow cytometry (MFC)	LAIP or DfN	10^{-3} to 10^{-4}	85-90	2	Less sensitive, more subjective analysis
Established	Real-time quantitative PCR (RT-qPCR)	Robust data: *NPM1*, *CBFB::MYH11*, *RUNX1::RUNX1T1* Less validated: *KMT2A::MLLT3*, *DEK::NUP214*, *BCR::ABL1*, *WT1*	10^{-4} to 10^{-5}	40-50[a]	3-5	Limited applicability
Exploratory	Next-generation sequencing (NGS)[b,c]	Potentially any somatic mutation[b]	10^{-2} to 10^{-4}	~100	5-10	Less sensitive, costly, technically challenging
Exploratory	Digital PCR (dPCR)	Specific targeted mutations	10^{-3} to 10^{-4}	~70	3-5	Specific assay necessary for every mutation, limited sensitivity

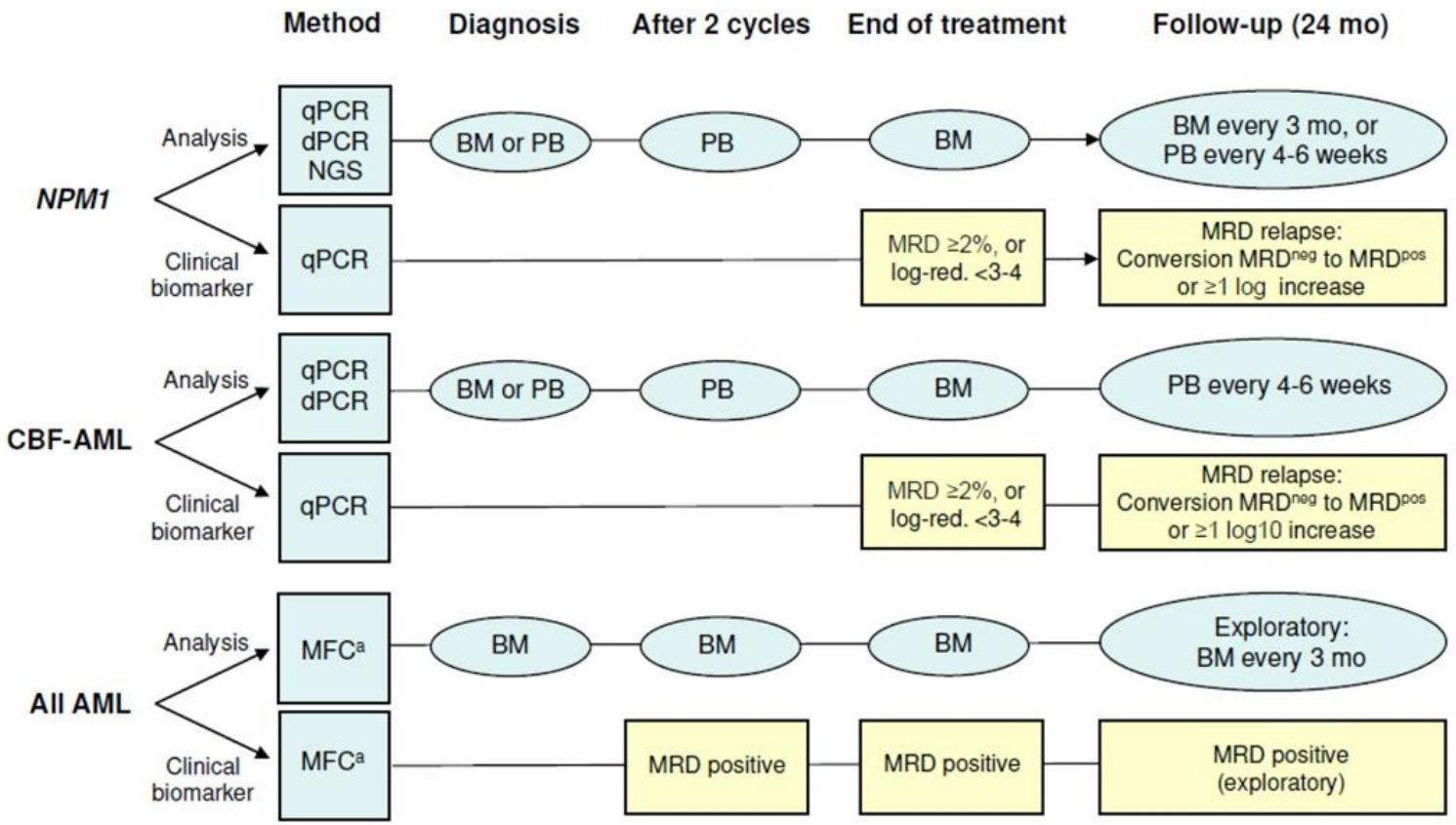
Quando?

ORDEM DOS FARMACÊUTICOS

Recomendações para o uso de DRM – o exemplo da LMA

2022 *European Leukemia Net* – **ELN** AML RECOMMENDATIONS

Algorithm of MRD assessment and time points at which MRD is considered a clinically relevant biomarker



Quando?

ORDEM DOS FARMACÊUTICOS

SUMÁRIO

Papel relevante da DRM na decisão terapêutica

DRM como *surrogate endpoint*

Acessíveis, estandardizadas e sensíveis

Modifica a terapêutica

Otimização dos regimes de tratamento - redução de doses e tratamentos adaptados em função da resposta

XXV JORNADAS CIENTÍFICAS DE ANÁLISES CLÍNICAS E GENÉTICA HUMANA

OBRIGADO

Marta Henriques

martadmhenriques@gmail.com

Serviço de Hematologia Clínica

ULS de São João

ORDEM DOS FARMACÊUTICOS

XXV JORNADAS CIENTÍFICAS DE ANÁLISES CLÍNICAS E GENÉTICA HUMANA