

LA MALATTIA MINIMA DETECTABILE (MRD)

DR.SSA FEDERICA RE

*Chair of Hematology - Unit of Bone Marrow
Transplantation*

University of Brescia

federica.re@unibs.it



UNIVERSITY
OF BRESCIA

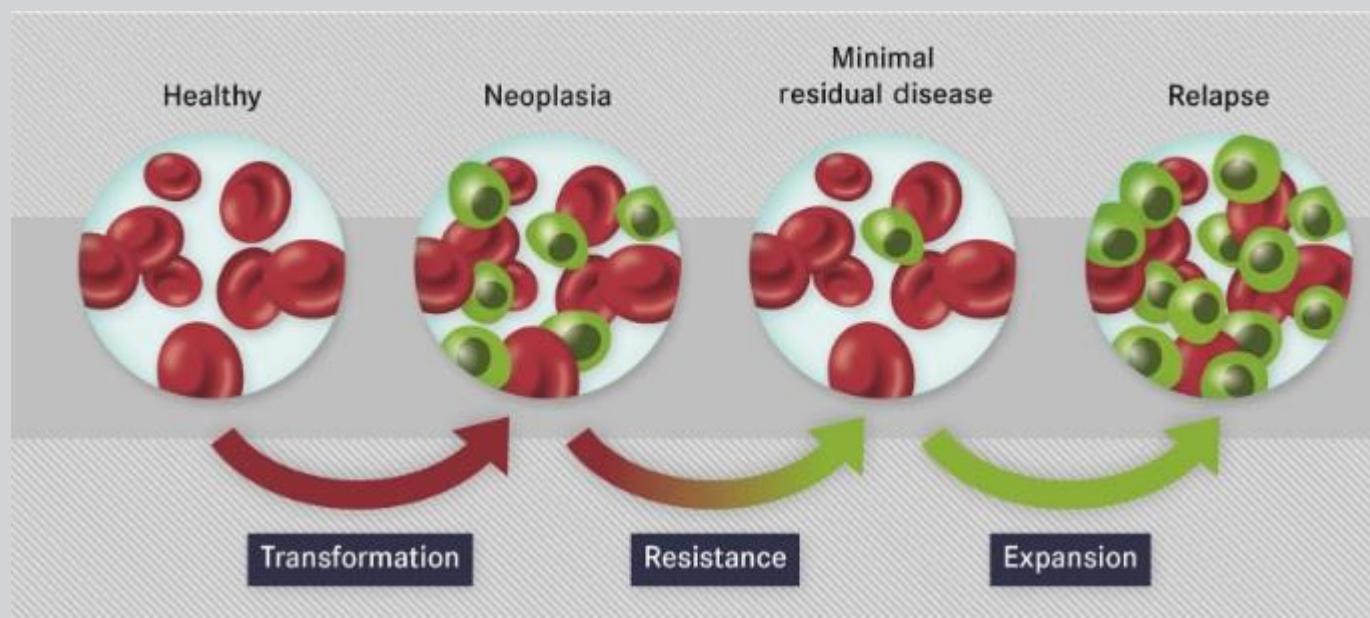


«**M**easurable **R**esidual **D**isease»

- **Definizione e caratteristiche**
- **Le tecniche per monitorare l'MRD in onco-ematologia**
- **Applicazioni del monitoraggio dell'MRD (LAM, Linfomi, LMC)**

MRD: malattia minima residua o malattia **misurabile** residua

Piccola quantità residua di **cellule tumorali** identificabile solamente con **metodiche avanzate e sensibili**. È al di sotto del limite di sensibilità dell'indagine morfologica. Può essere presente anche durante la remissione completa.

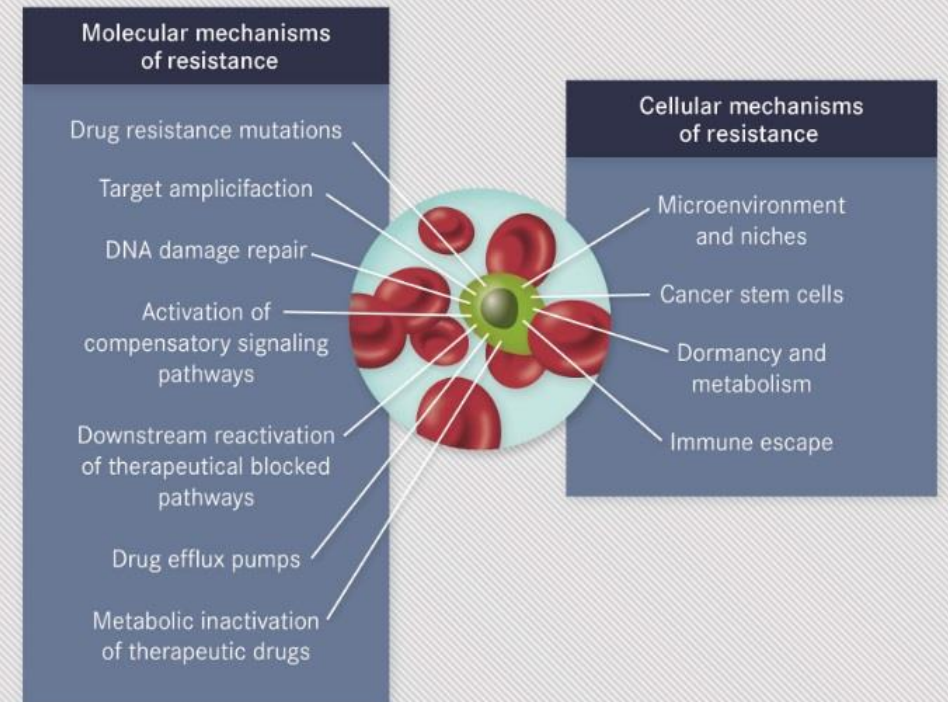
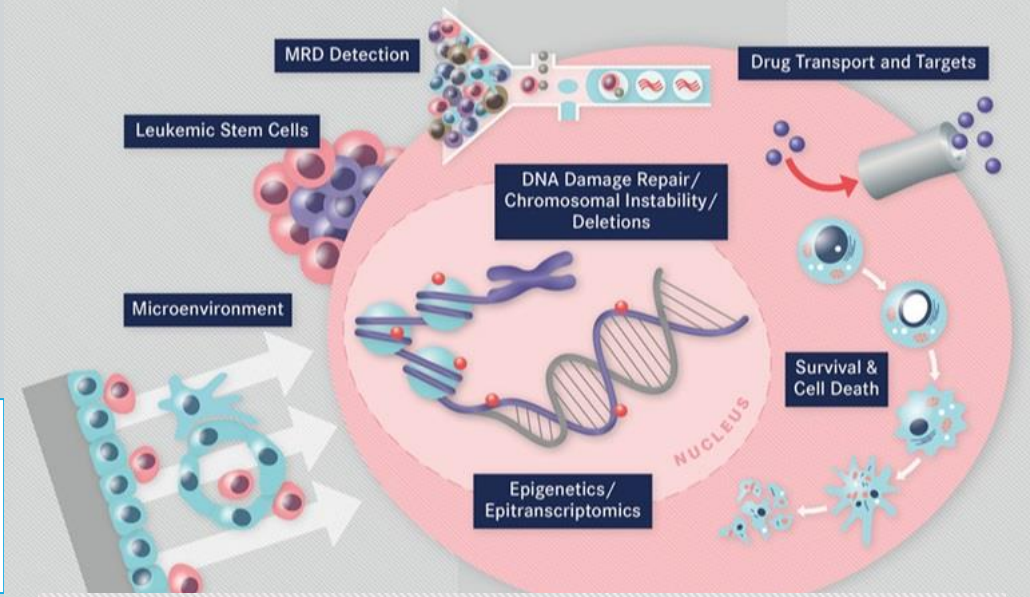


Concetto di MRD

Riflette la risposta al trattamento quindi **diminuisce con il progredire della risposta** e **aumenta in caso di recidiva** o resistenza ai farmaci.

Rappresenta un **numero infinitesimale di cellule maligne** che permangono nel paziente dichiarato in risposta completa.

Deve essere monitorata ricercando **target malattia specifici** e con un **timing** ben definito per intercettare alterazioni e cinetiche di interesse clinico.



Valutazione dell'MRD

- ❑ IN TUTTE LE PATOLOGIE IN CUI E' POSSIBILE IDENTIFICARE NELLA CELLULA NEOPLASTICA DELLE **CARATTERISTICHE STABILI E/O ESCLUSIVE IMMUNOFENOTIPICHE O MOLECOLARI**.
- ❑ DEVE ESSERE STUDIATA NELL'AMBITO DI UN PROTOCOLLO CLINICO OPPURE QUANDO IL RISULTATO PUO CAMBIARE LA STRATEGIA TERAPEUTICA.



- Timing patologia-dipendente
 - Disponibilità di farmaci
 - Metabolismo individuale

Monitoraggio dell'MRD: caratteristiche

1. DISPONIBILITA' DI METODICHE ALTAMENTE SENSIBILI
2. UTILITA' CLINICA
3. DISPONIBILITA' DI MARCATORI MOLECOLARI VALIDI E SAGGIABILI CON TECNICHE SENSIBILI

Monitoraggio dell'MRD: caratteristiche

1. **DISPONIBILITA' DI METODICHE ALTAMENTE SENSIBILI**
2. UTILITA' CLINICA
3. DISPONIBILITA' DI MARCATORI MOLECOLARI VALIDI E SAGGIABILI CON TECNICHE SENSIBILI

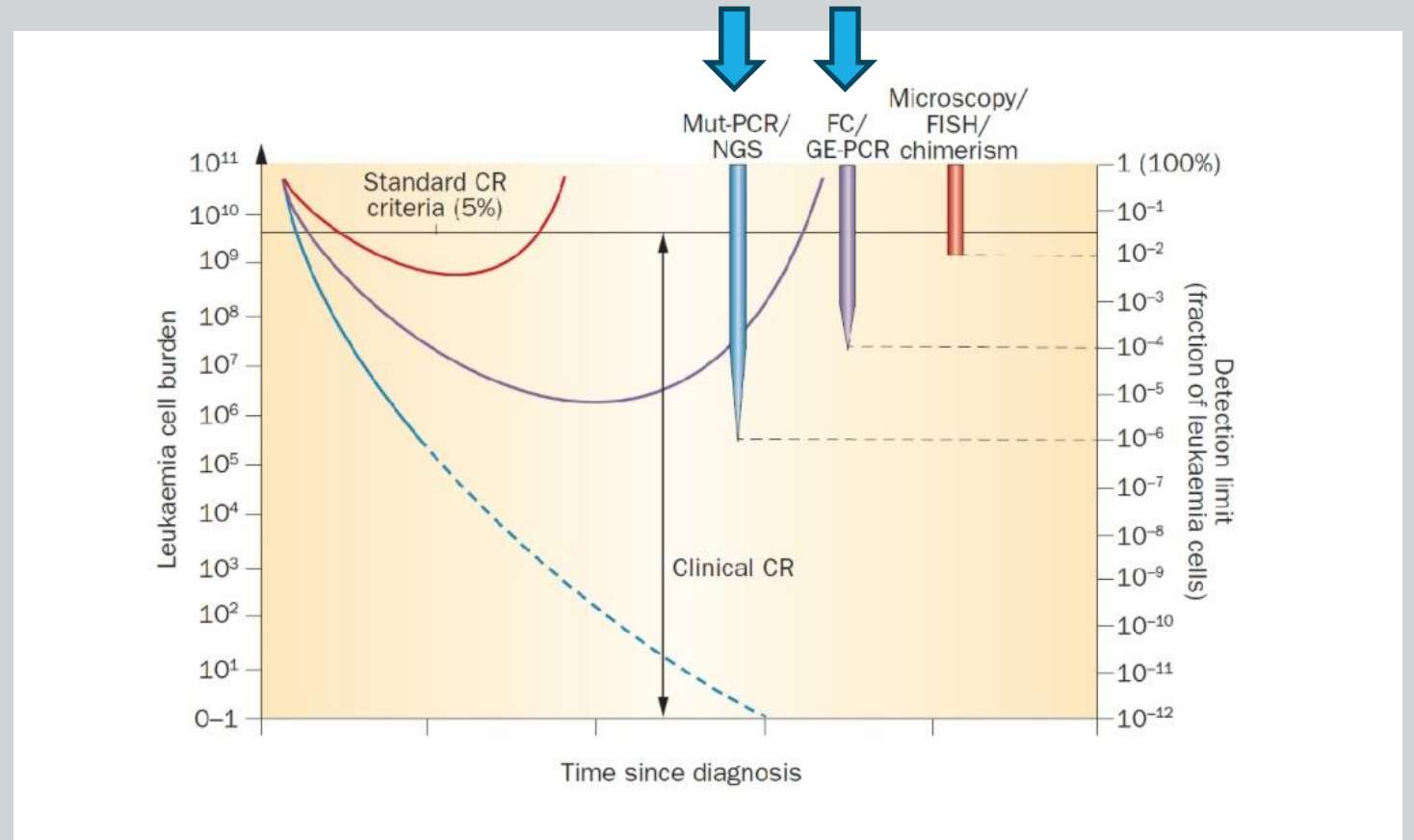
1. METODICHE

1) MULTI-PARAMETRIC
FLOW CYTOMETRY

2) PCR/RT-PCR

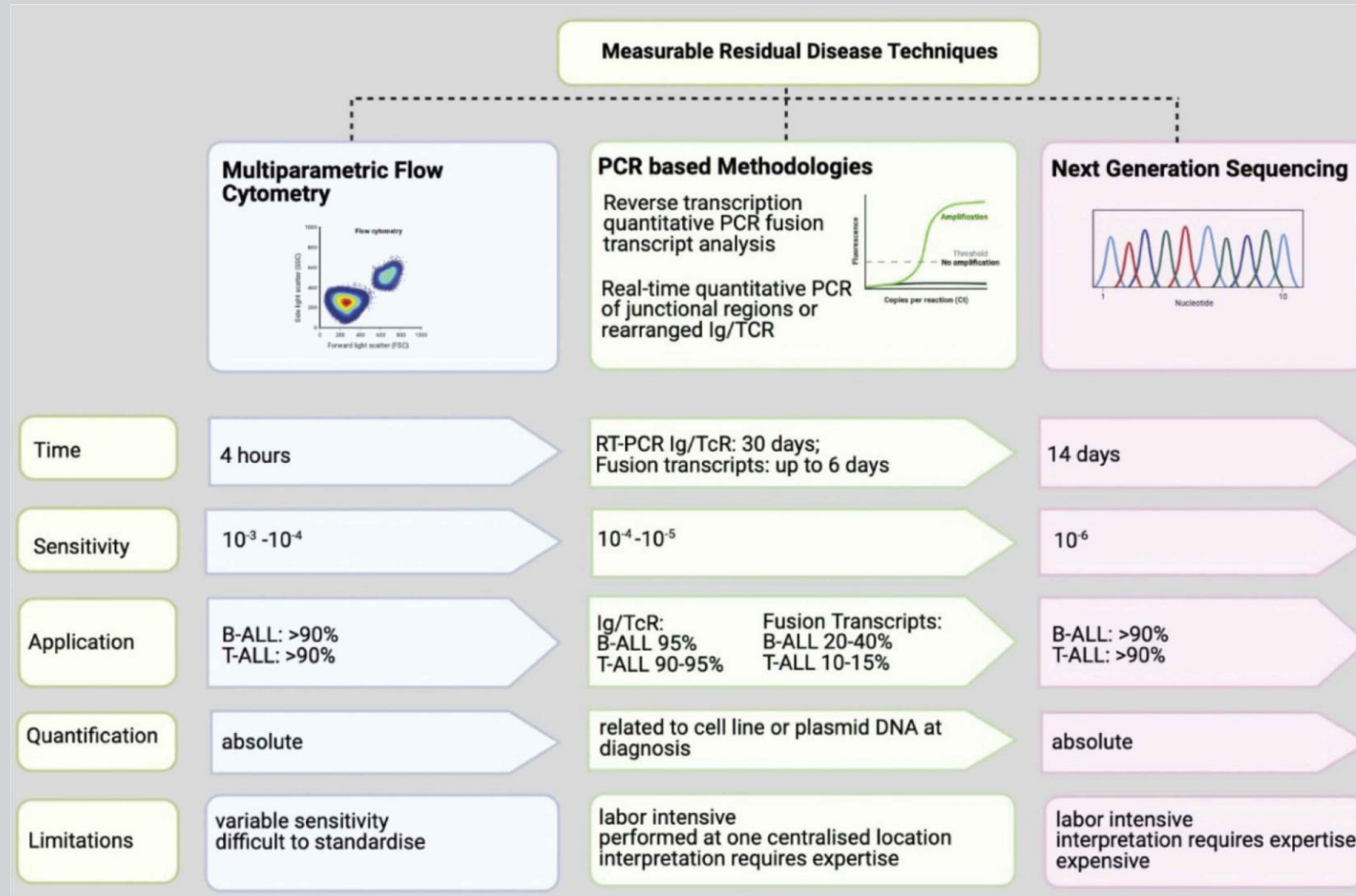
3) dPCR

4) NGS



Hourigan, et al, Nature Reviews Clinical Oncology 2013

1. METODICHE



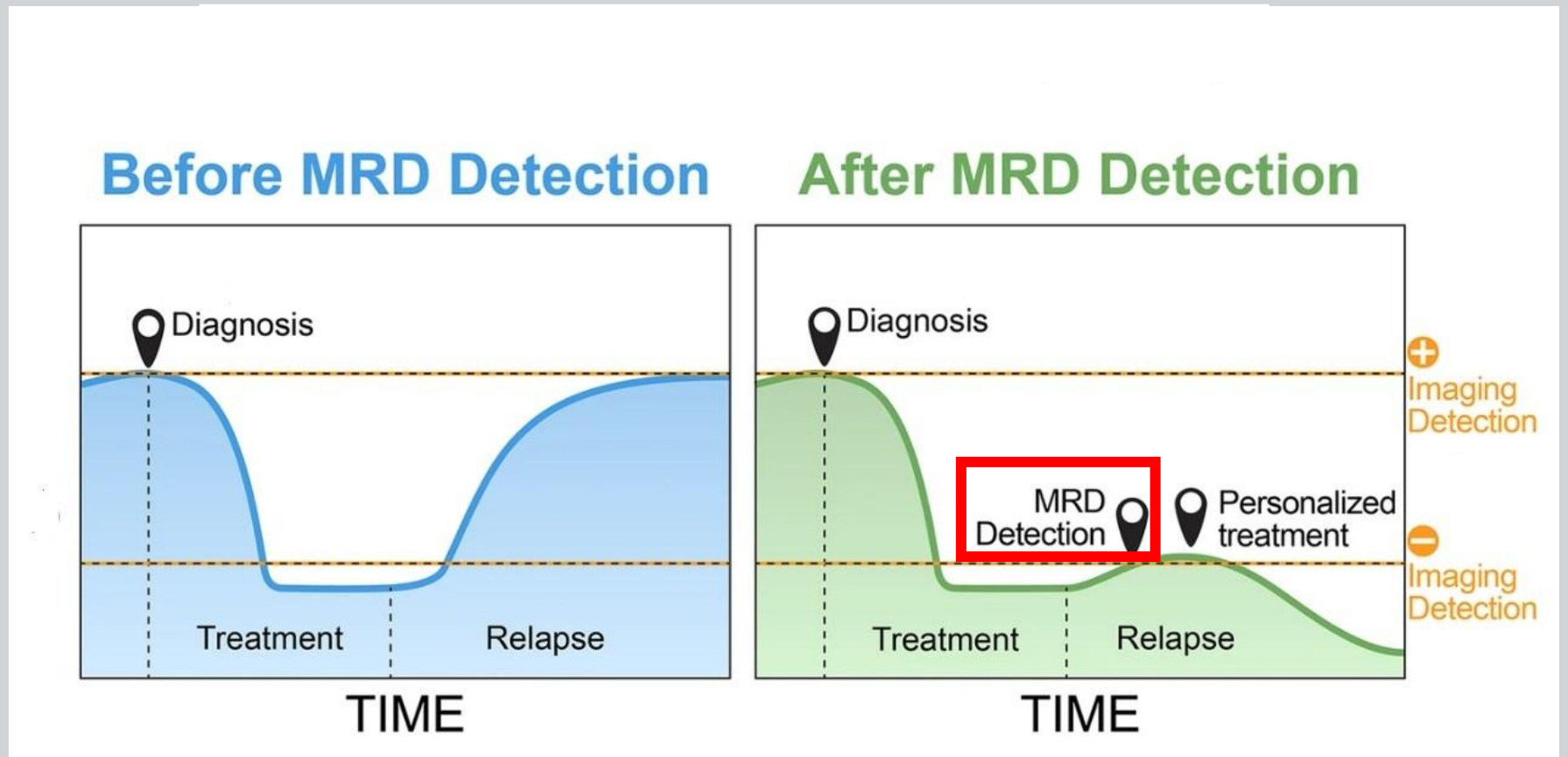
**MCF
+
NGS and
dPCR**

Monitoraggio dell'MRD: caratteristiche

1. DISPONIBILITA' DI METODICHE ALTAMENTE SENSIBILI
2. **UTILITA' CLINICA**
3. DISPONIBILITA' DI MARCATORI MOLECOLARI VALIDI E SAGGIABILI CON TECNICHE SENSIBILI

2. UTILITA' CLINICA

MRD FOLLOWING COMPLETE REMISSION



2. UTILITA' CLINICA: end-points clinici

- 1) **Drug sensitivity**: use as a surrogate end point to accelerate drug testing and approval.
- 2) **Grade of response**: provide an objective methodology to establish a deeper remission status.
- 3) **Prognostic factor**: refine outcome prediction and inform post remission treatment; allow more robust post-transplant surveillance.
- 4) **Predictive of relapse**: identify impending relapse and enable early intervention.

2. UTILITA' CLINICA: end-points clinici

MRD as surrogate endpoint
in clinical trials

MRD is an accurate
indicator of
treatment efficacy

MRD status after
treatment predicts
PFS and quality of
remission

MRD guided treatment
decisions

Patients who
achieve complete
clinical response
but positive MRD
would benefit from
further treatment

Previously MRD
negative patients
who revert to MRD
positivity may
benefit from
further treatment

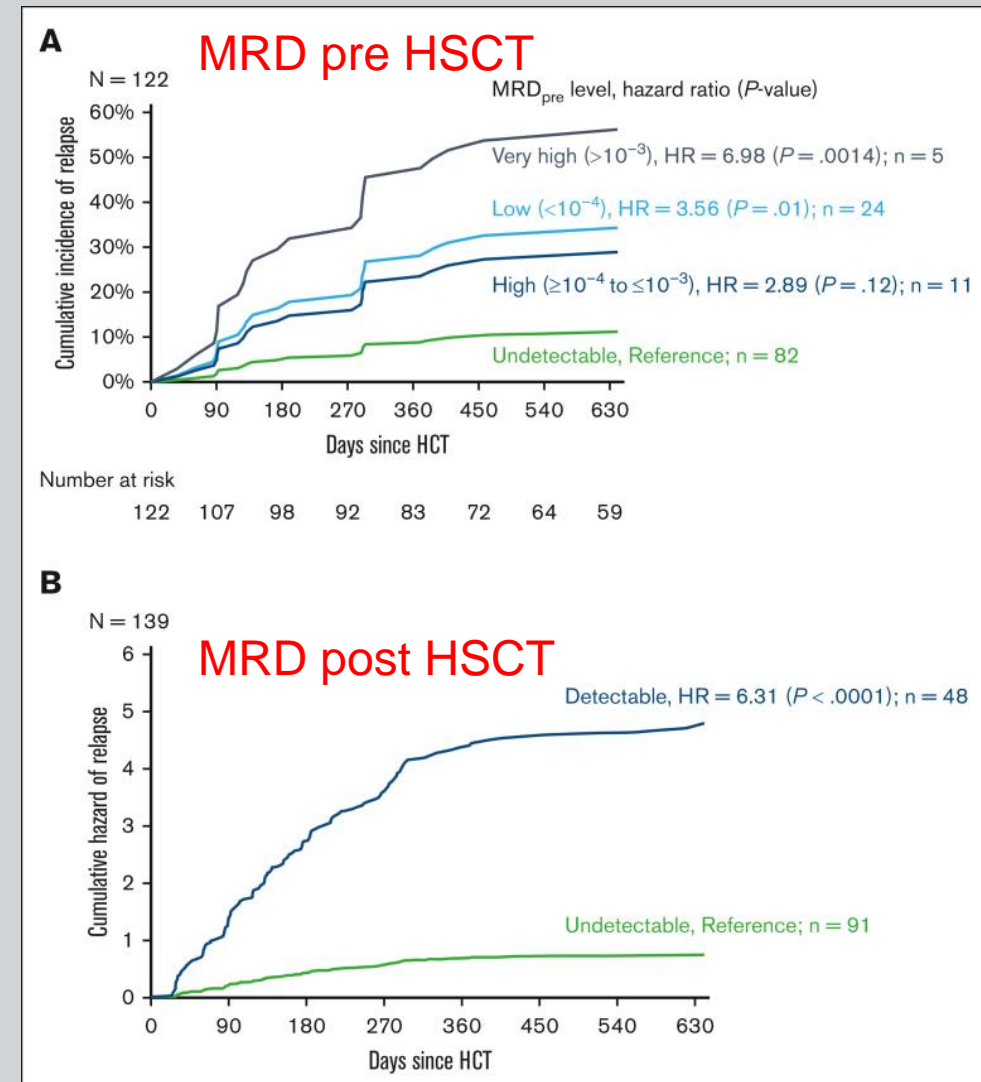
Drug sensitivity and **grade of response** for therapeutic strategy assessment

- MRD in pazienti con **CLL** ha acquisito un nuovo significato grazie all'efficacia di nuovi trattamenti.
- MRD si basa su citofluorimetro e quantificazione molecolare del riarrangiamento specifico.

2. UTILITA' CLINICA: end-points clinici

Prognostic factor

- Monitoraggio della MRD nella LAL mediante NGS.
- MRD+, anche a livelli bassi, aumenta il rischio di ricaduta post-HSCT.
- MRD+ post-HSCT forte predittore di recidiva.



2. UTILITA' CLINICA: end-points clinici

Predictive of relapse: WT1 (LAM)

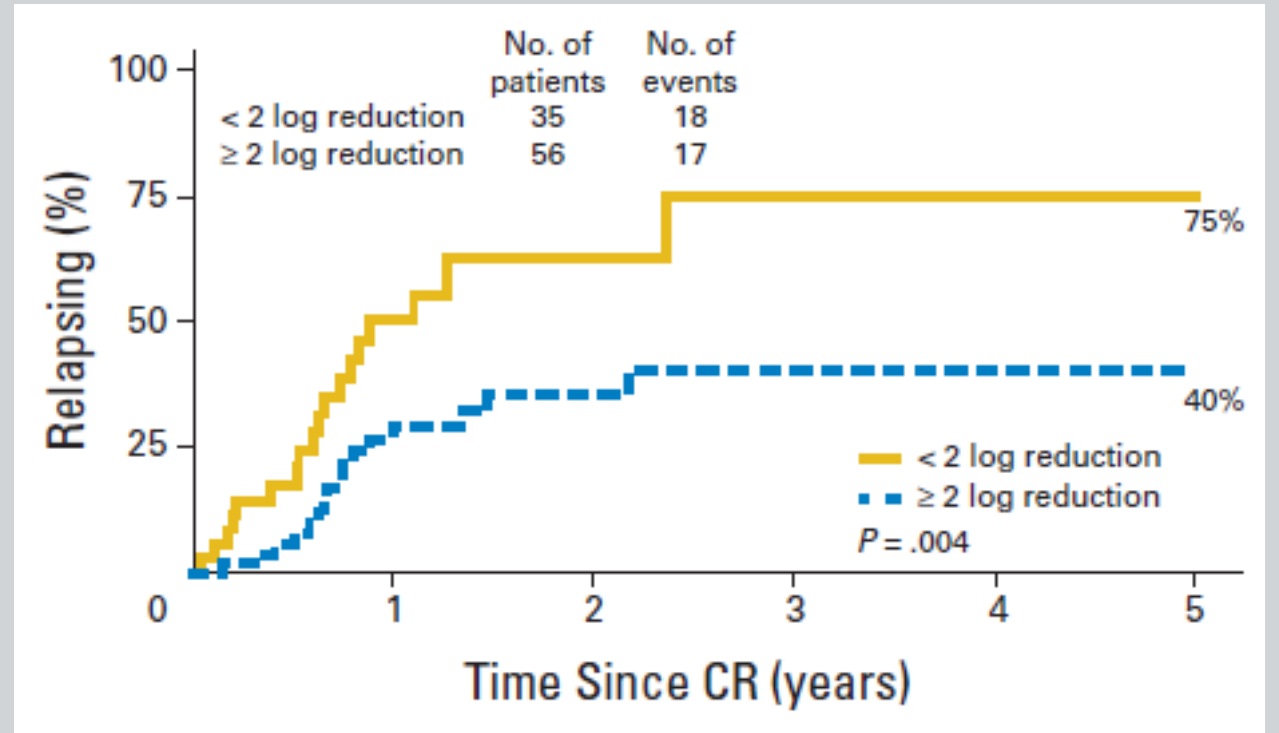
Normalmente espresso sulle cellule CD34+, richiesto per il normale sviluppo e per la sopravvivenza cellulare; poi down-regolato con la differenziazione



Espresso ad alti livelli sulle cellule leucemiche



Il livello di espressione riflette la presenza di malattia minima residua



Monitoraggio dell'MRD: caratteristiche

1. DISPONIBILITA' DI METODICHE ALTAMENTE SENSIBILI
2. UTILITA' CLINICA
3. **DISPONIBILITA' DI MARCATORI MOLECOLARI VALIDI E SAGGIABILI CON TECNICHE SENSIBILI**

3. MARCATORI

- Standardizzazione del marcatore essenziale.
- Può essere paziente specifico.
- Marcatori per la diagnosi possono essere diversi dai marcatori per l'MRD.

- Sindromi linfoproliferative:
riarrangiamenti clonali delle Ig/recettore delle cellule T (IGH (VDJ), IGH (DJ), IGK, TRG, TRD, and TRB).

- Patologie linfoidi e mieloidi:

1) quantificazione di geni di fusione (e.g., KMT2A-MLLT10, RUNX1-RUNX1T1, and PML-RARA).

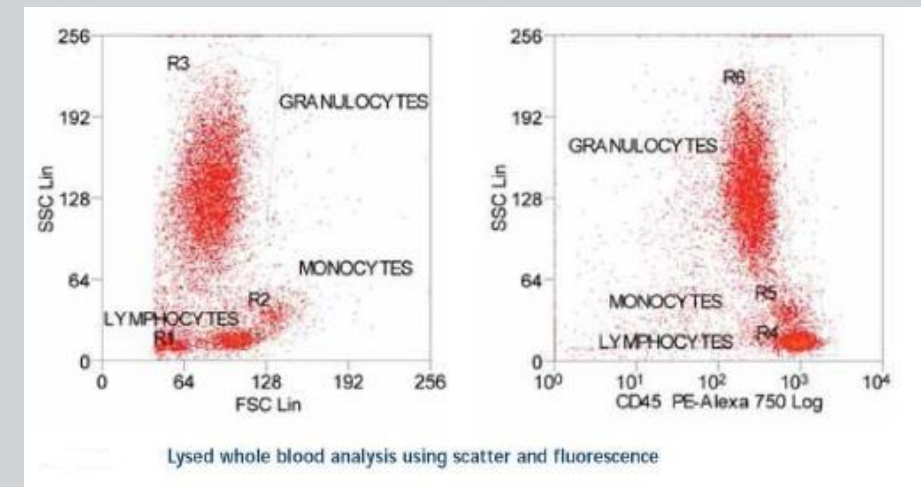
2) SNV analisi in diversi geni (IDH1/2, DNMT3A, RUNX1, TET2, TP53, e delezioni del gene NPM1 in AML)

Analisi Immunofenotipica: Citofluorimetria

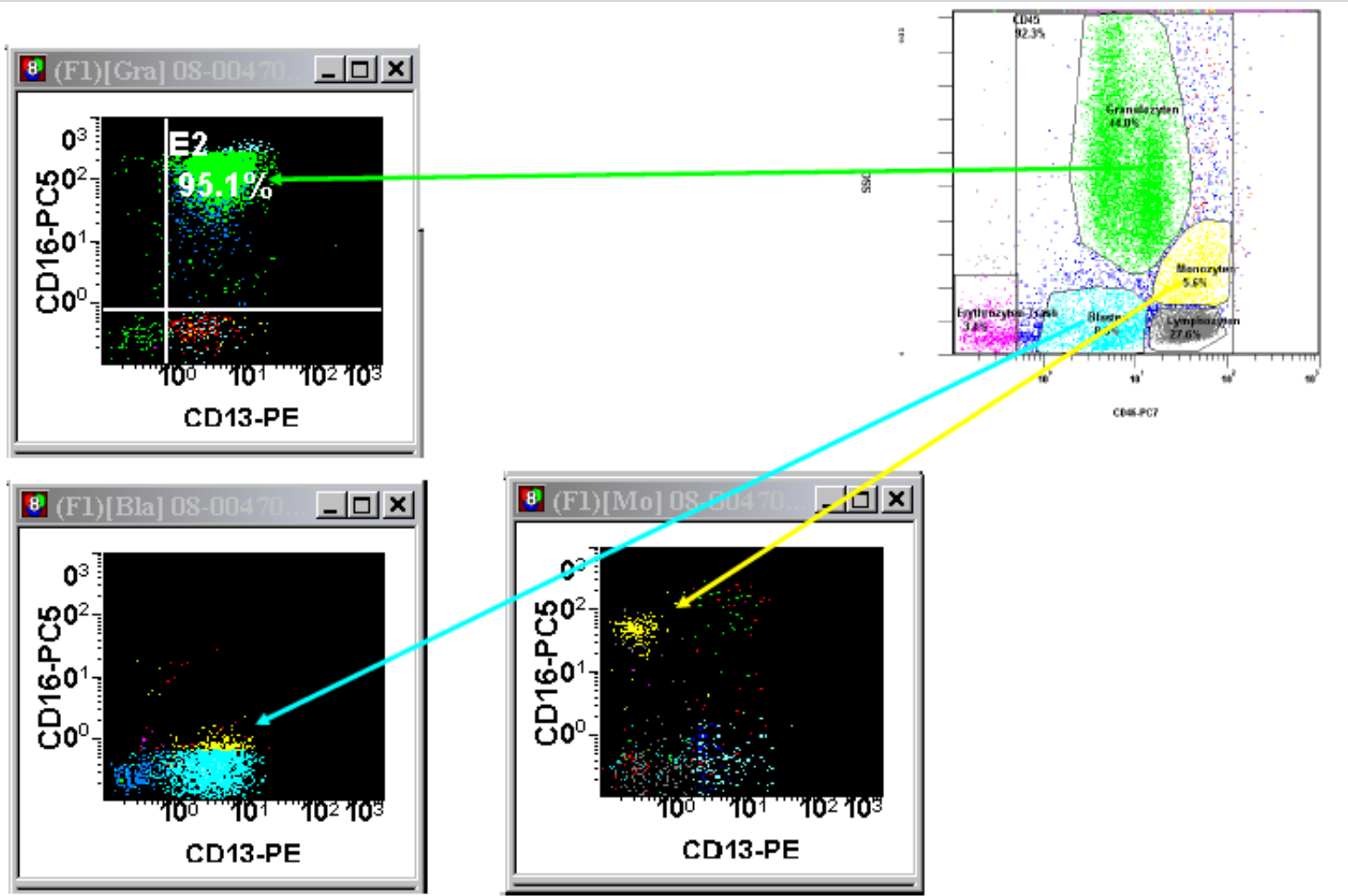
- ❑ Metodica di laboratorio che permette un'analisi automatica di *suspensioni cellulari monodisperse* misurando le *caratteristiche citologiche e/o biochimiche* all'interno di un flusso laminare che interseca una sorgente luminosa, acquisendo e memorizzando più parametri (*volume, granulosità, fluorescenza*) per ogni cellula acquisita

APPLICAZIONI IN DIAGNOSTICA EMATOLOGICA

- PRESENZA DI CELLULE ATIPICHE/BLASTI
- QUANTIZZAZIONE DELLA POPOLAZIONE PATOLOGICA/QUOTA RESIDUA NORMALE
- RICERCA DI FORME A CARATTERE PROGNOSTICO FAVOREVOLE E/O SFAVOREVOLE
- **MONITORAGGIO DELL'MRD**



Citofluorimetro: il gating



Le strategie di gating sono in continua evoluzione grazie all'introduzione di target therapy e anticorpi specifici o bi-specifici che alterano l'espressione degli ag di superficie e, a volte, la popolazione sana.

Leukaemia-associated immunophenotypes (LAIP)

Antigene	Classificazione FAB						
	MO	M2 I(8;21)	M3 I(15;17)	M4Eo Inv.16	M5	M5 I(0;11)	M7
MPO	+/-	+	+	+	-/+	-	-
CD2	-			+			
CD13	+/-	+	+	+	+	-	+/-
CD14	-	-	-	+/-	+/-	-	-
CD15	-	+	-	+/-		+	-
CD19	-	+					
CD33	+/-	+	+	+	+	+	+/-
CD34	+/-	+	-	-/+			
CD56		+					
CD61	-	-	-	-	-	-	+
CD64	-	-	+	+	+	+	
CDw65	+/-		-/+	+	+	+	+
CD117	+	+/-	-/+	+	+/-		
HLA-DR	+/-	+	-	+	+	+	+/-

-: Antigeni non espressi, -/+: antigeni espressi in meno del 50% dei pazienti, +/- antigeni espressi nella maggior parte dei pazienti, +: antigeni espressi, campi aperti rappresentano l'espressione parziale senza specificità per la diagnosi o la mancanza di dati affidabili.

Diagnosi immunologica di leucemia mieloide acuta

Antigene	Diagnosi						
	CLL	PLL	HCL	FL	MCL	LP-IL	PCL
slg	+/-w	+s	+s	+s	+s	+s	-
CD5	+	-/+w	-	-	+	+/-	-
CD10	-	-	-	+/-	-	-	-/+
CD11c	+/-w	-/+	+s	-	-	-/+	-
CD19	+	+	+	+	+	+	-
CD20	+	+	+	+	+	+	-
CD23	+	-/+	-	-/+	-	-/+	-
CD38	-	-	-/+w	-/+w	-	+/-	+s
CD103	-	-	+s	-	-	-	-
FMC7	-/+w	+	+	+	+	-/+	-

-: Antigeni non espressi, -/+: antigeni espressi in meno del 50% dei pazienti, +/- antigeni espressi nella maggior parte dei pazienti, +: antigeni espressi, w. debole espressione, s: forte espressione
 FL linfoma follicolare, HCL leucemia a cellule capelute, LGLL linfoma granuloso grande, LP-IC immunocitoma linfoplasmocitico, MCL linfoma a cellule del mantello, PCL plasma di cellule della leucemia, PLL leucemia prolinfocitaria

Diagnosi immunologica di malattie linfoproliferative a cellule B

Antigene	Diagnosi			
	T-PLL	Sézary/MF	LGLL	ATL
CD3	+	+	+	+
CD4	+/-	+	-/+	+
CD5	+	+	+	+
CD7	+	-	-/+	-/+
CD8	-/+	-	+/-	-
CD56	-	-	+/-	-
CD57	-	-	+/-	-
HLA-DR	-	-	-	-

-: Antigeni non espressi, -/+: antigeni espressi in meno del 50% dei pazienti, +/- antigeni espressi nella maggior parte dei pazienti, ATL leucemia a cellule-T adulte, LGLL leucemia a grandi linfociti granulati, T-PLL leucemia prolinfocitaria.

Diagnosi immunologica di malattie linfoproliferative a cellule T

Immunofenotipo per MRD

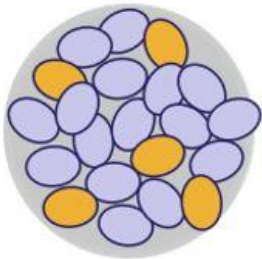
	AML	B-ALL	T-ALL	CLL	MM
Sensitivity	10^{-3} - 10^{-5}	10^{-4} - 10^{-5}	10^{-4} - 10^{-5}	10^{-4} - 10^{-5}	10^{-5} - 10^{-6}
Sample origin	BM	BM	BM, PB	PB, BM	BM
N° of cells required	3×10^6	4×10^6	4×10^6	3×10^6	$5-20 \times 10^6$
Applicability (% of cases)	>97%	>99%	>99%	>95%	>99%
MRD "positivity" threshold	$\geq 10^{-3}$	$\geq 10^{-4}$	$\geq 10^{-4}$	$\geq 10^{-4}$	$\geq 10^{-5}$
Follow-up timepoints	Poorly standardized: usually performed early, after initial therapy (i.e., post-induction/consolidation treatments), then usually guided by clinical protocols (usually, every 3-6 months)				
Backbone panel	CD34, CD117, CD45, CD13, CD33, CD15, CD7	CD34, CD19, CD10, CD20, CD38, CD45	CD2, CD3, CD5, CD7, CD4, CD8, CD34, CD45, CD99, CD1a	CD19, CD20, CD5, CD79b, CD43, CD81	CD138, CD38, CD45, CD56, CD19, CD27, CD28, CD117, cy k/ λ , CD81
Additional markers	CD14, CD64, HLA-DR, CD4, CD11b, CD123, CD133, CD38, CD90	CD22, CD81, CD66c, CD123, CD73, CD304	CD10, CD38, CD56, TdT	CD200, CD23, CD160, ROR1	CD33, CD54, CD200, CD229, CD307, CD319, CD150, VS38

Leucemia acuta mieloide e MRD

MRD nelle Leucemie Acute Mieloidi (LAM)

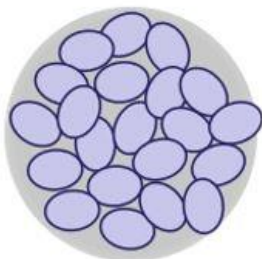
Progression of acute myeloid leukemia

Initial
Diagnosis



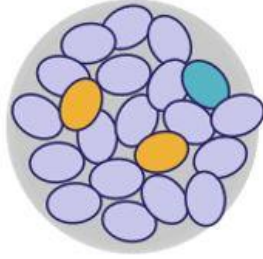
Leukemic clones are observed by morphologic and immunophenotypic analysis

Complete
Remission



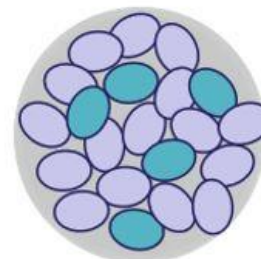
Morphologic analysis shows the absence of leukemic clones

Molecular
Relapse






Highly sensitive molecular analysis identifies residual leukemic clones

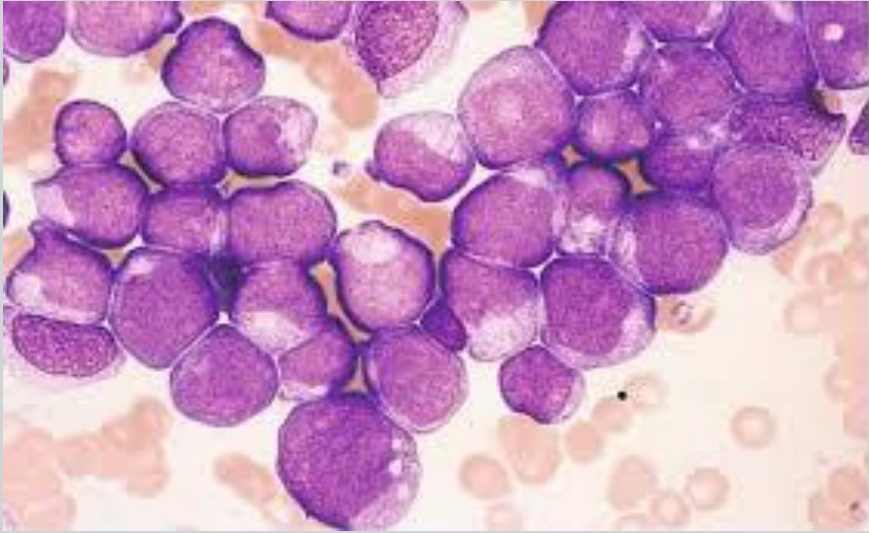
Clinical
Relapse



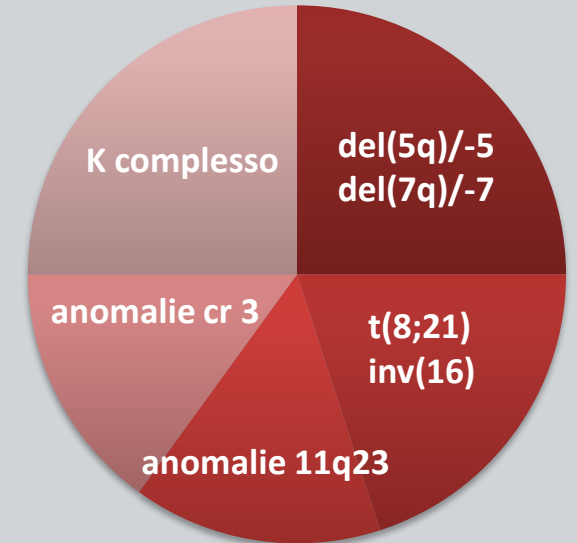
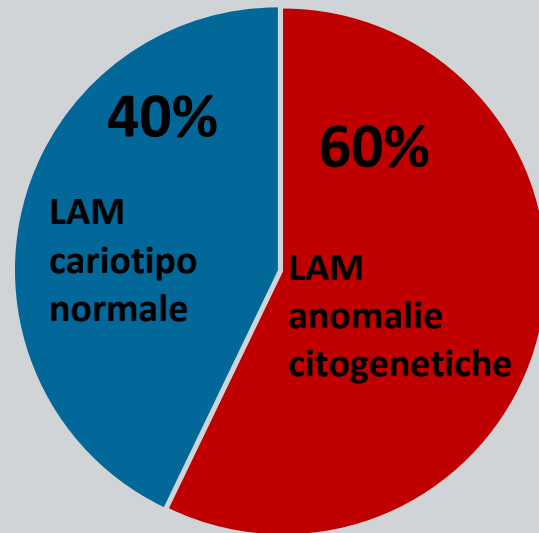
Clinical relapse occurs, with predominant clones harboring secondary mutations.

-  Healthy cell
-  Original disease clone
-  Relapsed disease clone

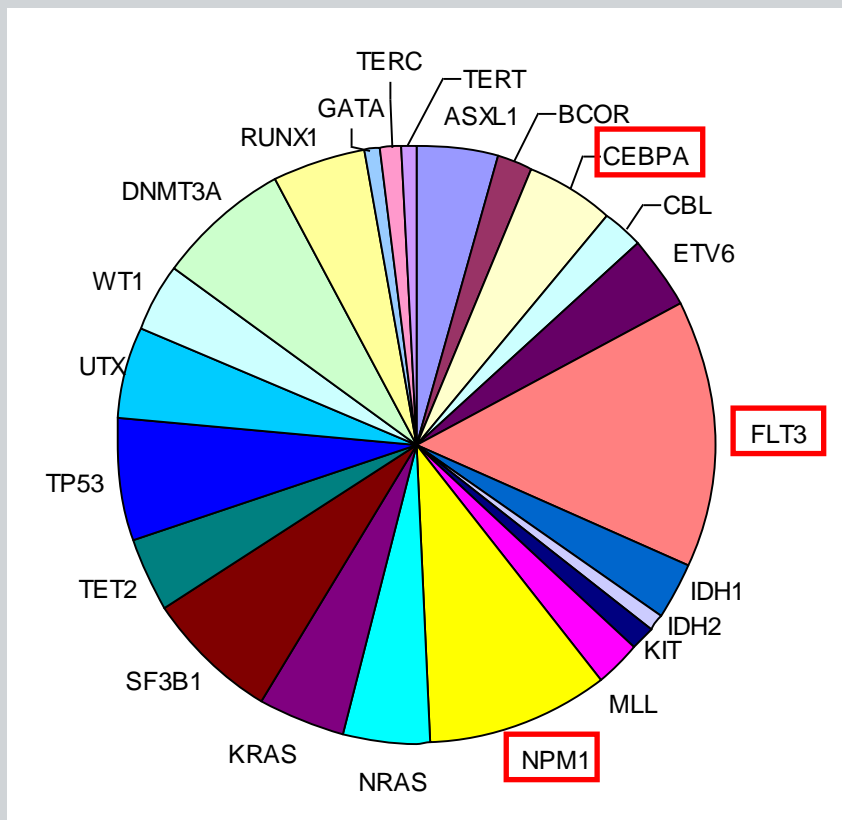
INCIDENZA E RILEVANZA PROGNOSTICA DELLE ALTERAZIONI CITOGENETICHE NELLE LAM



Striscio di sangue midollare in paziente con LAM



INCIDENZA E RILEVANZA PROGNOSTICA DELLE ALTERAZIONI MOLECOLARI NELLE LAM



Modificato da Dohner et al, Blood 2010

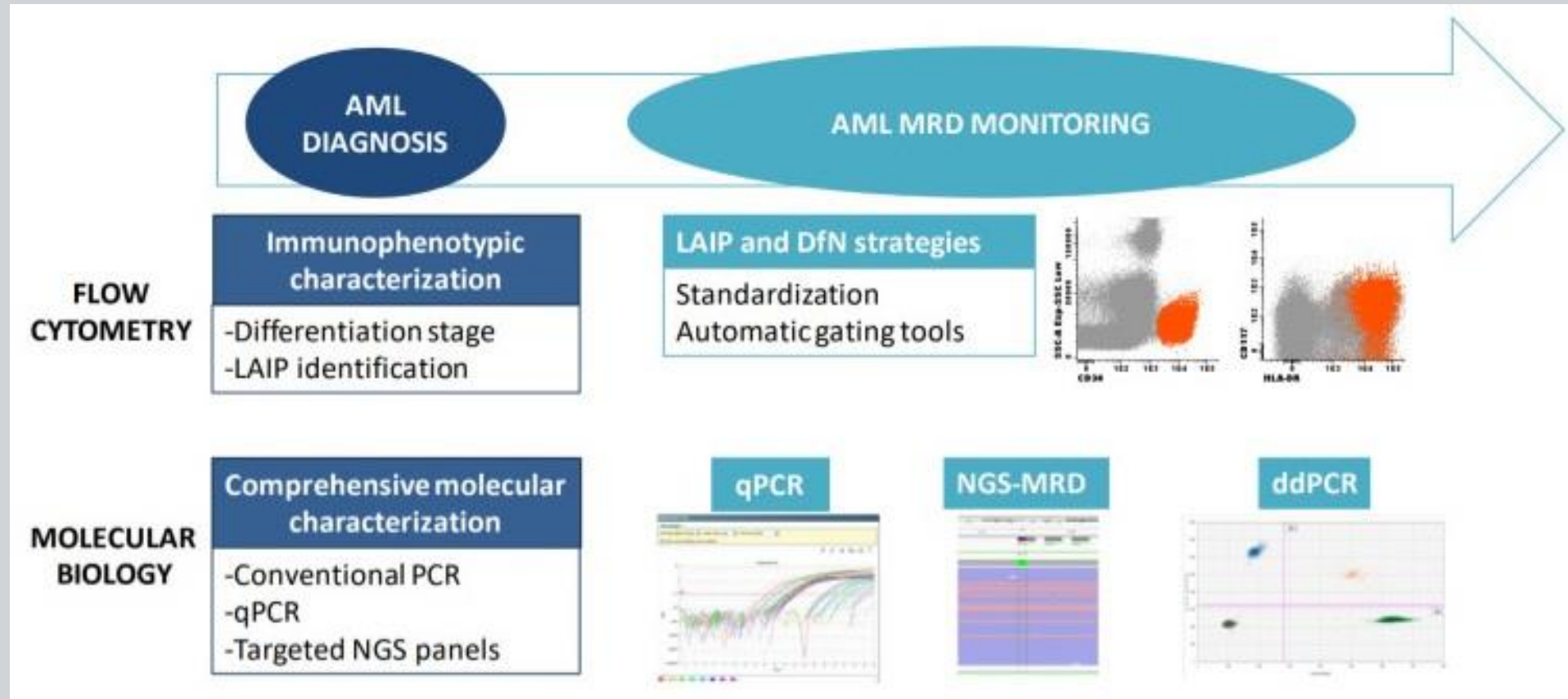
FAVOREVOLE	NPM1 mutato senza FLT3-ITD (cariotipo normale) CEBPα mutato (cariotipo normale)
INTERMEDIA	NPM1 mutato e FLT3-ITD (cariotipo normale) NPM1 <i>wild type</i> e FLT3-ITD (cariotipo normale)
SFAVOREVOLE	NPM1 <i>wild type</i> senza FLT3-ITD (cariotipo normale)

64% di overall survival a 3 anni

42% di overall survival a 3 anni

12% di overall survival a 3 anni

MRD nelle LAM: LE TECNOLOGIE

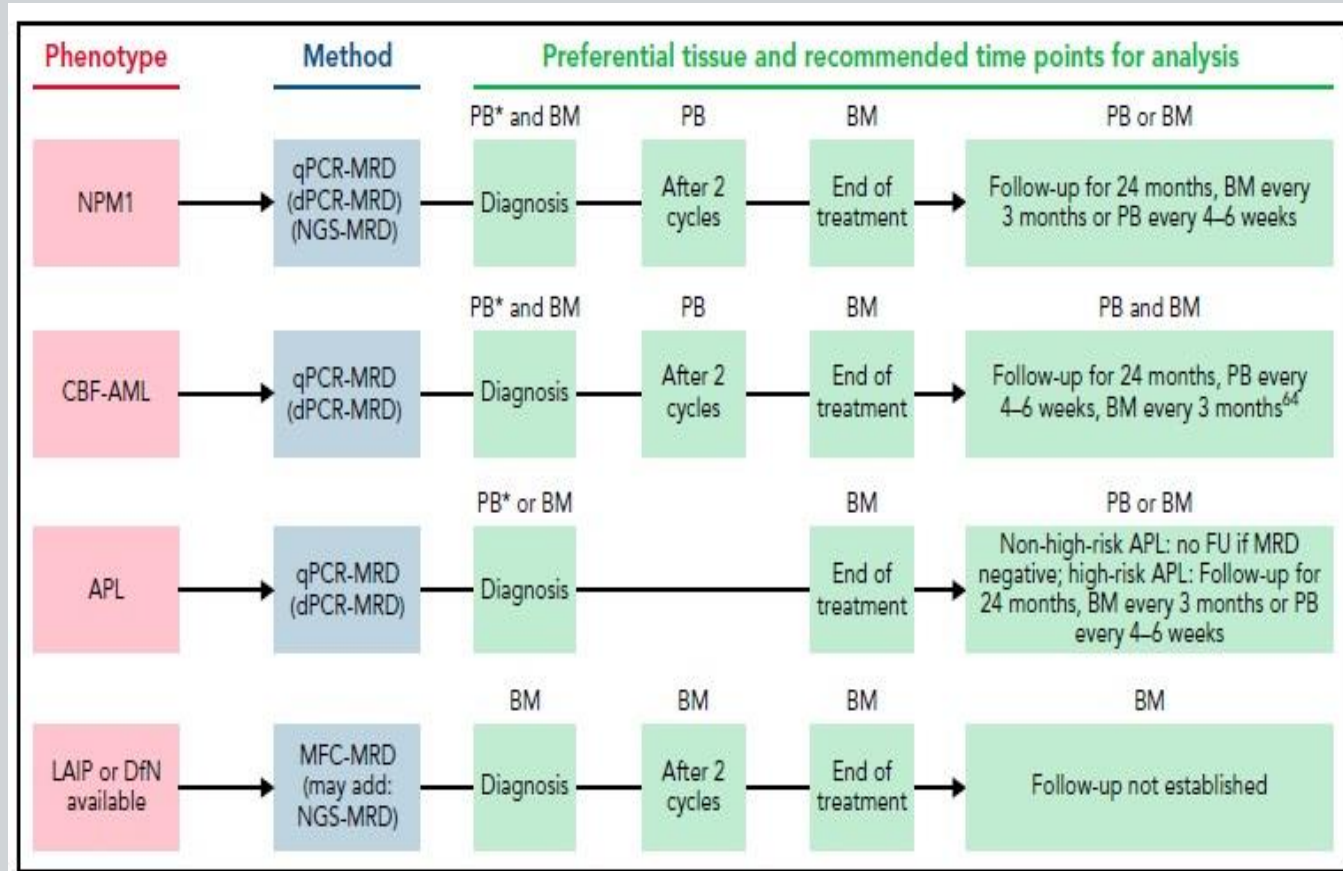


Classificazione delle LAM e MRD

□ LAM con **PML/RARalfa**, **RUNX1/RUNX1T1** e **CBF/MYH11**: riconoscimento alla valutazione dell'MRD nella nuova classificazione.

Acute promyelocytic leukemia (APL) with t(15;17)(q24.1;q21.2)/PML::RARA ≥ 10%
APL with other RARA rearrangements* ≥ 10%
AML with t(8;21)(q22;q22.1)/RUNX1::RUNX1T1 ≥ 10%
AML with inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB::MYH11 ≥ 10%
AML with t(9;11)(p21.3;q23.3)/MLLT3::KMT2A ≥ 10%
AML with other KMT2A rearrangements† ≥ 10%
AML with t(6;9)(p22.3;q34.1)/DEK::NUP214 ≥ 10%
AML with inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2)/GATA2; MECOM(EVI1) ≥ 10%
AML with other MECOM rearrangements‡ ≥ 10%
AML with other rare recurring translocations (see supplemental Table 5) ≥ 10%
AML with t(9;22)(q34.1;q11.2)/BCR::ABL1§ ≥ 20%
AML with mutated NPM1 ≥ 10%
AML with in-frame bZIP CEBPA mutations ≥ 10%
AML and MDS/AML with mutated TP53† 10-19% (MDS/AML) and ≥ 20% (AML)
AML and MDS/AML with myelodysplasia-related gene mutations 10-19% (MDS/AML) and ≥ 20% (AML) Defined by mutations in ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1, or ZRSR2
AML with myelodysplasia-related cytogenetic abnormalities 10-19% (MDS/AML) and ≥ 20% (AML) Defined by detecting a complex karyotype (≥ 3 unrelated clonal chromosomal abnormalities in the absence of other class-defining recurring genetic abnormalities), del(5q)/t(5q)/add(5q), -7/del(7q), +8, del(12p)/t(12p)/add(12p), i(17q), -17/add(17p) or del(17p), del(20q), and/or idic(X)(q13) clonal abnormalities
AML not otherwise specified (NOS) 10-19% (MDS/AML) and ≥ 20% (AML)
Myeloid sarcoma

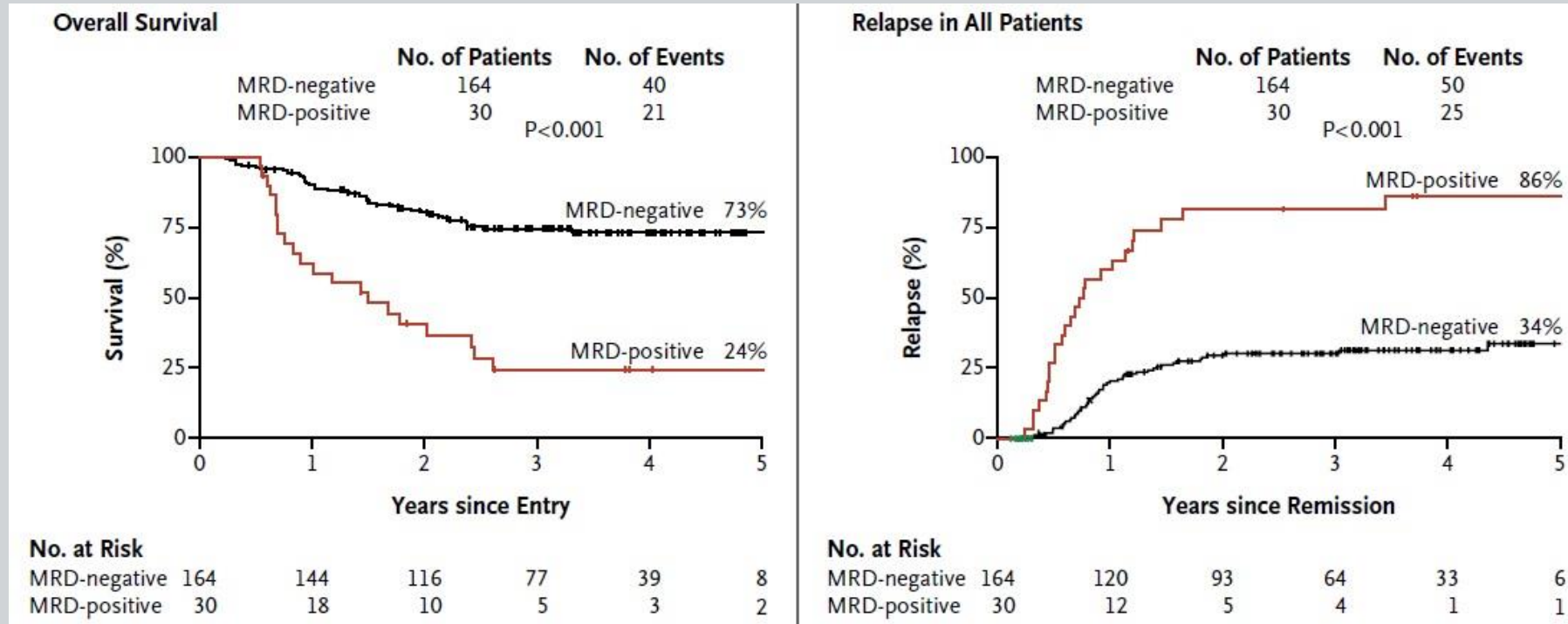
MRD in diversi sottotipi di LAM



Heuser M et al, Blood 2021

- ❑ Combinazione di MCF e monitoraggio molecolare basata sul fenotipo delle LAM.
- ❑ Monitoraggio molecolare nei pazienti con un gruppo molecolare definito.
- ❑ L'utilizzo di PB e BM dipende dal time points per l'analisi MRD.
- ❑ Il monitoraggio dopo 24 mesi è paziente-specifico.

Mutazioni di NPM1 per il monitoraggio MRD



MRD by RT-qPCR in PB after 2 Cycles of CHT

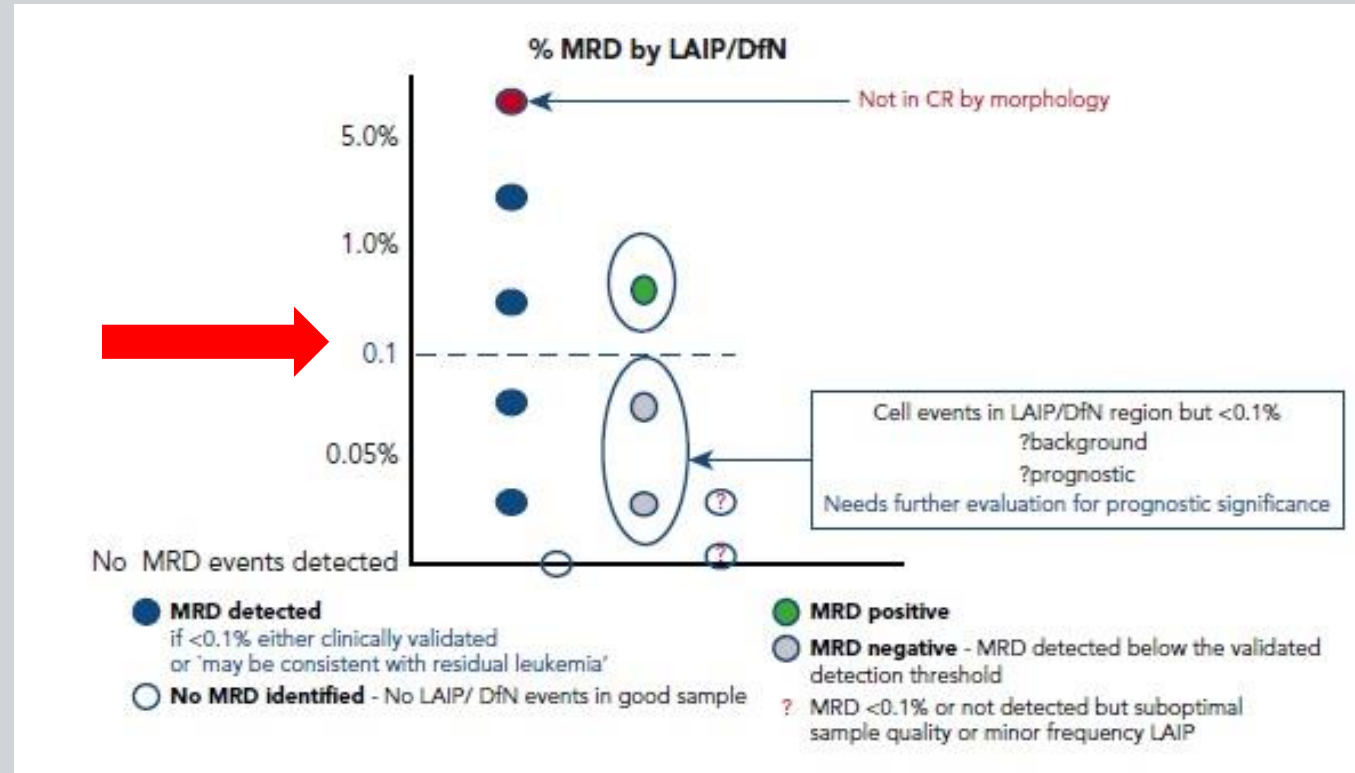
The presence of MRD by quantification of NPM1-mutated transcripts provided powerful prognostic information independent of other risk factors.

Cut-off nell'MRD

Detection sensitivity threshold:0.1%

MRD
POSITIVITY

MRD
NEGATIVITY



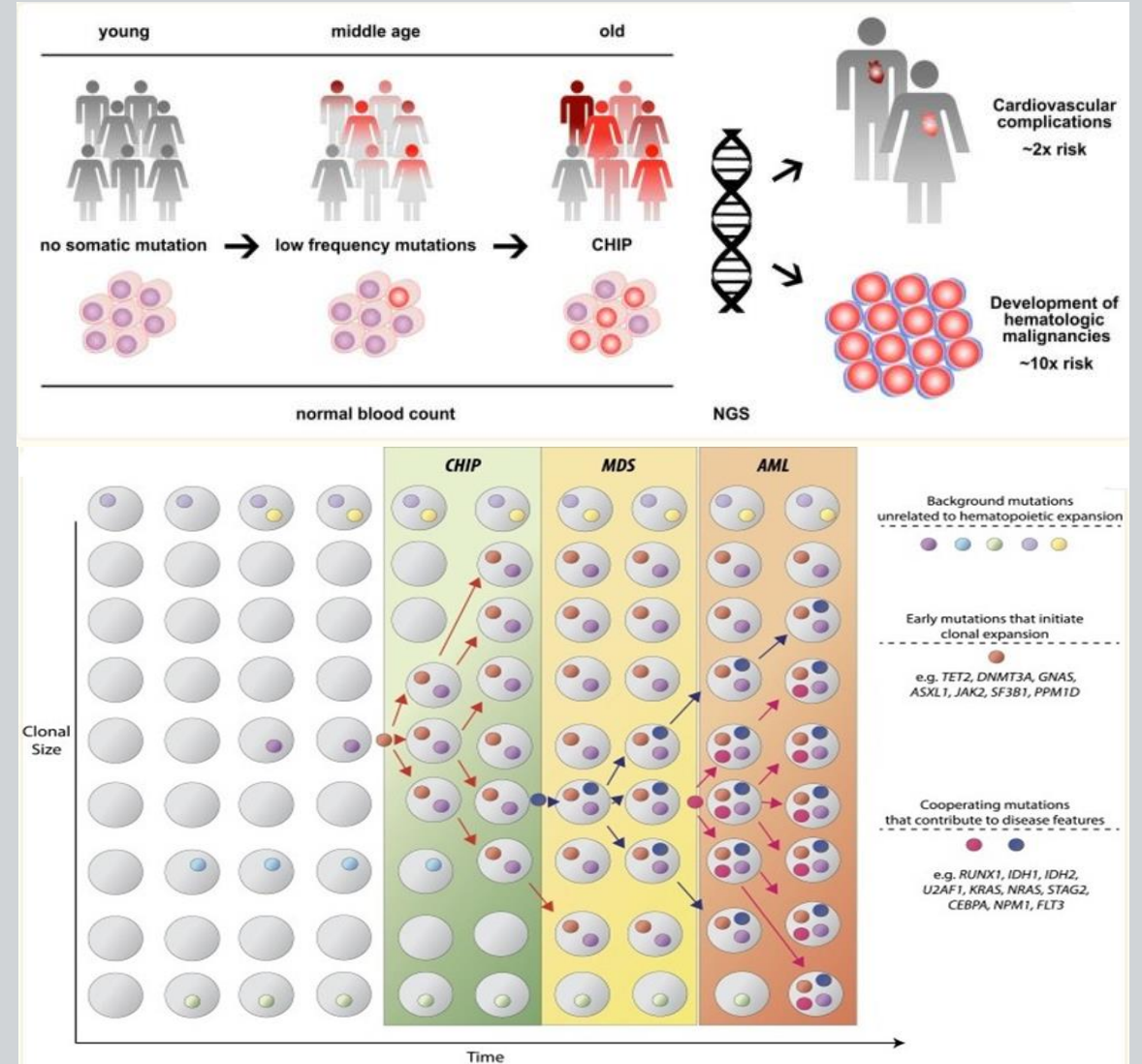
ELN CONSENSUS DOCUMENT ON MRD IN AML. Blood 2018

Categorie di risposta dell'MRD nelle LAM

Response category	Abbreviation	Defining criteria
CR with negative MRD	CR _{MRD} ⁻	<ol style="list-style-type: none"> 1. Complete morphologic remission and 2. MRD⁻ in all MRD technologies that were used: <ol style="list-style-type: none"> a. FC-MRD⁻ in BM (if MFC-MRD was used). b. qPCR-MRD⁻ in BM (or in PB after cycle 2 for <i>NPM1</i>- and CBF-MRD) (if qPCR-MRD was used). c. NGS-MRD⁻ in BM (if NGS-MRD was used).
CR with positive MRD	CR _{MRD} ⁺	<ol style="list-style-type: none"> 1. Complete morphologic remission, and 2. MFC-MRD⁺ in PB and/or BM, or 3. NGS-MRD⁺ in PB and/or BM, or 4. qPCR-MRD⁺ in PB and/or BM.
CR with molecular MRD detection at low level	CR-MRD-LL	<ol style="list-style-type: none"> 1. Morphologic CR, and 2. Molecular MRD detectable at low level in PB and/or BM (ie, qPCR for <i>NPM1</i> <2% or NGS-MRD <0.1%, but above the detection limit of the assay).
MRD relapse	—	<ol style="list-style-type: none"> 1. Conversion of MRD negativity to MRD positivity independent of the MRD technique, or 2. increase in MRD copy numbers $\geq 1 \log_{10}$ between any 2 positive samples in patients with CR-MRD-LL who are monitored by qPCR. 3. The result of (1) or (2) should be rapidly confirmed in a second consecutive sample, preferably from the BM.

Ematopoiesi clonale

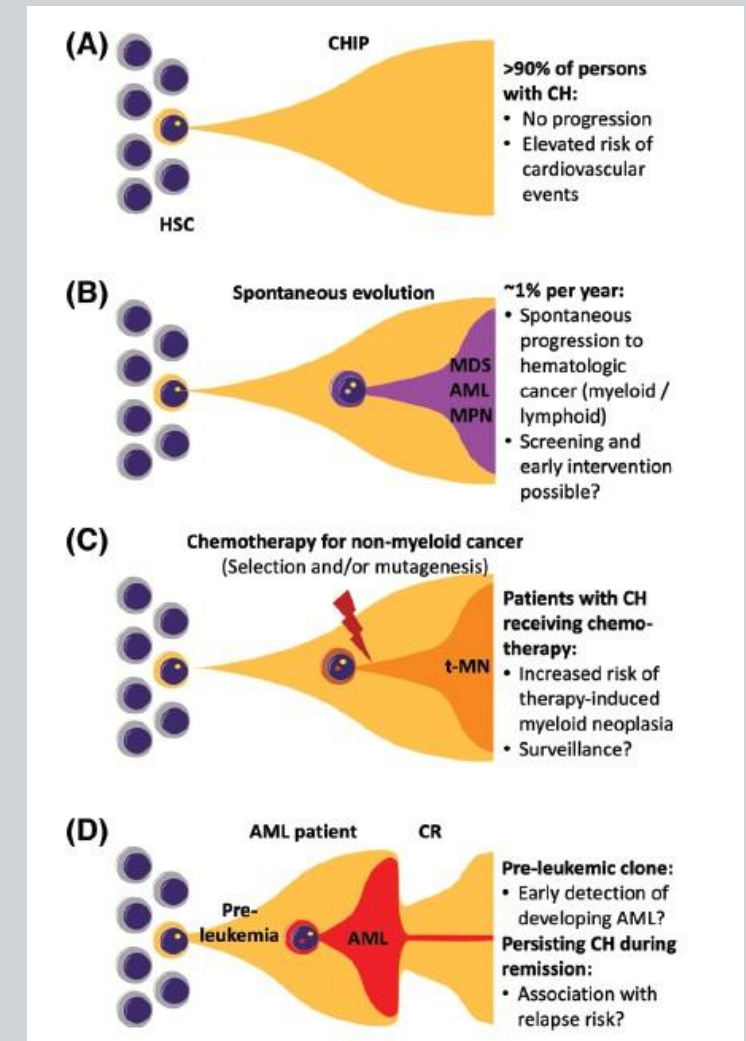
- L'Ematopoiesi Clonale (CH) è un fenomeno caratterizzato dall'espansione di cellule ematopoietiche con la stessa mutazione acquisita.
- La popolazione cellulare che presenta la mutazione non presenta iper-proliferazione o caratteristiche neoplastiche.
- I pazienti con CH hanno: emocromo normale, assenza di evidenze morfologiche di neoplasia ematologica.
- La CH può avvenire nei geni associati al lineage mieloide: ematopoiesi clonale di significato indeterminato (CHIP).
- La CHIP è associata ad un aumentato rischio di sviluppare una neoplasia ematologica e patologie correlate all'infiammazione.



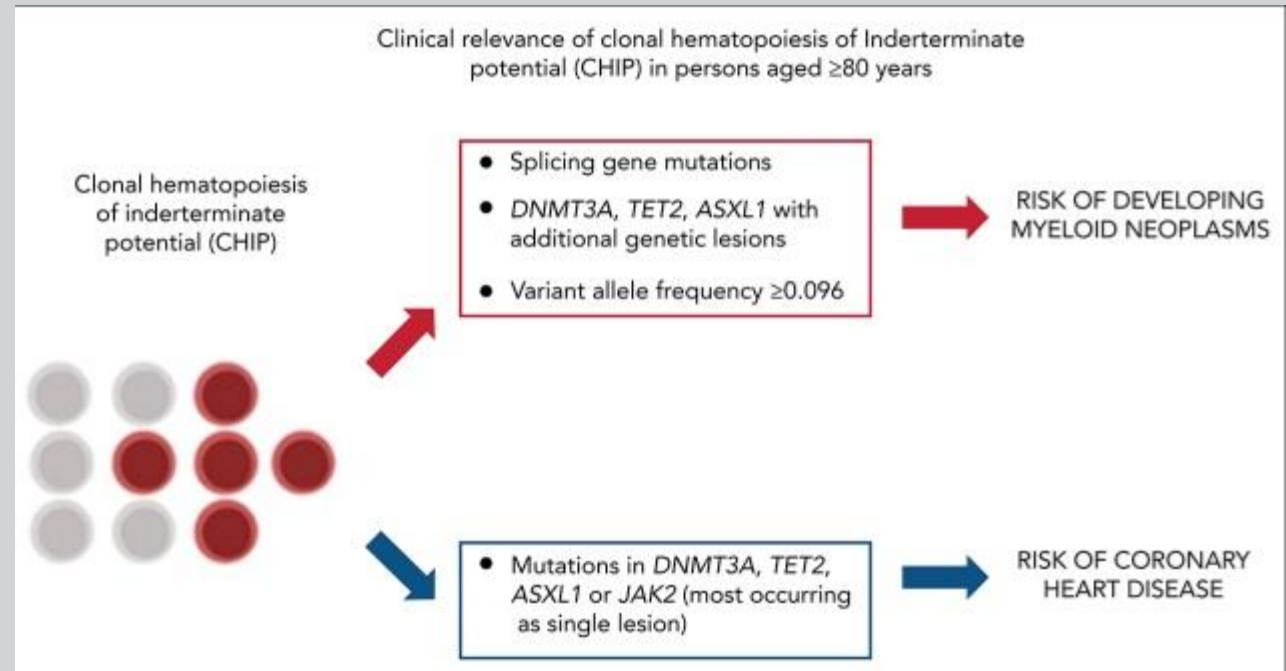
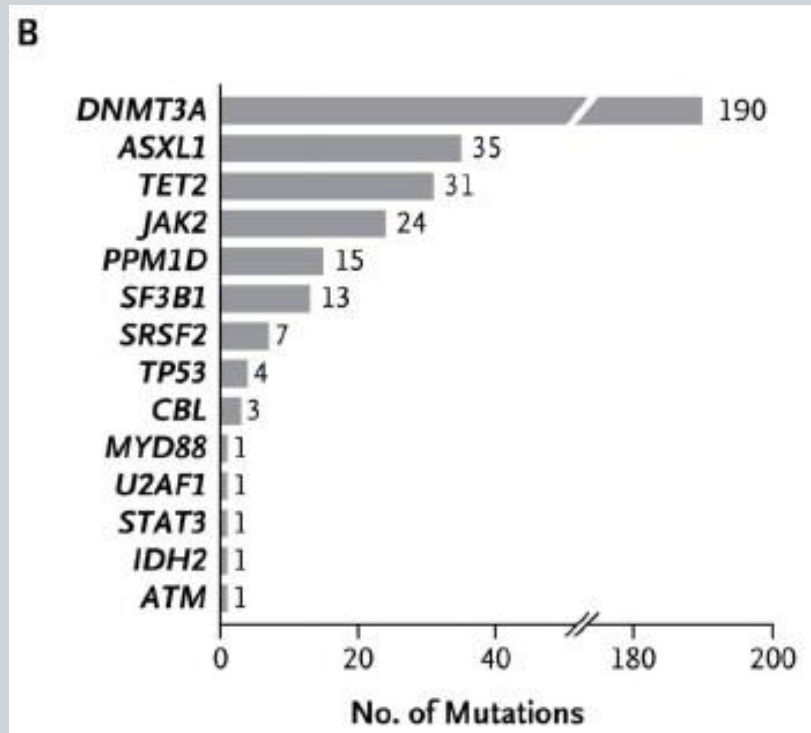
CH in Ematologia

Le varianti relative alla CH non sono dei buoni marker per il monitoraggio dell'MRD

Anormalità genetiche AML-related	Anormalità genetiche CH-related
Spesso si verificano tardivamente e possono essere gli unici eventi genetici	Spesso si verificano precocemente, con una elevata VAF rispetto alle anomalie genetiche AML-related
Dopo terapia riduzione o clearance della VAF associata a riduzione della percentuale di blasti	Persistenti anche con risposta completa (CR), spesso con una VAF simile alla malattia pre-terapia
Appaiono nuovamente alla recidiva	Persistono alla recidiva
Risposta completa associata con aumento del rischio di recidiva	Risposta completa può non essere associata con aumento del rischio di recidiva
Eliminate in seguito ad HCT	Eliminate in seguito ad HCT

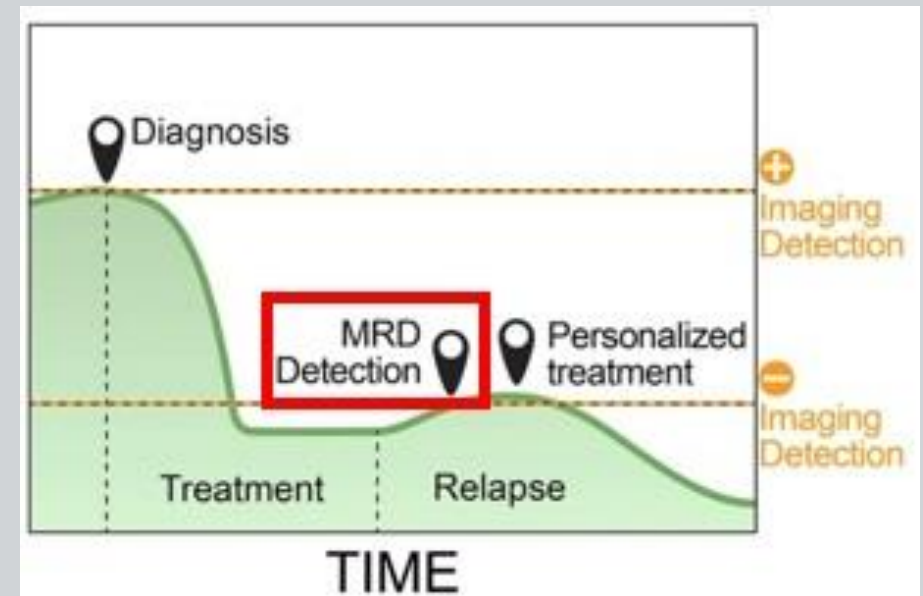
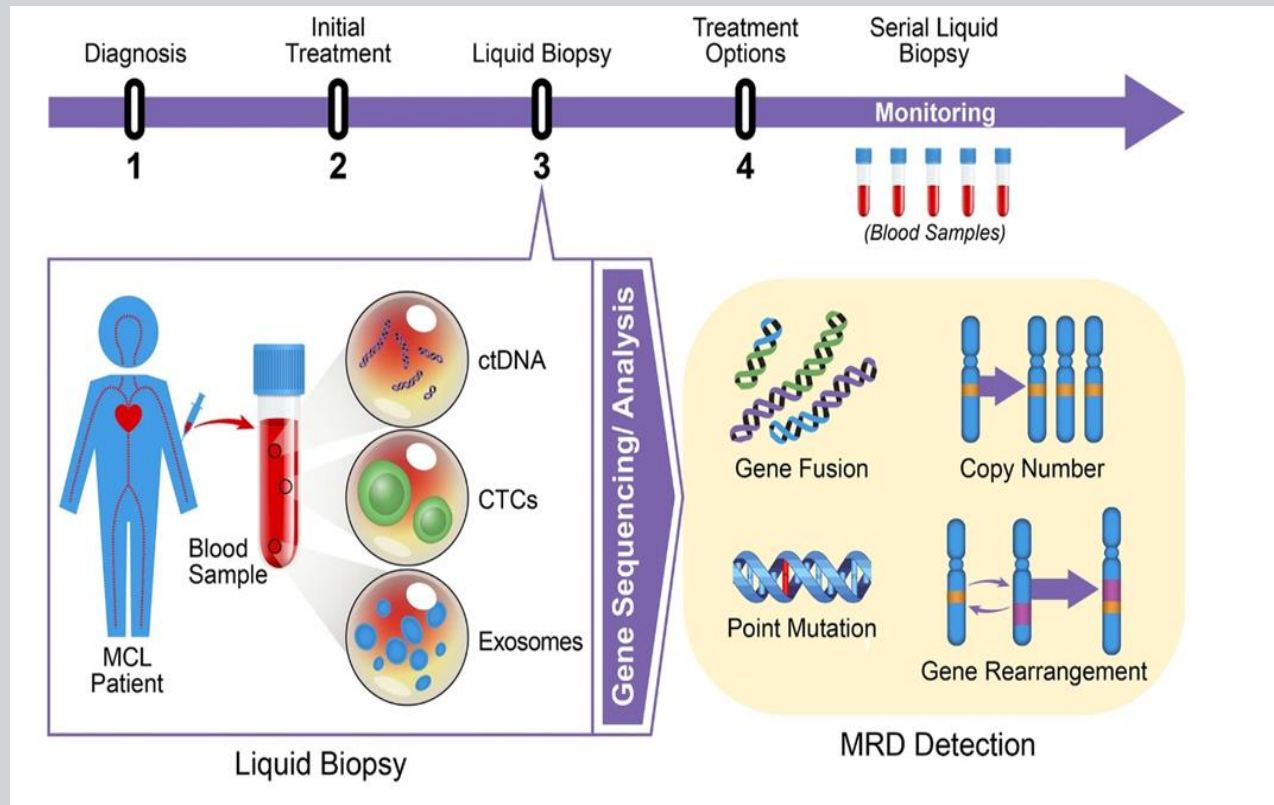


CH in Ematologia



Ematopoiesi clonale con mutazioni somatiche DNMT3A, ASXL1, e TET2: elevato rischio di insorgenza di una patologia ematologica

MRD e Linfomi: Biopsia Liquida come innovazione

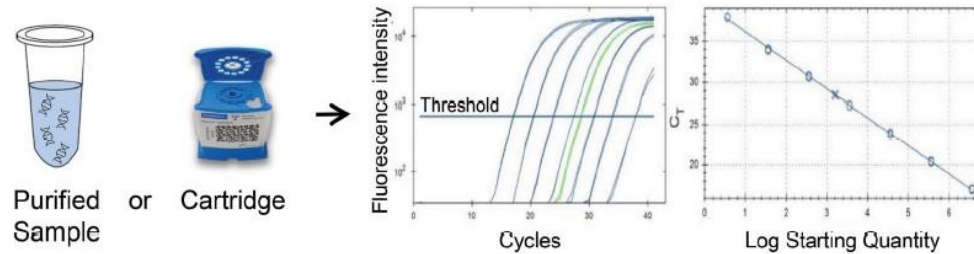


- **CLINICAL AND IMAGING**
- **MOLECULAR MONITORING (TCR, BCR, TUMOR MARKERS)**
- **LB IN DEVELOPMENT**

Leucemia mieloide cronica e MRD

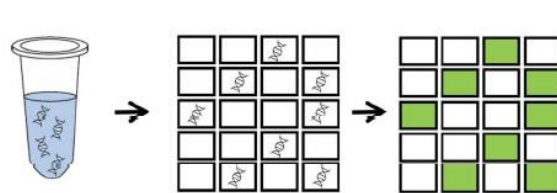
MRD nella Leucemia Mieloide Cronica (LMC)

Real-time Quantitative PCR: analog measurement



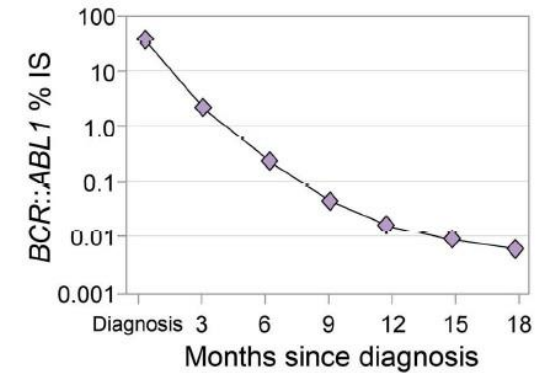
Relative to a reference standard, quantification based on when a threshold cycle (C_T) is crossed

Digital droplet PCR (ddPCR): digital measurements



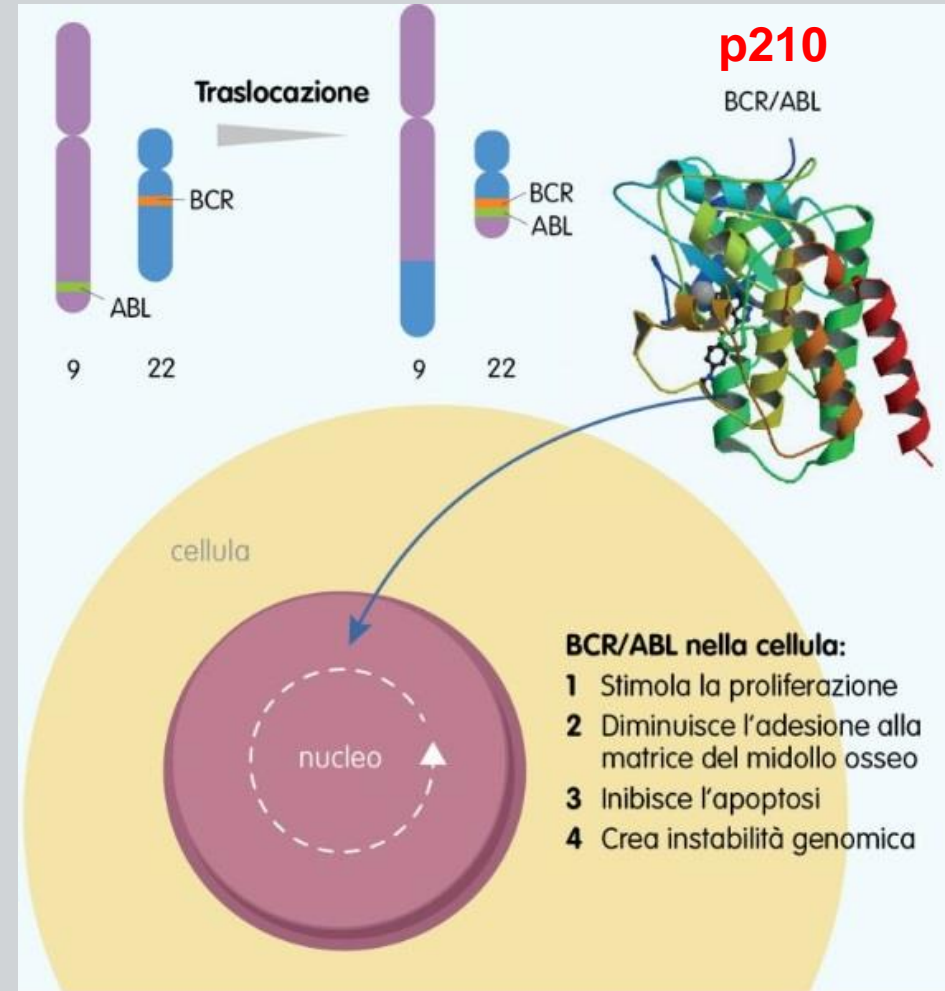
Absolute quantification
No reference standard needed
End-Point readout
Less dependence on PCR amplification efficiency

Long-term MRD assessment



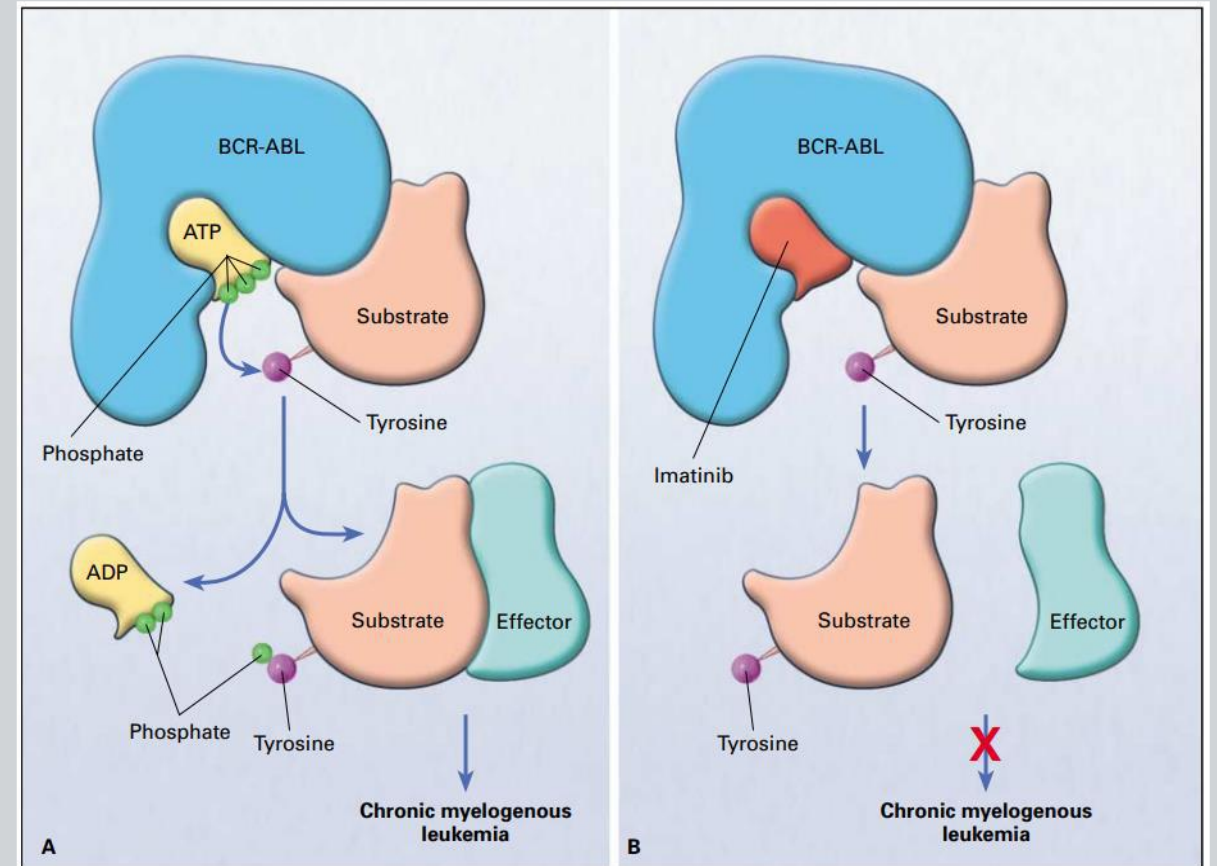
Leucemia Mieloide Cronica (LMC)

- La LMC è sindrome mieloproliferativa cronica che origina dalla traslocazione **t(9;22)**.
- L'oncogene di fusione BCR-ABL1 che codifica per la proteina **BCR-ABL1 p210** è l'hallmark della LMC: da solo sostiene tutta la leucemogenesi e non necessita di ulteriori alterazioni.



Leucemia Mieloide Cronica (LMC): la terapia

La terapia attuale si basa sugli inibitori delle tirosin chinasi (TKIs).



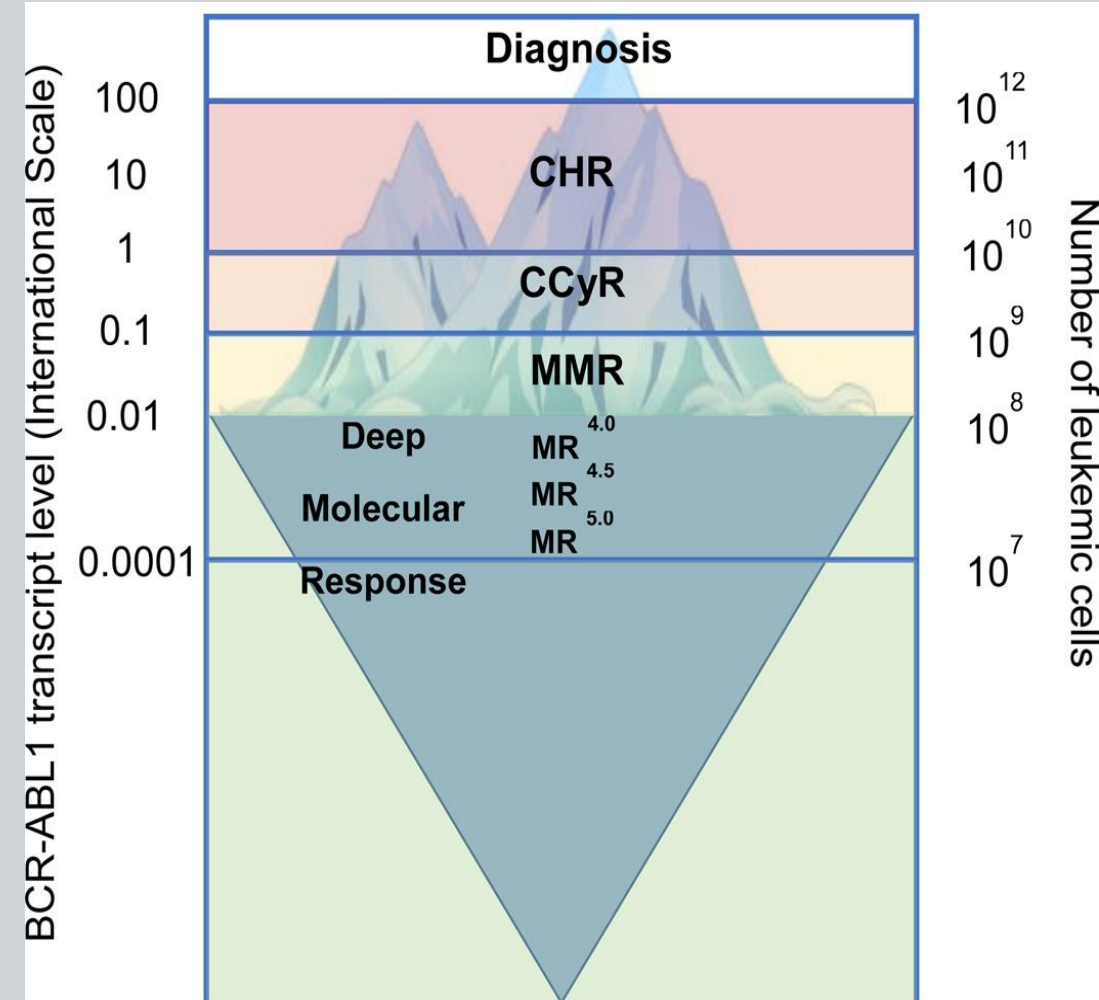
LMC: monitoraggio

	MMR	DMR		
	MR ^{3.0}	MR ^{4.0}	MR ^{4.5}	MR ^{5.0}
Minimum sum of ABL1 transcripts irrespective of whether BCR-ABL1 is detected or not	-	10.000 ABL1 copies	32.000 ABL1 copies	100.000 ABL1 copies
BCR-ABL1 IS levels for positive samples (a)	≤ 0.1%	≤ 0.01%	≤ 0.0032%	≤ 0.001%

Current definition of MR classes following the last IS guide lines.

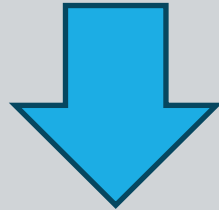
(a) Numbers of reference gene transcripts in same volume of cDNA that is tested for BCR-ABL1.

The key goal of the TKIs treatment is to achieve a **Minimal Residual Disease**



LMC: monitoraggio

La disponibilità di TKIs di nuova generazione aumenta il raggiungimento di una DMR durevole in molti pazienti



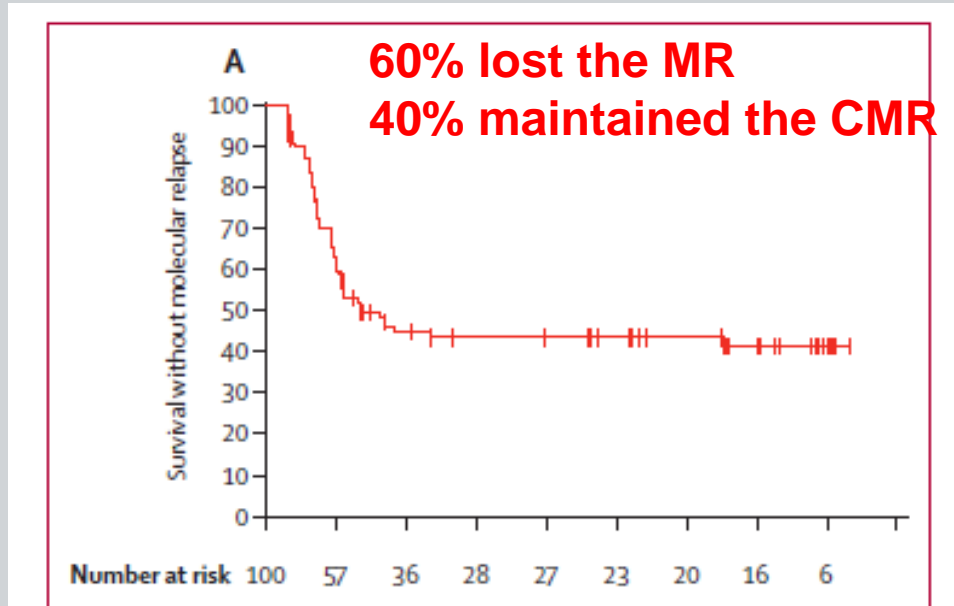
Remissione libera dal trattamento (TFR: treatment-free remission) per pazienti in DMR

La discontinuazione dei TKI viene condotta per almeno 3 anni in «real life»

Criteri per la discontinuazione:

- Fase cronica della CML
- Terapia con i TKI di almeno 3 anni
- DMR da almeno 2 anni e MR4

La remissione libera da trattamento (TFR)



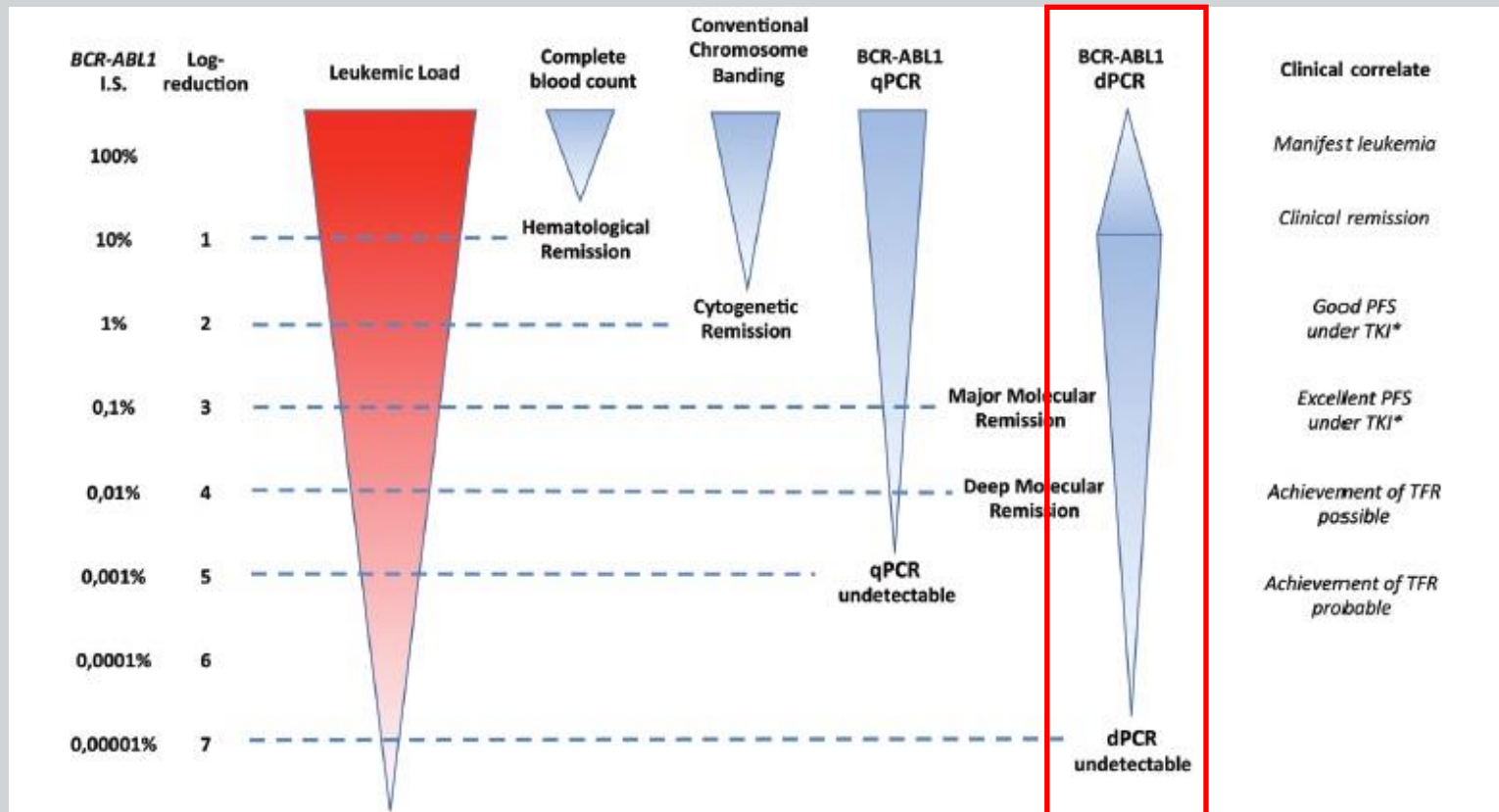
Pivotal Trial on Imatinib Discontinuation

- 100 pts
- 2y IM Therapy
- CMR ≤ 5log undetectable (MR5.0 Und)

Definizione di «**MOLECULAR RELAPSE**»:
Perdita della DMR o aumento di 1Log del trascritto di BCL-ABL1 per 2 quantifiche successive

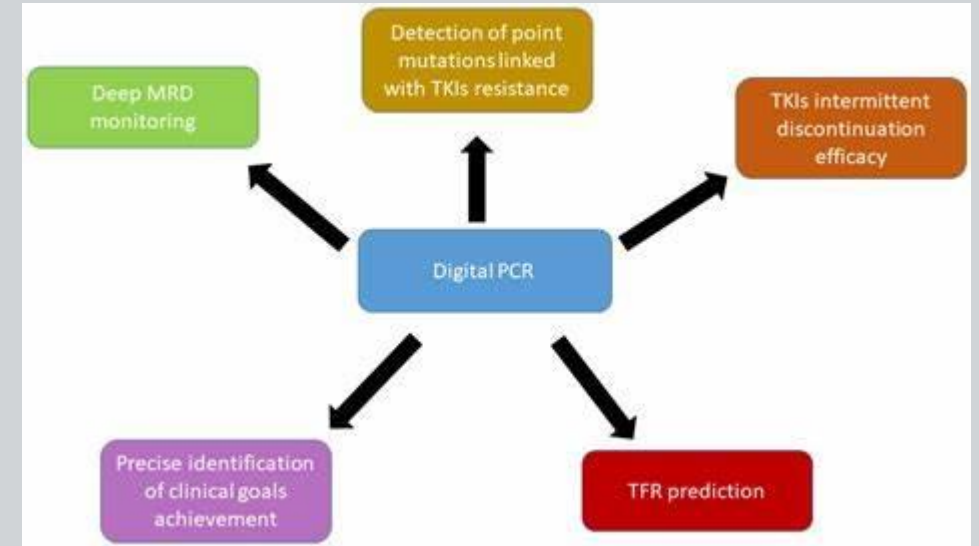
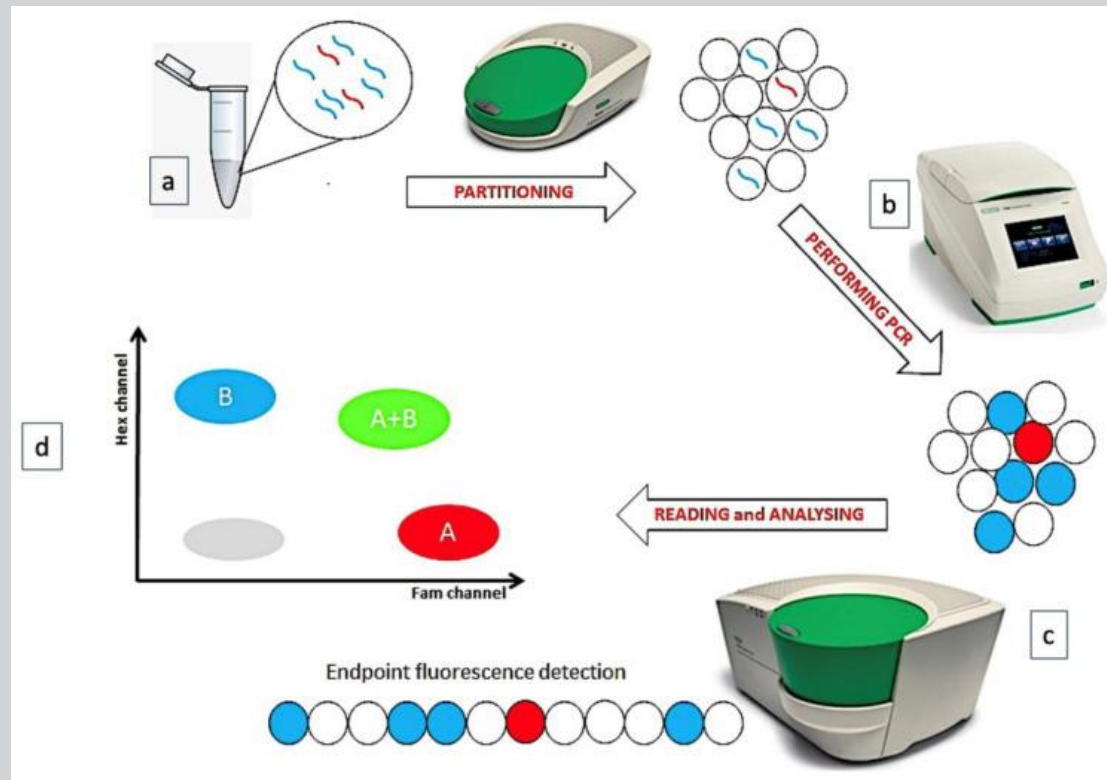
STIM study, Mahon et al, Lancet 2010

Digital PCR (dPCR) per il monitoraggio dell' MRD



- Distribuzione dei reagenti in migliaia di micro-reazioni
- Quantificazione assoluta senza una curva standard
- Riduce gli effetti degli inibitori della PCR
- Aumenta l'accuratezza e sensibilità con poche quantità di target

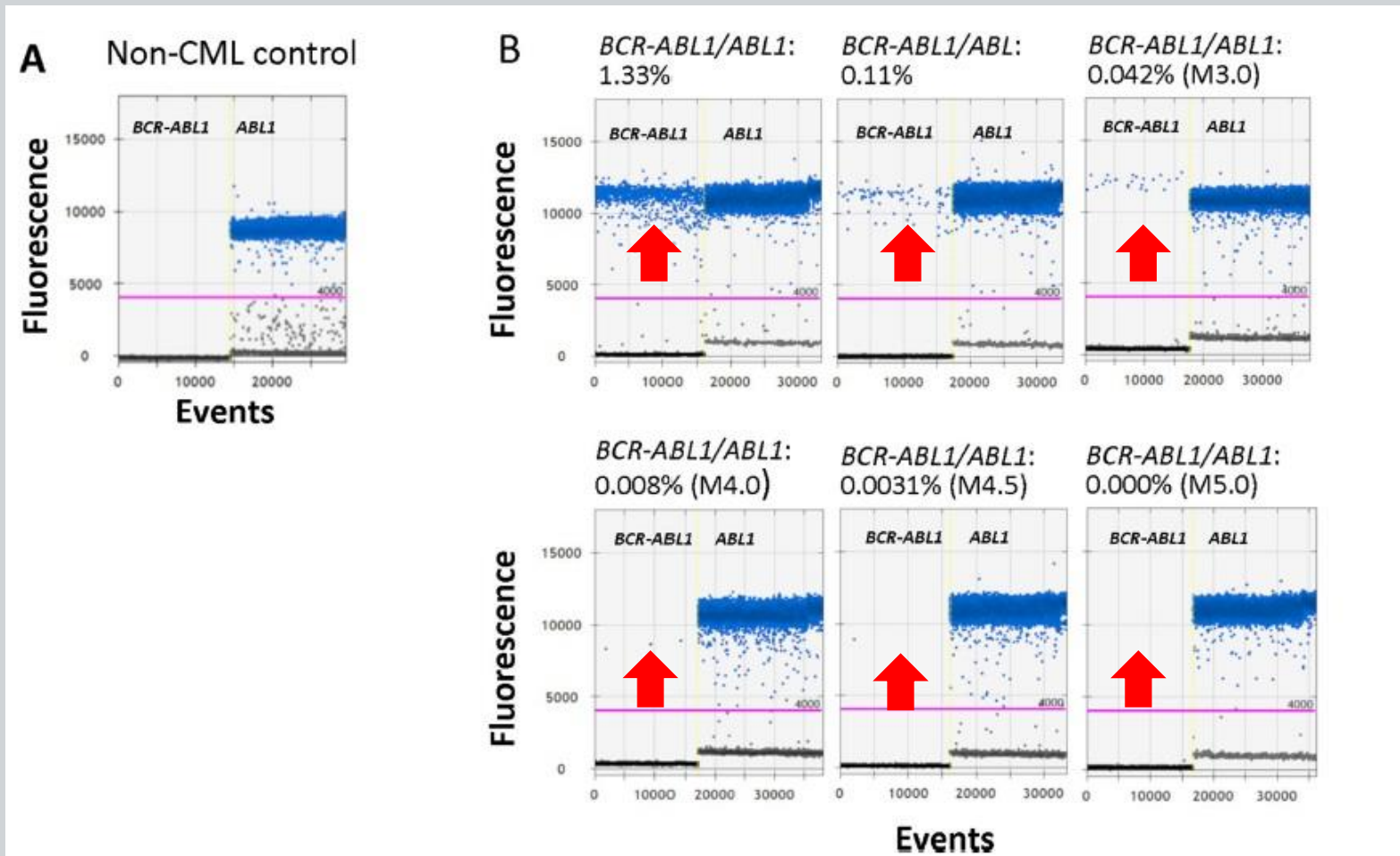
Quantificazione assoluta di BCR-ABL1



- Molecular counting requires a "Correction" Factor

- Poisson statistics "corrects" for the reactions containing multiple molecules

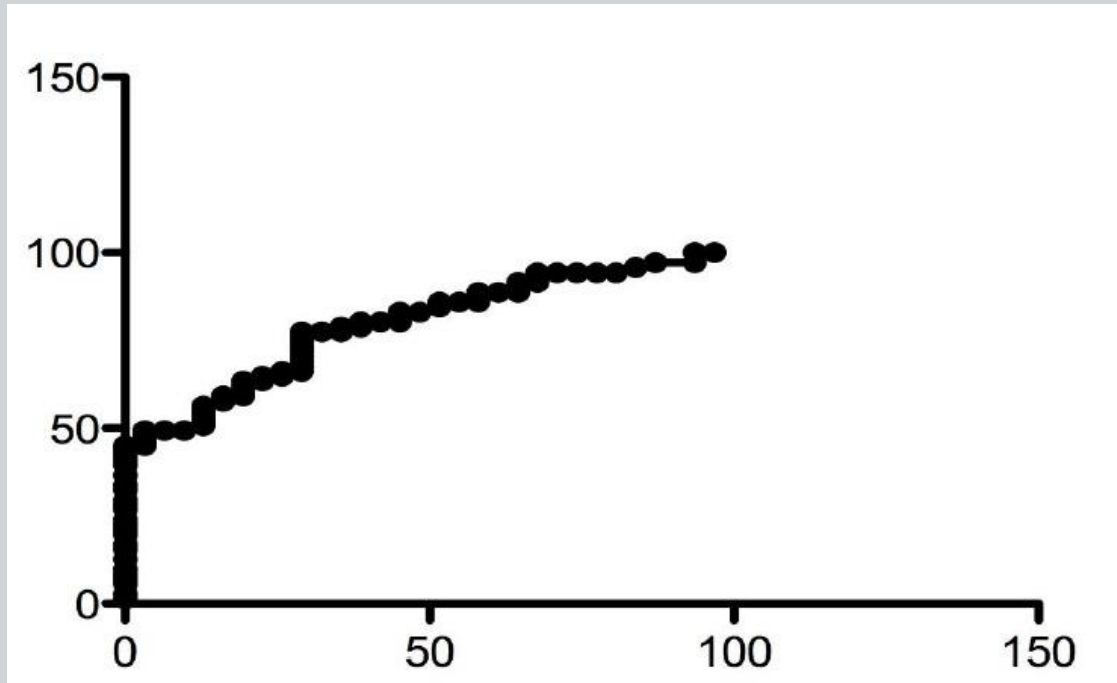
Monitoraggio CML con dPCR



ONGOING TREATMENT BY TKI

Diminuzione
cellule leucemiche

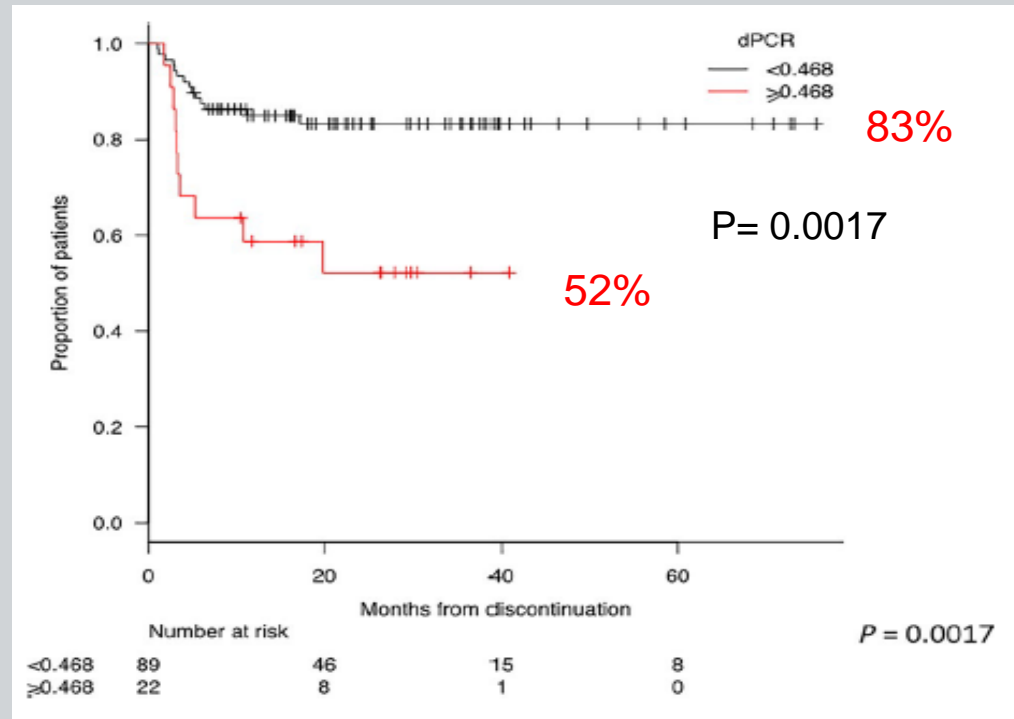
Monitoraggio CML con dPCR



IS **DIGITAL PCR** SUITABLE FOR THE IDENTIFICATION OF CML PATIENTS WHO MAY SUCCESSFULLY ATTEMPT AN EARLY TKI DISCONTINUATION?

CUT-OFF dPCR: 0,468 BCR-ABL1copies/ul
(spec.= 71%, sens.= 78%, AUC=0,79)

Monitoraggio CML con dPCR

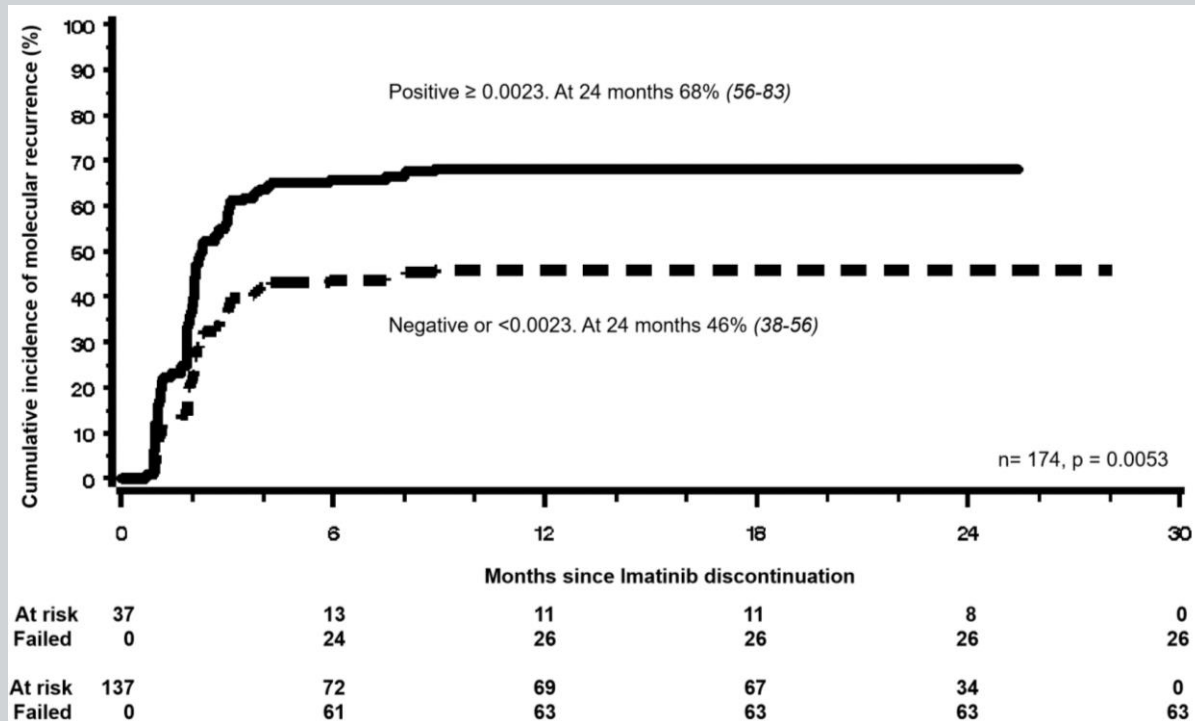


dPCR improves the selection of CML candidates to TKIs discontinuation

111 pts with \geq MR 4.0

Patients with dPCR < 0,468 copies/ μ l before discontinuation, had a significantly higher probability to maintain TFR (83% vs 52% @ 2 yrs)

Monitoraggio CML con dPCR



residual disease by droplet digital PCR and TKI duration are critical predictive factors for molecular recurrence after stopping Imatinib first-line in chronic phase

CML Patients: Results of the STIM2 study

ddPCR evaluation, TKI duration as predictors of recurrence after 1st-line Imatinib cessation in CP-CML. The STIM2 study

- 218 patients
- Molecular recurrence-free survival was 52% at 6 months, and 50% at 24 months.

The duration of TKI and residual leukemic cell load as determined by dPCR are key factors for predicting successful treatment-free remission for patients with de novo chronic phase CML.