

Lenfomalarda Dolaşan Tümör Hücrelerinin Klinik, Prognostik ve Prediktif Önemi

Clinic, Prognostic and Predictive Value of Circulating Tumor DNA in Lymphomas

Semra PAYDAŐ¹

¹ Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, Adana, Türkiye

ÖZET

Dolaşan tümör hücreleri son yıllarda pek çok neoplastik hastalıkta irdelenmektedir. Özellikle metastatik hastalıkta tümör yükünün belirlenmesi ve tedavi sonrası monitörizasyon ile tümör yükünde azalma durumuna göre tedaviye yanıt belirlenmesi pek çok solid tümörde önemli bulunmuştur. Dolaşan tümör hücreleri ayrıca hedeflenebilir mutasyonların gösterilmesi ve tedavinin belirlenmesinde son yıllarda giderek daha fazla kullanılmaktadır. Özellikle malign dokuya ulaşılmasının zor olduğu durumlarda mevcut ya da yeni gelişen mutasyon ya da dirençli mutasyonların saptanmasında kullanışlı bir yöntem olarak klinik pratikte yerinin almıştır. Solid tümörlerdeki önemli gelişmelere karşın lenfoid neoplazilerde hastalığın biyolojisi gereği daha az uygulanmaktadır. Ancak son yıllarda teknolojinin gelişmesi ile lenfomalarda da dolaşan tümör hücreleri tanı ve tedavi sonrasında değerlendirilmiştir. Bu çalışmalarda gerek tedavi sonrasında kalıntı hastalığın gerekse relapsın erken belirlenmesinde lenfoid neoplazilerde de bu hücrelerin monitörizasyonunun yararlı olduğu bulunmuştur ve çalışmalar arttıkça daha iyi sonuçlara ulaşılacaktır.

Anahtar Sözcükler: Lenfoma; Solid tümör

ABSTRACT

Circulating tumor cells have been evaluated in many neoplastic diseases. These studies have been found to be useful in solid tumors to determine tumor burden and in monitoring response to therapy in especially in metastatic tumors. Additionally circulating tumor cells are increasingly used to detect the targetable mutations in recent years. This technology is especially useful in cases with difficulty to reach the tissue samples and also to determine the resistant mutations during treatment in clinical practice. Despite important developments in solid tumors the use of circulating tumor cells is relatively limited due to the biology of the lymphoid neoplasias. However the importance of circulating tumor cells in lymphoid neoplasias has been evaluated with the use of better technologies in this area. Determination and monitorisation of circulating tumor cells have been found to be useful both to detect the residual disease and also to detect the relapse in earlier period and results will be more informative with increased studies.

Key Words: Lymphoma; Solid tumor

Dolaşan Tümör Hücresi (ctDNA) Tanımı

Likid biyopsi; invaziv doku biyopsisine gerek kalmadan tümör profilinin yani biyolojisinin yapılmasına olanak sağlayan bir inceleme yöntemidir.

Hücreden yoksun DNA fragmanları (cfDNA) apoptozise giden hücrelerden kan akımına dökülür ve plazmada düşük konsantrasyonlarda ve çift sarmal DNA fragman-

Makale atfı: Paydaő S. Lenfomalarda dolaşan tümör hücrelerinin klinik, prognostik ve prediktif önemi. LLM Dergi 2019;3(3):45-50.

Yazışma Adresi

Prof. Dr. Semra PAYDAŐ

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, Adana-Türkiye

Geliş: 24.06.2019 - **Kabul:** 05.07.2019

E-posta: sepaya@cu.edu.tr

ları olarak kısa baz çiftleri (< 200 baz çifti) olarak dolaşır (1). Normal insanlarda cfDNA hematopoietik hücreler ağırlıklı olmak üzere apoptotik hücrelerden oluşur ve 1-10 ng/mL konsantrasyonlardadır (2). Kanser olgularında dolaşan tümör DNA (ctDNA) kaynağı apoptotik tümör hücreleridir (3). Lenfoma olgularında ctDNA miktarı aynı yaş ve cinsiyetteki insanlardan daha yüksektir; ortalama 30 ng/mL (4-6).

ctDNA yaklaşık 10 yıldan beri lenfoid neoplazilerde çalışılmaktadır. Hodgkin lenfoma, Burkitt lymphoma ve diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL), anaplastik büyük B hücreli lenfoma, foliküler lenfoma ve mantle hücreli lenfomada çalışılmıştır. ctDNA bu örneklerin %82-92'sinde saptanmıştır (7-10).

Dolaşan ctDNA düzeyleri farklı lenfoma tiplerinde oldukça değişken olup agresif lenfomalarda indolen seyirli olanlardan daha yüksektir. Ayrıca tümör yükü yüksek olan olgularda ve progresyon gösteren olgularda da düzeyi yüksektir (4).

ctDNA Saptama ve Ölçme Yöntemleri

Tümör mutasyon profili veya immünglobulin gen reanjmanlarına göre cfDNA, ctDNA'dan ayırılır (6,11,12). Bu yüzden kullanılan saptama ve miktarı belirleyecek test yöntemi bazal hataları ve teknik sorunları azaltmalıdır. Tümörün parmak izi olarak mutasyon profili kullanıldığında ctDNA tanımlanması ve miktarının belirlenmesi için genetik aberasyonlar saptanır. Ancak tam olarak klonal, stereotipik genetik varyant az sayıda lenfoma tipinde söz konusudur. Örneğin MYD88 L265P mutasyonu lenfoplazmatik lenfoma ve primer SSS lenfomasında saptanır. Bu mutasyonlar mutasyon-spesifik droplet dijital polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi PCR-tabanlı yöntemlerle saptanır ve miktarı belirlenir (13). Oysaki lenfomaların çoğunun moleküler aberasyonları heterojendir. Bu durumda "Ultra-deep next generation sequencing (NGS)" bu amaçla kullanılır ve bu sorunu çözer niteliktedir.

NGS ile tek nükleotid varyantları, insersiyon/delesyonlar, kromozomal reanjmanlar ve kopya sayısı değişiklikleri saptanabilir (14,15). "Cancer personalized profiling by deep sequencing (CAPP-seq)" önemli bir NGS yöntemidir. CAPP-seq, hastalığa özgün selektör kullanır ve mutasyonları saptamada elverişlidir. Bu hedefler hastanın ctDNA örneğinde amplifiye edilir ve dizilenir ki bu da tümör spesifik mutasyonların miktarının belirlenmesi ve kişiye spesifik tümör mutasyon profilini belirlemeyi sağlar (14). Minör moleküler olayların saptanması için sensitivite DNA inputuna bağlıdır. On nanogram selüler DNA 1500 hücre veya 3000 gen kopyasına karşılık gelmektedir (16).

CAPP-seq tekniği önceki testlerin kısıtlılıklarını ortadan kaldırmış gibi görünmektedir (17). CAPP-Seq'in lenfomada kullanımı Ash Alizadeh tarafından 1000 genlik bir panel ile çalışılmıştır (18). Olguların %98'inde tedavi öncesi ctDNA

saptanmış olup oldukça sensitif bulunmuştur (19,20). Tedavi öncesi yüksek ctDNA düzeyi relaps riski yüksek hastayı belirlemiştir ve aynı zamanda IPI ve PET/CT ile belirlenen tümör volümü ile de paralellik göstermiştir. Tedavi sonrası ctDNA kinetiği tedaviye yanıtı da belirlemiştir: tedavinin 21. gününde ctDNA'da 100 kat azalma erken moleküler yanıtı ve olaysız sağkalımı belirlemiştir.

ClonoSEQ testi lösemi ve miyelomlarda kemik iliği örneklerinde minimal rezidüel hastalık (MRH) için valide edilmiş ve onaylanmış bir testtir (21,22). Bu yöntemde genomik DNA lokus-spesifik multipleks PCR ile amplifiye edilir ve ardından ultra-deep NGS uygulanır. Bu test lenfomalarda ctDNA miktar belirlenmesinde uygulanmıştır ancak düşük tümör yükü ve DBBHL gibi somatik hipermutasyonu olan olgularda sensitivitesi sınırlıdır (4-6).

Bu yöntemler ctDNA tanımlanmasında daha fazla kullanılabilir hale gelmiş olsa da rutinde klinik laboratuvarlarda geniş ölçüde kullanılmamaktadır. Moleküler biyolojideki ve biyoinformatikteki değişkenlikler/çelişkilerin çözülmesi halinde daha sık kullanılacaktır.

Özetle NGS için fikir birliğine ihtiyaç olduğu aşikardır. Yüksek verimli sıralama teknikleri hasta bazında;

1. Tanısal,

2. Prognostik ve

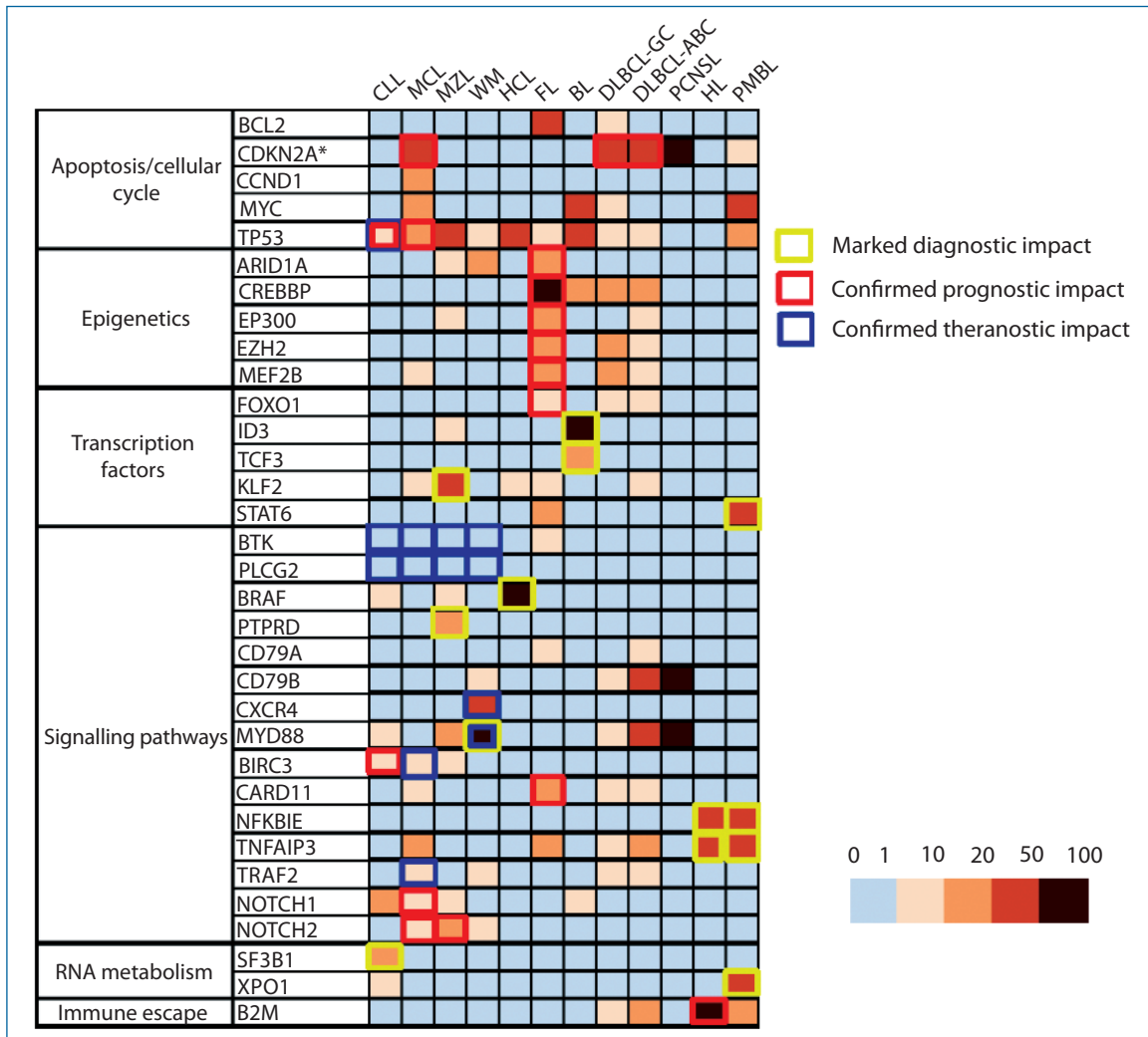
3. Teranostik bilgi vermektedir ancak çelişkiler çoktur. Klinik kullanım için dizileme panellerinin harmonizasyonu için farklı çalışma grupları B ve T hücre kökenli lenfomalar için çalışmaktadırlar. Lenfomanın subtiplerinin çokluğunun dışında intra-tümöral heterojenitenin yanı sıra varyantların çözülmesi, teknik zorluklar nedeniyle NGS panelinin seçimi çok önemlidir. Ayırıcı tanıda önemli genler ile prognostik ve teranostik önemi olan genler Şekil 1 ve 2'de görülmektedir (23).

ctDNA düzeyleri prognostik ve terapetik ipuçları verdiği pek çok çalışmada gösterilmiştir. Tedavi sırasında düzey düşerken relapsta yükselmektedir ve relapsı PET/CT ile kıyasta daha erken haber vermektedir (16).

Bu testlerin maliyeti ve geri ödeme pek çok ülkede netleşmemiştir. Diğer yandan lenfoid neoplazilerdeki somatik mutasyonların çokluğu ve bu alandaki hızlı gelişmeler konsensus panellerinin kısa aralarla gözden geçirilerek yenilenmesi zorunluluğunu da getirmektedir (23).

ctDNA ile Lenfoma Tanısı Mümkün müdür?

Tek ve yalın yanıt hayırdır, ctDNA lenfoma tanısında doku biyopsisinin yerini alamaz. Tek istisna santral sinir sistemi (SSS) lenfoması olabilir. Bu olgularda cerrahi biyopsi bazı olgularda olanaksızdır. Bu olguların %85 kadarında MYD88 L265P mutasyonu vardır ve bu mutasyon diğer beyin tümörlerinde



Şekil 1. Matür B hücreli malignanslerde gen değişikliklerinin prevalansı (LYSA/GBMHM consensus panel).

ABC: Aktive B hücre, BL: Burkitt lenfoma, CLL: Kronik lenfositik lösemi, DLBCL: Diffüz büyük B hücreli lenfoma, FL: Foliküler lenfoma, GC: Germinal merkez, HCL: Saçlı hücreli lösemi, HL: Hodgkin lenfoma, MCL: Mantle hücreli lenfoma, MZL: Marjinal zon lenfoma, PCNSL: Primer santral sinir sistemi lenfoması, PMBCL: Primer mediyastinal B hücreli lenfoma, WM: Waldenström makroglobulinemisi.

yoktur. Yani bu mutasyon SSS lenfomasında sensitif ve spesifik (24). Droplet dijital PCR yöntemi %50 oranında doğru sonuç verir (13). Ancak bu test valide edilmemiştir ve metodolojiden kaynaklanan yanlış pozitiflik olabilir.

ctDNA ile Tümör Genotipleme Mümkün müdür?

Diğer tümörlerde olduğu gibi intra-tümöral heterojenite nedeniyle tümör genetiğini tam yansıtamaz. Lösemik fazda olmayan lenfoma olgularında tümör materyalinden seri örnekler mümkün olmaz. Bu durumda hastalık progresyonunda genomik evolüsyon paternlerini ve tedaviye dirençli mutasyonları saptamak zor olabilir. Ancak yeni çalışmalar umut vaat etmektedir.

DBBHL'de altın standart olan tümör biyopsisi ile ctDNA hedeflenen gen mutasyonunun sensitivite ve spesifitesi

için farklı çalışmalar yapılmıştır. CAPP-seq yöntemi ile konfirme edilmiş mutasyonların saptanma oranı %95-99 arasında iken ctDNA'da özellikle düşük allelik yükü olanlarda yanlış negatif oranı %1-5 arasında bulunmuştur. EZH2, MYD88, CD79B gibi konfirme edilmiş mutasyonlarda CAPP-seq standardize edilmesi halinde kullanılabilirliğini telkin eden çalışmalar vardır (12).

Klasik Hogkin lenfoma (kHL) gibi doku biyopsisinde lenfoma hücrelerinin yetersiz olduğu durumda ctDNA tümör DNA'sı için alternatif bir kaynaktır (25,26). Neoplastik Reed Sternberg hücrelerinin biyopsilerde nadir olması kHL'nin genetik karakterizasyonunu kısıtlar ki bu durumda tümör hücrelerinin zenginleştirilmesi bir yöntemdir. ctDNA örneklerinde CAPP-seq ile biyopsi konfirme tümör mutasyonlarının saptanmasında doğruluk oranı %87'dir (25). Klinik



Şekil 2. Matür T hücreli malignansilerde gen değişikliklerinin prevalansı (LYSA/GBMHM consensus panel).

AITL: Anjiyoimmunoblastik T lenfoma, ALCL: Anaplastik büyük hücreli lenfoma, ATLL: Adult T hücreli lösemi/ lenfoma, EATL: Enteropati ilişkili T hücreli lenfoma, HSTL: Hepatosplenik T hücreli lenfoma, LGL: Large granular lenfositik lenfoma, MEITL: Monomorfik epiteliotropik intestinal lenfoma, NKTCL: NK T hücreli lenfoma, PTCL NOS: Periferik T hücreli lenfoma-başka şekilde spesifiye edilmeyen, PTCL: TFH hücrelerden gelişen nodal periferik T hücreli lenfoma, Sezary: Sezary sendromu, T PLL: T proliferatif lösemi.

uygulama şimdilik çok uygun olmasa da CAPP-seq ile ctDNA örneklerinde, kHL genotiplerinin hasta kohortlarında belirlenmesi ve klinik çalışmalarda genetik prognostik ve prediktif belirteçlerin belirlenmesi şansı ortaya çıkabilir (27).

ctDNA ile Tedavi Hedefi Belirlenebilir mi?

Likid biyopsi ile saptanan genetik değişiklikler pek çok solid tümörde tedavi hedefini belirlemede önemli bilgiler sağlamıştır. Ancak lenfomalarda bu çalışmalar görece sınırlıdır. Lenfoid neoplazili 60 olguda NGS ile analiz yapılmış ve hasta başına ortalama 3 olmak üzere 224 genetik değişiklik saptanmıştır. Olguların %82'sinde "Food and Drug Administration (FDA)" tarafından onaylanmış ilaçlar ya da eksperimental tedavilerle tedavi edilebilir hedeflenebilir değişiklik saptanmıştır ve hasta başı FDA onaylı ilaç ile hedeflenebilir bir değişiklik saptanmıştır. Olguların %32'sinde ise immüterapi için önemli olan orta/yüksek mutasyon yükü saptanmıştır (28).

ctDNA ile Rezidüel Hastalık Belirlenebilir mi?

Kemik iliği tutulumu olmadığı durumda kHL, DBBHL'da MRH izlemi kısıtlıdır. Lenfomada MRH, rutin görüntüleme yöntemleri ile rezidüel tümör hücrelerinin saptanmasının mümkün olmadığı durumda tümörü saptamak ve miktarını

belirlemek olarak tanımlanır. Hastada tam remisyona sağlandığında çeşitli senaryolar gündeme gelir: neoplastik hücrelerin tam olarak eradikasyonu veya kalan tümör hücrelerinin aylar/yıllar sonra relaps oluşturması.

Lugano kriterlerine göre PET/CT, DBBHL ve kHL olgularında önerilen görüntüleme stratejisidir ve iyi ve kötü prognoz tedavi sonunda PET/CT ile en iyi şekilde klasifiye edilir. Ancak bu süreç tedavinin adapte edilmesi için geç olabilir. Tedavi bitiminden sonra yerine interim PET/CT uygulaması önerilse de olguların %20-30 kadarında sonuçlar uyumsuzdur ve bu durum DBBHL'de kHL'den daha tutarsızdır. DBBHL'de interim PET/CT'nin pozitif prediktif değeri %50'dir (29,30).

Kemik iliği tutulumu olmayan lenfomalarda MRH dolaşan DNA teknolojileri ile ölçülebilir. Dolaşan mononükleer hücrelerden ekstrakte edilen genomik DNA ile kıyaslandığında plazma cfDNA'da tümör DNA'sı 150 kat fazladır ve bu durum DBBHL'de MRH takibinde cfDNA'nın daha elverişli olduğunu telkin eder. ctDNA'nın plazmadaki miktarını ölçmek için immünglobulin gen rearanjmanı kullanılarak DBBHL'de 2 siklus kemoterapi sonrası ctDNA saptanmaması daha iyi progresyonsuz sağkalım ile ilişkili bulunmuştur ancak bu yöntemin çeşitli eksikleri vardır. Özellikle düşük tümör yükü varlığında somatik hipermutasyon önemli problemlerdir (6).

Geniş spektrumlu genetik lezyonları kapsayarak CAPP-seq ile ctDNA miktarı ölçümü çapraz doğrulama ile irdelenmiş ve tedavi ilişkili klonal şift ile oluşan yanlış negatif sonuçlar önlenmeye çalışılmıştır. Hem DBBHL hem de KHL'de iki siklus kemoterapi sonrası CAPP-seq ile ctDNA değişimleri hastalıklı ve toplam sağkalımlar ile ilişkili bulunmuştur. İki siklus kemoterapi sonrası ctDNA'da 100 kat ya da 1 log düşme tam yanıt ve kür ile ilişkili bulunmuşken 2 logdan az düşme relaps ile ilişkili bulunmuştur. ctDNA miktarı PET/CT ile birlikte yorumlandığında doğruluk artmıştır. Aslında 2 log'dan fazla düşmeye rağmen interim PET/CT pozitif ise kür sağlanmışken PET/CT negatifliğine rağmen 2 logdan daha az ctDNA düşmesi kürü göstermemiştir (12,25,18,19). Bu sonuçlar DBBHL ve KHL'de ctDNA'nın PET/CT ile birlikte değerlendirilmesinin geniş klinik çalışmalarda değerlendirilmesini telkin etmektedir.

Lenfomalı 88 olguda ctDNA'nın allogeneik kök hücre nakli sonrasında gidişi belirleyip belirlemediği araştırılmıştır. İmmünglobulin veya T hücre reseptör genleri dizilenecek ctDNA saptanmıştır. ctDNA, 19 olgunun 16'sında ortalama relapstan 3-7 ay önce saptanabilmiştir. Nakil sonrası 3. ayda ctDNA saptanan progresyonsuz sağkalım daha kötü bulunmuştur (2 yılda %58 x 84). Çok değişkenli analizde nakil sonrası ctDNA saptanması progresyon ve ölüm riskinin artışı ile ilişkili bulunmuştur (31).

Sonuç olarak lenfoma olgularında ctDNA ölçümleri şu anda doku biyopsisinin yerine geçme potansiyeline sahip değilse de ilerleyen çalışmalar umut vaat etmektedir. Diğer yandan hastalık yükünün monitörize edilmesi, minimal hastalık yükünün ve relapsın erken saptanması ve tanısal amaçla kullanılabilirlikleri daha iyi sonuçlar vermiştir. Diğer teknolojilerle birlikte kullanılmaları halinde lenfoma tanı, biyoloji ve izleminde güçlü kanıtlara ulaşılacaktır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarın çıkar çatışması bulunmamaktadır.

MALİ AÇIKLAMA

Çalışma için doğrudan veya dolaylı mali destek alınmadı. Çalışma ile ilgili herhangi bir firma veya kişi ile ilgili ticari bağlantı yoktur.

KAYNAKLAR

1. Fleischhacker M, Schmidt B. Circulating nucleic acids (CNAs) and cancer a survey. *Biochim Biophys Acta* 2007;775(1):181-232.
2. Thierry AR, El Messaoudi S, Gahan PB, Anker P, Stroun M. Origins, structures, and functions of circulating DNA in oncology. *Cancer Metastasis Rev* 2016;35(3):347-76.
3. Jahr S, Hentze H, Englisch S, Hardt D, Fackelmayer FO, Hesch RD, Knippers R. DNA fragments in the blood plasma of cancer patients: quantitations and evidence for their origin from apoptotic and necrotic cells. *Cancer Res* 2001;61(4):1659-65.
4. Roschewski M, Dunleavy K, Pittaluga S, Moorhead M, Pepin F, Kong K, et al. Circulating tumour DNA and CT monitoring in patients with untreated diffuse large B-cell lymphoma: a correlative biomarker study. *Lancet Oncol* 2015;16(5):541-9.
5. Armand P, Oki Y, Neuberger DS, Faham M, Cummings C, Klinger M, et al. Detection of circulating tumour DNA in patients with aggressive B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol* 2013;163(1):123-6.
6. Kurtz DM, Green MR, Bratman SV, Scherer F, Liu CL, Kunder CA, et al. Noninvasive monitoring of diffuse large B cell lymphoma by immunoglobulin high-throughput sequencing. *Blood* 2015;125(24):3679-87.
7. Hohaus S, Giachelia M, Massini G, Mansueto G, Vannata B, Bozzoli V, et al. Cell-free circulating DNA in Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphomas. *Ann Oncol* 2009;20:1408-13.
8. Mussolin L, Pillon M, d'Amore ES, Conter, V, Piglion M, Lo Nigro L, et al. Minimal disseminated disease in high-risk Burkitt's lymphoma identifies patients with different prognosis. *J Clin Oncol* 2011;29:1779-84.
9. Machado AS, Da Silva Robaina MC, Magalhaes De Rezende LM, Apa AG, Amoedo ND, Bacchi CE, et al. Circulating cell-free and Epstein-Barr virus DNA in pediatric B-non-Hodgkin lymphomas. *Leuk Lymphoma* 2010;51:1020-7.
10. Mussolin L, Damm-Welk C, Pillon M, Zimmermann M, Franceschetto, G, Pulford K, et al. Use of minimal disseminated disease and immunity to NPM-ALK antigen to stratify ALK-positive ALCL patients with different prognosis. *Leukemia* 2013;27:416-22.
11. Ladetto M, Brüggemann M, Monitillo L, Ferrero S, Pepin F, Drandi D, et al. Next-generation sequencing and realtime quantitative PCR for minimal residual disease detection in B-cell disorders. *Leukemia* 2014;28(6):1299-307.
12. Rossi D, Diop F, Spaccarotella E, Monti S, Zanni M, Rasi S, et al. Diffuse large B-cell lymphoma genotyping on the liquid biopsy. *Blood* 2017;129(14):1947-57.
13. Hattori K, Sakata-Yanagimoto M, Suehara Y, Yokoyama Y, Kato T, Kurita N, et al. Clinical significance of disease-specific MYD88 mutations in circulating DNA in primary central nervous system lymphoma. *Cancer Sci* 2018;109(1):225-30.
14. Newman AM, Bratman SV, To J, Wynne JF, Eclow NC, Modlin LA, et al. An ultrasensitive method for quantitating circulating tumor DNA with broad patient coverage. *Nat Med* 2014;20(5):548-54.
15. Scherer F, Kurtz DM, Newman AM, Stehr H, Craig AF, Esfahani MS, et al. Distinct biological subtypes and patterns of genome evolution in lymphoma revealed by circulating tumor DNA. *Sci Transl Med* 2016;8(364):364ra155.
16. Galardy PJ, Bedekovics T, Macintyre E, Miles RR. Lymphoma diagnostics: getting more from less. *Br J Haematol* 2019;185(6):1136-41.
17. Newman AM, Bratman SV, To J, Wynne JF, Eclow NC, Modlin LA, et al. An ultrasensitive method for quantitating circulating tumor DNA with broad patient coverage. *Nat Med* 2014;2:548-54.
18. Kurtz DM, Scherer F, Jin MC, Soo J, Craig AF, Esfahani MS, et al. Circulating tumor DNA measurements as early outcome predictors in diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2018;36:2845-53.
19. Kurtz DM, Green MR, Bratman SV, Scherer F, Liu CL, Kunder CA, et al. Noninvasive monitoring of diffuse large B-cell lymphoma by immunoglobulin high-throughput sequencing. *Blood* 2015;125:3679-87.
20. Roschewski M, Dunleavy K, Pittaluga S, Moorhead M, Pepin F, Kong K, et al. Circulating tumour DNA and CT monitoring in patients with untreated diffuse large B-cell lymphoma: a correlative biomarker study. *Lancet Oncol* 2015;16:541-9.

21. Wood B, Wu D, Crossley B, Carlton VE, Stow P, Coustan-Smith E, et al. Deep sequencing approach for minimal residual disease detection in acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2012;120(26):5173-80.
22. Martinez-Lopez J, Lahuerta JJ, Pepin, González M, Barrio S, Ayala R, et al. Prognostic value of deep sequencing method for minimal residual disease detection in multiple myeloma. *Blood* 2014;123(20):3073-9.
23. Sujobert P, Bris YL, de Leval L, Gros A, Merlio JP, Pastoret C, et al. The Need for a Consensus Next-generation Sequencing Panel for Mature Lymphoid Malignancies. *HemaSphere* 2019;3:1-6.
24. Hattori K, Sakata Yanagimoto M, Okoshi Y, Goshima Y, Yanagimoto S, Nakamoto-Matsubara R, et al. MYD88 (L265P) mutation is associated with an unfavourable outcome of primary central nervous system lymphoma. *Br J Haematol* 2017;177(3):492-4.
25. Spina V, Brusca A, Cuccaro A, Martini M, Di Trani M, Forestieri G, et al. Circulating tumor DNA reveals genetics, clonal evolution and residual disease in classical Hodgkin lymphoma. *Blood* 2018;131(22):2413-25.
26. Camus V, Stamatoullas A, Mareschal S, Vially PJ, Sarafan-Vasseur N, Bohers E, et al. Detection and prognostic value of recurrent exportin 1 mutations in tumor and cell-free circulating DNA of patients with classical Hodgkin lymphoma. *Haematologica* 2016;101(9):1094-101.
27. Rossi D, Spina V, Brusca A, Gaidano G. Liquid biopsy in lymphoma. *Haematologica* 2019;104(4):648-52.
28. Goodman AM, Choi M, Wieduwilt M, Mulroney C, Costello C, Frampton G. Next generation sequencing reveals potentially actionable alterations in the majority of patients with lymphoid malignancies. *JCO Precis Oncol* 2017;1.
29. Moghbel MC, Mittra E, Gallamini A, Niederkoher R, Chen DL, Zukotynski K, et al. Response assessment criteria and their applications in lymphoma: Part 2. *J Nucl Med* 2017;58(1):13-22.
30. Johnson PW. Response-adapted frontline therapy for Hodgkin lymphoma: are we there yet? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2016;2016(1):316-22.
31. Herrera AF, Kim HT, Kong KA, Faham M, Sun H, Sohani AR, et al. Next-generation sequencing-based detection of circulating tumour DNA After allogeneic stem cell transplantation for lymphoma. *British Journal of Haematol Generation Sequencing Reveals Potentially Actionable Alterations in the Majority of Patients with Lymphoid Malignancies. JCO Precis Oncol* 2017;1.