

CAT
Critically Appraised Topic

**Kwantitatieve monitoring van *BCR-ABL1* fusiegen transcripten bij
CML patiënten na stop van TKI therapie**

Author: Sylvie D'Haese

Supervisor: Prof. Dr. Boeckx Nancy

Search/methodology verified by: Prof. Dr. Boeckx Nancy

Date: 28/05/2019

CLINICAL BOTTOM LINE

De huidige behandeling voor chronische myeloïde leukemie (CML) is tyrosine kinase inhibitor (TKI) therapie. Deze medicatie moet levenslang ingenomen worden en patiënten moeten regelmatig opgevolgd worden met behulp van moleculaire diagnostiek (en cytogenetica). Aan deze TKI behandeling hangt een grote kost vast (Imatinib €955/maand). Uit recente klinische studies blijkt dat bepaalde patiënten in aanmerking komen voor TKI stop. Om in aanmerking te komen voor TKI stop moet er voldaan worden aan bepaalde criteria. In de literatuur is er veel variatie omtrent de criteria rond TKI stop en opvolging na de TKI stop. In deze critically appraised topic (CAT) worden de criteria uit richtlijnen, een expert opinie en klinische studies besproken en vergeleken met deze gebruikt in UZ Leuven. Ongeveer 50% van de patiënten bij wie TKI wordt gestopt, behoudt een diepe moleculaire respons (DMR). De andere 50% vertonen een verlies van diepe moleculaire respons (DMR) of majeure moleculaire respons (MMR) en hier zal een herbehandeling met TKI nodig zijn. Een nauwe opvolging bij patiënten met een TKI stop is dus noodzakelijk. Er zullen bij TKI stop initieel meer qRT-PCR testen nodig zijn, wat een extra labokost en een hogere workload voor het laboratorium met zich meebrengt. De patiënten waarbij de TKI stop succesvol is, dienen geen TKI therapie te gebruiken wat een grote besparing in het geneesmiddelenbudget met zich meebrengt. Doch gezien het aantal PCR testen toeneemt, is er een (lichte) toename in het budget voor labo analyses.

CLINICAL/DIAGNOSTIC SCENARIO

Chronische myeloïde leukemie (CML) is een myeloproliferatieve aandoening die voornamelijk voorkomt op middelbare en oudere leeftijd (mediaan 50-60j). De incidentie in België is 1-1.5/100.000/jaar en de ziekte kent een typisch klinisch verloop in 3 fasen: de chronische fase (2-5jaar), de acceleratiefase (6-18 maanden) en de acute fase/blastencrisis (3-4maanden). Tijdens de chronische fase die vaak asymptomatisch is, kan er ook moeheid, zwakte, excessief nachtzweeten en gewichtsverlies optreden. Bij bloed en beenmergonderzoek zal de blastose meestal <5% zijn. De acceleratiefase wordt gekenmerkt door botpijn, koorts, splenomegalie en miltinfarcten. Hier zal de blastose 10-19% bedragen. De blastaire fase heeft de symptomen van een acute leukemie met >20% blasten. CML is gekenmerkt door een translocatie tussen chromosoom 9 en 22 waarbij het *BCR-ABL1*-fusiegen gevormd wordt. Op chromosoom 9 is het *ABL1* (Ableson leukemia virus) gen terug te vinden en op chromosoom 22 het *BCR* (breakpoint cluster region) gen. Na de translocatie ontstaat er een gewijzigd kort chromosoom 22, ook het Philadelphia chromosoom genoemd (figuur 1). Dit wordt opgespoord met behulp van cytogenetica en zal bij 90-95% van de CML patiënten teruggevonden worden. In de huidige literatuur worden 3 breekpuntregio's ter hoogte van het *BCR* gen beschreven. Deze worden

beschreven als major (M-BCR), minor (m-BCR) en micro (μ -BCR). Bij de meerderheid (95%) zal dit een major breekpunt zijn in het intron tussen exon 13 en 14 of tussen exon 14 en 15. Respectievelijk resulteert dit in de vorming van een e13a2 (b2a2) en e14a2 (b3a2) fusiegen. Deze fusie geeft aanleiding tot het ontstaan van het p210 BCR-ABL1 eiwit met tyrosine kinase activiteit. In slechts 1% van de gevallen zal een minor breekpunt optreden. Uit het e1a2 fusiegen zal het p190 BCR-ABL1 eiwit ontstaan. Andere fusiegenen zoals e19a2, e13a3 of e14a3 zijn zeldzaam. Het e19a2 fusiegen ontstaat door middel van een microbreekpunt en vormt het p230 BCR-ABL1 eiwit (figuur 2). De BCR-ABL1 fusiegen transcripten kunnen opgespoord worden door middel van moleculaire diagnostiek (qRT-PCR en droplet digitale PCR). Wanneer de diagnose van CML gesteld wordt, moet het breekpunt bepaald worden om de juiste opvolging van de hoeveelheid *BCR-ABL1* te kunnen instellen.

De hoeveelheid *BCR-ABL1* transcripten wordt uitgedrukt als percentage op de internationale schaal (%IS): $\text{ratio } BCR-ABL1 / ABL1 \text{ (als controlegen)} \times 100 \times CF \text{ (conversiefactor)}$. Andere controlegenen zoals *B2M*, *GUS* en *BCR* kunnen ook gebruikt worden. De schaal maakt gebruik van een log-reductie. Dit wil zeggen dat een log-reductie van 3 (MR 3) overeenkomt met $BCR-ABL1 \leq 0.1\%$ IS, ook wel MMR (major molecular response) genoemd. Hoe lager het %IS is, hoe minder *BCR-ABL1* aanwezig. Een log-reductie van 4 (MR4) komt overeen met $BCR-ABL1 \leq 0.01\%$ IS, ook wel DMR (deep molecular response) genoemd. Een log-reductie van 4.5 (MR 4.5) komt overeen met $BCR-ABL1 \leq 0.0032\%$ IS. Men spreekt over UMRD (undetectable molecular residual disease) als er geen betrouwbare waarden meer gemeten kunnen worden met de conventionele qRT-PCR (figuur 3).

Het BCR-ABL1 eiwit heeft een kinasedomein waarop ATP kan binden. Indien ATP gebonden is, heeft het proliferatieve en anti-apoptotische eigenschappen, hetgeen via onder andere verhoogde productie van zuurstofradicalen en abnormale DNA-reparatie kan leiden tot verdere genomische instabiliteit en aberrante celgroei. Met behulp van BCR-ABL tyrosine kinase inhibitoren (TKI) die in competitie treden met ATP voor de bindingsplaats, kan dit BCR-ABL1-tyrosine kinase geremd worden (figuur 4). Imatinib (Gleevec®) is de eerste TKI die werd ontwikkeld. Het blokkeert de ATP binding site van het BCR-ABL1 tyrosine kinase, zodat dit niet naar zijn actieve vorm kan omgezet worden. Nilotinib (Tasigna®) en Dasatinib (Sprycel®) behoren tot de 2^{de} generatie tyrosine kinase inhibitoren. Bij een zeldzame *BCR-ABL1* T315I mutatie is enkel nog de 3^{de} generatie tyrosine kinase inhibitor Ponatinib (Iclusig®) werkzaam. Dasatinib en Nilotinib zijn werkzaam tegen de meeste andere *BCR-ABL1* mutaties. De 4^{de} generatie tyrosine kinase inhibitor Asciminib is nog niet op de markt verkrijgbaar, maar wordt wel al gebruikt in klinische studies.

Deze tyrosine kinase inhibitoren zijn geassocieerd met bijwerkingen. De meest frequente bijwerkingen zijn:

- hepatotoxiciteit, myalgieën, rash en bloedingen met Imatinib
- pleurale effusie en pulmonale hypertensie met Dasatinib
- cardiale bijwerkingen oa. QT verlenging met Dasatinib en Nilotinib
- cardiovasculaire, cerebrovasculaire en perifere arteriële trombose met Nilotinib en Ponatinib

De TKI therapie heeft een hoge kostprijs:

- Imatinib €955 voor 30 dagen
- Dasatinib €1503-2059 voor 30 dagen
- Nilotinib €2136-4273 voor 30 dagen
- Ponatinib €3150 voor 30 dagen

Ook zijn sommige patiënten intolerant of resistent voor een bepaalde tyrosine kinase inhibitor. Inmiddels blijkt uit studies dat een veilige TKI stop mogelijk is in een selecte groep van patiënten die voldoen aan bepaalde criteria, mits goede monitoring van *BCR-ABL1*. Deze criteria aangehaald in de verschillende studies zijn zeer gevarieerd en het beoogde doel, namelijk het behalen van TFR (treatment free remission) zal in percentage ook sterk variëren afhankelijk van de studie.

QUESTION(S)

- 1) Wat zijn de huidige richtlijnen omtrent de stop van tyrosine kinase inhibitoren? Welke richtlijnen worden in UZ Leuven toegepast?
- 2) Hoe dient de stop van tyrosine kinase inhibitoren opgevolgd te worden? Hoe gebeurt dit in UZ Leuven?
- 3) Wat is de impact op het labo UZ Leuven bij de stop van tyrosine kinase inhibitoren?

SEARCH TERMS

- 1) MeSH Database (PubMed): MeSH term:
"CML", "chronic myeloid leukemia", "TKI stop", "tyrosine kinase inhibitor stop", "*BCR-ABL1*", "qRT-PCR", "droplet PCR", "ddPCR", "follow-up CML"
- 2) PubMed Clinical Queries (from 1966; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>):
Systematic Reviews; Clinical Queries using Research Methodology Filters
"chronic myeloid leukemia", "TKI stop", "tyrosine kinase inhibitor stop", "*BCR-ABL1*"
- 3) Pubmed (Medline; from 1966), SUMSearch (<http://sumsearch.uthscsa.edu/>), National Guideline Clearinghouse (<http://www.ngc.org/>), Institute for Clinical Systems Improvement (<http://www.icsi.org>), The National Institute for Clinical Excellence (<http://www.nice.org.uk/>), Cochrane (<http://www.update-software.com/cochrane>), Health Technology Assessment Database (<http://www.york.ac.uk/inst/crd/htahp.htm>),
- 4) UpToDate Online version (2019)

APPRAISAL

Vraag 1) Wat zijn de huidige richtlijnen omtrent de stop van tyrosine kinase inhibitoren? Welke richtlijnen worden in UZ Leuven toegepast?

1.1 Richtlijnen in de literatuur

In de huidige literatuur vinden we richtlijnen, een expert opinie en klinische studies.

Om te stoppen met TKI therapie, moet een patiënt aan verschillende criteria voldoen. Het NCCN (National Comprehensive Cancer Network, 2018) en de ESMO (European Society for Medical Oncology, 2017) stelden **richtlijnen** op, op basis van volgende criteria (tabel 1).

- CML fase
- Sokal score
- respons op TKI therapie
- type *BCR-ABL1* transcript
- duur van TKI therapie

- DMR
- duur van DMR

Hughes et al. schreef in 2016 een **expert opinie** over de TKI stop bij CML patiënten. Hij stelde criteria op waaraan patiënten dienden te voldoen alvorens ze met de therapie konden stoppen. Hij deelde deze criteria op in 3 zones (groene, gele en rode zone). Patiënten in de groene zone kwamen zeker in aanmerking voor een TKI stop. In de gele zone enkel bij bepaalde omstandigheden zoals bv. significante toxiciteit of geplande zwangerschap. Patiënten in de rode zone voldeden niet aan de voorwaarden voor een TKI stop en zullen alleen kunnen stoppen als ze opgenomen worden in een klinische studie (tabel 2).

De belangrijkste **klinische studies** zijn **STIM-Pilot, STIM1, A-STIM, STIM123, Twister, Hovon, ISAV, Euro-Ski, Destiny, Ginema, ENESTfreedom, ENESTop, STOP 2G-TKI** (tabel 4 en 5).

In deze studies werd gekeken naar verschillende factoren (leeftijd, geslacht, Sokal-, Eutos- en Euro scores, soort TKI, duur TKI gebruik, duur DMR, bepaling DMR, voorafgaande interferon alfa therapie) en hoe deze invloed hadden op de TKI stop.

STIM-Pilot (2004-2005, Frankrijk) includeerde 12 patiënten met een MR4.5 (UMRD) voor minstens 2 jaar en een TKI gebruik van minstens 45 maanden. Buiten complete cytogenetische respons, werden geen andere inclusiefactoren in deze studie opgenomen. Faling werd hier gezien als verlies UMRD (MR4.5).

STIM1 (2007-2009, Frankrijk) includeerde 100 patiënten (100% Imatinib, waarvan +/- 50% voorbehandeld met interferon alfa) met een MR4.5 (UMRD) voor minstens 2 jaar en een TKI gebruik van minstens 3 jaar. Verdere inclusiecriteria waren: leeftijd van ≥ 18 jaar en CML in chronische fase. De exclusiecriteria waren: allogene stamceltransplant patiënten, patiënt onder behandeling voor een andere maligniteit, immunotherapie behandeling anders dan interferon alfa. STIM1 zag een significantie bij Sokal score en de duur van TKI gebruik voor de stop. Een hoge Sokal score en TKI gebruik < 54 maanden waren geassocieerd met een hoger risico op hervat. STIM1 wordt als grondlegger van klinische studies omtrent TKI stop beschouwd. Identiek aan de STIM-Pilot studie werd falen gezien als verlies van UMRD (4.5).

A-STIM (2006-2012, Frankrijk) studie includeerde 80 patiënten (100% Imatinib) met een MR4.5 (UMRD) voor minstens 3.4 jaar en een TKI gebruik van minstens 2.5 jaar. De inclusiecriteria waren quasi identiek aan deze van STIM1 studie, met het verschil dat patiënten die werden voorbehandeld met cytarabine of hydroxycarbamide (naast interferon alfa) ook werden toegelaten. Allogene stamceltransplant patiënten werden geëxcludeerd. Faling werd gezien als verlies van MMR (MR3.0).

Ook de **STIM123** (2013-2014, Japan) studie die erop volgde includeerde 68 patiënten (100% Imatinib) met een MR 4.5 voor minstens 2 jaar en een TKI gebruik van minstens 3 jaar. Geen verdere inclusiecriteria werden beschreven. De exclusiecriteria waren allogene stamceltransplantatie patiënten en gebruik van een andere TKI dan imatinib. Faling werd gezien als verlies van MMR (MR3.0). Er werd geen significant verband gevonden voor geslacht, Sokal score, Eutos score, eerdere IFN-alfa therapie en duur van imatinib therapie. De duur tot UMRD voor de TKI stop was wel een significante factor voor behoud van TFR.

De A-STIM en STIM123 studies hebben een hoge TFR, namelijk 64% gedurende 2 jaar en 67.6% gedurende een jaar respectievelijk. De STIM1 en STIM-Pilot studie hebben een lagere TFR: respectievelijk 38% (gedurende 5 jaar) en 50% (gedurende 1.5 jaar). Dit is te wijten aan het feit dat bij A-STIM en STIM123 relaps beschreven wordt bij verlies MR3.0 (MMR), terwijl de STIM1 en STIM-Pilot studies relaps beschrijven bij verlies MR4.5 (UMRD). De verschillende TFR

waarden bij STIM1 en STIM-Pilot kunnen verklaard worden door de follow-up duur.

De **Twister** studie (2006-2011, Australië) includeerde 40 patiënten (100% Imatinib waarvan 52.5 % voorbehandeld met interferon alfa) met een MR4.5 (UMDR) voor minstens 2 jaar en een TKI gebruik van minstens 3 jaar. Verdere inclusiecriteria waren: leeftijd ≥ 18 jaar en CML in chronische fase. Patiënten voorbehandeld met interferon alfa, cytarabine of hydroxycarbamide werden toegelaten. De exclusiecriteria waren allogene stamcel transplantatie, gebruik van een andere TKI dan Imatinib, acceleratiefase of blastencrisis, *BCR-ABL1* kinase domein mutatie. Een hoge Sokal score en een korte interferon- alfa therapie voorafgaand aan TKI therapie waren geassocieerd met een hoger risico op hervал. Indien de patiënt er langer over deed om UMRD te behalen na de switch van IFN-alfa naar imatinib, had deze patiënt een verhoogde kans op hervал. De TFR was hoger bij de IFN-alfa/imatinib groep (51.9%), dan bij de imatinib groep (33.7%). Er was geen verhoogd risico op hervал voor de duur van TKI therapie, TKI dosis en duur van stabiele UMRD. In de imatinib groep was er geen verhoogd risico op hervал bij de tijd tot MMR, DMR of UMRD. Faling werd gezien als verlies van MMR.

De **Hovon** studie (2008-2011, Nederland en België) includeerde 15 patiënten (100% Imatinib) met een MR4.5 voor minstens 2 jaar en een TKI gebruik van minstens 5 jaar. Dit is de enige gerandomiseerde studie tot op heden. Verdere inclusie - en exclusiecriteria werden niet beschreven. Faling werd gezien als verlies van MMR.

De **ISAV** (Imatinib Suspension And Validation) studie (2011-2013) includeerde 112 patiënten (100% Imatinib) uit Italië, Duitsland, Canada, Spanje, Israël en Nederland met een MR 4.5 voor minstens 1.5 jaar en TKI gebruik van minstens 2 jaar. In deze studie werd ook onderzocht of droplet digitale PCR (ddPCR) relaps kon voorspellen bij patiënten die via qRT-PCR in complete remissie waren (MR4.5). De gevoeligheid van ddPCR ligt veel hoger (MR 7.0). Een jonge leeftijd bij TKI stop (< 45 jaar) en een positieve ddPCR waren geassocieerd met een verhoogde kans op hervал.

Verdere inclusiecriteria waren: leeftijd ≥ 18 jaar en CML in chronische fase of acceleratiefase. Allogene stamceltransplantatie patiënten werden geëxcludeerd. Faling werd gezien wanneer 2 opeenvolgende positieve qRT-PCR's (MR 4.5 of lager) werden gemeten waarvan 1 met verlies MMR.

De **Euro-Ski** studie (2012-2014) includeerde 758 patiënten (94% Imatinib, 6% Nilotinib/Dasatinib) uit 11 landen van Europa met een MR4.0 (DMR) voor minstens één jaar en TKI gebruik van minstens 3 jaar. DMR werd omschreven als *BCR-ABL1* $\leq 0.01\%$ IS of ondetecteerbare *BCR-ABL1* transcripten met 10.000 *ABL1* of 24.000 *GUS* transcripten. Verdere inclusiecriteria waren: leeftijd ≥ 18 jaar, typisch *BCR-ABL1* transcript (e13a2, e14a2), CML in chronische fase, 1^e of 2^{de} lijn TKI (vanwege intolerantie 1^e lijn). De exclusiecriteria waren allogeen stamceltransplant patiënten, TKI falen (volgens ELN richtlijnen) of aanwezigheid van een maligniteit. Patiënten die werden voorbehandeld met interferon alfa, cytarabine of hydroxycarbamide werden toegelaten. Ook werd gekeken naar Sokal-, Euro- en EUTOS scores. TKI gebruik van meer dan 5.8 jaar en MR 4.0 van meer dan 3.1 jaar voor TKI stop waren geassocieerd met een lager risico op hervал. Er werd geen significantie vastgesteld voor geslacht, Sokal-, Euro- of Eutos score. Faling werd gezien als verlies van MMR.

De **Destiny** studie (2013-2015, Verenigd Koninkrijk) includeerde 174 patiënten (85% Imatinib, 9% Nilotinib en 6% Dasatinib,) met een MR 3.0 (MMR) of stabiele MR 4.0 voor minstens 1 jaar en een TKI gebruik van minstens 3 jaar. Dit is de eerste studie die patiënten met MR 3.0 (MMR) includeert en deze vergelijkt met patiënten met een MR 4.0. Verdere inclusiecriteria waren: leeftijd ≥ 18 jaar, *BCR-ABL1* transcript (e13a2, e14a2 of e19a2), CML in chronische fase, 1 TKI (Imatinib, Dasatinib of Nilotinib) sinds diagnose of eenmalige switch van TKI omwille van

intolerantie. De exclusiecriteria waren TKI switch omwille van resistentie, Ponatinib/Bosutinib gebruik, interferon alfa behandeling gedurende de laatste 12 maanden. De dosis TKI werd gedurende het eerste jaar gehalveerd en nadien werd pas volledige TKI stop ingevoerd. Faling werd gezien als verlies van MMR. Herval bij halvering van de TKI dosis was niet gerelateerd aan leeftijd, geslacht, gewicht, *BCR-ABL1* transcript type (e13a2, e14a2, e19a2) of duur TKI therapie.

De **Ginema** studie (2003-2016, Italië) includeerde 293 patiënten (72% Imatinib, 8% Dasatinib, 20% Nilotinib) met een MR 4.0 voor minstens 2 jaar en een TKI gebruik van minstens 4.5 jaar. Verdere inclusiecriteria waren: leeftijd ≥ 18 jaar, *BCR-ABL1* transcript (e13a2, e14a2, e13a3, e14a3 of e1a2), CML in chronische fase. Er werden geen exclusiecriteria beschreven. Een jonge leeftijd bij TKI stop (< 45 jaar) en een hoge Sokal score waren geassocieerd met een verhoogde kans op herval. Faling werd gezien als verlies van MMR.

Volgende 3 studies (**ENESTfreedom**, **ENESTop** en **STOP 2G-TKI**) gaan over TKI stop bij 2^{de} generatie TKI gebruikers.

De **ENESTfreedom** studie (2013, VS) includeerde 190 patiënten (100% Nilotinib) met een MR 4.5 (UMRD) en een TKI gebruik van minstens 2 jaar. Verdere inclusiecriteria waren: leeftijd ≥ 18 jaar, typisch *BCR-ABL1* transcript (e13a2, e14a2), CML in chronische fase. Patiënten die in het verleden interferon alfa therapie of TKI therapie (anders dan Nilotinib) langer dan 4 weken kregen, werden geëxcludeerd. Deze studie bestond uit 2 fasen. In de eerste fase kregen de patiënten 52 weken lang Nilotinib toegediend en werden ze opgevolgd om de 12 weken via qRT-PCR. Enkel die patiënten die DMR konden behouden (minstens MR 4.0), kwamen in aanmerking voor TKI stop. In de 2^{de} fase (TFR fase) werd TKI stop uitgevoerd. Uit deze studie bleek dat patiënten met lage Sokal score en stabiele MR 4.5 tijdens de eerste fase van de studie minder kans op herval hadden. Geslacht, leeftijd, duur van nilotinib therapie en duur van MR 4.5 voor het begin van de studie waren niet geassocieerd met een verhoogde kans op herval. Hier werd faling gezien als verlies van MMR.

De **ENESTop** studie (2012-2015, VS) includeerde 163 patiënten (100% Imatinib voor > 4 weken met nadien intolerantie of resistentie ontwikkeld en overgeschakeld naar 100% Nilotinib voor ≥ 2 jaar) met een MR 4.5 (UMRD) en een TKI gebruik van minstens 2 jaar. Deze studie had dezelfde inclusie- en exclusiecriteria zoals de ENESTfreedom studie en bestond ook uit 2 fasen. In de eerste fase kregen de patiënten 52 weken lang Nilotinib toegediend en werden ze opgevolgd om de 12 weken via qRT-PCR. Enkel die patiënten die DMR konden behouden (elke meting MR 4.5), kwamen in aanmerking voor TKI stop. In de 2^{de} fase werd de TKI stop uitgevoerd. Hier werd faling gezien als verlies van MMR of tweemaal verlies van DMR.

De **STOP 2G-TKI** studie (2012, Frankrijk) includeerde 60 patiënten (Dasatinib en Nilotinib: 1e lijn: 13.3%, 2e lijn: 66.7% en 3e lijn: 20%) met een MR 4.5 (UMRD) voor minstens 2 jaar en een TKI gebruik van minstens 3 jaar. Verdere inclusiecriteria waren: leeftijd ≥ 18 jaar, typisch *BCR-ABL1* transcript (e13a2, e14a2), CML in chronische fase, TKI Nilotinib (bij diagnose of na Imatinib intolerantie, suboptimale respons of resistentie). Patiënten die werden voorbehandeld met interferon alfa, cytarabine of hydroxycarbamide en autologe stamceltransplant patiënten werden toegelaten. De exclusiecriteria waren allogene stamceltransplant patiënten, atypische *BCR-ABL1* transcripten, acceleratiefase of blastencrisis onder therapie, chemotherapie/radiotherapie voor andere maligniteiten of immunosuppressiva gedurende de laatste 12 maanden en falen TKI stop in het verleden. Uit de studie bleek dat vroegere resistentie voor een 1^e lijns TKI geassocieerd was met een verhoogde kans op herval. Faling werd gezien als verlies van MMR.

Uit deze klinische studies leiden we af dat de criteria nog niet op punt staan, aangezien de significanties van de verschillende factoren in de studies niet evenredig zijn (tabel 3). Globaal

zien we bij de meeste studies dat een lage Sokal score, lang TKI gebruik en lange periode van stabiele DMR significant zijn om herval te voorkomen. De Eutos score, Euro score en geslacht zijn nooit significant. Leeftijd is zelden significant, enkel bij de ISAV en Ginema studies zien we dat patiënten jonger dan 45 jaar een verhoogde kans hebben op herval. Uit de STOP 2G-TKI studie blijkt dat vroegere resistentie voor een 1e lijns TKI geassocieerd is met een verhoogde kans op herval. De Twister studie is de enige studie waarbij een significant verband werd gevonden tussen duur van eerdere IFN alfa therapie en kans op herval. Uit zowel de Twister als de STIM123 studie blijkt dat patiënten die na diagnose op korte tijd DMR bereiken, nadien bij TKI stop minder kans hebben op herval.

Verder zijn er ook labo-technische vereisten voor TKI stop, die beschreven werden in het artikel van Hughes et al.

- Er moet een accurate en gevoelige qRT-PCR test uitgevoerd kunnen worden. MMR tot MR 4.5 moet betrouwbaar gekwantificeerd worden (LOD/LOQ 0.0032/ < 0.0032).
- Deze moet een snelle, acceptabele TAT (4 weken volgens Hughes et al.) hebben.
- Waarden moeten op de internationale schaal gerapporteerd worden.
- Indien de *BCR-ABL1* waarden stijgen, is een snelle interventie vereist.

In dit artikel werden een aantal contra-indicaties voor een TKI stop besproken. 2 tot 3% van de CML patiënten hebben een atypisch *BCR-ABL1* transcript. De moleculaire respons kan bij deze patiënten niet voldoende accuraat gemeten worden. Hierdoor zal het tegenaangewezen zijn om bij deze groep van patiënten TKI stop uit te voeren. CML komt zelden voor bij kinderen. Hierdoor is er nog te weinig onderzoek over TKI stop bij kinderen gedaan en is het ook bij deze patiëntengroep tegenaangewezen om TKI stop in te voeren.

1.2 Richtlijnen in UZ Leuven

De patiënten die in aanmerking komen voor een TKI stop in UZ Leuven moeten voldoen aan volgende criteria.

- Lage of gemiddelde Sokal score
- Typisch *BCR-ABL1* transcript (e13a2 of e14a2)
- CML in chronische fase
- $\geq$ MR4.5 voor meer dan 2 jaar
- Meer dan 8 jaar TKI gebruik

De criteria die in UZ Leuven worden gevolgd, komen overeen met de expert opinie van Hughes et al. De STIM1 studie, die beschouwd wordt als grondlegger van de TKI stop studies, stelt dezelfde criteria. Alleen is TKI gebruik van 8 jaar vereist in UZ Leuven in tegenstelling tot 3 jaar bij de STIM1 studie.

Sinds 2013 werden in **UZ Leuven** 30 patiënten (76.7% Imatinib, 16.7% Nilotinib, 6.6% Dasatinib) geïnccludeerd in een stop TKI studie protocol met een MR4.5 (UMRD) voor minstens 2 jaar en een TKI gebruik van minstens 8 jaar. Faling werd gezien als verlies van MMR bij 2 opeenvolgende metingen (figuur 6).

Vraag 2) Hoe dient de stop van tyrosine kinase inhibitoren opgevolgd te worden? Hoe gebeurt dit in UZ Leuven?

2.1 Follow-up in de literatuur

De opvolging van TKI stop gebeurt via

- opsporen van de hoeveelheid *BCR-ABL1* transcripten met behulp van **qRT-PCR en/of ddPCR** op zowel perifeer bloed als beenmerg
- opsporen van het Philadelphia chromosoom via **cytogenetica** op beenmerg

Momenteel zijn er verschillende **qRT-PCR** toestellen op de markt (zowel in-house als commerciële kits) die gebruik maken van het LightCycler of TaqMan principe. De detectielimiet van de qRT-PCR is veelal MR 4.0 (0.01%) of MR 4.5 (0.0032%).

Om een diepere moleculaire respons (minstens MR 4.5) te meten, kan gebruik gemaakt worden van **droplet digitale PCR (ddPCR)**. Hier wordt het DNA-staal voorafgaand aan de PCR in duizenden druppels opgesplitst. In elke druppel gebeurt vervolgens een 'onafhankelijke' PCR reactie waarna de druppels één voor één door een detector geanalyseerd worden. De software detecteert het eventueel aanwezige fluorescent signaal en berekent een absolute kwantiteit (figuur 7).

Droplet digitale PCR kan niet gebruikt worden bij hoge concentraties van *BCR-ABL1*, gezien ABL1 in deze situatie altijd voor volledige saturatie zal zorgen zodat de test faalt. Er treedt namelijk competitie op tijdens een PCR reactie om te binden aan *ABL1* of *BCR-ABL1*.

Opvolgen van de TKI stop met behulp van **cytogenetica** op beenmerg werd enkel in de **HOVON** studie toegepast. Hier wordt op 20 cellen gekeken naar de aanwezigheid van het Philadelphia chromosoom. De cytogenetische respons wordt als volgt gedefinieerd:

- complete (CCR) : 0% Ph+ metafasen
- partiële (PCR): 1-35% Ph+ metafasen
- mineure (mCR): 35-65% Ph+ metafasen
- minimale (MinCgR): 66-95% Ph+ metafasen
- geen: > 95% Ph+ metafasen

Dit werd om de 2,4,6,9 en 12 maanden na TKI stop gedaan. Na 1 jaar gebeurde de opvolging om de 6 maanden.

Volgens de **richtlijnen van het NCCN** zal na TKI stop maandelijks een qRT-PCR uitgevoerd worden in de eerste 6 maanden. De volgende 6 maanden zal dit om de 6 weken zijn, nadien om de 3 maanden. De opvolging volgens de **richtlijnen van de ESMO** zijn identiek. Bij verlies van MMR (MR 3.0) wordt TKI therapie terug opgestart.

In de **expert opinie** van Hughes et al. werd voorgesteld om qRT-PCR maandelijks uit te voeren gedurende de eerste 6 maanden en nadien om de 3 maanden. Bij verlies van UMRD (MR 4.5) werd TKI therapie terug opgestart.

Bij de **STIM-Pilot** studie werd er maandelijks een qRT-PCR uitgevoerd op perifeer bloed in de eerste 6 maanden na TKI stop, nadien telkens om de 2 maanden. Bij 2 positieve qRT-PCR's met verlies van UMRD werd TKI therapie terug opgestart.

In het eerste jaar na TKI stop werd bij de **STIM1** studie maandelijks een qRT-PCR uitgevoerd op perifeer bloed, in het tweede jaar om de 2 maanden en nadien om de 3 maanden. Bij 2 positieve qRT-PCR's met verlies van UMRD werd TKI therapie terug opgestart.

Bij de **A-STIM** studie werd in het eerste jaar na TKI stop maandelijks een qRT-PCR uitgevoerd op perifeer bloed, in het 2^{de} jaar om de 2 maanden en nadien om de 3 maanden. Bij verlies van MMR werd TKI therapie terug opgestart.

In de eerste 6 maanden na TKI stop werd bij de **STIM123** studie maandelijks een qRT-PCR uitgevoerd op perifeer bloed, de volgende 6 maanden om de 2 maanden en nadien om de 3 maanden. Bij verlies van MMR werd TKI therapie terug opgestart.

Bij de **Twister** studie werd in het eerste jaar na TKI stop maandelijks een qRT-PCR uitgevoerd op perifeer bloed, in het 2^{de} jaar om de 2 maanden en nadien om de 3 maanden. Ook werd qRT-PCR uitgevoerd op beenmerg bij het begin van de TKI stop en nadien om de 3 maanden gedurende de eerste 2 jaren (of tot relaps). Deze studie concludeerde dat een bijkomende PCR op beenmerg geen voordeel bood ten opzichte van perifeer bloed. Bij verlies van MMR werd TKI therapie terug opgestart.

In de **Hovon** studie werd in de eerste 6 maanden na TKI stop maandelijks een qRT-PCR uitgevoerd op perifeer bloed en om de 2 maanden op beenmerg.

De volgende 6 maanden werd een qRT-PCR uitgevoerd om de 2 maanden op perifeer bloed en om de 3 maanden op beenmerg. Na 1 jaar werd een qRT-PCR uitgevoerd om de 3 maanden op perifeer bloed en om de 6 maanden op beenmerg. Bij verlies van UMRD werd TKI therapie terug opgestart.

In de **ISAV** studie zal men met droplet PCR trachten het herval te voorspellen. dPCR werd uitgevoerd vlak voor TKI stop. De opvolging zelf gebeurde door middel van qRT-PCR.

Hier werd de eerste 6 maanden na TKI stop maandelijks een qRT-PCR gedaan op perifeer bloed en nadien om de 2 maanden. Bij 2 opeenvolgende positieve qRT-PCR's (MR 4.5 of lager) waarvan 1 met verlies MMR werd TKI therapie terug opgestart.

In de **Euro-Ski** studie werd in de eerste 6 maanden na TKI stop maandelijks een qRT-PCR uitgevoerd op perifeer bloed, de volgende 6 maanden om de 6 weken en daarna om de 3 maanden. Bij verlies van MMR werd TKI therapie terug opgestart.

In de **Destiny** studie werd na TKI halvering (en nadien na TKI stop) maandelijks een qRT-PCR uitgevoerd op perifeer bloed. Bij verlies van MMR werd TKI therapie terug opgestart.

In de **Ginema** studie werd in de eerste 6 maanden na TKI stop maandelijks een qRT-PCR uitgevoerd op perifeer bloed, de volgende 6 maanden om de 6 weken en daarna om de 3 maanden. Bij verlies van MMR werd TKI therapie terug opgestart.

Bij de **ENESTfreedom** studie werden de patiënten gedurende de eerste fase opgevolgd met qRT-PCR op perifeer bloed om de 12 weken gedurende een periode van 52 weken. Nadien tijdens de 2^{de} fase werden de patiënten de volgende 48 weken om de 4 weken opgevolgd via qRT-PCR op perifeer bloed, 48 weken nadien om de 6 weken en daarna om de 12 weken. Bij verlies van MMR werd TKI therapie terug opgestart.

De opvolging bij de **ENESTop** studie is gelijk aan deze van ENESTfreedom. Bij verlies van MMR of tweemaal verlies van DMR werd TKI therapie terug opgestart.

In de **STOP 2G-TKI** studie werd in het eerste jaar na TKI stop maandelijks een qRT-PCR uitgevoerd op perifeer bloed. In het 2e jaar om de 2-3 maanden en nadien om de 3-6 maanden. Bij verlies van MMR werd TKI therapie terug opgestart.

Uit de klinische studies leiden we af dat ook de richtlijnen omtrent opvolging van deze patiënten na TKI stop variabel zijn. Het protocol van alle studies gedurende de eerste 6 maanden van opvolging na TKI stop is identiek. Er zal maandelijks een qRT-PCR uitgevoerd worden, gezien herval voornamelijk optreedt gedurende de eerste 6 maanden na TKI stop. Hierna zal de opvolging variëren per studie. Heropstarting van TKI therapie is studie afhankelijk. Dit zal gebeuren bij verlies van UMRD of MMR.

2.2 Follow-up in UZ Leuven

In UZ Leuven wordt het **GeneXpert Ultra** (Cepheid) toestel gebruikt om de *BCR-ABL1* mRNA transcripten en het *ABL1* controle transcript bij CML patiënten te detecteren. Via deze multiplex nested **qRT-PCR** zullen alleen p210 translocaties met typische breekpunten e13a2 (b2a2) en e14a2 (b3a2) opgespoord worden (figuur 8). Doordat de bepaling van zowel het *BCR-ABL1* als het *ABL1* transcript (multiplex) in 1 PCR reactie kan uitgevoerd worden, is er geen bias van 2 afzonderlijke PCR reacties. Nested-PCR betekent dat er meerdere cycli per PCR reactie zullen doorlopen worden om zo een hogere sensitiviteit en specificiteit te bekomen (1^{ste} PCR 15 cycli, 2^{de} PCR 35 cycli). De variante breekpunten e13a3, e14a3, e19a2, e1a2 kunnen niet opgespoord worden (figuur 9). De qRT-PCR test wordt in UZ Leuven uitgevoerd op 4ml perifeer bloed.

De variatie die er is tussen laboratoria qua methoden (andere controlegenen, verschillende primers en probes, verschillende qRT-PCR toestellen), vereist dat er gerapporteerd moet worden op de internationale schaal. Het GeneXpert systeem neemt bij de berekening van de kwantitatieve resultaten een lotspecifieke conversiefactor (scaling factor SF) in rekening.

De opvolging na TKI stop gebeurt in UZ Leuven volgens de A-STIM en Twister studie. De Belgian Hematological Society (BHS) gebruikt ook deze richtlijnen, namelijk opvolging gedurende het eerste jaar maandelijks d.m.v. qRT-PCR op perifeer bloed, gedurende het tweede jaar om de 2 maanden en nadien om de 3 maanden. Herbehandeling start bij verlies van MMR tijdens 2 opeenvolgende metingen. Bij onze UZ Leuven studiegroep van 30 patiënten zouden volgens de ingestuurde BHS richtlijnen 450 qRT-PCR testen geadviseerd worden gedurende de eerste 2 jaren van opvolging.

Opvolging via **cytogenetica** op beenmerg zal in UZ Leuven enkel gebeuren indien bij herval (verlies van MMR tijdens 2 opeenvolgende metingen) na het heropstarten van TKI therapie geen respons behaald wordt. Wanneer dan een beenmergstaal voor cytogenetica afgenomen wordt, zal er uitzonderlijk ook een qRT-PCR uitgevoerd worden op dit beenmergstaal.

Droplet digitale PCR wordt in UZ Leuven nog niet gebruikt voor de opvolging van *BCR-ABL1* transcripten na TKI stop. In UZ Leuven wordt de ddPCR wel al gebruikt op het centrum menselijke erfelijkheid (CME) voor mutatie-analyse van het ABL1 kinase domein.

Vraag 3) Wat is de impact op het labo UZ Leuven bij de stop van tyrosine kinase inhibitoren?

Bij de opvolging van CML patiënten in België wordt de qRT-PCR 4x/jaar terugbetaald (RIZIV/INAMI 588593-588604 Artikel 33 bis). Bijkomende qRT-PCR testen zullen niet terugbetaald worden door het RIZIV/INAMI. De Belgian Hematological Society (BHS) deed in 2017 een voorstel om deze terugbetalingscriteria te veranderen voor de opvolging van patiënten waarbij de TKI therapie wordt gestopt. Het voorstel werd echter nog niet aanvaard door het RIZIV/INAMI.

Wanneer TKI therapie gestopt wordt, zullen meer qRT-PCR testen nodig zijn gedurende de eerste 2 jaren. In het eerste jaar na TKI stop is een maandelijkse qRT-PCR nodig en in het tweede jaar is dit om de twee maanden. Het eerste jaar zijn dit 8 extra qRT-PCR testen en het tweede jaar zijn dit er 2 extra. Dit resulteert in 10 bijkomende qRT-PCR testen gedurende de eerste 2 jaren van opvolging per patiënt. Vanaf het derde jaar zal er om de 3 maanden een qRT-PCR uitgevoerd worden, wat overeenkomt met de opvolging van CML patiënten zonder TKI stop. De TKI stop zal een impact hebben op de workload van het moleculaire labo UZ Leuven, gezien er meer qRT-PCR testen zullen uitgevoerd worden.

De enige klinische studie die rekening houdt met de kostprijs van TKI therapie is deze van Euro-Ski. Hier werd vastgesteld dat bij TKI stop €22.000.000 kan bespaard worden. Dit bedrag is gebaseerd op 755 CML patiënten en de kostprijs van de TKI behandeling in Denemarken.

In UZ Leuven werden voor de 30 CML patiënten die in aanmerking komen voor TKI stop gedurende het eerste jaar 231 qRT-PCR testen aangevraagd en uitgevoerd. Indien er geen TKI stop plaatsvond bij deze 30 CML patiënten, zouden er gedurende het eerste jaar slechts 119 qRT-PCR testen uitgevoerd zijn. Gedurende het 2^e jaar van opvolging na TKI stop (tot 31/03/2019 opgevolgd) werden er 58 qRT-PCR testen aangevraagd en uitgevoerd. Indien er geen TKI stop plaatsvond bij deze 30 CML patiënten, zouden er gedurende het 2^{de} jaar slechts 53 qRT-PCR testen uitgevoerd zijn.

Hieruit blijkt dat er in de eerste 2 jaren van opvolging (tot 31/03/2019), 289 qRT-PCR testen werden aangevraagd en uitgevoerd bij deze 30 patiënten. Indien er geen TKI stop plaatsvond bij deze 30 CML patiënten, zouden er gedurende de 2 jaren van opvolging slechts 172 qRT-PCR testen uitgevoerd zijn. De workload in het labo UZ Leuven is met 70% verhoogd (1.7x) door TKI stop bij deze 30 patiënten.

Bij de **niet-relaps** groep (n=19) werden 192 qRT-PCR testen aangevraagd en uitgevoerd. Indien er geen TKI stop plaatsvond, zouden er gedurende de 2 jaren van opvolging slechts 107 qRT-PCR testen uitgevoerd zijn. De workload in het labo UZ Leuven is met 80% verhoogd (1.8x) door TKI stop bij de niet-relaps groep.

Bij de **relaps** groep (n=11) werden 97 qRT-PCR testen aangevraagd en uitgevoerd. Indien er geen TKI stop plaatsvond, zouden er gedurende de 2 jaren van opvolging slechts 65 qRT-PCR testen uitgevoerd zijn. De workload in het labo UZ Leuven is met 50% verhoogd (1.5x) door TKI stop bij de relaps groep.

De prijs per qRT-PCR test varieert tussen €80-€130, afhankelijk van het qRT-PCR toestel (in-house of commerciële kit), de gebruikte reagentia en de personeelskosten. Bij deze studie werden 117 bijkomstige qRT-PCR testen uitgevoerd. Indien de maximale prijs voor de qRT-PCR test (€130) wordt gebruikt, resulteert dit in €15.210 extra kosten. Imatinib kost €955 per patiënt

per maand. De kostprijs van Dasatinib en Nilotinib varieert afhankelijk van de gebruikte dosis: voor Dasatinib €1503-2059 per maand en voor Nilotinib €2136-4273 per maand. Ponatinib therapie kost €3150 per patiënt per maand. Wanneer bij de patiënten van de studie te UZ Leuven een TKI stop wordt ingelast, resulteert dit in een besparing van €500.000-€600.000.

To do/ACTIONS

- 1) Uittesten van *BCR-ABL1* %IS kit voor ddPCR.
- 2) Opvolgen van het terugbetalingsdossier voor qRT-PCR bij TKI stop (RIZIV/INAMI).

ATTACHMENTS

Criteria	NCCN	ESMO
CML fase	Chronische fase	Chronische fase
Sokal score	/	Niet-hoog
TKI therapie respons	Geen resistentie	Optimaal
<i>BCR-ABL1</i> transcript	Meetbaar	Meetbaar
Duur TKI therapie	≥ 3jaar	≥ 5jaar
DMR	Minstens MR4.0	Minstens MR4.5
Duur DMR	≥ 2jaar	≥ 2jaar

Tabel 1: Richtlijnen voor TKI stop opgesteld door het NCCN (National Comprehensive Cancer Network, 2018) en de ESMO (European Society for Medical Oncology, 2017).

Criteria	Green	Yellow	Red
Institutional criteria met (per table 1)	Yes	-	No
Sokal score at diagnosis	Non-high	High	-
BCR-ABL transcript at diagnosis	Typical - B2A2 or B3A2 (e13a2 or e14a2)	Atypical, but can be accurately quantified	Not quantifiable
CML past history	CP only	Resistance or KD mutation	Prior AP or BC
Response to first line TKI therapy	Optimal	Warning	Failure
Duration of all TKI therapy	> 8 years	3–8 years	< 3 years
Depth of deep molecular response	MR4.5	MR4.0	Not in MR4.0
Duration of deep molecular response monitored in a standardized laboratory	> 2 years	1–2 years	< 1 year

All green lights: strong recommendation to consider TKI withdrawal

Any yellow lights: only consider TKI withdrawal in high priority circumstances
(e.g. significant toxicity or planned pregnancy)

Any red lights: TKI withdrawal not recommended except in clinical trial

Tabel 2: Richtlijnen voor TKI stop opgesteld door Hughes et al.

Factoren	STIM-Pilot	STIM1	A-STIM	STIM123	Twister	Hovon	ISAV	Euro-Ski	Destiny	Ginema	ENESTfreedom	ENESTop	STOP 2G-TKI
Leeftijd	Rood	Rood	Rood	Rood	Rood	Geel	Groen	Rood	Rood	Groen	Rood	Geel	Rood
Geslacht	Rood	Rood	Rood	Rood	Rood	Geel	Rood	Rood	Rood	Rood	Rood	Geel	Rood
Sokal score	Rood	Groen	Rood	Rood	Groen	Geel	Rood	Rood	Geel	Groen	Groen	Geel	Rood
Eutos score	Geel	Geel	Geel	Rood	Geel	Geel	Geel	Rood	Geel	Geel	Geel	Geel	Geel
Euro score	Geel	Geel	Geel	Geel	Geel	Geel	Geel	Rood	Geel	Geel	Geel	Geel	Geel
Soort TKI	Geel	Geel	Geel	Geel	Geel	Geel	Geel	Rood	Rood	Rood	Geel	Geel	Rood
Duur TKI	Rood	Groen	Rood	Rood	Rood	Geel	Rood	Groen	Rood	Rood	Rood	Geel	Rood
Duur DMR	Rood	Rood	Rood	Geel	Geel	Geel	Rood	Groen	Rood	Rood	Rood	Geel	Rood
Bepaling DMR	Geel	Rood	Rood	Groen	Groen	Geel	Rood	Rood	Geel	Rood	Geel	Geel	Geel
INF-alfa	Rood	Rood	Rood	Rood	Groen	Geel	Rood	Rood	Geel	Rood	Geel	Geel	Rood

Tabel 3: Significantie van de verschillende predisponerende factoren in de verschillende studies.

Rood: Geen significante factor

Geel: Factor niet onderzocht

Groen: Significante factor

Criteria	STIM-Pilot	STIM1	A-STIM	STIM123	Twister	HOVON	ISAV
Inclusie	UMRD $\geq$ 2j $\geq$ 45m TKI gebruik	UMRD $\geq$ 2j Leeftijd: 18+ $\geq$ 3j TKI gebruik CP-CML	UMRD $\geq$ 3.4j $\geq$ 2.5j TKI gebruik	UMRD $\geq$ 2j $\geq$ 3j TKI gebruik	UMRD $\geq$ 2j Leeftijd: 18+ $\geq$ 3j TKI gebruik	MR4.5 $\geq$ 2j	UMRD $\geq$ 1.5j Leeftijd: 18+ $\geq$ 2j TKI gebruik AP/CP-CML
Significante factoren		Sokal Duur TKI gebruik voor stop		Duur tot DMR	Sokal Duur tot DMR INF-alfa therapie		Leeftijd
Frequentie PCR's	1 ^e 6m: Maandelijks Nadien: Om de 2 maanden	1 ^e j: Maandelijks 2 ^e j: Om de 2m 3 ^e j: Om de 3m	1 ^e j: Maandelijks 2 ^e j: Om de 2m Nadien: om de 3m	1 ^e 6m: Maandelijks Volgende 6m: Om de 2 m Nadien: om de 3m	1 ^e j: Maandelijks 2 ^e j: Om de 2m Nadien: om de 3m	1 ^e 6m: 1x/m PB + om de 2m BM. 6-12m: Om de 2m PB + om de 3m BM Nadien: Om de 3m PB + om de 6m BM. Cytogenetische evaluatie na 2,4,6,9,12 maanden. Nadien om de 6m	1 ^e 6m: Maandelijks Nadien: Om de 2 maanden
Faling	2 Positieve PCR's met verlies van UMRD	2 positieve PCR's met verlies van UMRD	Verlies van MMR	Verlies van MMR	Verlies van MMR	Verlies van UMRD	2 Positieve PCR's met verlies van UMRD waarvan 1 met verlies MMR

Tabel 4: Criteria en follow-up van de klinische studies (deel 1)

Criteria	Euro-Ski	Destiny	Ginema	ENESTfreedom	ENESTop	STOP 2G-TKI
Inclusie	MR4.0 $\geq$ 1j $\geq$ 3j TKI gebruik Leeftijd: 18+ E13a2/e14a2 CP CML 1 ^e Lijns TKI	MMR of DMR $\geq$ 1j Leeftijd: 18+ $\geq$ 3j TKI gebruik E13a2/e14a2/e19a2 CP-CML Max 1 TKI gebruikt in het verleden	DMR $\geq$ 2j Leeftijd: 18+ $\geq$ 4.5j TKI gebruik E13a2/e14a2/e13a3/e14a3/e1a2 CP-CML	UMRD Leeftijd: 18+ $\geq$ 2j TKI gebruik E13a2/e14a2 CP-CML	UMRD Leeftijd: 18+ $\geq$ 2j TKI gebruik E13a2/e14a2 CP-CML	UMRD $\geq$ 2j Leeftijd: 18+ $\geq$ 3j TKI gebruik E13a2/e14a2 CP-CML Nilotinib
Significante facoren	Duur TKI gebruik voor stop Duur MR4.0 voor stop		Leeftijd Sokal	Sokal		Vroegere TKI resistentie
Frequentie PCR's	1 ^e 6m: Maandelijks Volgende 6m: Om de 6w Nadien: om de 3m	Maandelijks	1 ^e 6m: Maandelijks Volgende 6m: Om de 6w Nadien: om de 3m	1 ^e j: om de 3m Volgende 48w: om de 4w Volgende 48w: om de 6w Nadien om de 3m	1 ^e j: om de 3m Volgende 48w: om de 4w Volgende 48w: om de 6w Nadien om de 3m	1 ^e j: Maandelijks 2 ^e j: Om de 2-3m Nadien: om de 3-6m
Faling	Verlies van MMR	Verlies van MMR	Verlies van MMR	Verlies van MMR	Verlies van MMR of 2x DMR	Verlies van MMR

Tabel 5: Criteria en follow-up van de klinische studies (deel 2)

Patiënt nummer	Sokal bij diagnose	BCR-ABL transcript	Fase (enkel CP)	Respons eerste lijn (Optimaal)	Diepte MR	Duur van MR (>2j)	Start TKI	TKI bij start	TKI bij stop	Lijn TKI bij stop	Stop TKI
1	Laag risico	p210 & p190	chronische fase	Optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	31/08/2006	Imatinib	Imatinib	1	23/11/2017
2	Intermediair risico	p210	chronische fase	Optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	26/12/2008	Imatinib	Imatinib	1	10/03/2017
3	Laag risico	p210	chronische fase	Optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	8/07/2010	Imatinib	Imatinib	1	27/02/2018
4	Laag risico	b3a2	chronische fase	Missing data	MR 4,5	Ja	11/06/2002	Imatinib			
5	Intermediair risico	p210 & p190	chronische fase	Optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	6/01/2006	Imatinib	Imatinib	1	21/09/2016
6	Laag risico	p210	chronische fase	Optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	2/11/2006	Imatinib	Nilotinib	2	3/10/2017
7	Intermediair risico	p210	chronische fase	Optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	3/11/2010	Nilotinib	Nilotinib	1	30/01/2018
8	Laag risico	p210 & p190	chronische fase	Niet evalueerbaar	MR 4,5	Ja	6/10/2003	Imatinib	Imatinib	1?2?3?	9/02/2018
9	Laag risico	p210 & p190	chronische fase	Optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	30/10/2008	Imatinib	Imatinib	1	26/01/2017
10	Intermediair risico	p210 & p190	chronische fase	WARNING; uiteindelijk toch optimaal	Niet echt onafgebroken? Opnemen als kandidaat stop?						
11	Intermediair risico	p210 & p190	chronische fase	Optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	12/04/2006	Imatinib			
12	Intermediair risico	p210	chronische fase	WARNING; uiteindelijk toch optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	28/05/2004	Imatinib			
13	Laag risico	p210	chronische fase	Optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	12/08/2010	Imatinib	Imatinib	1	11/07/2017
14	Intermediair risico	p210	chronische fase	Optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	4/05/2006	Imatinib	Imatinib	1	6/04/2017

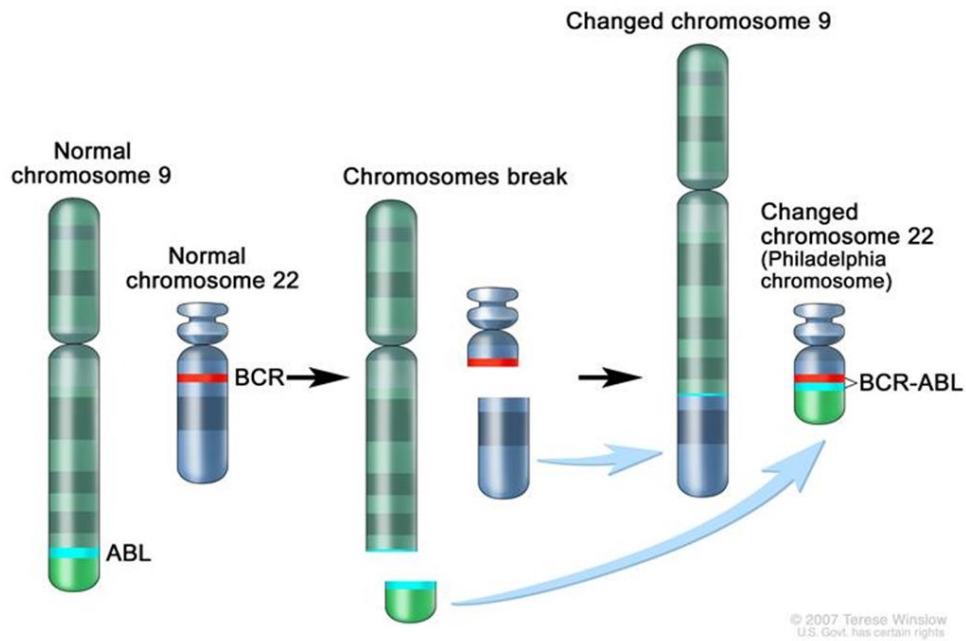
15	Laag risico	p210 & p190	chronische fase	WARNING; uiteindelijk toch optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	22/04/2008	Imatinib			
16	Intermediair risico	b2a2 & b3a2	chronische fase	Optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	30/08/2000	Imatinib	Imatinib	1	27/12/2016
17	Laag risico	p210	chronische fase	Optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	11/09/2009	Imatinib	Imatinib	1	2/01/2018
18	Laag risico	p210 & p190	chronische fase	WARNING; uiteindelijk toch optimaal	MR 4,5 (1-2x 4,0)	Ja	11/10/2007	Imatinib			
19	Intermediair risico	p210	chronische fase	Optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	18/11/2010	Imatinib			
20	Laag risico	p210 & p190	chronische fase	Optimaal	MR 4,5	Ja	18/03/2004	Imatinib	Imatinib	1	20/03/2018
21	Intermediair risico	b2a2	chronische fase	Niet evalueerbaar	MR 4,5	Ja	3/05/2001	Imatinib	Imatinib	3	26/01/2017
22	Intermediair risico	p210 & p190	chronische fase	Optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	7/05/2004	Imatinib			
23	Intermediair risico	p210	chronische fase	WARNING; uiteindelijk toch optimaal	MR 4,5 (even medicatie vergeten)	Ja	19/06/2003	Imatinib	Imatinib	1?2?3?	20/02/2018
24	Laag risico	p210 & p190	chronische fase	Optimaal	MR 4,5	Ja	15/03/2003	Imatinib	Nilotinib	3	17/10/2016
25	Intermediair risico	p210 & p190	chronische fase	Optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	15/08/2003	Imatinib			
26	Laag risico	p210 & p190	chronische fase	Optimaal	MR 4,5 (laatste 4,0)	Ja (behalve laatste)	8/06/2004	Imatinib			
27	Laag risico	p210 & p190	chronische fase	Optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	30/12/2008	Imatinib	Imatinib	1	21/11/2014
28	Intermediair risico	p210 & p190	chronische fase	Optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	20/02/2007	Imatinib	Imatinib	1?2?	19/12/2013
29	Laag risico	p210	chronische fase	Optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	25/01/2005	Imatinib	Imatinib	1	6/02/2018
30	Intermediair risico	p210 & p190	chronische fase	Optimaal	MR 4,5	Ja	15/04/2005	Imatinib	Imatinib	1	30/01/2018

31	Laag risico	p210 & p190	chronische fase	Optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	14/09/2005	Imatinib	Dasatinib	2	30/01/2018
32	Laag risico	b3a2	chronische fase	Niet evalueerbaar	MR 4,5	Ja	5/05/2003	Imatinib			
33	Laag risico	p210 & p190	chronische fase	Niet evalueerbaar (later optimaal)	> MR 4,5 (CMR)	Ja	5/08/2005	Imatinib	Imatinib	1	16/01/2018
34	Laag risico	Niet gekend?	chronische fase	Niet evalueerbaar (later optimaal)	> MR 4,5 (CMR)	Ja	18/02/2003	Imatinib	Imatinib	1	24/10/2017
35	Niet berekenbaar	p210 & p190	chronische fase	Geen info?	> MR 4,5 (CMR)	Ja	19/11/2004	Imatinib	Dasatinib	2	13/03/2018
36	Info? Stop mogelijk?										
37	Intermediair risico	?	chronische fase	Optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	13/04/2004	Imatinib	Imatinib	1	4/08/2016
38	Intermediair risico	p210	chronische fase	Optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	13/01/2009	Imatinib	Nilotinib	2	24/04/2015
39	Laag risico	p210 & p190	chronische fase	Optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	21/04/2009	Imatinib	Imatinib	1	23/09/2016
40	Laag risico	p210 & p190	chronische fase	Optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	20/08/2005	Imatinib	Imatinib	1	28/11/2017
41	Gestopt; info diagnose?										
42	Laag risico	p210	chronische fase	Optimaal	> MR 4,5 (CMR)	Ja	5/04/2011	Nilotinib	Nilotinib	1	19/01/2018
43	Laag risico	p210 & p190	chronische fase	Falen	> MR 4,5 (CMR)	Ja	28/08/2002	Imatinib (eerst Hydrea + interferon alfa)	Imatinib	1	19/06/2018

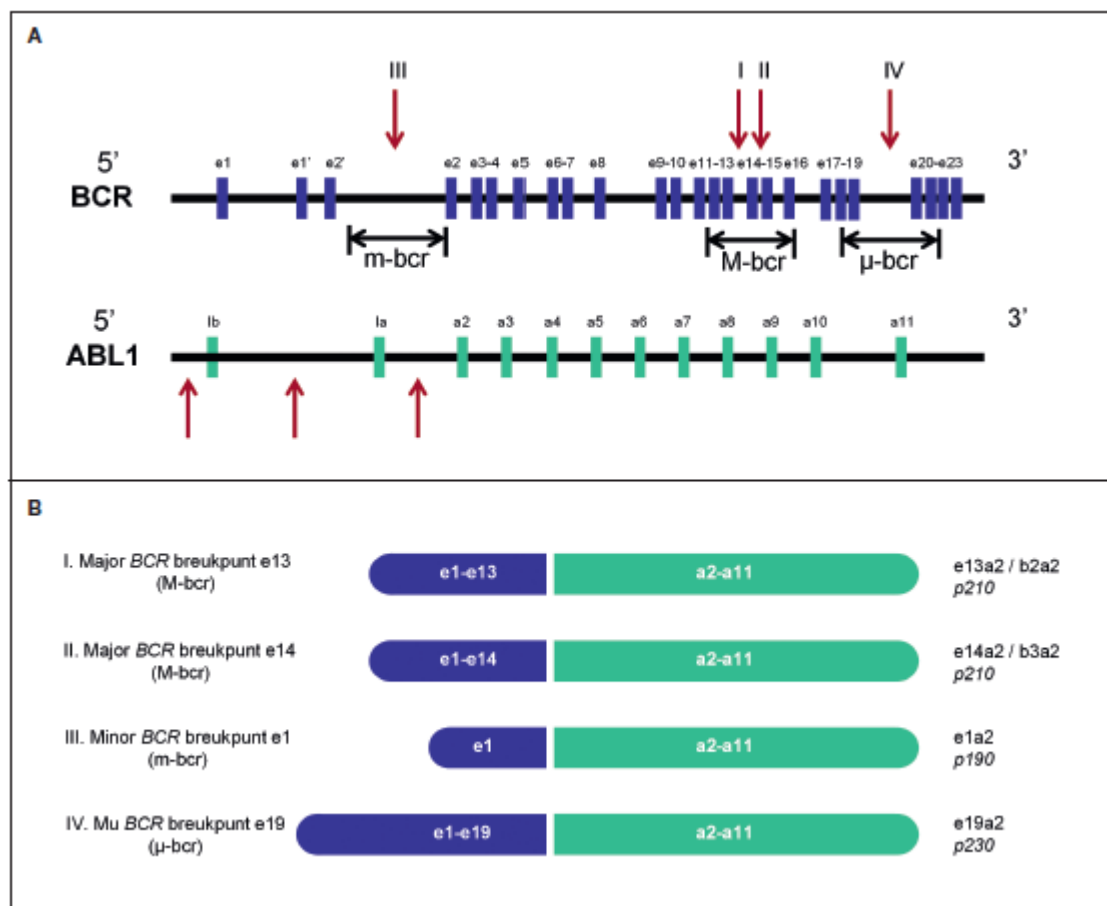
Tabel 6: Gedetailleerde gegevens van de studie te UZ Leuven.
 Blauw: In aanmerking voor TKI stop maar niet gestart met TKI stop
 Groen: TKI stop zonder relaps
 Rood: TKI stop met relaps

Patiënten (n=30) gegevens	Geen relaps	Relaps
Geslacht		
Man	11	5
Vrouw	8	6
Leeftijd (jaren)		
Mediaan	62	67
Bereik	38-85	47-86
Sokal score bij diagnose		
Laag	11	6
Gemiddeld	7	5
Niet gekend	1	0
TKI therapie (1 ^{ste} en/of 2 ^{de} lijn)		
Imatinib	15	8
Nilotinib	2	3
Dasatinib	2	0
CML fase		
Chronische fase	19	11
Acceleratiefase	0	0
Acute fase/blastencrisis	0	0
<i>BCR-ABL1</i> transcript		
P210	19	11
P190	0	0
P230	0	0

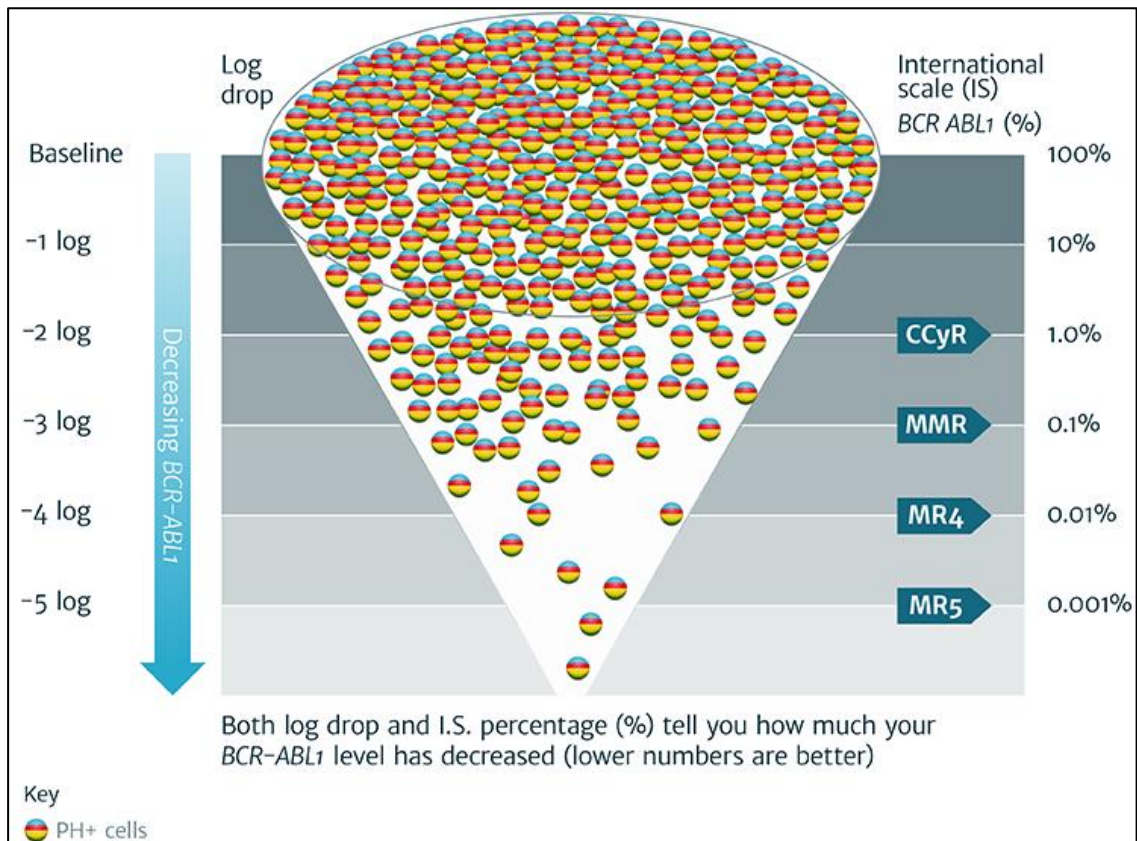
Tabel 7: Patiënten (n=30) gegevens in UZ Leuven bij TKI stop .



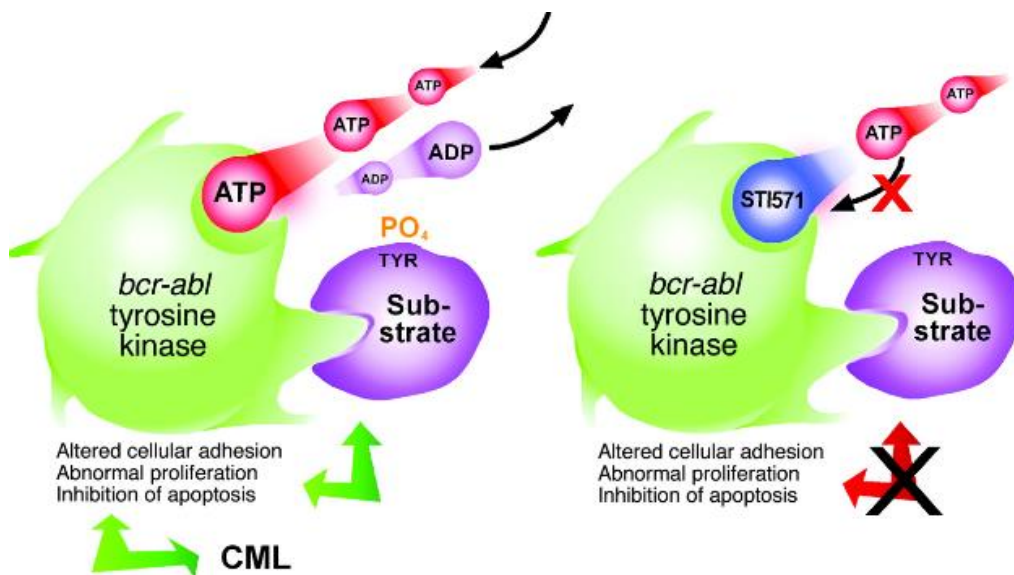
Figuur 1: Chromosomale translocatie (9;22) waaruit het BCR-ABL fusiegen ontstaat (31).



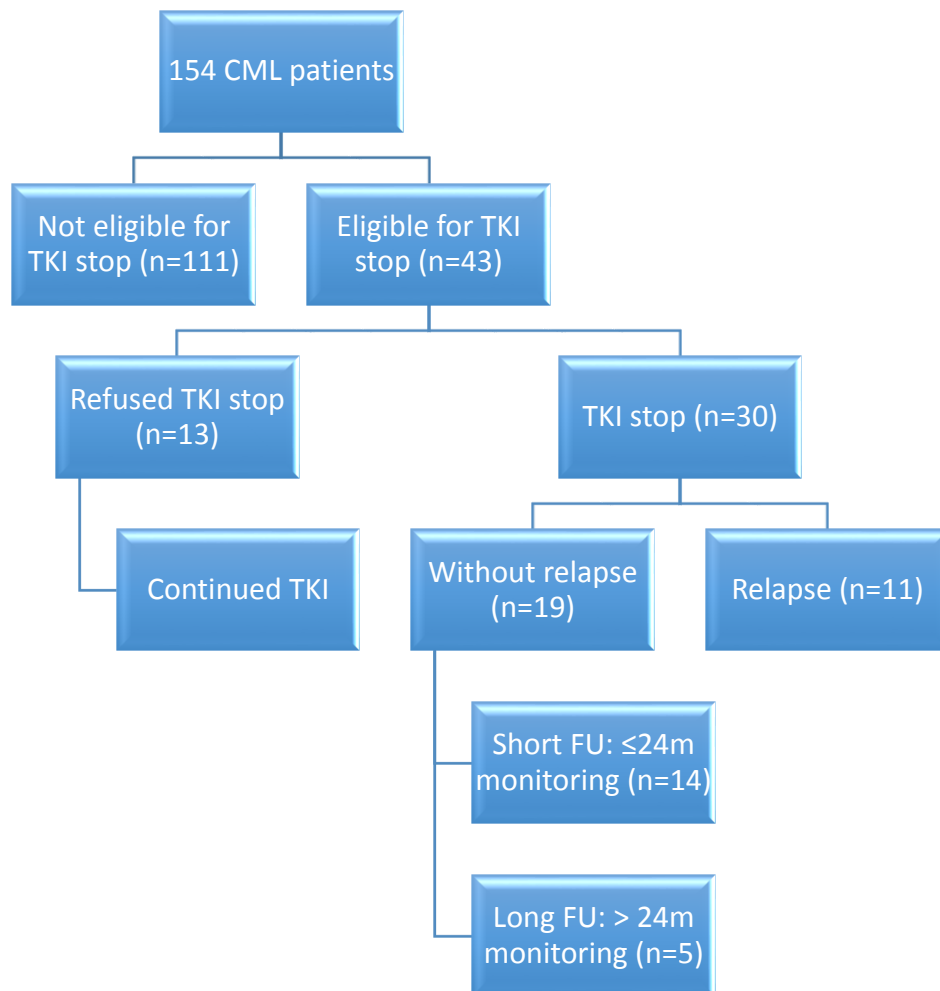
Figuur 2: Schematische weergave breukpuntvarianties. A. Variant breukpunten in 'major'-breukpuntregio (I, II), 'minor'-breukpuntregio (III) en μ -breukpuntregio (IV) van het BCR-gen en drie variant-ABL1-breukpunten rondom exon 1b en 1a (die na posttranscriptionele uitsplitsing van de exon-1-delen vrijwel altijd resulteren in een verbinding van het BCR-breukpunt met exon a2). B. Variant BCR-ABL1-mRNA-transcripten, fusiegenen en eiwitproducten (30, 32).



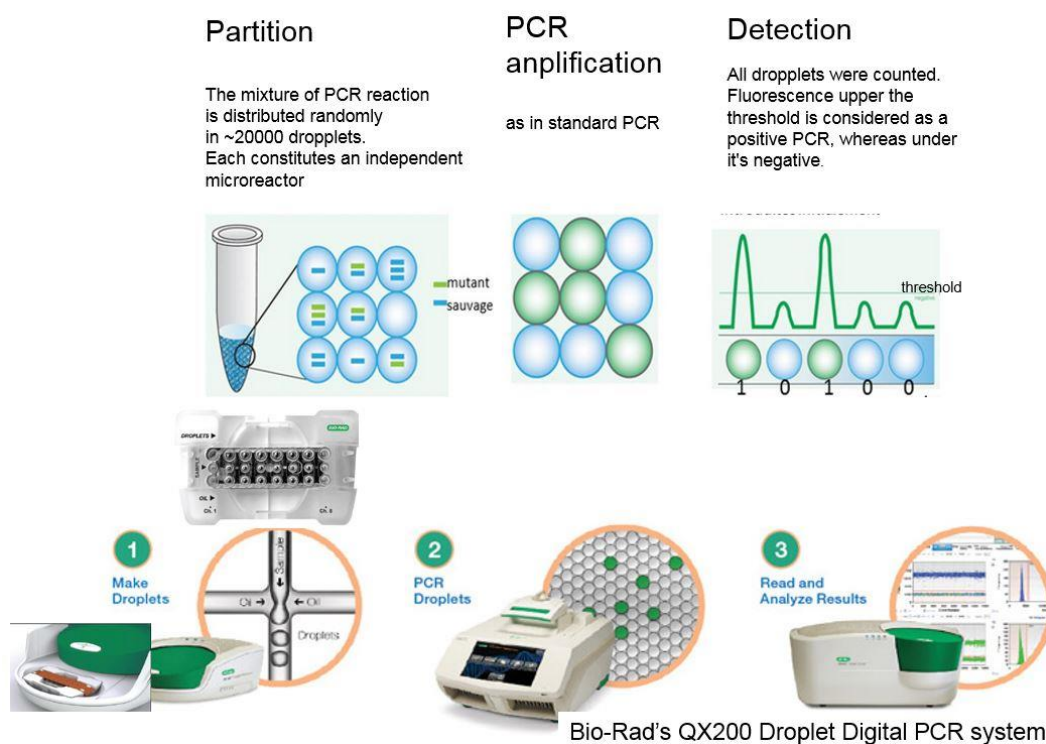
Figuur 3: Internationale schaal (IS) (33)



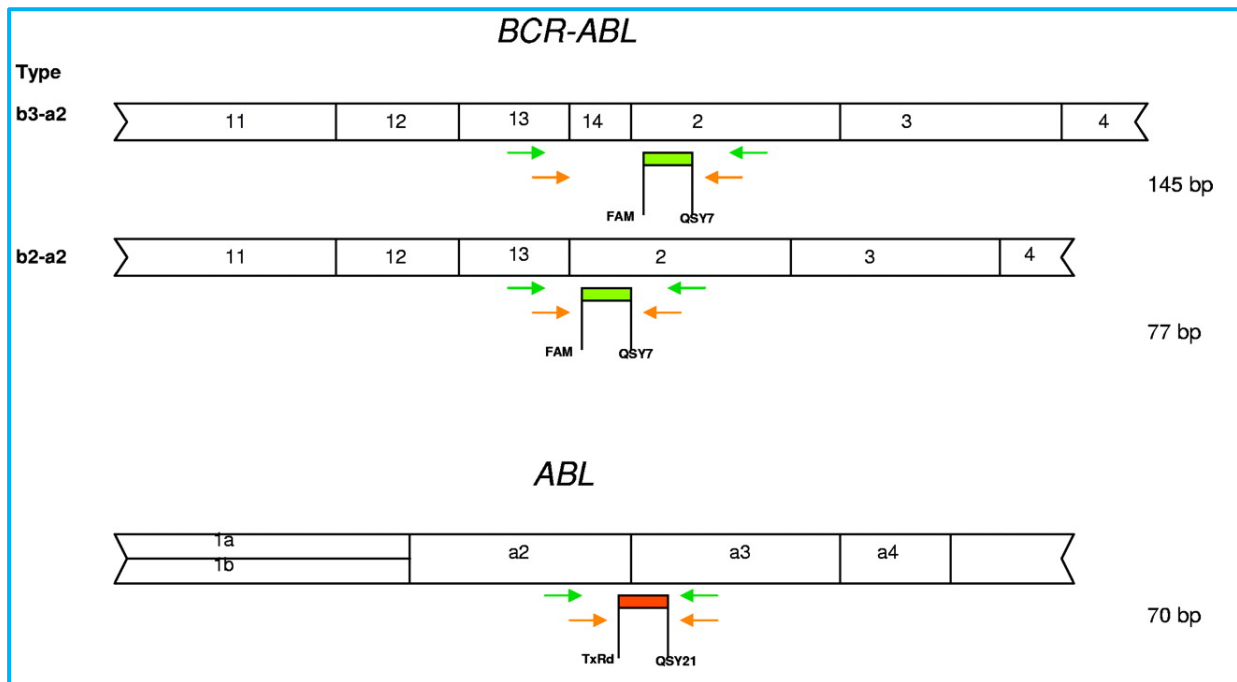
Figuur 4: Actiemechanisme van STI571/Imatinib (34).



Figuur 5: Inclusie en opvolging van CML patiënten te UZ Leuven (n = aantal patiënten)

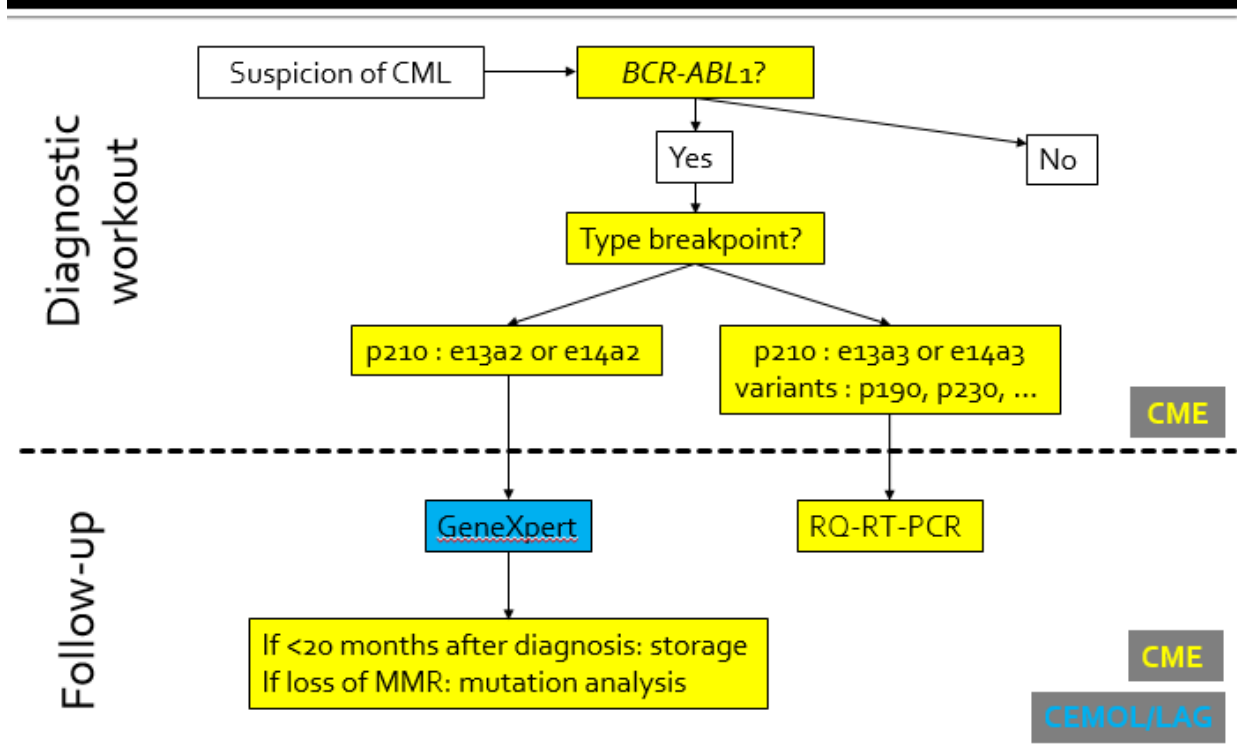


Figuur 6: Werking droplet digitale PCR (Bio-Rad)



Figuur 7: Multiplex nested qRT-PCR via GeneXpert

Flowchart CML samples



Figuur 8: Flowchart CML stalen te UZ Leuven

1. NCCN Clinical practice guidelines in oncology. Chronic Myeloid Leukemia Version 1.2018 - July 26, 2017.
2. Hochhaus A, Saussele S, Rosti G, Mahon FX, Janssen J, Hjorth-Hansen H, et al. Chronic myeloid leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2017;28(suppl_4):iv41–iv51. doi: 10.1093/annonc/mdx219.
3. Baccarani M, Castagnetti F, Gugliotta G, Rosti G. A review of the European LeukemiaNet recommendations for the management of CML. *Ann Hematol.* 2015;94(Suppl 2):S141–S147. doi: 10.1007/s00277-015-2322-2.
4. Hughes TP, Ross DM. Moving treatment-free remission into mainstream clinical practice in CML. *Blood.* 2016;128(1):17–23. doi: 10.1182/blood-2016-01-694265.
5. Rousselot P, Huguet F, Rea D, Legros L, Cayuela JM, Maarek O, et al. Imatinib mesylate discontinuation in patients with chronic myelogenous leukemia in complete molecular remission for more than 2 years. *Blood.* 2007;109(1):58–60. doi: 10.1182/blood-2006-03-011239.
6. Etienne G, Guilhot J, Rea D, Rigal-Huguet F, Nicolini F, Charbonnier A, et al. Long-term follow-up of the French Stop Imatinib (STIM1) study in patients with chronic myeloid leukemia. *J Clin Oncol.* 2017;35(3):298–305. doi: 10.1200/JCO.2016.68.2914.
7. Rousselot P, Charbonnier A, Cony-Makhoul P, Agape P, Nicolini FE, Varet B, et al. Loss of major molecular response as a trigger for restarting tyrosine kinase inhibitor therapy in patients with chronic-phase chronic myelogenous leukemia who have stopped imatinib after durable undetectable disease. *J Clin Oncol.* 2014;32(5):424–430. doi: 10.1200/JCO.2012.48.5797.
8. Takahashi N, Tauchi T, Kitamura K, Miyamura K, Saburi Y, Hatta Y, et al. Deeper molecular response is a predictive factor for treatment-free remission after imatinib discontinuation in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia: the JALSG-STIM213 study. *Int J Hematol.* 2017; 10.1007/s12185-017-2334-x.
9. Ross DM, Branford S, Seymour JF, Schwarzer AP, Arthur C, Yeung DT, et al. Safety and efficacy of imatinib cessation for CML patients with stable undetectable minimal residual disease: results from the TWISTER study. *Blood.* 2013;122(4):515–522. doi: 10.1182/blood-2013-02-483750
10. Thielen N, van der Holt B, Cornelissen JJ, Verhoef GE, Gussinklo T, Biemond BJ, et al. Imatinib discontinuation in chronic phase myeloid leukaemia patients in sustained complete molecular response: a randomised trial of the Dutch-Belgian Cooperative Trial for Haemato-Oncology (HOVON) *Eur J Cancer.* 2013;49(15):3242–3246. doi: 10.1016/j.ejca.2013.06.018
11. Mori S, Vagge E, le Coutre P, Abruzzese E, Martino B, Pungolino E, et al. Age and dPCR can predict relapse in CML patients who discontinued imatinib: the ISAV study. *Am J Hematol.* 2015;90(10):910–914. doi: 10.1002/ajh.24120.

12. Richter J, Mahon FX, Guilhot J, Hjorth-Hansen H, Almedia A, Janssen JJ, et al. Stopping tyrosine kinase inhibitors in a very large cohort of European chronic myeloid leukemia patients: Results of the EURO-SKI trial. 21st EHA Congress; Copenhagen, Denmark: Haematologica. 2016;101, S145.
13. Clark R, Polydoros F, Apperley J, Pocock C, Smith G, Byrne J, et al. Initial reduction of therapy before complete withdrawal improves the chance of successful treatment discontinuation in chronic myeloid leukaemia (CML): year 2 results in the British DESTINY study. 22nd EHA Congress; Madrid, Spain: Haematologica. 2017;102, S423.
14. Fava C, Rege-Carmbrin G, Dogliotti I, Cerrano M, Berchialla P, Rosti G, et al. Observational study of CML Italian patients who discontinued TKIs. 59th ASH Annual Meeting; Atlanta, GA: Blood. 2017;130, A1616.
15. Ross D, Massri T, Gómez Casares MT, Hellman A, Stentoft J, Conneally E, et al. Durable treatment-free remission (TFR) following frontline nilotinib (NIL) in patients (PTS) with chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP): ENESTfreedom 96-wk update. 22nd Congress of EHA; Madrid, Spain: Haematologica. 2017;102, P601.
16. Hughes T, Boquimpani C, Takahashi N, Benyamini N, Clementino NC, Shuvaey V, et al. Durable treatment-free remission (TFR) after stopping second-line nilotinib (NIL) in patients (PTS) with chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP): ENESTOP 96-wk update. 22nd EHA Congress; Madrid, Spain: Haematologica. 2017;102, P257.
17. Rea D, Nicolini FE, Tulliez M, Guilhot F, Guilhot J, Guerci-Bresler A, et al. Discontinuation of dasatinib or nilotinib in chronic myeloid leukemia: interim analysis of the STOP 2G-TKI study. Blood. 2017;129(7):846–854. doi: 10.1182/blood-2016-09-742205.
18. Hughes TP, Branford S. et al. Monitoring disease response to tyrosine kinase inhibitor therapy in CML. Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology. American Society of Hematology. Education Program. 1. 477-87. 10.1182/asheducation-2009.1.477.
19. Berdeja JG, Heinrich MC et al. Rates of deep molecular response by digital and conventional PCR with frontline nilotinib in newly diagnosed chronic myeloid leukemia: a landmark analysis. Leukemia & Lymphoma. 2019. doi:10.1080/10428194.2019.1590569.
20. Spiess B, Rinaldetti S, et al. Diagnostic performance of the molecular BCR-ABL1 monitoring system may impact on inclusion of CML patients in stopping trials. Plos One. 2019. 14(3):e0214305. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214305>.
21. Laneuville P. When to Stop Tyrosine Kinase Inhibitors for the Treatment of Chronic Myeloid Leukemia. Curr Treat Options Oncol. 2018 Mar 8;19(3):15. doi: 10.1007/s11864-018-0532-2. PubMed PMID: 29520446; PubMed Central PMCID: PMC5842492.
22. Traer E, Deininger MW. How much and how long: tyrosine kinase inhibitor therapy in chronic myeloid leukemia. Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2010 Jun;10 Suppl 1:S20-6. doi: 10.3816/CLML.2010.s.003.

23. Elsayed AG, Srivastava R, Jamil MO. Treatment-Free Remission: a New Therapeutic Goal in Chronic Myelogenous Leukemia. *Curr Oncol Rep*. 2017 Oct 7;19(12):77. doi: 10.1007/s11912-017-0642-1.
24. Rea D, Mahon FX. How I manage relapse of chronic myeloid leukaemia after stopping tyrosine kinase inhibitor therapy. *Br J Haematol*. 2018 Jan;180(1):24-32. doi: 10.1111/bjh.14973. Epub 2017 Oct 19.
25. Kimura S. Current status of ABL tyrosine kinase inhibitors stop studies for chronic myeloid leukemia. *Stem Cell Investig*. 2016 Aug 9;3:36. doi: 10.21037/sci.2016.07.08. eCollection 2016.
26. Narra RK, Flynn KE, Atallah E. Chronic Myeloid Leukemia-the Promise of Tyrosine Kinase Inhibitor Discontinuation. *Curr Hematol Malig Rep*. 2017 Oct;12(5):415-423. doi: 10.1007/s11899-017-0404-z.
27. Furuya D, Moriai M et al. Analysis of major BCR-ABL1 mRNA by digital polymerase chain reaction is useful for prediction of international scale. *Int J Clin Oncol*. 2019 Feb 23. doi: 10.1007/s10147-019-01419-9.
28. Cerveira N, Loureiro B et al. Discontinuation of tyrosine kinase inhibitors in CML patients in real-world clinical practice at a single institution. *BMC Cancer*. 2018 Dec 12;18(1):1245. doi: 10.1186/s12885-018-5167-y.
29. Alikian M, Gale RP et al. Molecular techniques for the personalised management of patients with chronic myeloid leukaemia. *Biomol Detect Quantif*. 2017 Feb 14;11:4-20. doi: 10.1016/j.bdq.2017.01.001. eCollection 2017 Mar.
30. Geelen IGP, Valk PJM et al. Genetic changes in chronic myeloid leukemia with t(9;22)(q34;q11)/BCR-ABL1: background and clinical consequences. *Nederlands tijdschrift voor hematologie*. 2017;14:162-70.
31. BCR-ABL fusion gene. *NCI Dictionary of Cancer Terms* <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/bcr-abl-fusion-gene>
32. Melo JV. The diversity of BCR-ABL fusion proteins and their relationship to leukemia phenotype. *Blood* 1996;88(7):2375-84.
33. CML Support 2015. *International standardisation (I.S.) of test results*. https://www.cmlsupport.org.uk/section/international-standardisation-test-results?fbclid=IwAR2j0wy6a_fv9Mn3sqB7GuUfplXw92FFVnnIcuEa78-eAD9l6qmrHkVAvg
34. Mauro MJ et al. STI571: Targeting BCR-ABL as Therapy for CML. *The Oncologist*. June 2001 vol. 6 no. 3 233-238.
35. Cepheid Innovation. *Xpert® BCR-ABL Ultra. Ultra-Sensitive BCR-ABL Monitor handleiding* 2015.

36. *Bio-Rad. QX200™ Droplet Generator Instruction Manual 2014.*

37. *Bio-Rad. QX200™ Droplet Reader and QuantaSoft™ Software Instruction Manual 2014.*