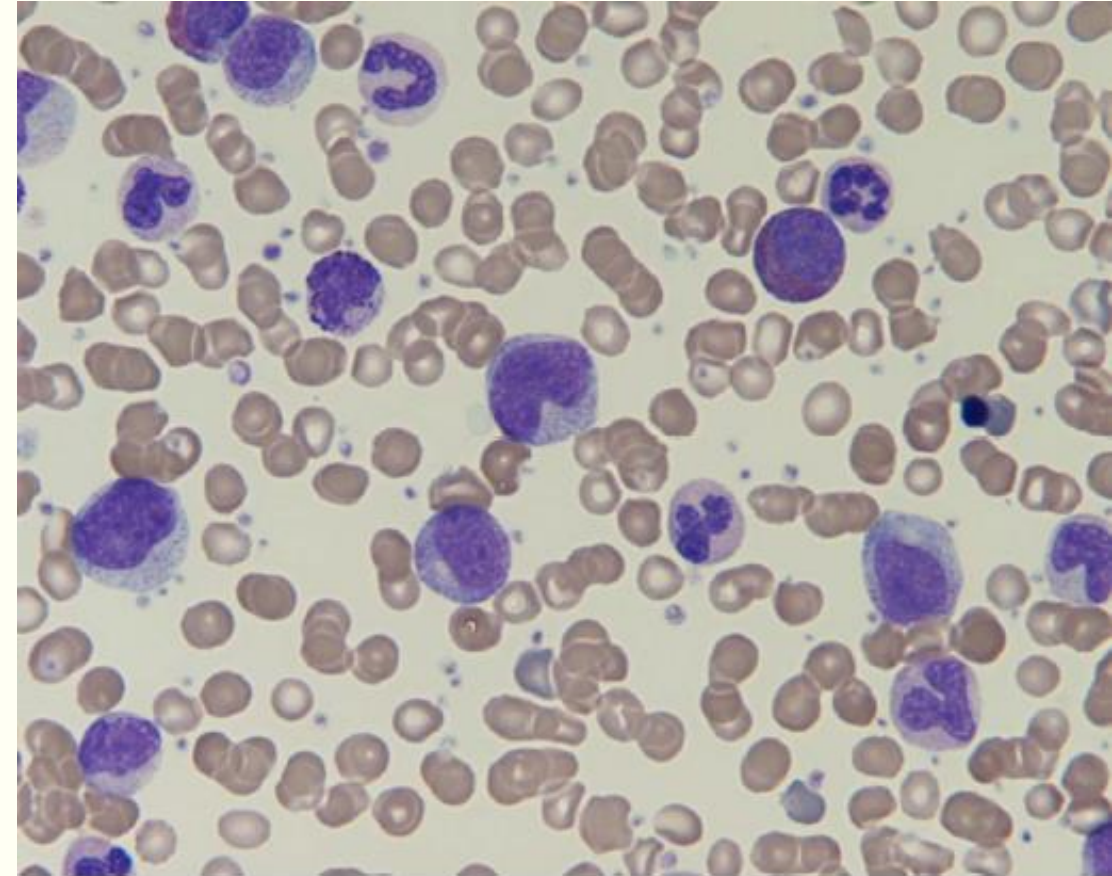


KWANTITATIEVE MONITORING VAN *BCR-ABL1* FUSIEGEN TRANSCRIPTEN BIJ CML PATIËNTEN NA STOP VAN TKI THERAPIE

D'Haese Sylvie

Promotor: Prof. Dr. Boeckx Nancy

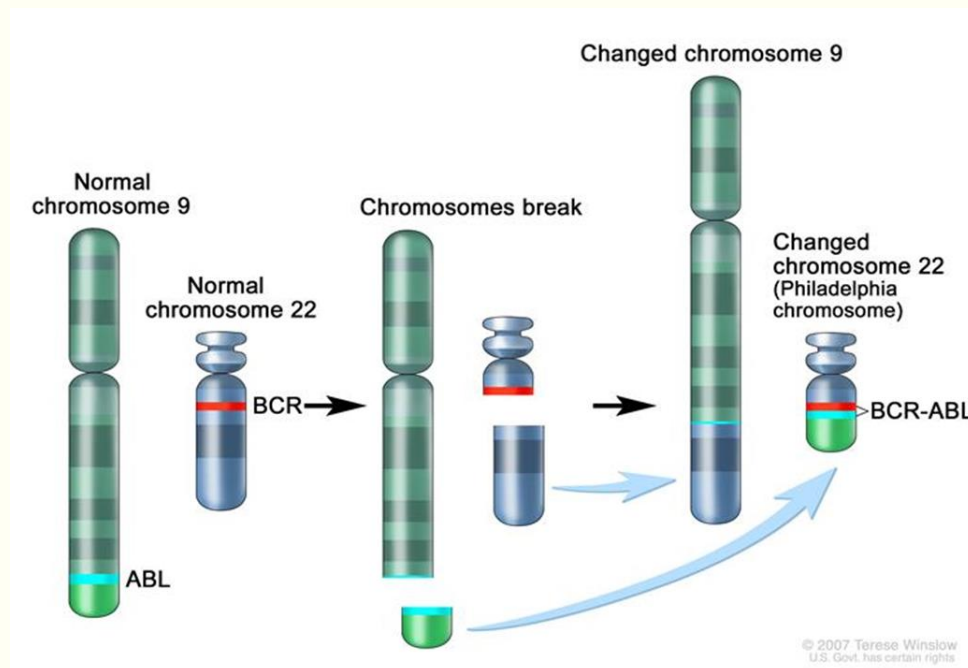


Inhoud

- Inleiding
- Questions
- Besluit
- To do

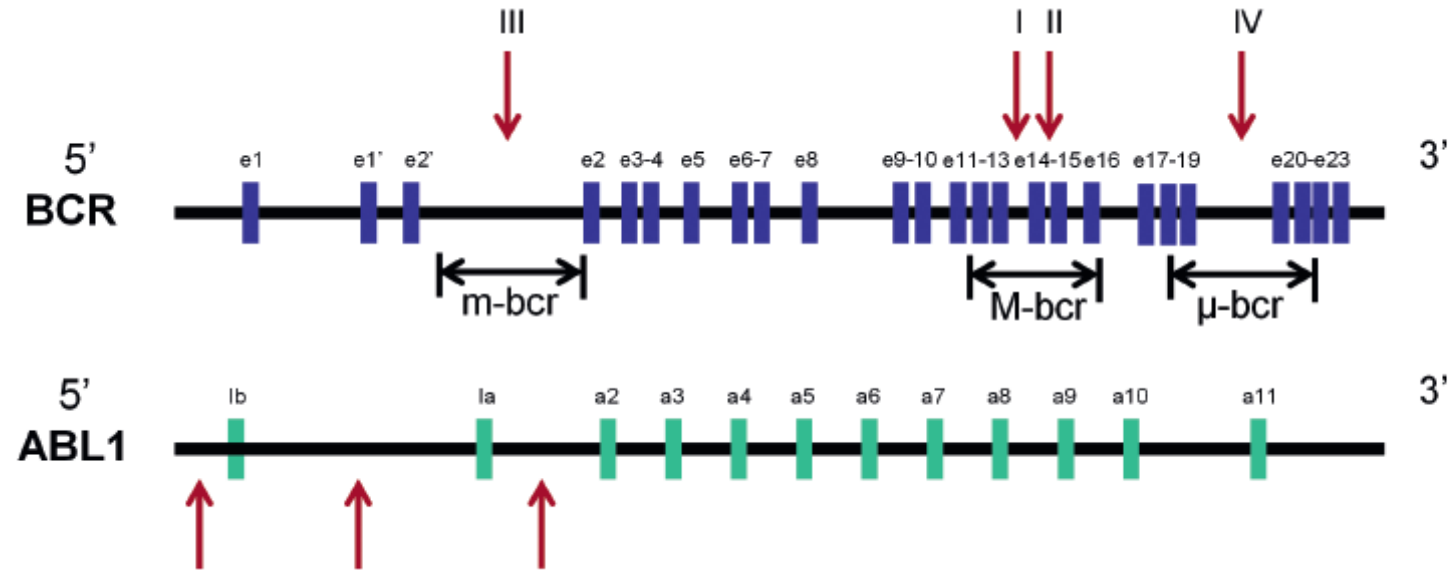
Inleiding chronische myeloïde leukemie (CML)

- Klinisch verloop in 3 fasen
 - chronische fase (2-5 jaar)
 - acceleratie fase (6-18 maanden)
 - acute fase of blastencrisis = acute leukemie (3-4 maanden)
- Chromosomale translocatie (9;22) → *BCR-ABL1* fusiegen/Philadelphia chromosoom



Breekpuntregio's

- Major (M-BCR)
- Minor (m-BCR)
- Micro (μ -BCR)



I. Major *BCR* breukpunt e13
(M-bcr)



II. Major *BCR* breukpunt e14
(M-bcr)



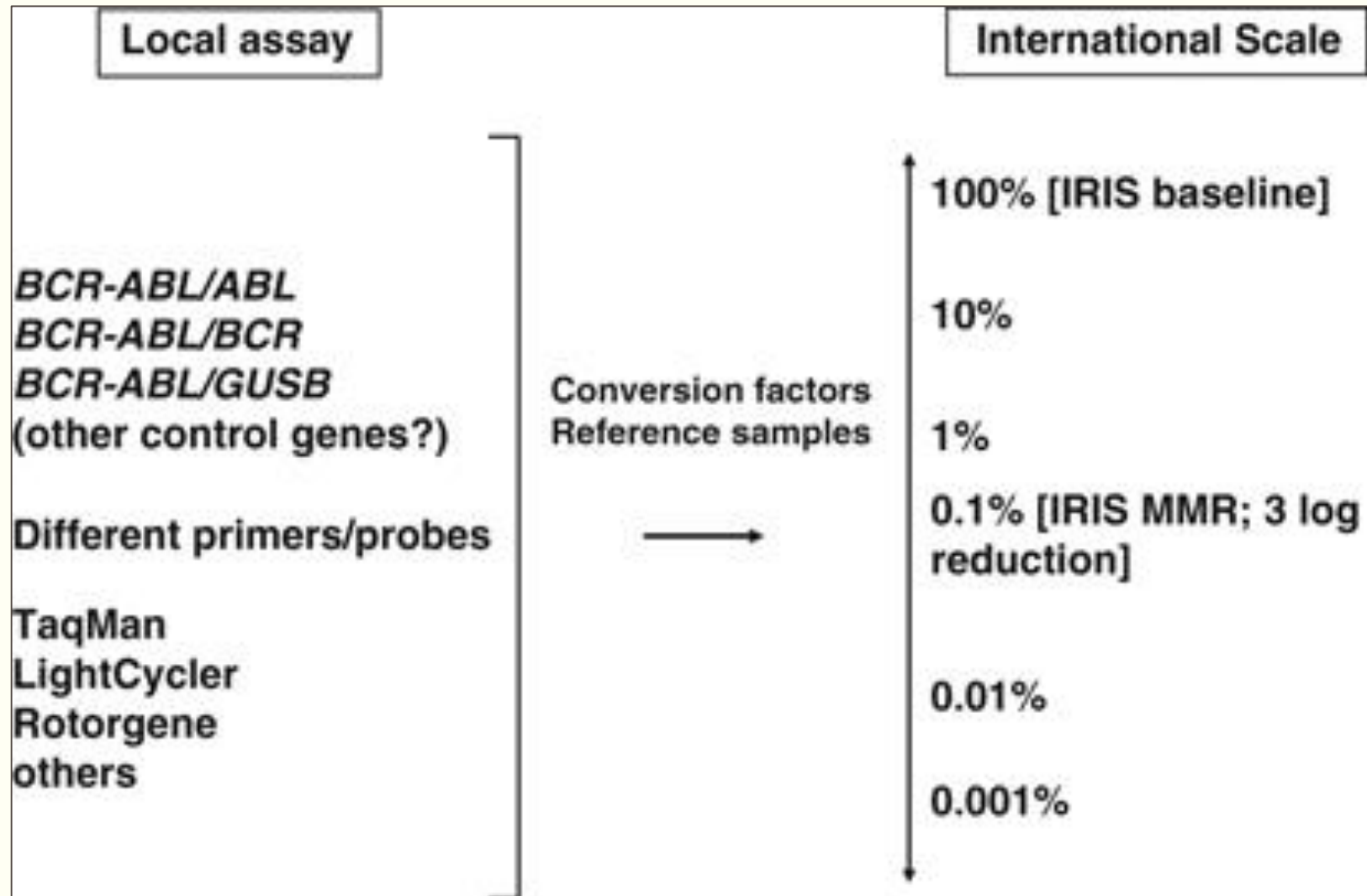
III. Minor *BCR* breukpunt e1
(m-bcr)



IV. Mu *BCR* breukpunt e19
(μ -bcr)



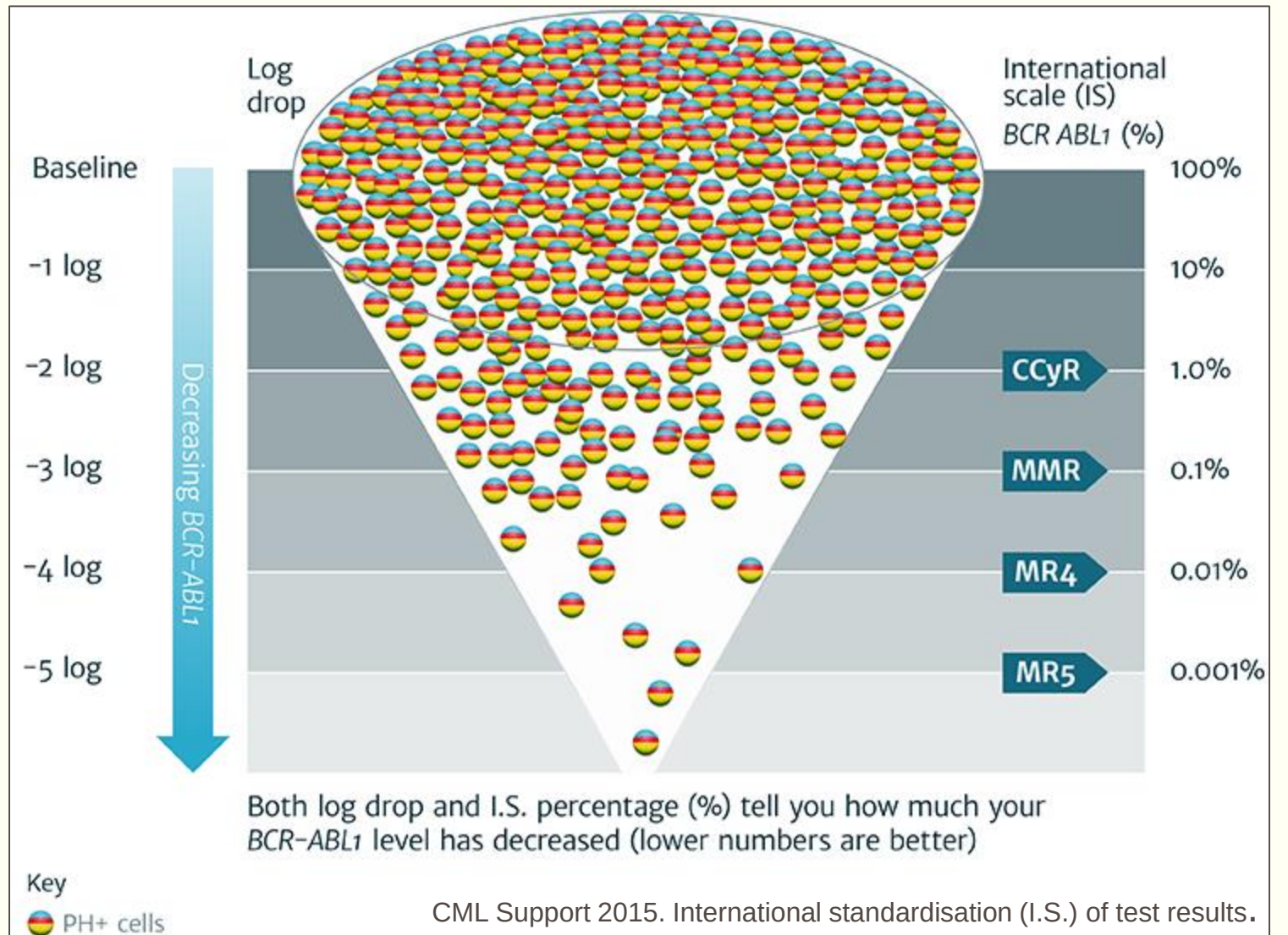
Internationale schaal (IS)



Internationale schaal (IS)

- MMR (MR3)
- DMR ($\geq$ MR4)
- UMRD ($\geq$ MR4.5)

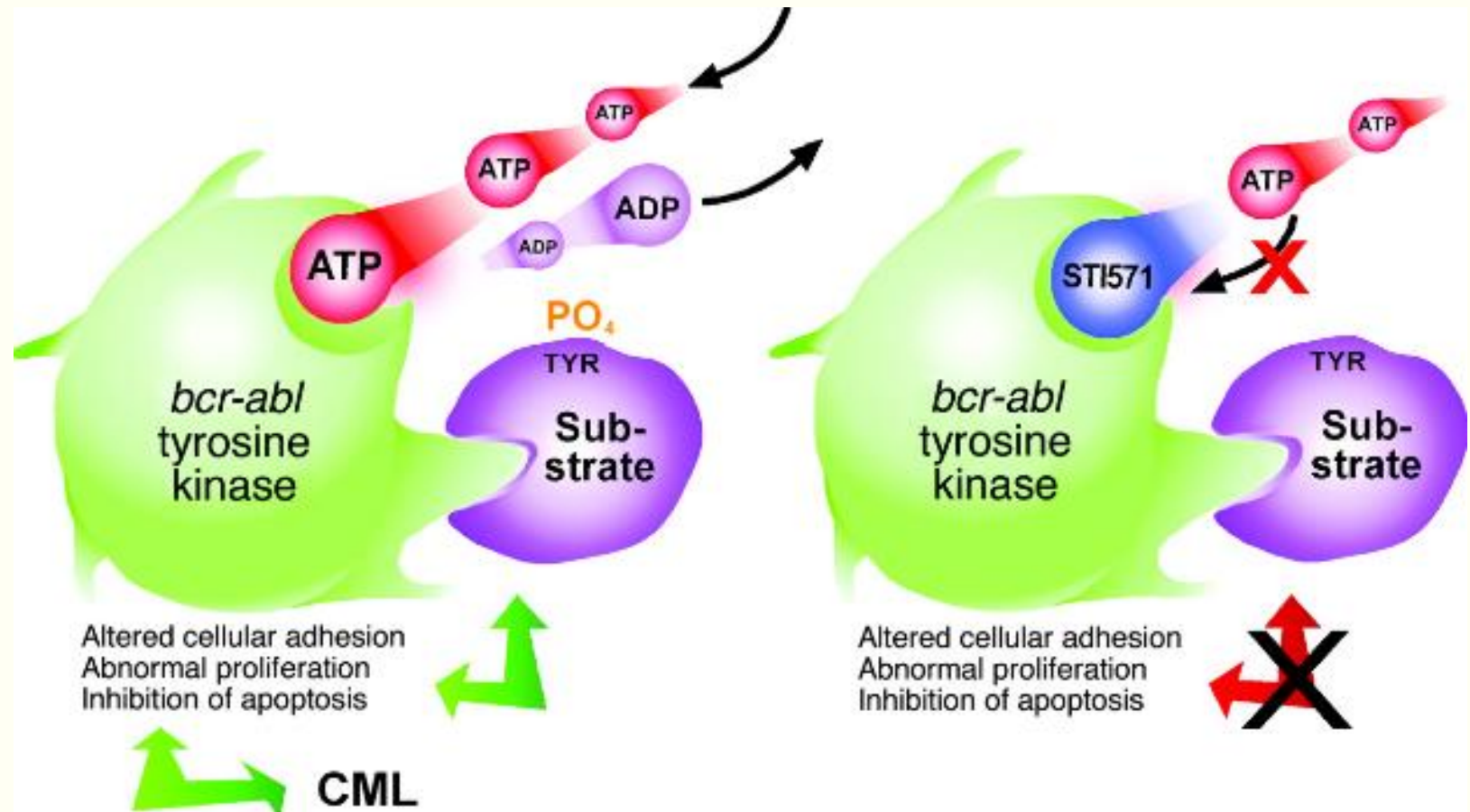
$$\%IS = \frac{BCR - ABL \text{ copies}}{ABL \text{ copies}} * 100 * CF$$



BCR-ABL tyrosine kinase

Tyrosine kinase inhibitoren (TKI)

- 1^{ste} generatie
Imatinib (Gleevec®)
- 2^{de} generatie
Nilotinib (Tasigna®)
Dasatinib (Sprycel®)
- 3^{de} generatie
Ponatinib (Iclusig®)
bij T315I mutatie
- 4^{de} generatie
Asciminib



Questions

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

Wat zijn de huidige richtlijnen omtrent de stop van tyrosine kinase inhibitoren?

Expert opinie

Richtlijnen

Criteria	Expert opinie			Richtlijnen	
	Green	Hughes* [52] Yellow	Red	NCCN** [2]	ESMO** [53]
CML past history	CP only	Resistance or KD mutation	AP/BP	CP only	CP only
Sokal	Non-high	High	NA		Non-high
Response to TKI therapy	Optimal	Warning	Failure	No resistance	Optimal
<i>BCR-ABL1</i> transcript	Typical	Quantifiable atypical	Not quantifiable	Measurable	Measurable
Duration TKI	≥ 8 years	3–8 years	< 3 years	≥ 3 years	≥ 5 years
DMR	≤ MR4.5	≤ MR4.0	> MR4.0	≤ MR4.0	≤ MR4.5
Duration DMR	≥ 2 years	1–2 years	< 1 year	≥ 2 years	≤ MR4 ≥ 2 years
Retreatment				Loss MMR	
PCR sensitivity	≤ MR4.5				≤ MR4.5
Frequency of monitoring		Q1M 1st 6 months, Q2–3 months			Q1M × 6, Q6W × 6M, Q3M
PCR result turnaround time	≤ 4 weeks			≤ 2 weeks	Q1M × 6, Q6W × 6, Q3M

Klinische studies

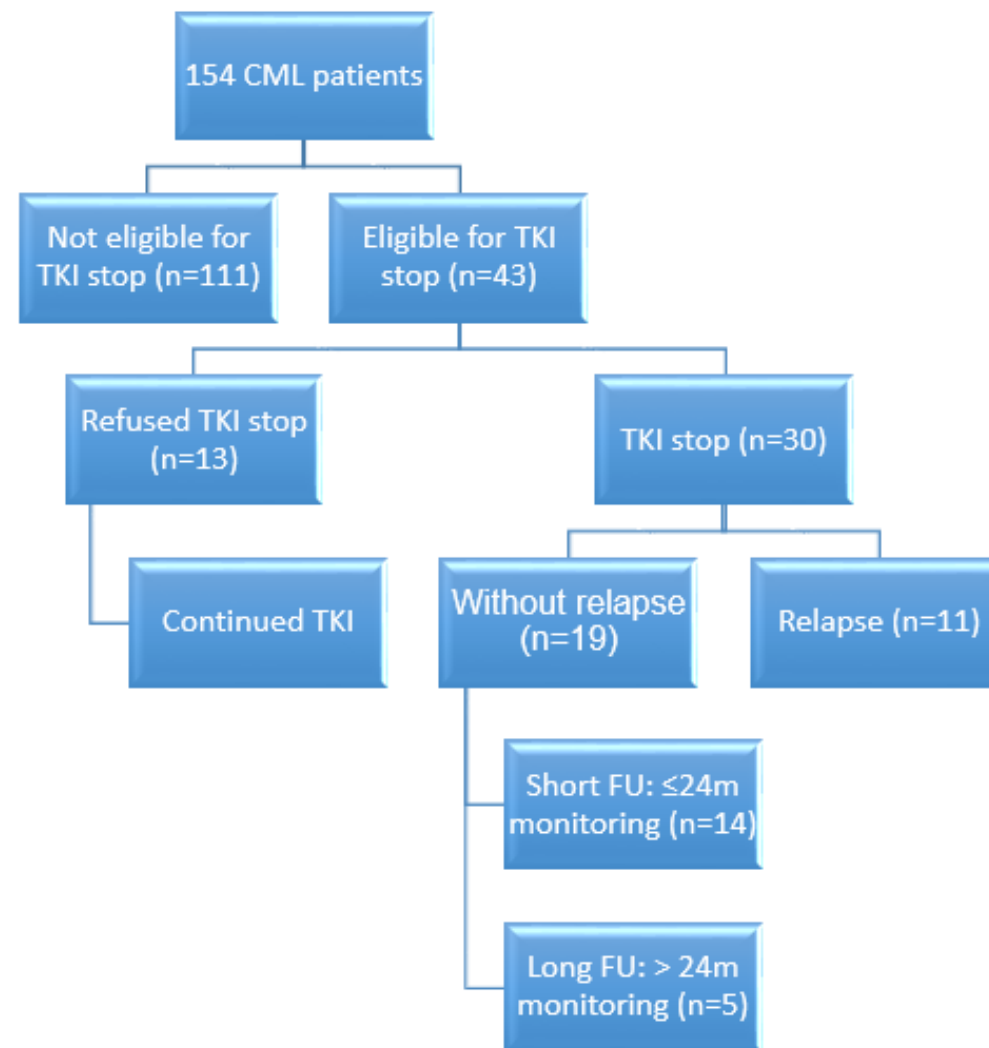
Study	# Pts	1st-line TKI	2nd-line/ consolidation TKI	Median duration TKI (years)	Stable DMR at STOP	Median duration DMR (years)	Retreatment criteria	Follow-up (years)	Time TFR (years)	Rate TFR (%)
A-STIM [6]	80	I (100%)		6.58	UMRD	3.42	> MMR	2.58	2	64
DADI [7]	63	I (100%)	D (100%)	6.83	0.0069% ^{IS}	NR	> 0.0069% ^{IS}	1.67	1	48
DASFREE [23]	84	I (85%), D	D (100%)	5.91	MR4.5	NR	> MMR	NR	1	49
Destiny* [15, 29]	117	I (84%), D (8%), N (4%)		6.80	MR4.0*	NR	> MMR	NR	2	77
D-STOP [19]	54	I (61%), D (39%)	D (100%)	7.66	UMRD	4.25	> MR4.0	1.5	1	62.9
ENESTfreedom [22]	190	N (100%)	N (100%)	3.58	MR4.5	2.52	> MMR	NR	1.85	48.9
ENESTon [16]	126	I (100%)	N (100%)	7.3	MR4.5	3.65	> MR4 × 2, > MMR × 1	1.9	1.85	53.2
Euro-Ski [21]	750	I (94%), N/D	15% D/N/I	7.58	MR4.0	2.98	> MMR	0.83	2	51
Ginema [26]	293	I (72%), N (20%), D (8%)		6.42	MR4.0	3.83	Variable	2.83	1	68
Hovon [12]	15	I (100%)		8.17	MR4.5	NR	> 1 log/> MMR	3.6	2	33
ISAV [9]	112	I (100%)		8.59	UMRD	2.14	> UMRD × 2, > MMR	1.8	3	51.9
Japan [28]	43	I (100%)		3.77	UMRD	2.28	> MMR × 2	1.87	5	47
Keio [20]	53	I (91%), N (8%), D (1%)		8.16	UMRD	3.17	> 100 copies <i>BCRABL</i>	NR	2	52.8
KID [8]	90	I (100%)		6.73	UMRD	3.32	> MMR × 2	2.22	2	58.5
Korea [27]	24	I (67%), D (21%), B (12%)		6.42	UMRD	4.16	> MMR	3.04	2	59.7
LAST [14]	173	I (60%), N (23%), D (15%), B (2%)		6.58	MR4.0	NR	> MMR	1.025	1	60
MDA** [25]	27	I (77%), D (11%), N (6%), B (6%)		8.0	UMRD	5.25	> UMRD	1.33	1.5	59
NILst [17]	87	I/N	N (100%)	8.6	MR4.5	2–12 Y	> MR4.5 × 2	1.11	1	58.9
STAT2*** [24]	73	I/N	N (100%)	8.52	MR4.5	2 ^{&} , 2.58 ^{&&}	> MR4.5 × 2	NR	1	67.9
STIM1 [4]	100	I (100%)		4.9	UMRD	3.03	> UMRD × 2, > MMR	6.42	5	38
STIM123 [11]	68	I (100%)		8.125	MR4.5	4.5	> MMR	NR	1	67.6
STIM-Pilot [5]	12	I (100%)		3.75	UMRD	2.67	> UMRD × 2	1.5	1.5	50
STOP 2G-TKI [10]	60	D/N 1 st L 13.3%, 2 nd L 66.7%, 3 rd L 20%		6.3	UMRD	2.42	> MMR	3.92	4	53.6
TRAD [18]	123	I (100%)		9.16	MR4.5	NR	> MR4 × 2, > MMR	NR	1	57.5
Twister [13]	40	I (100%)		5.92	UMRD	2.5	> UMRD × 2, > MMR	3.5	2	47.1

Labo-technische vereisten bij TKI stop

- accurate en gevoelige qRT-PCR test
 - LOD MR ≥ 4.0
 - LOQ MR ≥ 4.0
- snelle, acceptabele TAT
- rapporteren op IS
- indien *BCR-ABL1* waarden stijgen, snelle interventie

Welke richtlijnen worden in UZ Leuven toegepast?

- Lage of gemiddelde Sokal score
- Typisch *BCR-ABL1* transcript (e13a2 of e14a2)
- CML in chronische fase
- $\geq$ MR 4.5 voor meer dan 2 jaar
- Meer dan 8 jaar TKI gebruik



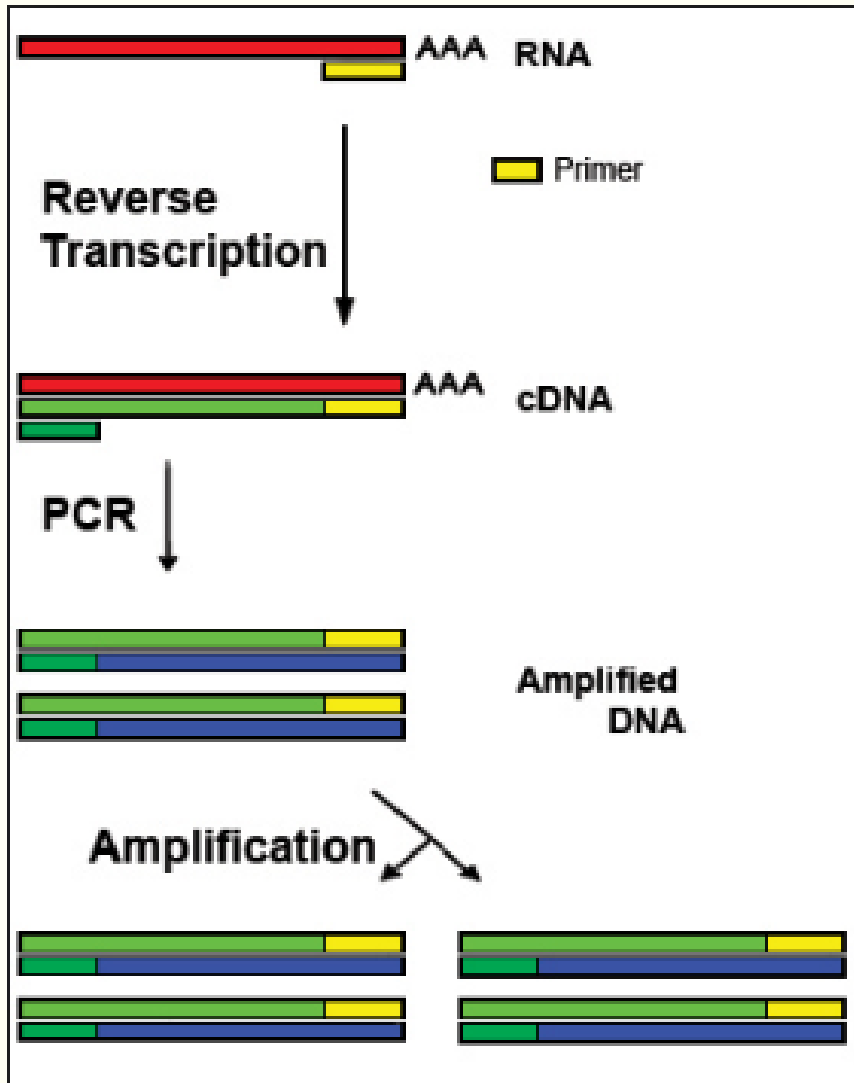
Studie UZ Leuven (2013-2019)

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

Hoe dient de stop van tyrosine kinase inhibitoren opgevolgd te worden?

- qRT-PCR
- ddPCR
- (cytogenetica)

qRT-PCR

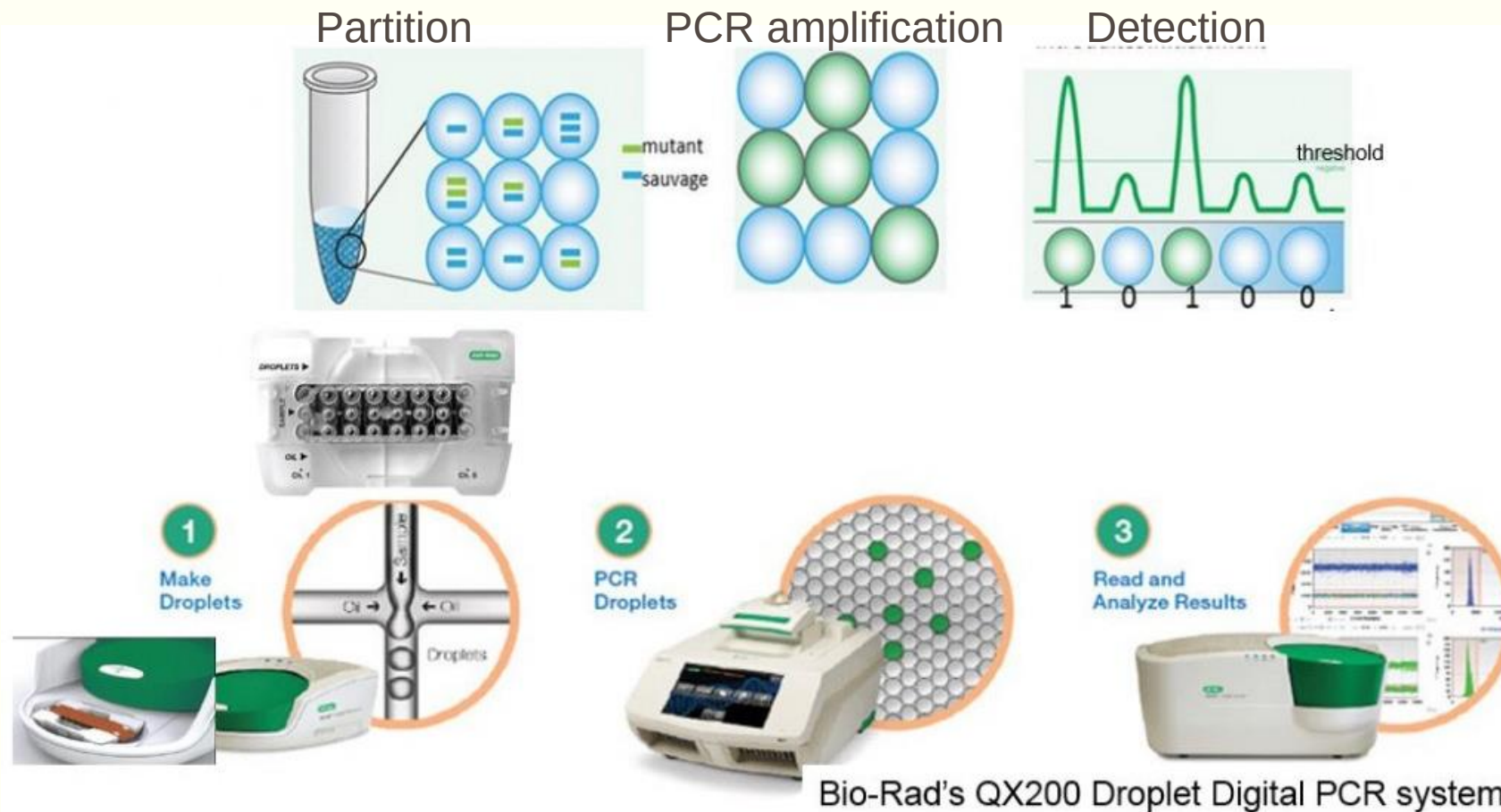


Detectielimiet = veelal MR 4.0 (0.01%) of
MR 4.5 (0.0032%)

ddPCR

= droplet digitale PCR

Detectielimiet = minstens MR4.5



Hoe dient de stop van tyrosine kinase inhibitoren opgevolgd te worden?

Richtlijnen NCCN en ESMO

- Maandelijks qRT-PCR gedurende de eerste 6 maanden
- 6-wekelijks gedurende de volgende 6 maanden
- Nadien om de 3 maanden
- Herbehandeling start bij verlies MMR

Hoe dient de stop van tyrosine kinase inhibitoren opgevolgd te worden?

Expert opinie

- Maandelijks qRT-PCR gedurende de eerste 6 maanden
- Nadien om de 3 maanden
- Herbehandeling start bij verlies UMRD

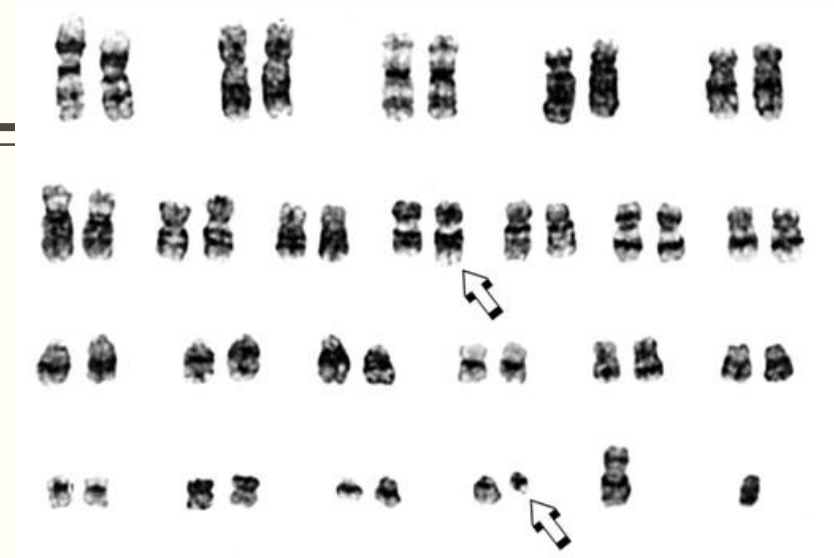
Hoe dient de stop van tyrosine kinase inhibitoren opgevolgd te worden?

Klinische studies

Criteria	STIM-Pilot	STIM1	A-STIM	STIM123	Twister	HOVON	ISAV	Euro-Ski	Destiny	Ginema	ENESTfreedom	ENESTop	STOP TKI
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 2m 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	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	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	Verlies van MMR	Verlies van MMR	Verlies van MMR	Verlies van MMR	Verlies van MMR of 2x DMR	Verlies van MMR

Cytogenetica

- Philadelphia chromosoom



Cytogenetisch (minimaal 20 metafasen geanalyseerd).

Minimale <i>cytogenetische</i> respons (MinCgR)	66 – 95% Ph+ metafasen
Minor <i>cytogenetische</i> respons (mCR)	36 – 65% Ph+ metafasen
Partiële <i>cytogenetische</i> respons (PCR)	1 – 35% Ph+ metafasen
Complete <i>cytogenetische</i> respons (CCR)	0% Ph+ metafasen
Major <i>cytogenetische</i> respons (= complete + partiële response)	< 35% Ph+ metafasen

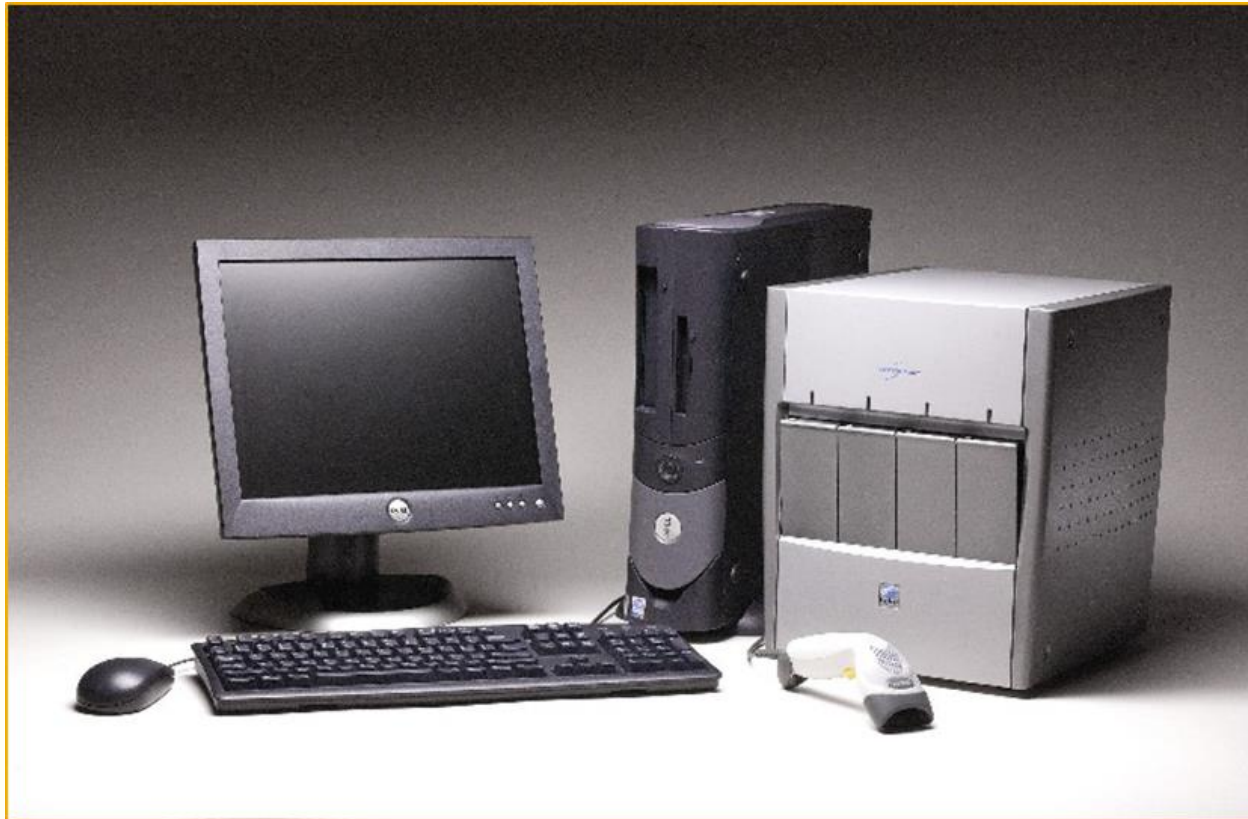
Hoe gebeurt dit in UZ Leuven?

- qRT-PCR dmv. GeneXpert Ultra (Cepheid) na TKI stop volgens BHS richtlijnen
 - maandelijks gedurende het eerste jaar
 - 2-maandelijks gedurende het tweede jaar
 - nadien om de 3 maanden
 - Herbehandeling start bij verlies van MMR bij 2 opeenvolgende metingen
- (Cytogenetica?)

Hoe gebeurt dit in UZ Leuven?

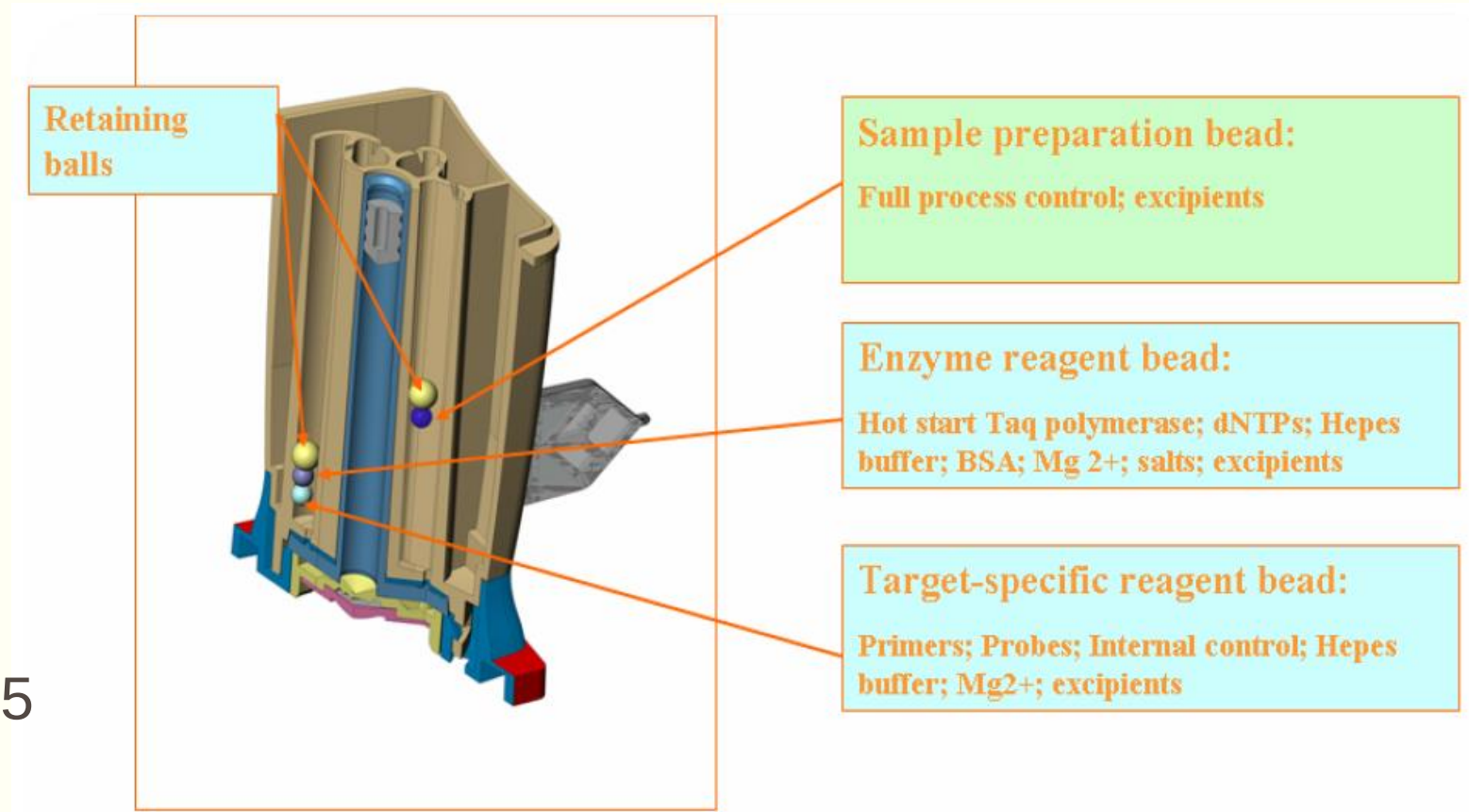
GeneXpert Ultra (Cepheid)

LOD= MR 4.5
LOQ= MR 4.5

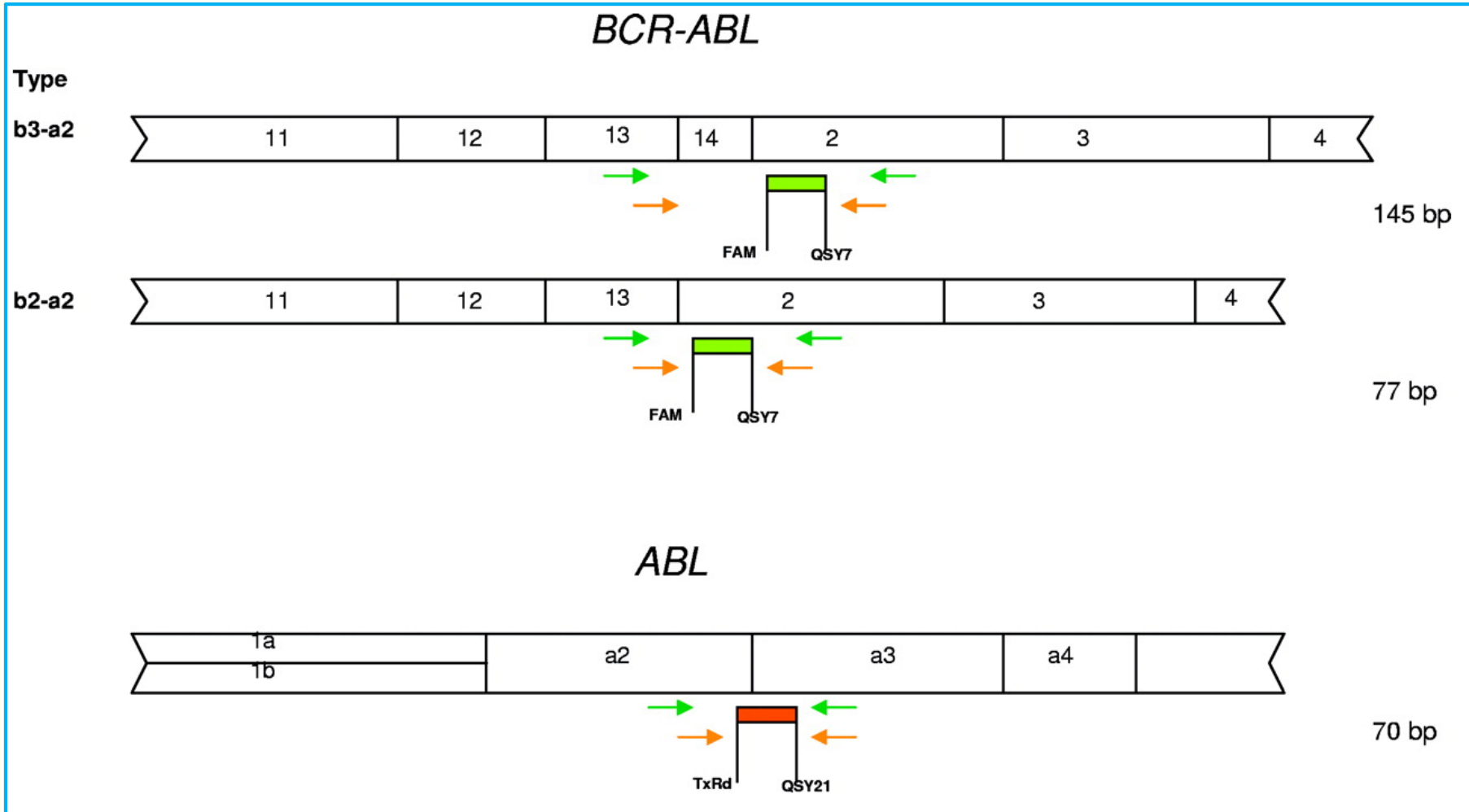


GeneXpert cartridge systeem

- Manuele voorbereiding
(PK, lysisbuffer, ethanol)
- Reacties in cartridge
 - RNA extractie
 - Reverse transcriptase stap
 - Nested-PCR (1° PCR: 15 cycli, 2° PCR: 35 cycli)



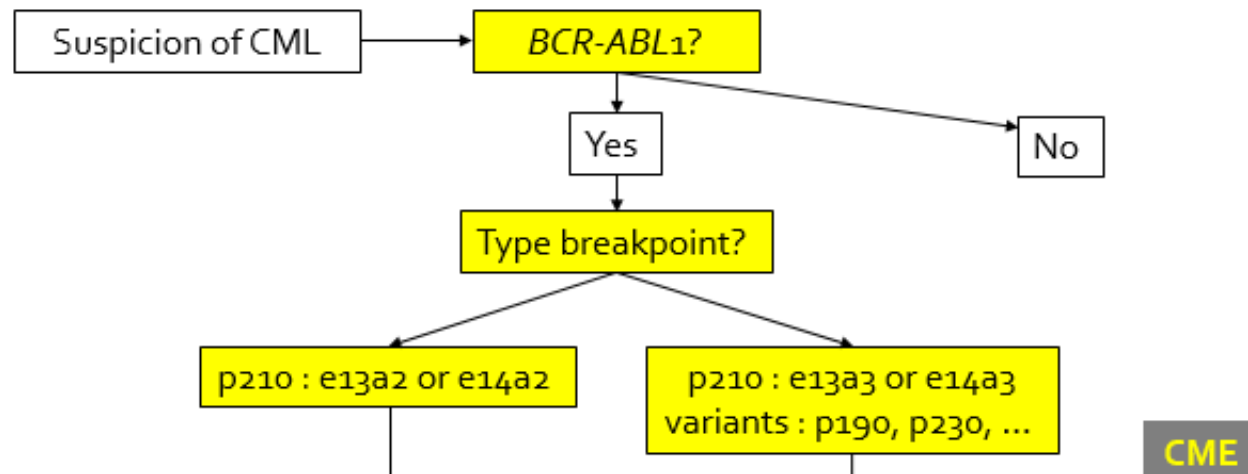
GeneXpert multiplex nested-PCR



Flowchart UZ Leuven

Flowchart CML samples

Diagnostic
workout



Follow-up

If <20 months after diagnosis: storage
If loss of MMR: mutation analysis

CME

CME

CEMOL/LAG

Labo-technische vereisten bij TKI stop

- accurate en gevoelige qRT-PCR test ✓
 - LOD MR ≥ 4.0
 - LOQ MR ≥ 4.0
- snelle, acceptabele TAT ✓
- rapporteren op IS ✓
- indien *BCR-ABL1* waarden stijgen, snelle interventie ✓

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

- qRT-PCR dmv. GeneXpert (Cepheid) volgens BHS richtlijnen
 - maandelijks gedurende het eerste jaar na TKI stop ---> 12 qRT-PCR
 - 2-maandelijks gedurende het tweede jaar ---> 6 qRT-PCR
 - Nadien om de 3 maanden → identiek aan geen TKI stop
- Workload ↗
- *BCR-ABL1* qRT-PCR
 - €80-€130/test (reagentia en personeel)
 - 4x/jaar terugbetaald door RIZIV/INAMI

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

- 30 CML patiënten TKI stop
 - maandelijks gedurende het eerste jaar na TKI stop ----> 231 qRT-PCR testen aangevraagd
----> indien geen TKI stop: 119 qRT-PCR testen
 - 2-maandelijks gedurende het tweede jaar ---> 58 qRT-PCR testen aangevraagd
---> indien geen TKI stop: 53 qRT-PCR testen
 - Nadien om de 3 maanden → aantal qRT-PCR testen identiek aan geen TKI stop

Gedurende eerste 2 jaren na TKI stop -----> 289 qRT-PCR testen aangevraagd
-----> indien geen TKI stop: 172 qRT-PCR testen

Workload 70%



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

- Niet-relaps (n=19)

- gedurende eerste 2 jaren na TKI stop ----> 192 qRT-PCR testen aangevraagd
----> indien geen TKI stop: 107 qRT-PCR testen

Workload 80% 

- Relaps (n=11)

- gedurende eerste 2 jaren na TKI stop ----> 97 qRT-PCR testen aangevraagd
----> indien geen TKI stop: 65 qRT-PCR testen

Workload 50% 

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

- Gedurende eerste 2 jaren na TKI stop -----> 289 qRT-PCR testen aangevraagd
-----> indien geen TKI stop: 172 qRT-PCR testen
-----> 117 bijkomstige qRT-PCR testen (€130/test) ☐ €15.210 extra kost

TKI therapie

- Imatinib (Gleevec®) €955 /30 dagen
 - Dasatinib (Sprycel®) €1503-2059 /30 dagen
 - Nilotinib (Tasigna®) €2136-4273 /30 dagen
 - Ponatinib (Iclusig®) €3150 /30 dagen
-
- Euro-Ski studie €22.000.000 besparing indien TKI stop (n=755)
 - Studie UZ Leuven (n=30)
- > n=23 Imatinib, n=5 Nilotinib, n=2 Dasatinib
- ☐ €500.000- €600.000 besparing

Besluit

Veilige TKI stop is mogelijk

- in een selecte groep patiënten die voldoen aan bepaalde criteria
- MITS goede monitoring van *BCR-ABL1* → workload labo 

→ financiële impact

To do

- *BCR-ABL1* testkit voor ddPCR uittesten in UZ Leuven
- terugbetalingsdossier qRT-PCR bij TKI stop (RIZIV/INAMI) opvolgen

Met dank aan

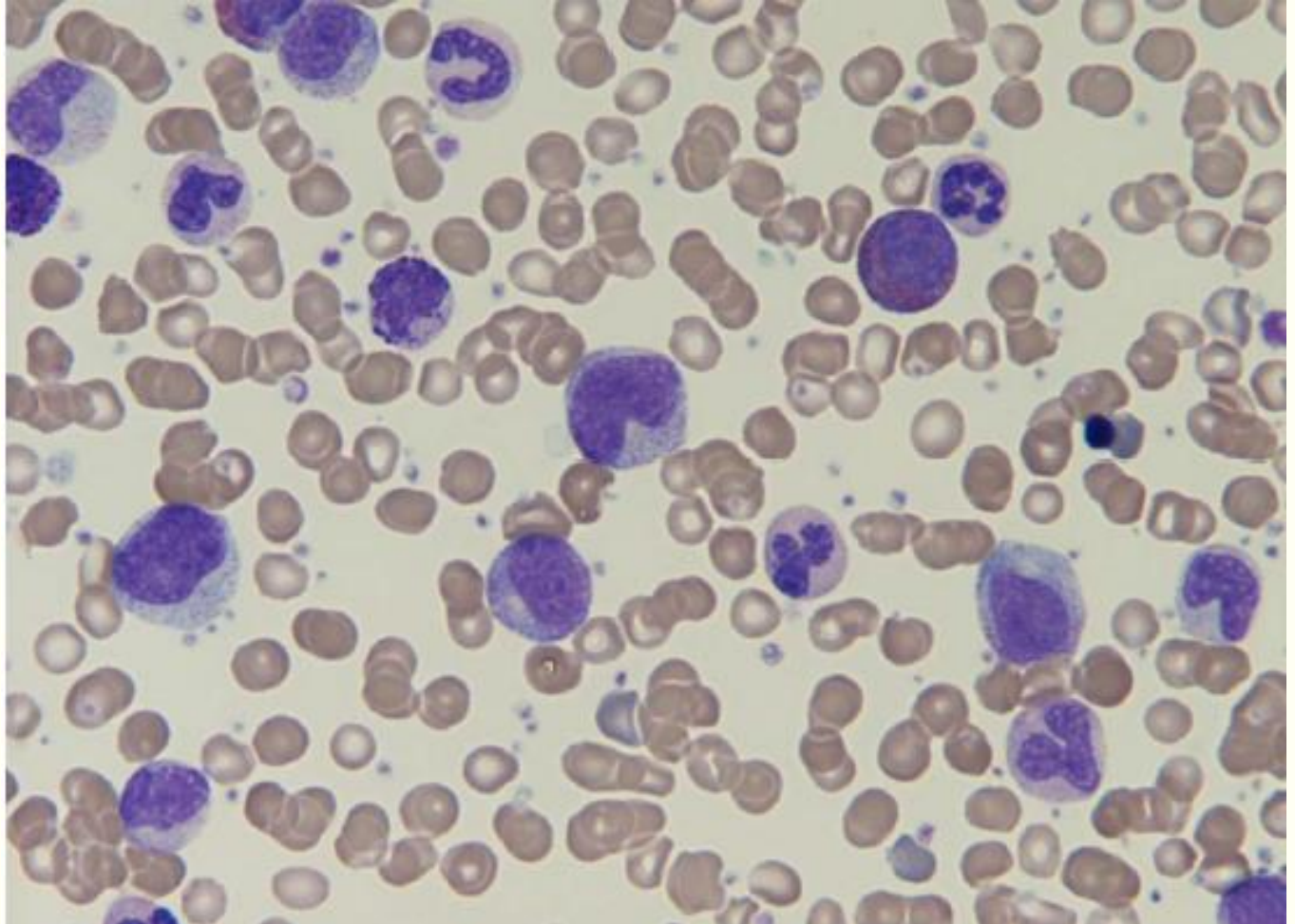
Prof. Dr. Boeckx Nancy

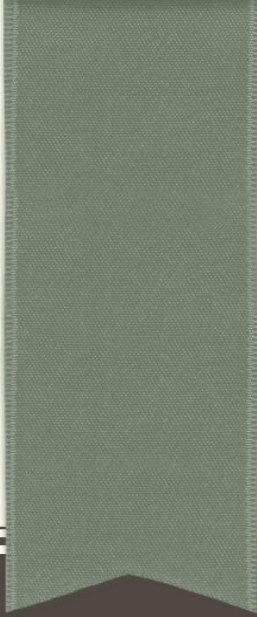
Promotor UZ Leuven

Jonas Van Ham

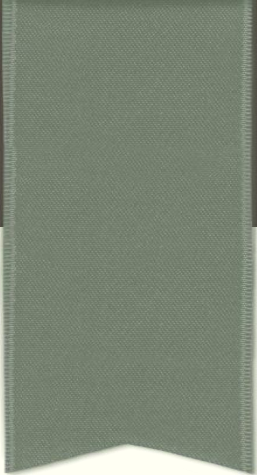
Clinical Support Manager
Hematologie UZ Leuven

Datamanager Studiebureau
Hematologie UZ Leuven





BEDANKT VOOR UW AANDACHT



VRAGEN?

