

# Molekulare MRD - Verlaufskontrolle

## Medizinische Leitlinie

Leitlinie erstellt von:	Priv.-Doz. Mag. Dr. Otto Zach (OKL Eli)
Leitlinie geprüft von:	OA Dr. Sigrid Machherndl-Spandl (OKL Eli); OA Dr. Michael Girschikofsky (OKL Eli); OA Dr. Gregor Aschauer (OKL BHS); Dr. Gerald Webersinke (OKL BHS), Prim. Dr. Ernst Rechberger (RI)
Fachliche Freigabe:	Priv.-Doz. Mag. Dr. Otto Zach Leitliniengruppe Protokoll v. 14.03.2018 Revision v. 06.03.2019

Diese Leitlinie ist eine Grundlage für die Diagnostik und Therapie innerhalb des Tumorzentrums gespag-Elisabethinen und erhebt nicht den Anspruch auf Vollständigkeit.

Darüberhinaus von den jeweiligen Fachgesellschaften festgelegte Qualitätsstandards sind dem Stand der Wissenschaft entsprechend anzubeziehen.

## Inhaltsverzeichnis

1	Allgemeines.....	2
2	Diagnostik und Scoring.....	3
2.1	CML.....	3
2.2	AML (fit for transplant) .....	4
2.3	ALL .....	7
2.4	NHL .....	7
2.5	Chimärismusanalyse.....	8
3	Behandlungsplan.....	8
4	Besondere klinische Situationen .....	8
5	Verlaufskontrolle und Nachsorge.....	8
6	Dokumentation und Qualitätsparameter .....	9
7	Literatur/Quellenangaben.....	9

<b>1</b>	<b>Allgemeines</b>
----------	--------------------

---

## 2 Diagnostik und Scoring

### 2.1 CML

**Marker:** BCR/ABL

**Frequenz:**

**Blut:** bei Diagnose, dann alle 3 Monate bis major molecular response (MMR MR3, BCR/ABL:ABL < 0,1%), ab Erreichen eines MMR 3-6 Monatige Frequenz; bei Anstieg von >1log oder Verlust des MMR Wiederholung nach wenigen Tagen oder Wochen; bei Bestätigung des Ergebnisses Knochenmarkpunktion

**Knochenmark:** bei Diagnose, Monat 3 und dann alle 6 Monate bis Erreichen von CCyR (keine Ph+ Metaphasen); bei Verdacht auf TKI-Resistenz; bei unklarer Zytopenie; vor Therapiewechsel molekulares Monitoring erfolgt grundsätzlich aus Blut

**Ansprechen:**

**Table 2** ELN definition of the response to TKIs, first-line

Time	Optimal	Warning	Failure
Baseline	NA	High risk or CCA/Ph+, major route	NA
3 months	BCR/ABL1 ≤ 10 % or Ph + ≤35 %	BCR-ABL1 > 10 % or Ph + 36-95 %	Non CHR or Ph+ >95 %
6 months	BCR-ABL1 ≤ 1 % or Ph + 0 (CCyR)	BCR-ABL1 1-10 % or Ph + 1-35 % (PCyR)	BCR-ABL1 > 10 % or Ph+ >35 %
12 months	BCR-ABL1 ≤ 0.1 % (MMR)	BCR-ABL1 0.1-1 %	BCR-ABL1 > 1 % or Ph + ≥1 %

**Table 4** ELN definitions of the response to TKIs, second line

Time	Optimal	Warning	Failure
Baseline	NA	High risk CHR never achieved Loss of CHR CyR never achieved Mutations	NA
3 months	BCR-ABL1 ≤ 10 % or Ph + <65 %	Ph + 65-95 %	No CHR BCR-ABL1 > 10 % Ph+ >95 % New mutations
6 months	BCR-ABL1 ≤ 10 % or Ph + ≤ 35 % (MCyR)	Ph+35-65 %	BCR-ABL1 > 10 % Ph+ >65 % New mutations
12 months	BCR-ABL1 ≤ 1 % or Ph + 0 (CCyR)	BCR-ABL1 1-10 % or Ph + 1-35 % (PCyR)	BCR-ABL1 > 10 % Ph+ >35 % New mutations

**Mutationsanalyse: vor Therapiewechsel**

BCR-ABL1 mutation	Poorly sensitive to	Resistant to
G250E	Bosutinib	
Q252H	Dasatinib	
Y253H	Nilotinib	
E255K/V	Bosutinib, dasatinib, nilotinib, ponatinib	
T315I		Bosutinib, dasatinib, nilotinib
F317L	Dasatinib	
F355V	Nilotinib	
H396R	Ponatinib	

## 2.2 AML (fit for transplant)

### MRD Marker:

- 6% RUNX1/RUNX1T1 quantitativ bei t(8;21)
- 7% CFBF/MYH11 quantitativ bei inv(16)
- 7% PML/RARA quantitativ bei APL t(15;17)
- 25% (50% CN-AML) NPM1 Exon12 Mutation quantitativ
- 90% WT1 Überexpression quantitativ (cave: Expression auch in normaler Hämatopoese, daher wird Knochenmark nicht negativ!)
- Translokationen aus der Multiplex-PCR nicht quantitativ (positiv/negativ)

### Kein MRD-Marker:

Flt3/ITD nur bei Diagnose und Rezidiv

CEBPA, DNMT3A, ASXL1, IDH... nur bei Diagnose

Grundsätzlich wird die MRD-Bewertung nur aus dem Knochenmark durchgeführt. Das Therapieansprechen kann nur bewertet werden, wenn der Stand der Therapie auf dem Anforderungsschein angegeben ist.

Grundsätzlich werden alle Marker, die bei einem Patienten vorhanden sind, parallel für die MRD-Analyse eingesetzt.

Nachfolgende Sequenz ist als Minimalanforderung zu verstehen. Grundsätzlich können, je nach individueller Risikoabschätzung, zusätzliche MRD-Bestimmungen aus Blut und/oder Knochenmark angefordert werden.



## Definitionen

### Therapieansprechen:

- optimal 1: NPM1+Translokationen : PB negativ und KM >3log Reduktion oder negativ  
WT1: PB ≤0,006% und KM ≤0,02% oder >8Ct Reduktion KM
- warning 1: NPM1+Translokationen : PB positiv und/oder KM <3log Reduktion  
WT1: PB ≤0,02% und/oder KM ≤0,1% oder 5-8Ct Reduktion KM
- failure1: NPM1+Translokationen : PB positiv und KM <1log Reduktion  
WT1: PB >0,02% und KM >0,1% oder <5Ct Reduktion KM
  
- optimal 2: NPM1+Translokationen : PB und KM negativ  
WT1: PB ≤0,006% und KM ≤0,02%
- warning 2: NPM1+Translokationen : PB negativ und KM >3log Reduktion  
WT1: PB ≤0,02% und/oder KM ≤0,1%
- failure 2: NPM1+Translokationen : PB positiv und/oder KM <3log Reduktion  
WT1: PB >0,02% und/oder KM >0,1%

#### MRD:

- Molekulare Remission (CR<sub>MRD</sub>):  
NPM1+Translokationen: Zwei aufeinanderfolgende MRD-negative Proben in einem Abstand von mind. 4 Wochen.  
WT1-Expression im Normbereich in zwei aufeinander folgenden Proben, Schwankungen <1log sind zu vernachlässigen.  
Empfehlung: PB+KM alle 3 Monate für 2 Jahre; Ausnahme APL: bei Erreichen der CR<sub>MRD</sub> kann das Monitoring beendet werden.
- Molekulare Persistenz:  
NPM1+Translokationen: Morphologische CR UND kontinuierliche geringe Positivität oder Anstieg <1log.  
WT1 kontinuierliche Überexpression oder Anstieg <1log  
Empfehlung: PB+KM alle 4 Wochen für mind. 3 Monate; bei stabiler MRD kann auf den 3-Monatsintervall gewechselt werden.
- Molekulare Progression:  
Anstieg um >1log bei Patienten in molekularer Persistenz, gilt auch für WT1.  
Empfehlung: PB+KM monatlich.
- Molekulares Rezidiv:  
NPM1+Translokationen: positives Ergebnis in zwei aufeinanderfolgenden Proben in einem Abstand von mind. 4 Wochen bei zuvor MRD-negativen Patienten.  
WT1 Überexpression oder Anstieg um >1log in zwei aufeinanderfolgenden Proben in einem Abstand von mind. 4 Wochen bei zuvor normaler Expression.  
Befundung der ersten Probe als „Verdacht auf molekulares Rezidiv“, muss durch die zweite Probe bestätigt werden.  
Empfehlung: PB+KM je nach klinischer Indikation.

Adaptiert nach Schuurhuis G et.al.: Blood 2018

## 2.3 ALL

### Marker:

- 25% BCR/ABL bei t(9;22)
- >90% patientenspezifische Assays
- Translokationen aus der Multiplex-PCR
- ca. 20% WT1 Überexpression

Grundsätzlich werden alle Marker, die bei einem Patienten vorhanden sind, parallel für die MRD-Analyse eingesetzt.

### Frequenz:

Patientenspezifische Assays: nur KM; am Ende jedes Therapieblocks; nach Ende der Therapie alle 3 Monate für 2 Jahre; bei T-ALL kann das Monitoring zu späteren Zeitpunkten auch aus dem Blut durchgeführt werden

Ph+, andere Translokationen, WT1: Blut und KM am Ende jedes Therapieblocks; nach Ende der Therapie alle 3 Monate für 2 Jahre

**Tabelle 12: Risikostratifikation für Standard-Risiko-Patienten nach MRD**

	Tag 71 und Woche 16 (Zwischenbefund)	
<b>MRD-Hochrisiko (früh):</b>	Mindestens 2 x $> 10^{-4}$	
	Tag 71	Woche 16 bis Woche 52 (Endbefund)
<b>MRD-Niedrigrisiko:</b>	$< 10^{-4}$	• Immer $< 10^{-4}$
<b>MRD-Hochrisiko:</b>	$> 10^{-4}$	• Mindestens 2 x $> 10^{-4}$ • Kein Abfall unter $10^{-4}$ an zwei aufeinanderfolgenden Zeitpunkten am Ende des ersten Therapiejahres
<b>MRD-Intermediärrisiko:</b>	Patienten bei denen	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• keine eindeutige Zuordnung möglich ist</li> <li>• die technischen Voraussetzungen nicht erfüllt sind</li> <li>• eine MRD-Bestimmung nicht möglich ist (z.B. bei ungenügendem/fehlendem Primärmaterial)</li> </ul>	

Literatur: Brüggemann Blood 2012

## 2.4 NHL

### Marker:

80% t(14;18) (BCL2) bei FCL, 20% DLBCL

40% t(11;14) (BCL1), alle CyclinD1+SOX11 bei Mantelzell-Lymphom

IG und TCR nur bei DG und Verdacht auf Rezidiv, kein MRD-Marker (Sensitivität 5-10% Lymphomzellen)!

Generell sind die Assays für alle diese Marker nicht sehr sensitiv und daher nicht als eigentliche MRD Marker geeignet. Hohe Sensitivität kann nur durch Patienten-spezifische Assays analog zur ALL erreicht werden, dies wird allerdings außerhalb von klinischen Studien nicht empfohlen.

### Frequenz:

optional bei DG (z.B. Transplantkandidaten)

MRD im Ermessen des behandelnden Arztes

## 2.5 Chimärismusanalyse

### Marker:

SNP/VNTR

Da es sich bei der VNTR-Analyse um einen aufwändigen Test handelt sollte sie wenn möglich nur gemeinsam mit KM durchgeführt werden.

### Frequenz:

Bei Entitäten, wo keine MRD-Analyse durchgeführt wird:

	Reg	d28-30	d100	d365	Mo15	Mo18	Mo21	Mo24
Blut	X	X	X	X	X	X	X	X
KM		X	X	X				

Bei Bedarf kann eine Tag 60 KM-Punktion eingeschoben werden.

Weitere Blut und KM-Untersuchungen im Ermessen des behandelnden Arztes.

Bei Entitäten mit MRD-Analyse immer parallel zur MRD-Analyse.

### 3 Behandlungsplan

*Behandlungsplan entsprechend den Erkrankungsleitlinien.*

### 4 Besondere klinische Situationen

Bei Verdacht auf bzw. bestätigtem molekularen/hämatologischen Rezidiv ist eine konventionelle Zytogenetik empfehlenswert.

### 5 Verlaufskontrolle und Nachsorge

---





**6 Dokumentation und Qualitätsparameter**

---

**7 Literatur/Quellenangaben**

Baccarani M et al.: Ann Hematol 2015

Schuurhuis G et.al.: Blood 2018

Brüggemann Blood 2012