



# ÖLÇÜLEBİLİR KALINTI HASTALIK 5N1K

**Prof. Dr. Gülderen Yanıkkaya Demirel MD, PhD**

Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi  
İmmünoloji Anabilim Dalı Başkanı

Yeditepe Üniversitesi Hastaneleri  
Kök Hücre Laboratuvarı Sorumlu Hekimi  
Doku Tipleme Laboratuvarı Sorumlu Hekimi

[gulderen.ydemirel@yeditepe.edu.tr](mailto:gulderen.ydemirel@yeditepe.edu.tr)



5

N

e?  
eden?  
asıl?  
erede?  
e zaman?

1

K

im?

NE?



# ÖLÇÜLEBİLİR KALINTI HASTALIK

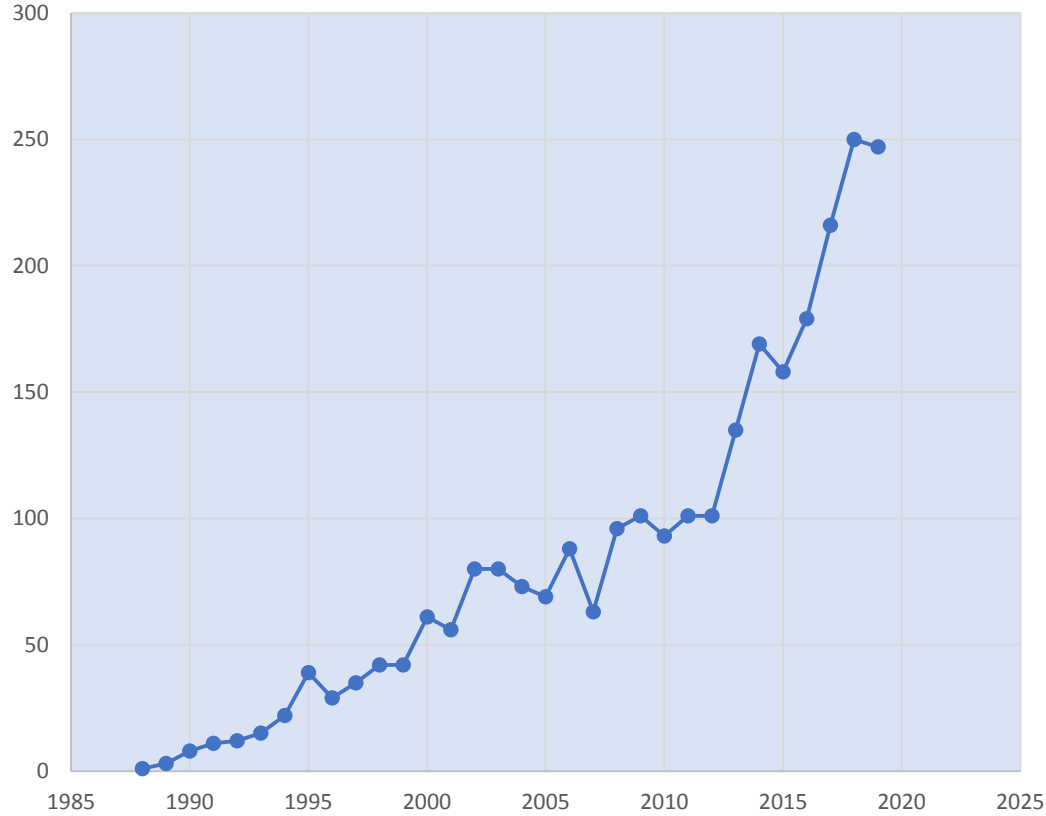
Morfolojik inceleme ile saptanamayan, yüksek duyarlılıkta testlerle saptanabilen kalıntı hücrelerin varlığı

# ÖLÇÜLEBİLİR KALINTI HASTALIK

- Hastaya, hastalığa özgü planlama gerektiriyor
- Tanı verilerini saklamayı, karşılaştırmalı çalışmayı gerektiriyor
- Akan hücre ölçer ile **immünotipik**, moleküler yöntemlerle **genotipik** bilgiler elde ediliyor, birlikte kullanılmaları yararlı
- Kılavuzlarda risk planlaması için mutlak gerekli olduğu bildiriliyor. EMA (European Medicine Agency), LeukemiaNet, NCCN (National Comprehensive Cancer Network) vb kurumların kılavuzlarında zorunluluk olarak yer alıyor
- Hem standart hem de güncel yöntemlerle analizleri yorumlayabilecek bilgili ve deneyimli kişiler gerekli

# ÖLÇÜLEBİLİR KALINTI HASTALIK TARİHİ GELİŞİM

ÖKH Yayın Sayısı\*



\*PubMed verileri alınarak hazırlanmıştır

NCBI Resources How To

PubMed.gov  
US National Library of Medicine  
National Institutes of Health

PubMed Advanced

Format: Abstract Send to

Blood. 1988 Jan;71(1):123-31.

**Prognostic factors in a multicenter study for treatment of acute lymphoblastic leukemia in adults.**

Hoelzer D<sup>1</sup>, Thiel E, Löffler H, Büchner T, Ganzer A, Heil G, Koch P, Freund M, Diedrich H, Rühl H, et al.

**Author information**

1 Universitätskliniken, Frankfurt, Ulm.

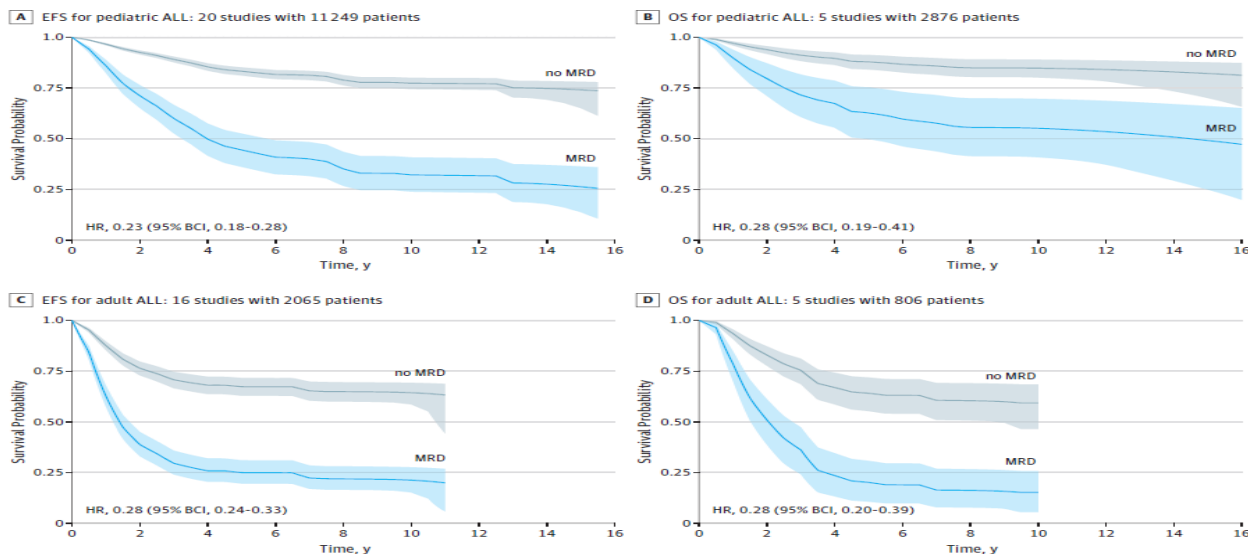
**Abstract**

In a prospective multicenter study, 368 acute lymphoblastic leukemia (ALL) patients aged 15 to 65 years were treated with an intensified induction and reinduction regimen; 272 (73.9%) achieved complete remission (CR). The median remission duration (MRD) is 24.3 months, and the probability of being in continuous CR (CCR) at greater than 5 years is .37. The median survival for all 368 patients is 27.5 months, and the probability of being alive at 5 years is .49. A lower CCR rate was observed in patients with certain prognostic factors unfavorable for remission: age greater than 35 years v less than 35 years (P = .0008), leukocyte count greater than 30,000/microL v less than 30,000/microL (P = .0112), and null ALL v common ALL (c-ALL)/T cell ALL (T-ALL) (P = .05). The remission duration correlated strongly (P = .0001) with the number of these independent prognostic factors. In patients with none of these adverse factors the MRD has not yet been reached, with one adverse factor the MRD is 21.9 months, and with two or three adverse factors the MRD is only 9.6 months. For the immunologic subtype T-ALL, the probability of being in CCR at greater than 5 years is .55; for c-ALL, .34; and for null ALL, .24. According to these results, patients were stratified into a low-risk group with a CCR rate of .62 and a high-risk group with a CCR rate of .28, with the latter now allocated to either further chemotherapy or bone marrow transplantation in first remission.

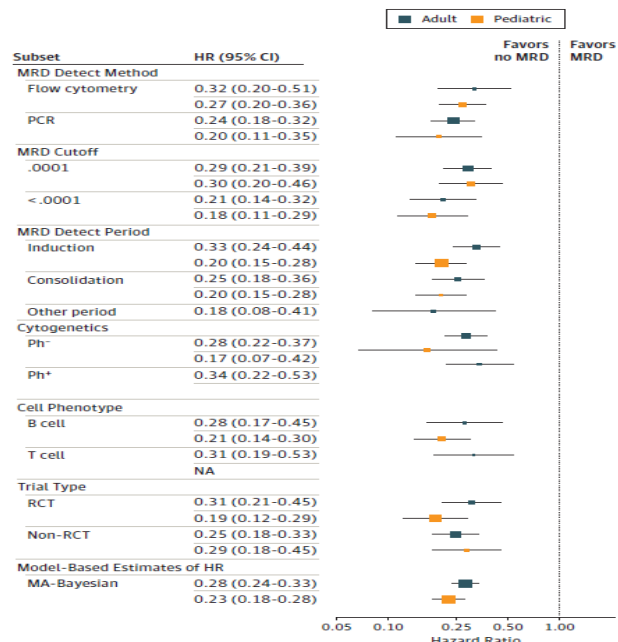
PMID: 3422030  
[Indexed for MEDLINE]

Hoelzer D vd; Ulm, Almanya, 1988

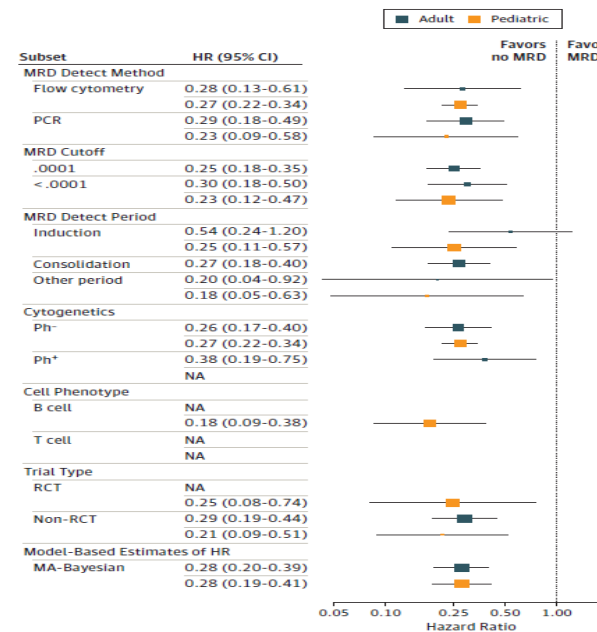
NEDEN?



**Figure 3. Forest Plot of EFS HRs for Pediatric and Adult ALL Subtypes**



**Figure 4. Forest Plot of OS HRs for Pediatric and Adult ALL Subtypes**



# Association of Minimal Residual Disease With Clinical Outcome in Pediatric and Adult Acute Lymphoblastic Leukemia: A Meta-analysis

Donald A. Berry, PhD; Shouhao Zhou, PhD; Howard Higley, PhD; Lata Mukundan, PhD; Shuangshuang Fu, MS; Gregory H. Reaman, MD; Brent L. Wood, MD; Gary J. Kelloff, MD; J. Milburn Jessup, MD; Jerald P. Radich, MD

[Supplemental content](#)

**IMPORTANCE** Minimal residual disease (MRD) refers to the presence of disease in cases deemed to be in complete remission by conventional pathologic analysis. Assessing the association of MRD status following induction therapy in patients with acute lymphoblastic leukemia (ALL) with relapse and mortality may improve the efficiency of clinical trials and accelerate drug development.

**OBJECTIVE** To quantify the relationships between event-free survival (EFS) and overall survival (OS) with MRD status in pediatric and adult ALL using publications of clinical trials and other databases.

**DATA SOURCES** Clinical studies in ALL identified via searches of PubMed, MEDLINE, and clinicaltrials.gov.

**STUDY SELECTION** Our search and study screening process adhered to the PRISMA Guidelines. Studies that addressed EFS or OS by MRD status in patients with ALL were included; reviews, abstracts, and studies with fewer than 30 patients or insufficient MRD description were excluded.

**DATA EXTRACTION AND SYNTHESIS** Study sample size, patient age, follow-up time, timing of MRD assessment (postinduction or consolidation), MRD detection method, phenotype/genotype (B cell, T cell, Philadelphia chromosome), and EFS and OS. Searches of PubMed and MEDLINE identified 566 articles. A parallel search on clinicaltrials.gov found 67 closed trials and 62 open trials as of 2014. Merging results of 2 independent searches and applying exclusions gave 39 publications in 3 arms of patient populations (adult, pediatric, and mixed). We performed separate meta-analyses for each of these 3 subpopulations.

**RESULTS** The 39 publications comprised 13 637 patients: 16 adult studies (2076 patients), 20 pediatric (11 249 patients), and 3 mixed (312 patients). The EFS hazard ratio (HR) for achieving MRD negativity is 0.23 (95% Bayesian credible interval [BCI] 0.18-0.28) for pediatric patients and 0.28 (95% BCI, 0.24-0.33) for adults. The respective HRs in OS are 0.28 (95% BCI, 0.19-0.41) and 0.28 (95% BCI, 0.20-0.39). The effect was similar across all subgroups and covariates.

**CONCLUSIONS AND RELEVANCE** The value of having achieved MRD negativity is substantial in both pediatric and adult patients with ALL. These results are consistent across therapies, methods of MRD assessment, cutoff levels, and disease subtypes. Minimal residual disease status warrants consideration as an early measure of disease response for evaluating new therapies, improving the efficiency of clinical trials, accelerating drug development, and for regulatory approval. A caveat is that an accelerated approval of a particular new drug using an intermediate end point, such as MRD, would require confirmation using traditional efficacy end points.

**Author Affiliations:** Department of Biostatistics, The University of Texas M.D. Anderson Cancer Center, Houston (Berry, Zhou); CCS Associates, Inc (Higley, Mukundan); University of Texas Health Science Center at Houston, Houston (Fu); US Food and Drug Administration, Rockville, Maryland (Reaman); University of Washington School of Medicine, St Louis, Missouri (Wood); US National Cancer Institute, Bethesda, Maryland (Kelloff); Inova Fairfax Hospital (Jessup); Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, Washington (Radich).

**Corresponding Author:** Donald A. Berry, PhD, Department of Biostatistics, The University of Texas M.D. Anderson Cancer Center, 1400 Pressler St, 4-5062 Pickens Academic Tower, Houston, TX 77030-1402 (dberry@mdanderson.org).



Background: PCR of rearranged antigen receptor genes is the method of choice for MRD quantification in ALL. Although FCM-MRD is faster and biologically more informative than PCR, the analysis requires a high level of training. The only larger published studies using FCM-MRD based stratification (Borowitz, Blood, 2008 and 2015) showed a clear association with clinical outcome in BCP-ALL. However, MRD analyses were centralized and these studies included only one MRD-based stratification (MRD levels at the end of induction). Patients and methods: We examined FCM-MRD as stratification tool in BCP-ALL at various timepoints in a large-scale multicenter (18 MRD centers) study. A total of 1487 patients with BCP-ALL (1298 children (younger than 18 years) and 189 adults (18-45 years) are included in the study and were treated according to the NOPHO ALL 2008 protocol between July 2008 and February 2016. The median follow-up time for patients in first

# Value of Flow Cytometry for MRD-Based Relapse Prediction in B-Cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia in a Multi-Center Setting

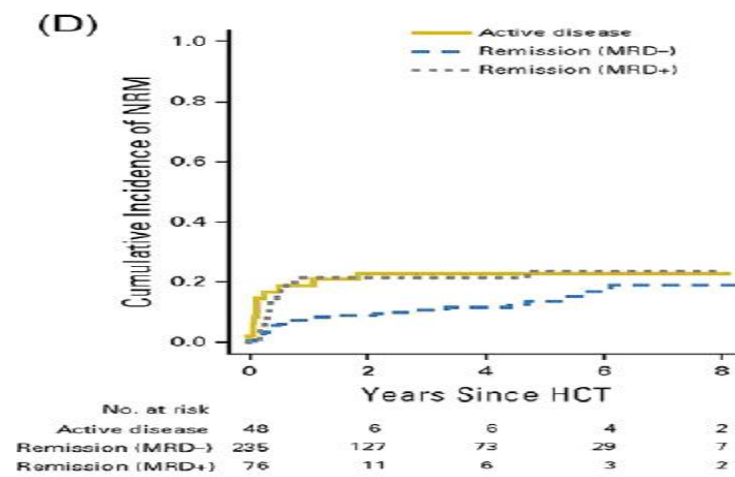
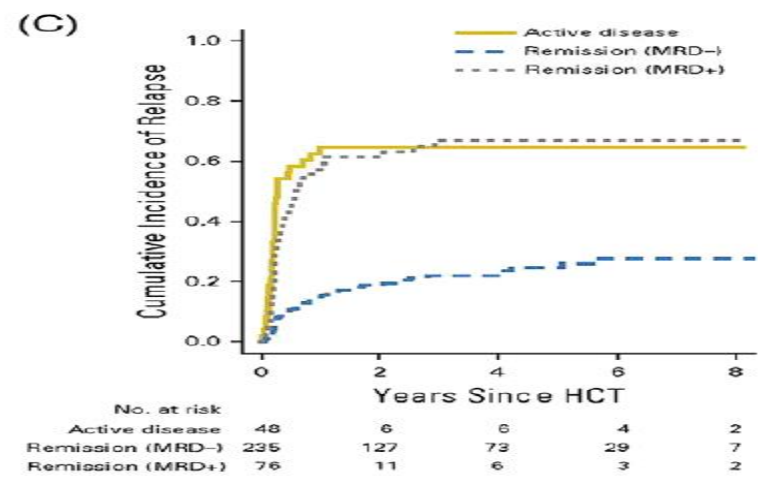
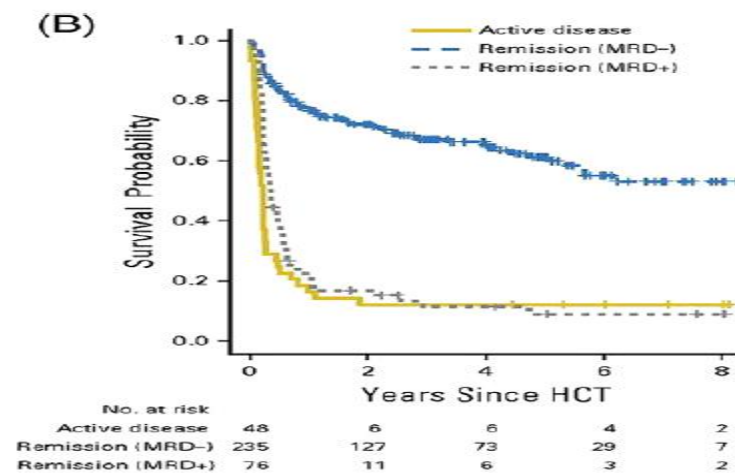
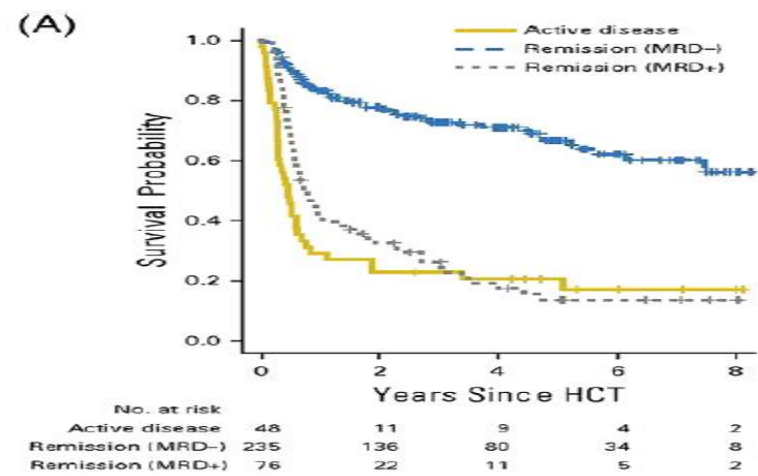
November 2019 · Blood 134(Supplement\_1):2755-2755

DOI: 10.1182/blood-2019-122311

 Signe Modvig · Hans Madsen ·  Helene Hallböök · [Show all 26 authors](#) · Hanne Vibeke Marquart

6.1,  $p=0.0006$ ) (multivariate cause-specific Cox regression,  $n=1328$ ). Patients with a day 79 FCM-MRD  $\geq 10^{-4}$  and  $< 10^{-3}$  had a significantly higher CIR (22.1%, CI 10.8-33.5%,  $n=68$ ) compared to FCM-MRD  $< 10^{-4}$  (7.5%, CI 2.1-12.8%,  $n=110$ ) or undetectable (6.3%, CI 4.5-8.2%,  $n=999$ ,  $p=0.0087$  for FCM-MRD  $\geq 10^{-4}$  and  $< 10^{-3}$  vs  $< 10^{-4}$  or undetectable). After adjusting for WBC, age, and the day 29 FCM-MRD level, a day 79 FCM-MRD  $\geq 10^{-4}$  and  $< 10^{-3}$  was still significantly associated with a worse 5y CIR for non-transplanted patients (HR 2.3, CI 1.19-4.36,  $p=0.012$  compared to undetectable FCM-MRD,  $n=1171$ ). Patients with day 15 FCM-MRD  $< 10^{-3}$  had a significantly better 5y EFS (92.0%, CI 89.2-95.0%) and CIR (3.9%, CI 1.7-6.1%,  $n=432$ ) than patients with FCM-MRD  $\geq 10^{-3}$  and  $< 2.5 \times 10^{-1}$ , who had a 5y EFS of 85.5% (CI 82.7-88.3%,  $p=0.0016$ ,  $n=837$ ) and a 3-fold higher 5y CIR (11.0%, CI 8.4-13.5%,  $p<0.0001$ ,  $n=432$ ). Among patients with day 15 FCM-MRD  $< 10^{-3}$ , the relapse incidence was comparable for patients with FCM-MRD  $10^{-4}$  -  $< 10^{-3}$  and below  $10^{-4}$  (CIR 3.6, CI 0.5-6.7 vs CIR 4.1, CI 1.0-7.2,  $p=0.83$ ,  $n=432$ ). Conclusion: FCM-MRD performed in a multi-center setting is a clinically useful method for disease monitoring and MRD-based treatment stratification in BCP-ALL. Moreover, FCM-MRD is a reliable indicator of outcome in BCP-ALL independently of other key risk factors. Residual disease  $\geq 10^{-4}$  and  $< 10^{-3}$  at day 79 in SR/IR patients not allocated to HSCT further identifies patients with a high risk of relapse. Disclosures No relevant conflicts of interest to declare.

# HEMATOPOIETİK KÖK HÜCRE TRANSPLANTI SONRASINDA ÖKH



# HEMATOPOİETİK KÖK HÜCRE TRANSPLANTI HAZIRLIK REJİMİ ve ÖKH

Pavlić et al. *Journal of Hematology & Oncology*  
<https://doi.org/10.1186/s13045-019-0790-x> (2019) 12:108

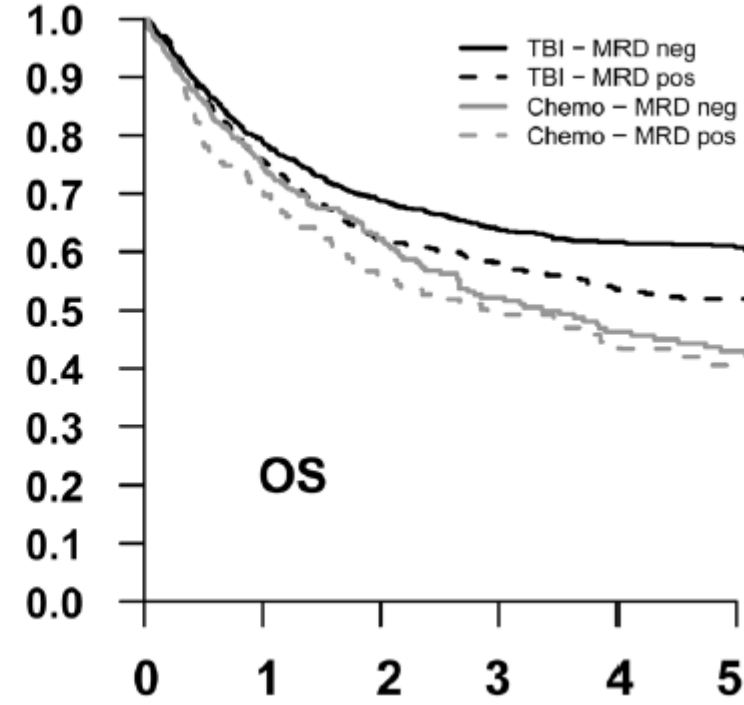
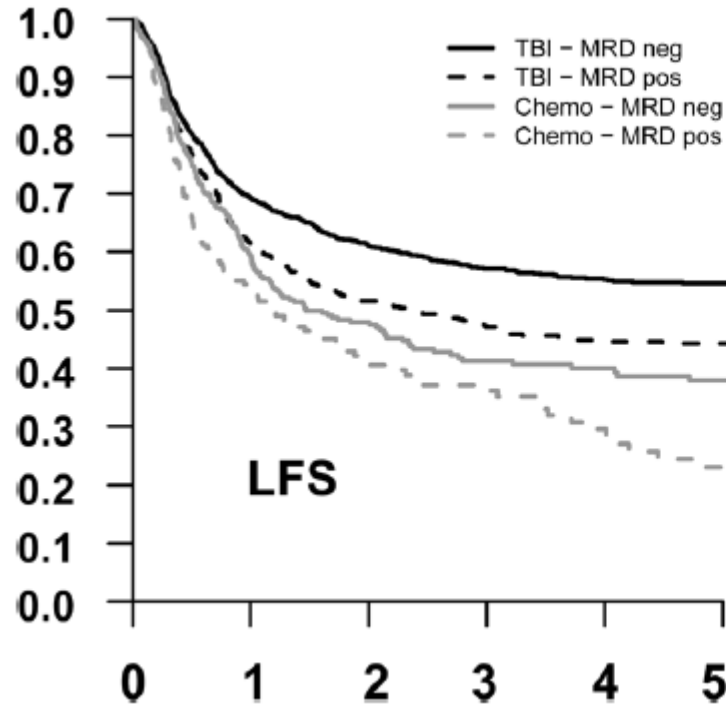
Journal of  
Hematology & Oncology

## RESEARCH

## Open Access

**Measurable residual disease at myeloablative allogeneic transplantation in adults with acute lymphoblastic leukemia: a retrospective registry study on 2780 patients from the acute leukemia working party of the EBMT**

Jiří Pavlí<sup>1\*</sup>, Myriam Labopin<sup>2</sup>, Rittta Nilivirta<sup>3</sup>, Gerard Socié<sup>4</sup>, Ibrahim Yakoub-Agha<sup>5</sup>, Depel Wu<sup>6</sup>, Peter Remenyi<sup>7</sup>, Jakob Passweg<sup>8</sup>, Dietrich W. Beelen<sup>9</sup>, Mahmoud Aljurf<sup>10</sup>, Nicolaus Kröger<sup>11</sup>, Hélène Labussière-Wallet<sup>12</sup>, Zinaida Perić<sup>13</sup>, Sebastian Giebel<sup>14</sup>, Arnon Nagler<sup>15</sup> and Mohamed Mohty<sup>2</sup>



RESEARCH ARTICLE

Open Access



# Testing for minimal residual disease in adults with acute lymphoblastic leukemia in Europe: a clinician survey

Arnaud Pigneux<sup>1\*</sup>, Pau Montesinos<sup>2,3</sup>, Ze Cong<sup>4</sup>, Xinke Zhang<sup>4</sup>, Anja K. Pownell<sup>5</sup>, Heather Wieffer<sup>5</sup>, Jan McKendrick<sup>5,6</sup> and Monika Brüggemann<sup>7</sup>

## Abstract

**Background:** In acute lymphoblastic leukemia (ALL), the presence of minimal residual disease (MRD) after induction/consolidation chemotherapy is a strong prognostic factor for subsequent relapse and mortality. Accordingly, European clinical guidelines and protocols recommend testing patients who achieve a complete hematological remission (CR) for MRD for the purpose of risk stratification. The aim of this study was to provide quantitative information regarding real-world clinical practice for MRD testing in five European countries.

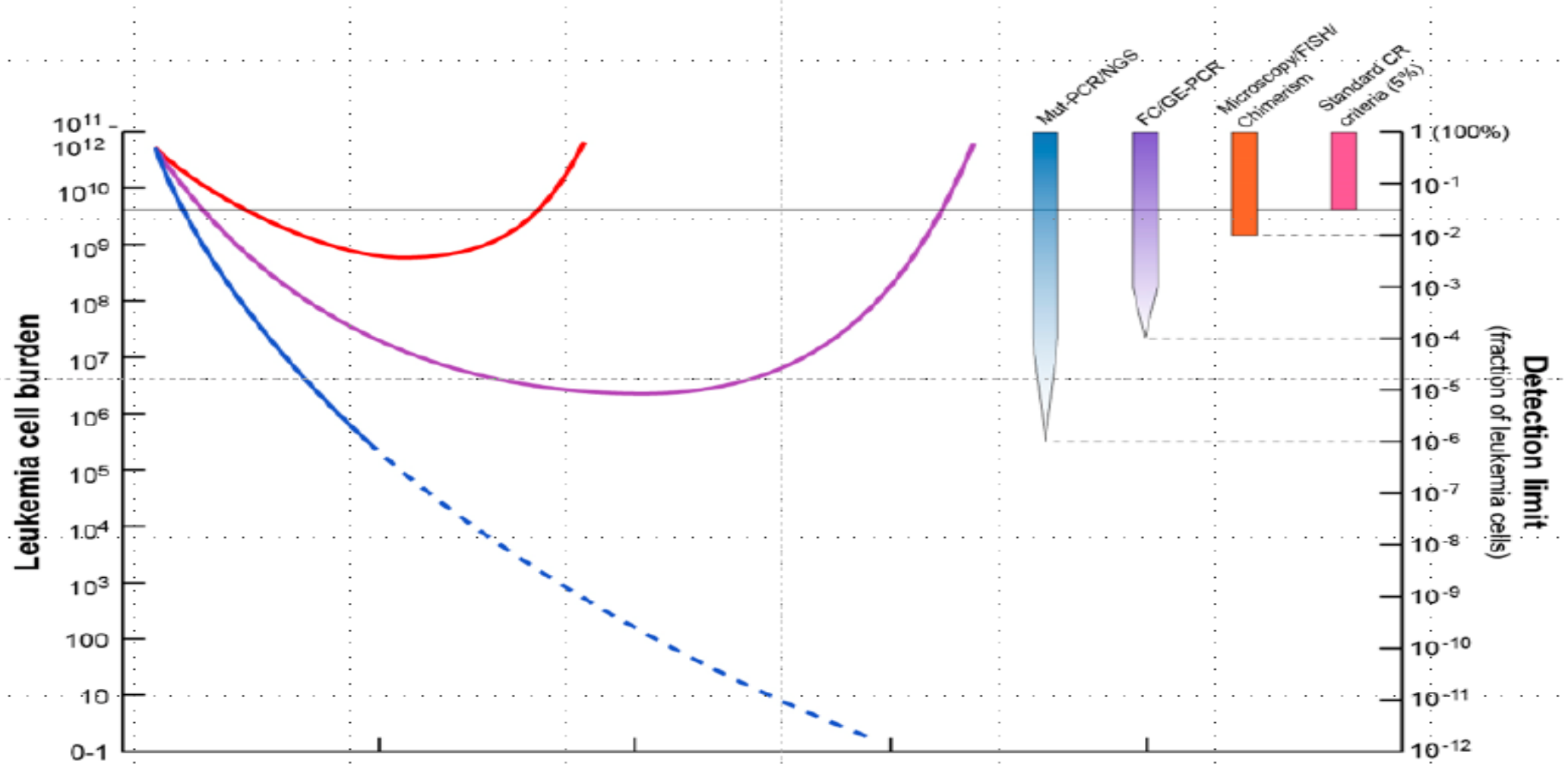
**Methods:** A web-based survey was conducted in March/April 2017 in France, Germany, Italy, Spain, and the UK. The survey was developed after consultation with specialist clinicians and a review of published literature. Eligible clinicians (20 per country; 23 in Spain) were board-certified in hemato-oncology or hematology, had at least five years' experience in their current role after training, had treated at least two patients with B-cell precursor ALL in the 12 months before the survey or at least five patients in the last five years, and had experience of testing for MRD in clinical practice.

**Results:** MRD testing is now standard practice in the treatment of adult ALL across the five European countries, with common use of recent treatment protocols which specify testing. Respondents estimated that, among clinicians in their country who conduct MRD testing, 73% of patients in first CR (CR1) and 63% of patients in second or later CR (CR2+) are tested for MRD. The median time point reported as most commonly used for the first MRD test, to establish risk status and to determine a treatment plan was four weeks after the start of induction therapy. The timing and frequency of tests is similar across countries. An average of four or five post-CR1 tests per patient in the 12 months after the first MRD test were reported across countries.

**Conclusions:** This comprehensive study of MRD testing patterns shows consistent practice across France, Germany, Italy, Spain, and the UK with respect to the timing and frequency of MRD testing, aligning with use of national protocols. MRD testing is used in clinical practice also in patients who reach CR2+.

NASIL ?

# FARKLI YÖNTEMLERİN DUYARLILIĞI



Yöntem	Hedef	Uygula- nabilirlik	Materyal	Nicelleme	Duyarlılık	Avantajlar	Dezavantajlar
KLASİK YÖNTEMLER							
Çok renkli İmmüfenotipleme	LiİF	>%90	Hücre süspansiyonu (çevre kanı, kemik iliği aspirasyon örneği, iğne aspirasyon örnekleri)	Absolute	3 – 4 renk: 10 <sup>-3</sup> – 10 <sup>-4</sup> 6 – 8 renk ile: 10 <sup>-4</sup>	Hızlı Kolay uygulanabilir Verinin kolay depolabilinir Tüm popülasyon hakkında bilgi sağlanması Standardize	Duyarlılık değişebilir Kullanıcı bağımlı Görece maliyetli Hücre sayısı bilinebilir
«Real-time» nicel PZR	Füzyon genleri	%30 - 40	Nükleik asit (RNA/DNA)	Hücre dizini ya da plazmid DNA miktarına bağımlı (RNA’da) Taniya bağımlı (DNA’da)	10 <sup>-4</sup> /10 <sup>-5</sup>	Yüksek duyarlılık Hızlı Görece kolay DNA için iyi standardize Özgül lösemi gruplarına yönelik duyarlılık yüksek (BCR-ABL vb)	Kısıtlı uygulanabilirlik (Hastaların yaklaşık %50’sinde hedef yok) RNA değişkenliği Kontaminasyon riski RNA için standardizasyon yok DNA görece maliyetli
«Real-time» nicel PZR	Ig/TR gen yeniden düzenlenmeleri	%90 - 95	Nükleik asit (DNA)	DNA’da tanıda saptanan ile nicelleme	10 <sup>-4</sup> /10 <sup>-5</sup>	Yüksek duyarlılık Kolay uygulanabilirlik İyi standardize	ASO primerine bağımlı Emek yoğun ve zaman alıcı Klonal değişimden etkileniyor Yüksek miktarda tanı sırasında elde edilmiş DNA gerek Görece maliyetli
GÖRECE YENİ YÖNTEMLER							
NGF	LiİF	>%95	Hücre süspansiyonu (çevre kanı, kemik iliği aspirasyon örneği, iğne aspirasyon örnekleri)	Absolut	10 <sup>-4</sup> /10 <sup>-6</sup>	Yüksek duyarlılık Uygulanabilirlik Hızlı ve doğru Doğru nicelleme Otomatik işaretleme ile yüksek oranda standardizasyon	Eğitim ve uygulama gerekli İstenilen duyarlılığa ulaşmak için çok sayıda hücre saymak gerekli Taze örnek/hemen çalışma Maliyetli?
ddPZR	Ig/TR gen yeniden düzenlenmeleri	%90 - 95	Nükleik asit (DNA)	Absolut	10 <sup>-4</sup> /10 <sup>-5</sup>	Yüksek duyarlılık İyi uygulanabilme Standart eğriye gerek yok, kolay	ASO-primer’e bağımlı Standardizasyon henüz yok Az sayıda labda var Yorum?? Görece maliyetli
NGS	Ig/TR gen yeniden düzenlenmeleri	>%95	Nükleik asit (DNA)	Absolut	10 <sup>-4</sup> /10 <sup>-6</sup> (Analizi yapılan DNA miktarına bağlı)	Yüksek duyarlılık Uygulanabilirlik Klonal değişimi görebilme	Standardizasyon yok, Yorum?? Az sayıda labda var Normal klonaliteden ayırım zorluğu, Biyoinformatik analiz gerekli, Maliyetli



# KLASİK YÖNTEMLER

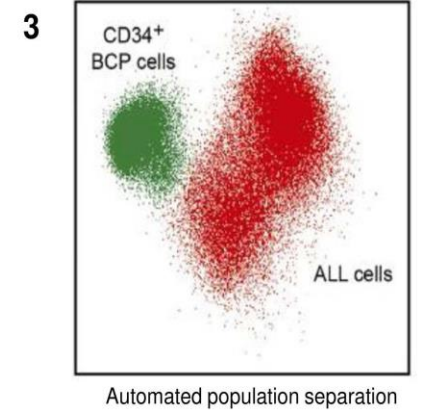
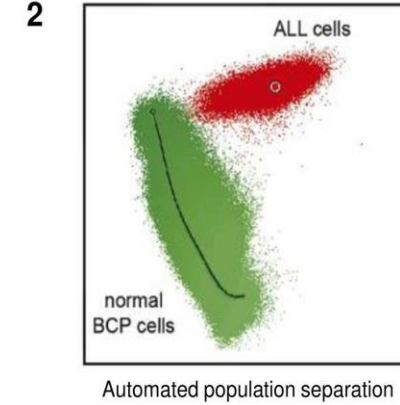
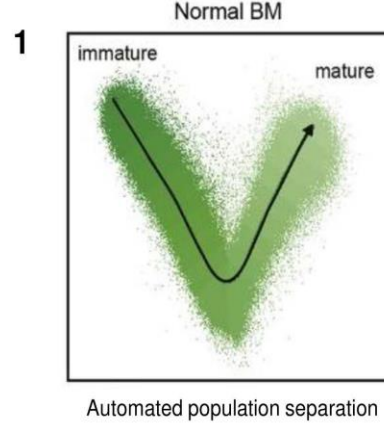
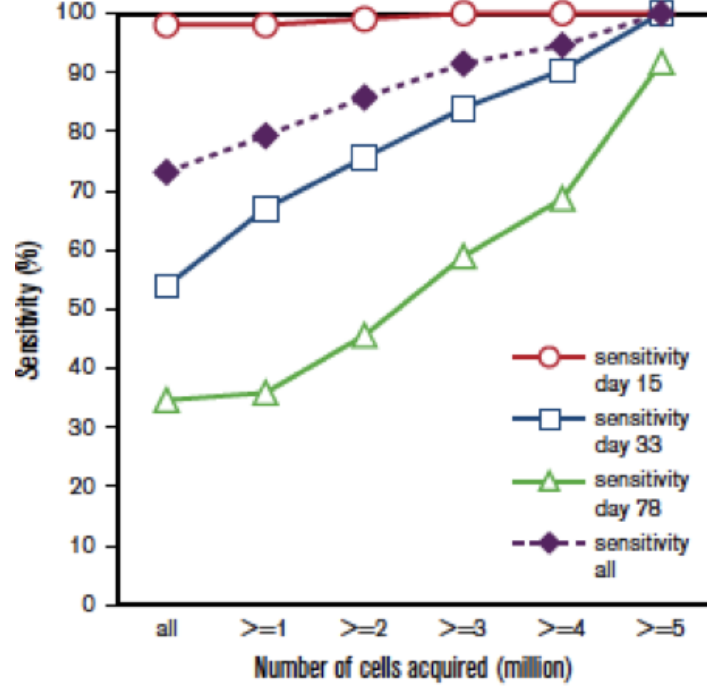
Yöntem	Hedef	Uygulanabilirlik	Materyal	Nicelleme	Duyarlılık	Avantajlar	Dezavantajlar
Çok renkli İmmüfenotipleme	LiİF (Lösemi ilişkili İmmünofenotip)	>%90	Hücre süspansiyonu (çevre kanı, kemik iliği aspirasyon örneği, iğne aspirasyon örnekleri)	Absolute	3 – 4 renk: $10^{-3} - 10^{-4}$ 6 – 8 renk ile: $10^{-4}$	Hızlı Kolay uygulanabilir Verinin kolay depolabilinir Tüm popülasyon hakkında bilgi sağlanması Standardize Subklonal analiz İmmüfenotipik değişiklikler	Duyarlılık değişebilir Kullanıcı bağımlı Görece maliyetli Hücre sayısı bilinebilir
«Real-time» nicel PZR (sitogenetik çalışmalar da bu grup içinde değerlendiriliyor)	Füzyon genleri	%30 - 40	Nükleik asit (RNA/DNA)	Hücre dizini ya da plazmid DNA miktarına bağımlı (RNA'da) Taniya bağımlı (DNA'da)	$10^{-4} / 10^{-5}$	Yüksek duyarlılık Hızlı Görece kolay DNA için iyi standardize Özgül lösemi gruplarına yönelik duyarlılık yüksek (BCR-ABL vb)	Kısıtlı uygulanabilirlik (Hastaların yaklaşık %50'sinde hedef yok) RNA değişkenliği Kontaminasyon riski RNA için standardizasyon yok DNA görece maliyetli
«Real-time» nicel PZR	Ig/TR gen yeniden düzenlenmeleri	%90 - 95	Nükleik asit (DNA)	DNA'da tanıda saptanan ile nicelleme	$10^{-4} / 10^{-5}$	Yüksek duyarlılık Kolay uygulanabilirlik İyi standardize	ASO primerine bağımlı Emek yoğun ve zaman alıcı Klonal değişimden etkileniyor (FLT3) Yüksek miktarda tanı sırasında elde edilmiş DNA gerek Görece maliyetli



# GÖRECE YENİ YÖNTEMLER

Yöntem	Hedef	Uygulanabilirlik	Materyal	Nicelleme	Duyarlılık	Avantajlar	Dezavantajlar
NGF	Lüf	>%95	Hücre süspansiyonu (çevre kanı, kemik iliği aspirasyon örneği, iğne aspirasyon örnekleri)	Absolut	$10^{-4}/10^{-6}$	Yüksek duyarlılık Uygulanabilirlik Hızlı ve doğru Doğru nicelleme Otomatik işaretleme ile yüksek oranda standardizasyon Subklonal analiz	Eğitim ve uygulama gerekli İstenilen duyarlılığa ulaşmak için çok sayıda hücre saymak gerekli Taze örnek/hemen çalışma Maliyetli?
ddPZR	Ig/TR gen yeniden düzenlenmeleri	%90 - 95	Nükleik asit (DNA)	Absolut	$10^{-4}/10^{-5}$	Yüksek duyarlılık İyi uygulanabilme Standart eğriye gerek yok, kolay	ASO-primer'e bağımlı Standardizasyon henüz yok Az sayıda labda var Yorum?? Görece maliyetli
NGS	Ig/TR gen yeniden düzenlenmeleri	>%95	Nükleik asit (DNA)	Absolut	$10^{-4}/10^{-6}$ (Analizi yapılan DNA miktarına bağlı)	Yüksek duyarlılık potansiyeli var Uygulanabilirlik Klonal değişimi görebilme	Standardizasyon yok, Yorum?? Az sayıda labda var Normal klonaliteden ayırım zorluğu, Biyoinformatik analiz gerekli, Maliyetli

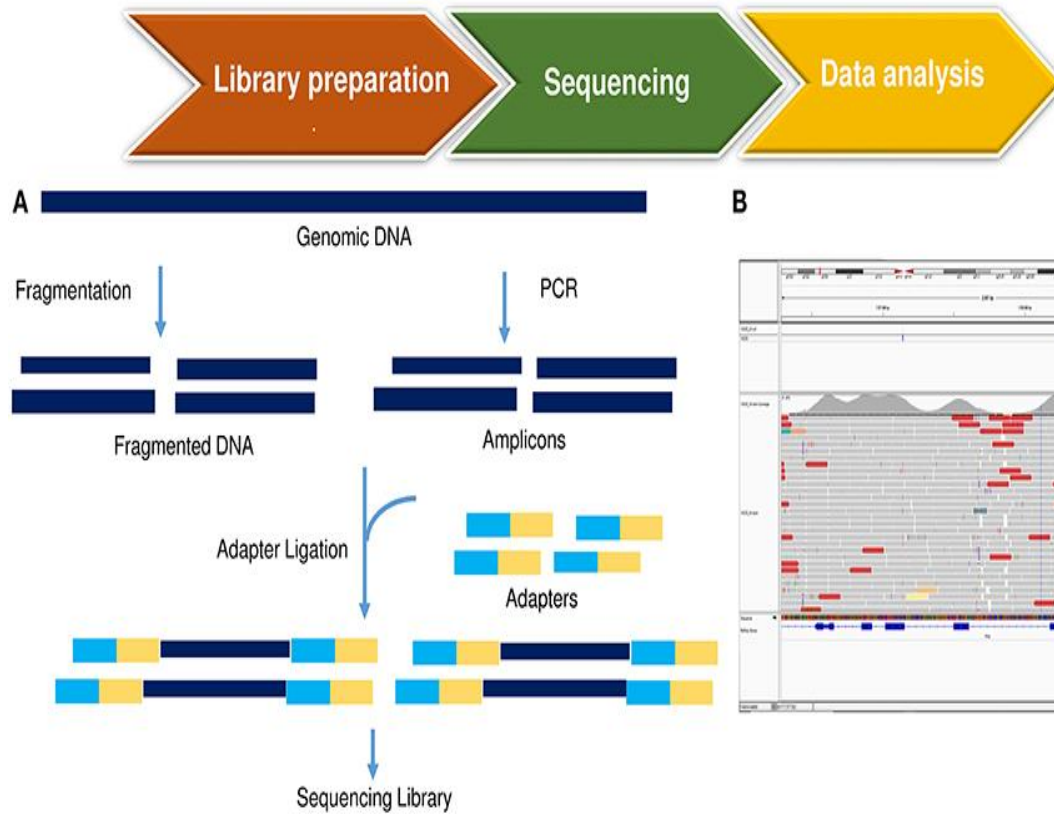
# AKAN HÜCRE ÖLÇER İLE YAKLAŞIM



**LiİF = LÖSEMİ İLİŞKİLİ İMMÜNOFENOTİP**

**DfN = NORMALDEN FARKLI OLANI AYIRT EDEBİLME**

# MOLEKÜLER YÖNTEMLER

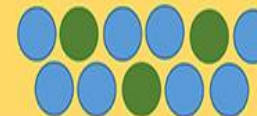


Yeni Nesil Sekanslama

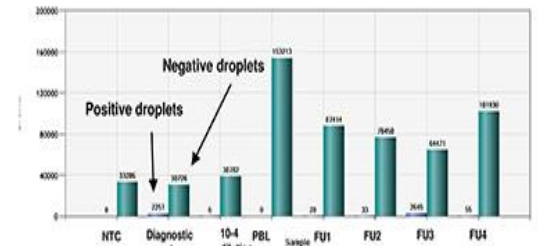
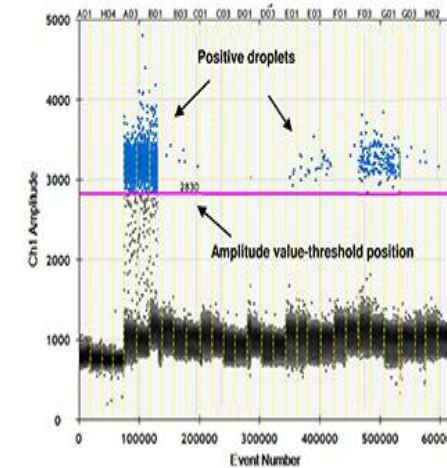
STEP: Mix reaction and DNA molecules are partitioned in Droplets.



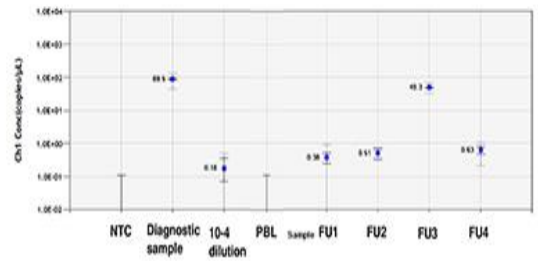
2-STEP: Droplets are amplified.



3-STEP: Fluorescence data detection.



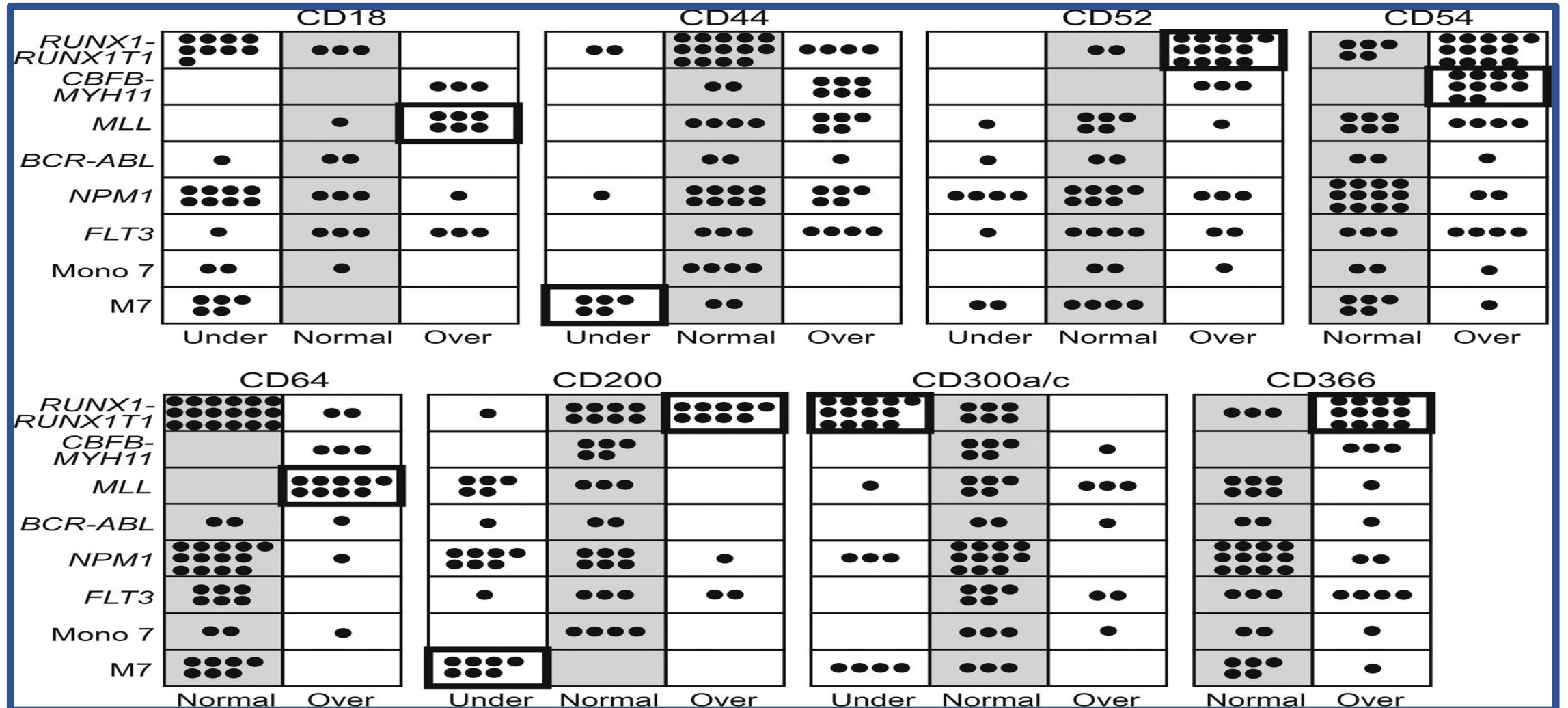
B2



B3

ddPCR = «Digital Droplet PCR»

# MOLEKÜLER TESTLERLE YAKLAŞIM – AML Örneği



# RELAPS ve ÖLÇÜLEBİLİR KALINTI HASTALIK İLİŞKİSİ – AML örneği

DOI: 10.1002/ajh.25214

ANNUAL CLINICAL UPDATES IN HEMATOLOGICAL  
MALIGNANCIES: A CONTINUING MEDICAL EDUCATION SERIES

## Acute myeloid leukemia: 2019 update on risk-stratification and management

Elihu H. Estey

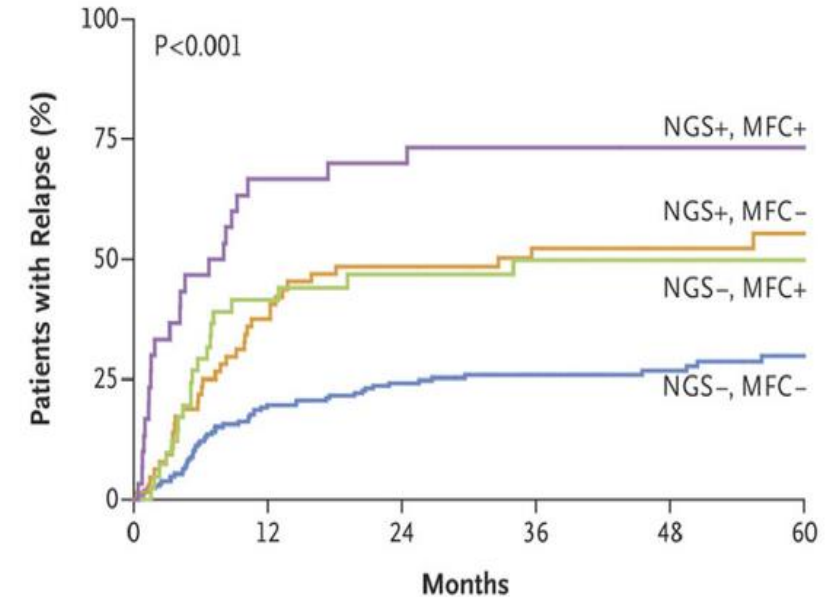
Division of Hematology, Clinical Research  
Division, Fred Hutchinson Cancer Research  
Center, University of Washington and  
Member, Seattle, Washington

### Correspondence

Elihu H. Estey, Division of Hematology, Clinical  
Research Division, Fred Hutchinson Cancer  
Research Center, University of Washington  
and Member, Seattle, Washington.  
Email: eestey@u.washington.edu

### Abstract

Outcome in patients with acute myeloid leukemia (AML) ranges from death within a few days of beginning treatment (treatment related mortality, TRM) to likely cure. The major reason patients are not cured is resistance to treatment, often manifested as relapse from remission, rather than, even in older patients, TRM, whose incidence is decreasing. Knowledge of the pre-treatment mutation status of various genes has improved our ability to assign initial treatment and, of particular importance, knowledge of whether patients ostensibly in remission have measurable residual disease should influence subsequent management. Several new drugs have been approved by the FDA and we discuss their role in treatment.



### No. at Risk

NGS+, MFC+	30	8	7	5	4	4
NGS-, MFC+	41	22	18	14	11	7
NGS+, MFC-	64	39	30	22	15	11
NGS-, MFC-	205	153	130	101	69	42



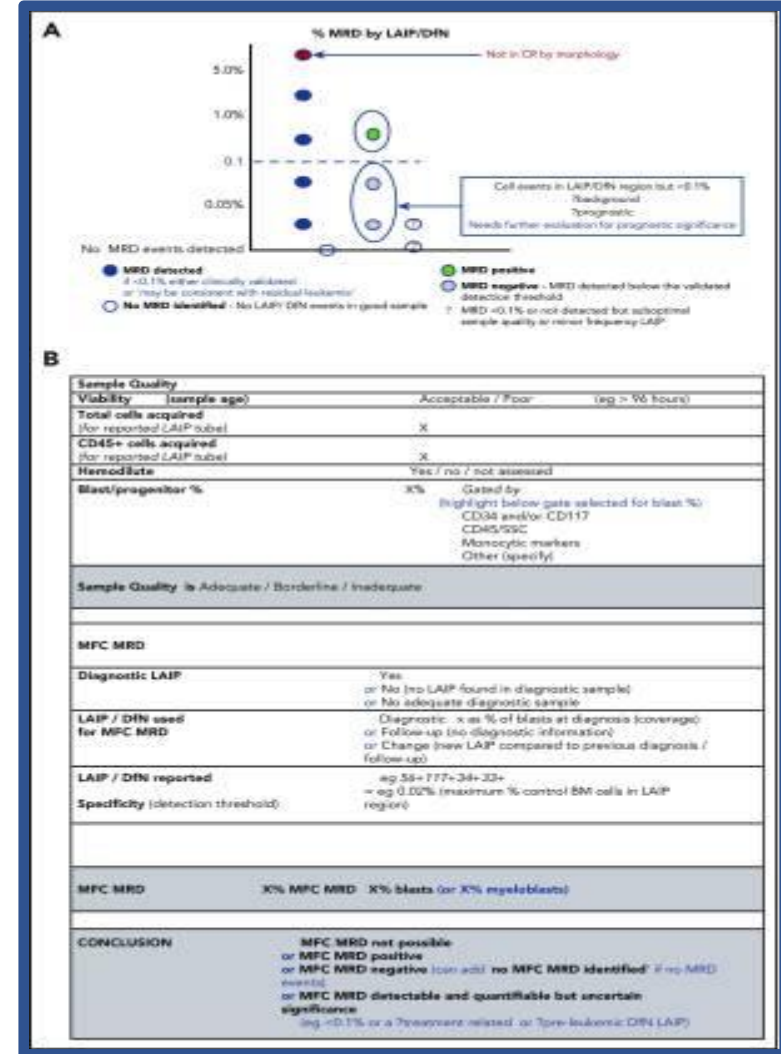
# AKAN HÜCRE ÖLÇER RAPORUNDA NE GÖRÜLMELİDİR?

## Sonuç Bilgileri

- Sayılan hücre sayısı : 500,000 – 1,000,000 hücre (CD45neg hücreler ve debris dışında)
- LiIF pozitif hücrelerin mutlak sayısı, yüzdesi
- Tanıda aynı LiIF ile saptanan blast yüzdesi, absolut sayısı
- ~~ÖKH pozitif/negatif~~/ÖKH saptanmadı/yeniden görüldü/tam remisyon ibareleri
- Genel kabul gören eşik değer %0.1
- Varsa tanıda olmayan, yeni ortaya çıkan LiIF bilgileri

## Ek bilgiler

- Örnek kalitesi ile ilgili bilgiler
- Saptandı ise rejenerasyon ile ilgili bilgiler
- Çevre kanı bulaşı
- Notlar



# MOLEKÜLER ÖLÇÜM RAPORLARINDA NE GÖRÜLMELİDİR?

Parametre	Örnekler
ÖKH Hedefi/hedefleri	Örneğin; RUNX
Ölçüm Tekniği	Örneğin; RT-PZR
Analiz yapılan doku	Kemik iliği Aspirasyon örneği ya da çevre kanı
Tedavinin hangi aşamasında örnek alındığı	Örneğin iki kür indüksiyon kemoterapisi
Örnek/analiz kalitesi	ÖKH belirlenmesine uygun olup olmadığı Örneğin; kopya sayısı
Hedef genein nicelik özelliği	Mutasyona uğramış NPM1 CT değeri
Kontrol geni	Örneğin; ABL
Kontrol geninin nicel ölçüm sonuçları	Örneğin; ABL ve CT değeri
Nitel ÖKH sonucu	Pozitif ya da negatif MRD sonucu
ÖKH negatif ise LOD	Testin duyarlılığını belirtmek için
Tanı	Örneğin; tam remisyon, düşük kopya sayısı ile moleküler kalıntı, moleküler «progression», moleküler relaps vb.
Bir sonraki ölçüm zamanı	Örneğin; son örnekten en az dört hafta sonra yeniden ölçüm vb

# LÖSEMİ ALT TİPLERİNE GÖRE ÖKH ÖLÇÜMLERİ

Hastalık	Yanıt	Yöntem ve Örnek	Notlar ve Sorunlar
AML	Kan sayımları ile tam remisyon	Kemik İliği Aspirasyon Örneği	ÖKH belirtecinin saptanması LiİF ile yapılır, klonalite ölçülemeyebilir. Moleküler yöntemler %30 – 50 hastada kullanılabilir
ALL	Kan sayımları ile tam remisyon	Kemik İliği Aspirasyon Örneği	- İlk ya da ikinci remisyonda olan ALL hastalarında >%0.1 ÖKH düzeyi relaps için yüksek risk göstergesidir - Relaps ya da dirençi ALL olgularında sürekli tam remisyon sağlayabilen yeni ilaçlar için <%0.01 ÖKH düzeyi kabul edilmektedir.
APL	Kan sayımları ile tam remisyon	Kemik İliği Aspirasyon Örneği	Arsenik/tretinoin ya da idarubicin/tretinoin ile indüksiyon tedavisi kullanılan olgularda <0.01 ÖKH düzeyi negatif kabul edilmektedir. Farklı tedavi ajanları kullanılıyorsa, konsolidasyonun sonunda ÖKH belirlenmesi öneriliyor.

*\*FDA Guidance: Hematologic Malignancies: Regulatory Considerations for Use of Minimal Residual Disease.. Ekim, 2018*  
*Pediyatrik olgulara yaklaşım farklıdır.*



# FDA ve EMA ÖKH YAKLAŞIMLARI

Kriterler	FDA	EMA
ÖKH ölçümlerinin valide edilmiş bir sonlanım noktası olarak kabul edilmesi	Henüz tam kabul almamış durumda, meta-analizlerin sayısının artması, klinik araştırmalara ÖKH verilerinin eklenmesini talep ediyor	Olgu bazında ÖKH ölçümleri yapılmasını destekliyor, ancak yayınlanan kılavuzun ilaç araştırmalarında kullanımını talep etmiyorlar
Uzun dönemde klinik çıktılar: Sağkalım sonuçları	Özellikle belirtilmemiş	«PFS – Progress free survival» ile güçlendirilip Toplam sağkalımla takip edilmesi öneriliyor
Yöntem Önerileri	Validasyonu yapılmış analitik sistemlerin kullanılması	Validasyonu yapılmış analitik sistemlerin kullanılması
ÖKH Ölçümleri	Eşik değer belirtilmemiş	Kemik iliğindeki malin hücreler içinde <10-5 ise MRD saptanamamıştır
Zamanlama Önerileri	Sadece tam remisyonda hastalara uygulanabilir	ÖKH ölçümleri her tedavi aşaması sonrasında ve yanıtta şüphelenilen durumlarda gerçekleştirilmelidir
Yanıtın kalıcılığı	Açıkça belirtilmemiş	En az 1 yıl süre ile hastalık belirtileri saptanmayan hastalar MRD saptanmayan hastalar olarak gruplandırılıyor

*FDA : Federal Drug Agency; EMA : European Medicine Agency*

## Comparison of Acute Myeloid Leukemia Measurable Residual Disease Detection By Flow Cytometry in Peripheral Blood and Bone Marrow

**TABLE 1. Comparison of Acute Myeloid Leukemia Measurable Residual Disease Detection by Flow Cytometry in Peripheral Blood and Bone Marrow**

	PB flow positive	PB flow negative
<b>All sample pairs (N = 724)</b>		
<b>BMA flow positive</b>	306	22
<b>BMA flow negative</b>	9	387
<b>First pair for each patient (N = 482)</b>		
<b>BMA flow positive</b>	235	19
<b>BMA flow negative</b>	5	223
<b>Pairs between remission and relapse (N = 149)</b>		
<b>BMA flow positive</b>	32	8
<b>BMA flow negative</b>	3	106
<b>Pairs with BMA flow blast &lt;5% (N = 365)</b>		
<b>BMA flow positive</b>	63	14
<b>BMA flow negative</b>	7	281
<b>Pairs before HCT (N = 32)</b>		
<b>BMA flow positive</b>	9	1
<b>BMA flow negative</b>	0	22

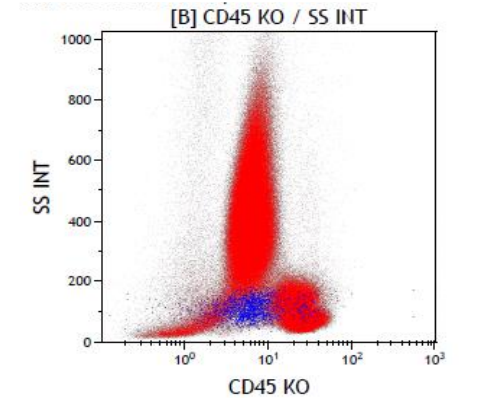
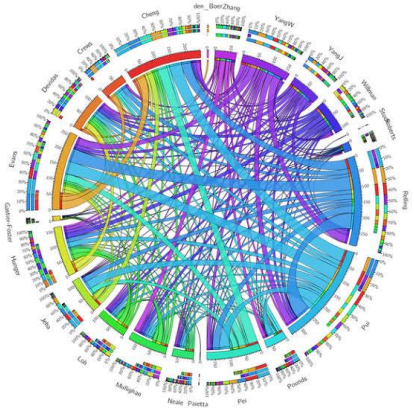
Abbreviations: BMA, bone marrow aspirate; PB, peripheral blood; HCT, hematopoietic cell transplant.

Colin D. Godwin, MDMPHil, Yi Zhou, MD PhD, Megan Othus, PhD, Carole M. Shaw, BA, Kelda M. Gardner, PA-C, Brent L Wood, MD PhD, Roland B. Walter, MD PhD MS, Elihu H. Estey, MD,

Comparison of Acute Myeloid Leukemia Measurable Residual Disease Detection By Flow Cytometry in Peripheral Blood and Bone Marrow, Blood, 2019,

NEREDE ?

- MRD kavramı hakkında bilgi birikimi olan laboratuvarlarda
- Yeni sistemler, yöntemler kullanan laboratuvarlarda
- Hematoloji uzmanı ile iletişimi olan laboratuvarlarda
- Analiz/Yorumlama deneyimi olan laboratuvarlarda
- Mümkünse bölgesel yetkin laboratuvarlarda

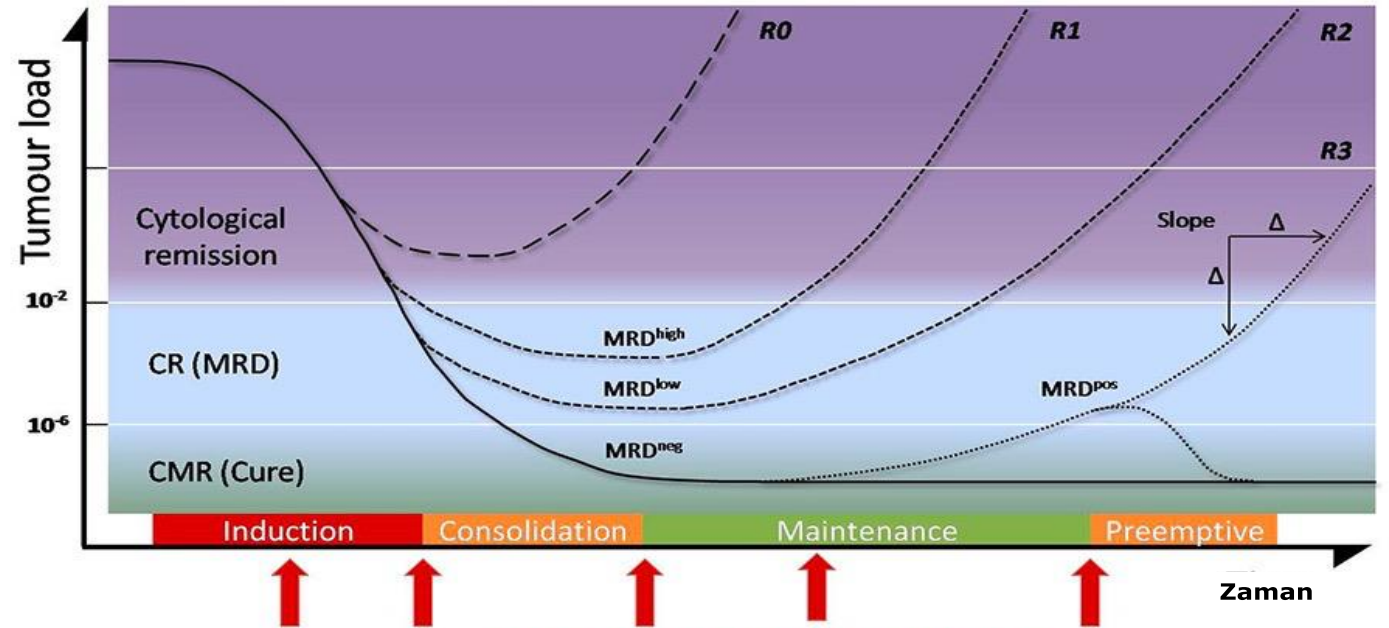


NE

ZAMAN?

- Hastalığa özgü bir zamanlama/takvim
- Erişkin ve çocukta farklı protokoller var

## SÜREÇ İÇİNDE ÖKH



Ölçülebilir Kalıntı Hastalık Saptanması

Mauhel vd. Swiss Medical Weekly, 2014

# AML ÖRNEĞİ

## TANI

Çok renkli  
immünofenotipleme  
qPZR ile hedef tayini  
PML-RARA RUNX1-  
RUNX1T1, CBF-MYH11,  
NPM1, WT1

## İNDÜKSİYON SONRASI

En az iki kür  
indüksiyon tedavisi  
sonrasında

## KONSOLİDASYON SONRASI\*

Tedavi bitimi  
sonrasında en az 2  
yıl süre ile 3 ayda  
bir KiA'dan, 4-6  
haftada bir çevre  
kanından ÖKH

## TRANSPLANTASYON SONRASI

En az 2 yıl süre ile 3  
ayda bir KiA'dan, 4-6  
haftada bir çevre  
kanından ÖKH

## İNDÜKSİYON TEDAVİSİ

## KONSOLİDASYON

## TRANSPLANTASYON

RELAPS/İLERLEMEDE  
PREEMPTİF TEDAVİ

ÖKH DEĞERLENDİRMESİ

RİSKLERİN BELİRLENMESİ

Tanı öncesi Risk Faktörleri

- Yüksek riskli LiİF
- Yüksek riskli sitogenetik
- Mutasyonlar
- Hastaya özgü riskler

- ÇRİ ÖKH >%0.1
- Kemik iliğinde 3 log RUNX1-  
RUNX1T1, CBF-MYH11  
azalması
- Çevre kanında 4 log NPM1  
azalması
- PML-RARA kopya sayısı

- Moleküler  
ilerleme
- Moleküler  
relaps
- LiİF varlığı

- Moleküler ilerleme
- Moleküler relaps
- LiİF varlığı

\*Transplant öncesi dönemde transplanttan en az dört hafta önce ölçüm yapılması önerilmektedir.

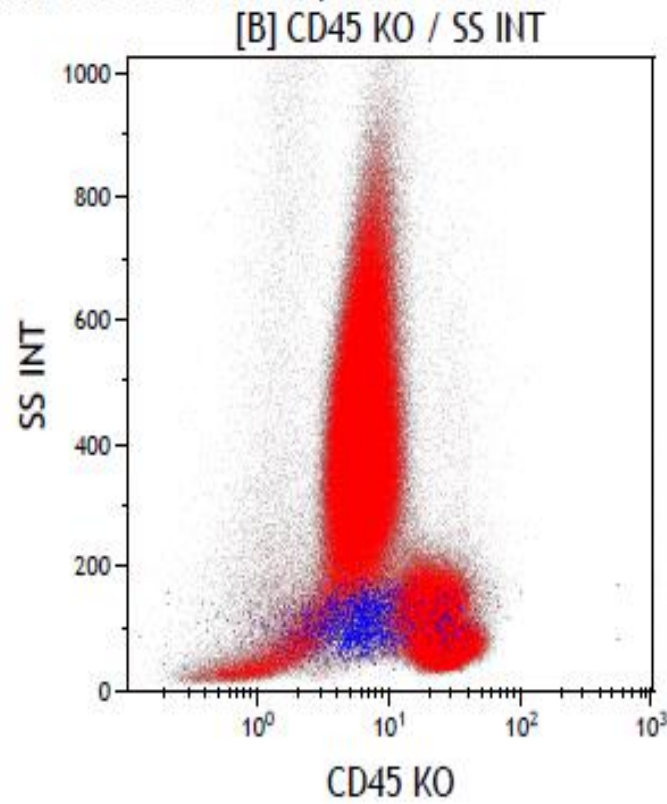
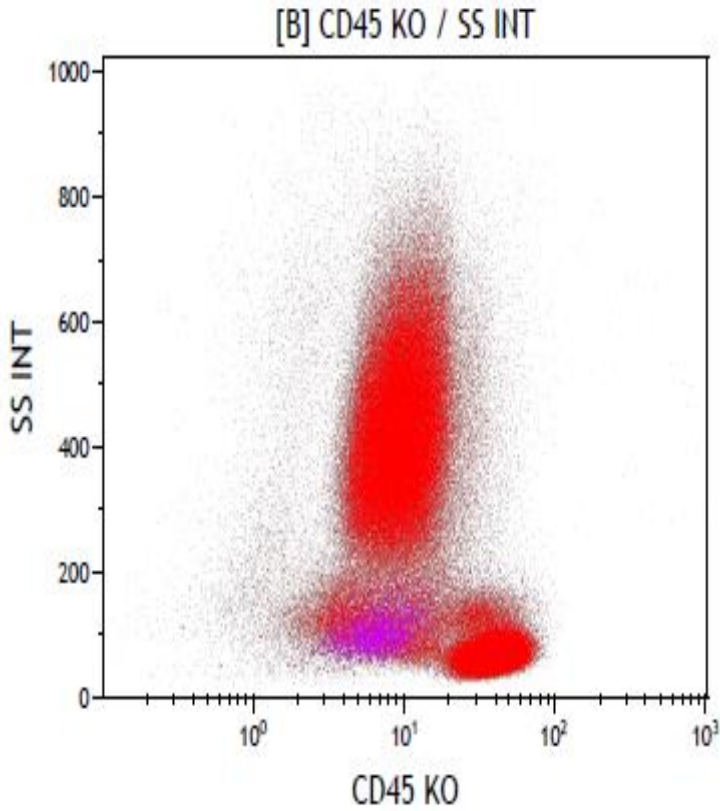
kim?





- Hematoloji hekimleri
- Yetkin klinik laboratuvarlar  
*(akan hücre ölçer ve moleküler genetik lab.)*
- İyi eğitilmiş, yetkin teknik personel
- Bilgi ve deneyimi olan değerlendiriciler

# TEŞEKKÜRLER



**YEDİTEPE ÜN. HASTANELERİ  
HEMATOLOJİ KLİNİKLERİ**

**Doç. Dr. H. Atilla Özkan**

**Prof. Dr. Buket Erer del Castello**

**Uz. Dr. Çetin Timur**

**KÖK HÜCRE LAB**

**Biyolog Sema Aktaş**

**Uz. Biyolog Hüsniye Dağdeviren**

**Biyolog Ayşe Yiğit**