

**Hämatologisches Diagnostiklabor
Klinik für Medizinische Onkologie und Hämatologie**

Empfehlungen zur Labordiagnostik hämatologischer Neoplasien

auf Grundlage der 5. Edition der WHO Klassifikation 2022

1. Edition Januar 2023
2. Edition April 2023
3. Edition August 2023

Herausgeber:

Hämatologisches Diagnostiklabor der Klinik für Medizinische Onkologie und Hämatologie,
Universitätsspital Zürich

Autoren:

S. Gundermann, K. Zimmermann, M.C. Weller, N. Wegener, S. Balabanov

unter Mitarbeit von:

D. Hediger (Onkologielabor Universitäts-Kinderspital Zürich)

M. Bühler (Institut für Pathologie und Molekularpathologie Universitätsspital Zürich)

Bei inhaltlichen Fragen, Unklarheiten oder Korrekturhinweisen Kontakt an:

Dr. med. S. Gundermann

Klinik für Medizinische Onkologie und Hämatologie

Rämistrasse 100

CH-8091 Zürich

✉ stefan.gundermann@usz.ch

Das vorliegende Handbuch zur Labordiagnostik hämatologischer Neoplasien entspricht ausschliesslich den Empfehlungen des Hämatologisches Diagnostiklabors der Klinik für Medizinische Onkologie und Hämatologie (MOH) des Universitätsspital Zürich auf der Grundlage der 5. Auflage der WHO Klassifikation hämatologischer Neoplasien 2022. Die Diagnostikpfade sind weder vollumfassend noch ersetzen sie die ausführlicheren Empfehlungen und Kommentare der WHO und der Fachgesellschaften für die einzelnen Erkrankungen.

In der komplett überarbeiteten WHO Klassifikation hämatologischer Neoplasien 2022 wird der Stellenwert zugrundeliegender genetischer Krankheitsmerkmale für die Klassifizierung maligner hämatologischer Erkrankungen weiter betont und wenn möglich als Diagnosekriterium herangezogen. Dieser Ansatz ist nachvollziehbar und wird entsprechend der verfügbaren Evidenz auch in zukünftigen Auflagen noch stärkere Berücksichtigung finden. Mit der Einteilung und Klassifizierung entsprechend genetischen Merkmalen werden daher etablierte Grenzwerte, Klassifizierungs- und Diagnosesysteme entsprechend phänotypischer Merkmale nachrangig oder bedeutungslos. Daher können Diagnosen, die sich allein auf phänotypische Merkmale berufen, erst nach Ausschluss aller bekannten diagnose-definierenden genetischer Merkmale gestellt werden. Beispielhaft stehen hierfür die Myelodysplastischen Neoplasien (MDS) mit erhöhten Blastenanteil (MDS-IB), die den Ausschluss einer Reihe von auch seltenen genetisch-definierten Subentitäten der akuten myeloischen Leukämie (AML) fordern.

Die Tiefe der Diagnostik ist grundsätzlich von vielen Faktoren abhängig und sollte neben der klinischen Plausibilität und Anamnese vor allem biologische Faktoren (Alter und Komorbiditäten) der Patientin oder des Patienten berücksichtigen. Die Einschätzung inwiefern es im konkreten Einzelfall notwendig ist alle Differentialdiagnosen entsprechend den Empfehlungen der WHO auszuschliessen obliegt weiterhin dem klinisch-tätigen Hämatologen. Die Diagnostikpfade sollen daher nicht als verbindliche Diagnostikleitlinien, sondern als Hilfestellung zur rationalen Diagnostik maligner hämatologischer Erkrankungen im klinischen Arbeitsalltag verstanden werden.

Das Handbuch ist in mehrere Teile gegliedert. Im ersten Teil werden grundsätzliche Informationen zur WHO Klassifikationen 2022 dargestellt. Im zweiten Teil werden Methoden des Labors und der assoziierten Institute aufgezeigt. Ab dem dritten Teil werden Diagnostikpfade einer Auswahl hämatologischer Neoplasien aufgezeigt. Die Reihenfolge der Darstellung richtet sich nach der WHO Klassifikation. Die überwiegenden Informationen wurden der WHO 2022 (kostenpflichtige beta-Version, online) entnommen. Für einige Erkrankungen wird explizit auf entsprechende Leitlinien oder Übersichtsarbeiten verwiesen. Der überwiegende Anteil der Informationen wird als Flussdiagramm und Tabellen dargestellt.

Inhaltsverzeichnis

Kapitel I: Allgemeines..... 6

 Diagnose und Klassifikationssysteme hämatologischer Neoplasien 2022 7

 Grundprinzipien der WHO Klassifikation 8

 WHO 2022: major changes 9

Kapitel II: Diagnostische Verfahren..... 10

 Zytomorphologie 11

 Präanalytik 11

 Immunphänotypisierung 12

 Präanalytik 12

 Panelübersicht 14

 Lymphom/Plasmazell/MGUS-Panel 15

 Leukämie-Panel 16

 Sonstige IP-Panel 17

 Standardisierte MRD Panels 18

 MRD PZM Panel Anmerkung 19

 MRD AML Panel Anmerkung..... 20

 Molekulargenetik 21

 Präanalytik 21

 Molekulargenetik: Übersicht Analysen..... 22

 Hämatologie: HemaVision RT-PCR..... 23

 Übersicht NGS Panels 24

 Hämatologie: NGS CHIP Panel 26

 Hämatologie: NGS Zytopenie Panel..... 27

 Hämatologie: NGS MPN Panel..... 28

 Hämatologie: NGS AML Panel 29

 Hämatologie: NGS AML MRD Panels 30

 Hämatologie: NGS CLL Panel 31

 Molekularpathologie: Archer VariantPlex myeloid panel 32

 Molekularpathologie: Archer VariantPlex lymphoid panel 33

 Molekularpathologie: FoundationOne Heme 34

 Zytogenetik 35

 Präanalytik 35

 Empfehlungen zur zytogenomischen Untersuchung 36

 Zytogenetik: Chromosomenbänderungsanalyse (CBA), Karyogramm 37

 Zytogenetik: Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH)..... 38

 Zytogenetik: Array-basierte comparative genomische Hybridisierung (aCGH)..... 39

 Zytogenetik: klonale Gen-Rearrangements von Immunglobulin- oder T-Zell-Rezeptorgenen..... 40

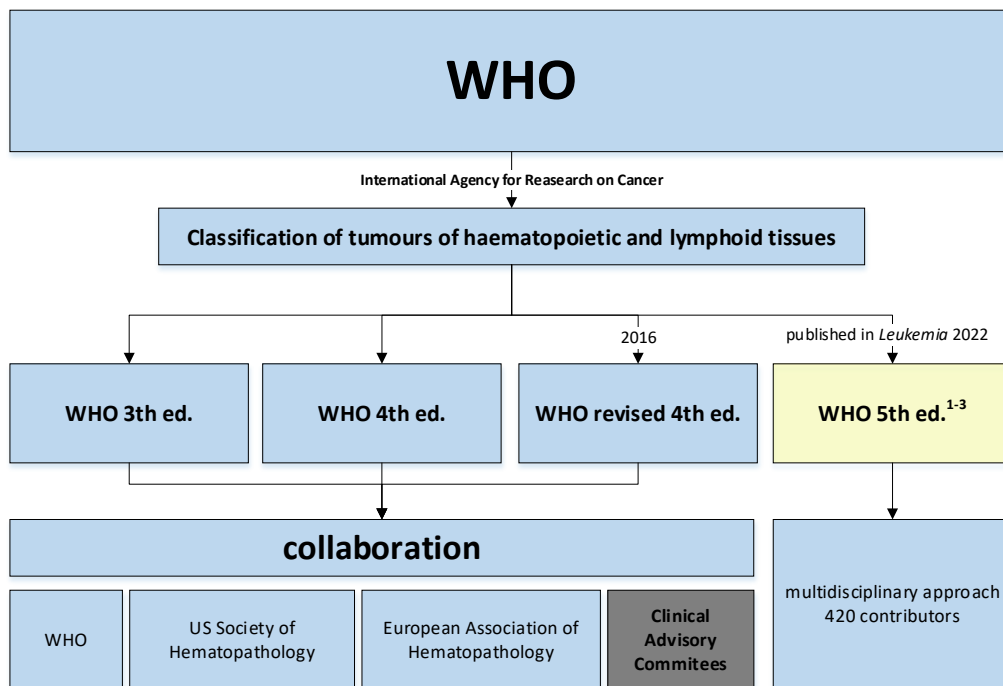
| | |
|--|----|
| Kapitel III: Myeloische Neoplasien | 41 |
| Diagnostikpfad: Chronische myeloische Leukämie (CML), Erstdiagnose | 42 |
| Diagnostikpfad: Chronische myeloische Leukämie (CML), Verlauf | 43 |
| Diagnostikpfad: <i>BCR::ABL1</i> negative myeloproliferative Neoplasien (MPN)..... | 44 |
| Diagnostikpfad: Systemische Mastozytose (SM) | 45 |
| Myelodysplastische Neoplasien (MDS)..... | 46 |
| Klassifikation myelodysplastischer Neoplasien (MDS)..... | 46 |
| Hierarchie myelodysplastischer Neoplasien (MDS)..... | 49 |
| Diagnostikpfad: Myelodysplastische Neoplasien (MDS) mit niedrigen Blastenanteil..... | 50 |
| Diagnostikpfad: Myelodysplastische Neoplasien (MDS) mit erhöhten Blastenanteil/AML, Blastenanteil \leq 20% | 51 |
| Myelodysplastische Neoplasien/Myeloproliferative Neoplasien (MDS/MPN) | 52 |
| Diagnostikpfad: Myelodysplastische Neoplasien/Myeloproliferative Neoplasien (MDS/MPN) ausser CMML..... | 53 |
| Diagnostikpfad: Chronische myelomonozytäre Leukämie (CMML) | 54 |
| Akute myeloische Leukämie (AML)..... | 55 |
| Einteilung akuter myeloischer Leukämien (AML) nach WHO 2022 | 57 |
| Hierarchie akute myeloische Leukämie (AML) | 58 |
| Diagnostikpfad: Akute myeloische Leukämie (AML), Blastenanteil \geq 20% | 59 |
| Diagnostikpfad: Akute myeloische Leukämie (AML), Verlauf, MRD | 60 |
| Empfehlungen zur MRD-Diagnostik bei akuter myeloischer Leukämie (AML) nach ELN 2022.... | 61 |
| Übersicht: Sekundäre myeloische Neoplasien..... | 62 |
| Diagnostikpfad: Persistierende (klonale) Eosinophilie | 63 |
| Kapitel IV: histiozytäre/dendritische Zellneoplasien..... | 64 |
| Diagnostikpfad: BPDCN/MPDCP | 65 |
| Diagnostikpfad: Histiozytäre Neoplasien..... | 66 |
| Kapitel V: lymphatische Neoplasien..... | 67 |
| Übersicht: T-lymphoblastische(s) Leukämie/Lymphom (T-ALL/LBL) und Acute leukemias of ambiguous lineage (ALAL) | 68 |
| Übersicht: B-lymphoblastische(s) Leukämie/Lymphom (B-ALL/LBL) | 69 |
| Transkriptomanalyse bei B-lymphoblastischer(n) Leukämie/Lymphom (B-ALL/LBL)..... | 70 |
| Diagnostikpfad: B-lymphoblastische(s) Leukämie/Lymphom (B-ALL/LBL)..... | 71 |
| Diagnostikpfad: T-lymphoblastische(s) Leukämie/Lymphom (T-ALL/LBL) | 72 |
| Diagnostikpfad: Acute leukemias of ambiguous lineage (ALAL)..... | 73 |
| Übersicht: reifzellige B-Zelllymphome | 75 |
| Immunphänotypisierung reifzelliger B-Zelllymphome | 76 |
| Diagnostikpfad: CLL, SLL, MBL | 77 |
| Diagnostikpfad: CLL, Verlaufskontrolle peripheres Blut..... | 78 |
| Diagnostikpfad: reifzellige B-Zelllymphome (ausser CLL) | 79 |
| Diagnostikpfad: Transformation indolenter B-Zelllymphome | 80 |
| Diagnostikpfad: Aggressive B-Zelllymphome..... | 81 |

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|----|
| Diagnostikpfad: Aggressive B-Zelllymphome, Rezidiv, Progression | 82 |
| Diagnostikpfad: Plasmazellneoplasien..... | 83 |
| Diagnostikpfad: Plasmazellneoplasien, Verlauf, MRD | 84 |
| Diagnostikpfad: reifzellige T/NK-Zellneoplasien..... | 85 |
| Diagnostikpfad: T-LGLL..... | 86 |
| Literaturverzeichnis | 87 |
| Anhang | 92 |

Kapitel I: Allgemeines

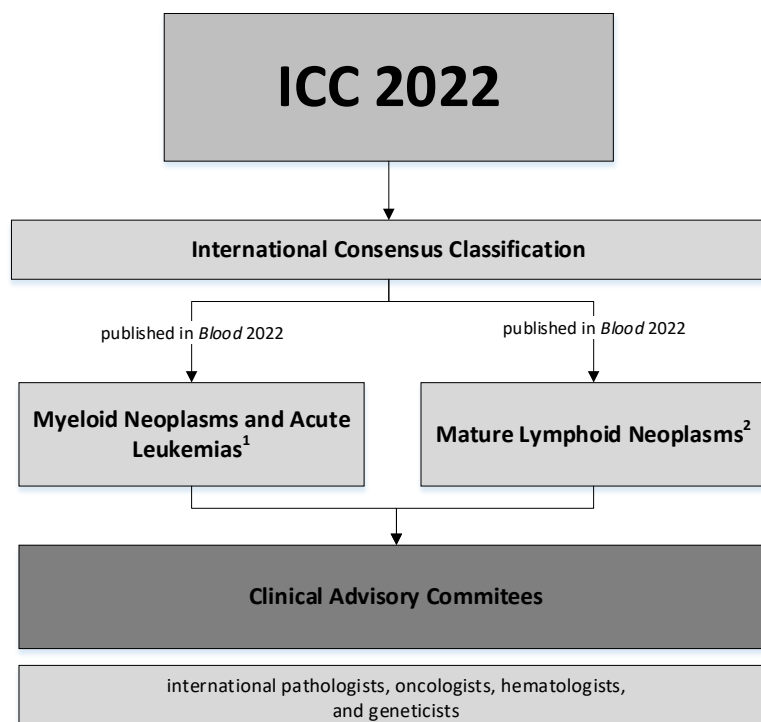
Diagnose und Klassifikationssysteme hämatologischer Neoplasien 2022



1) Khoury et al., *Leukemia*. 2022

2) Alaggio et al., *Leukemia*. 2022

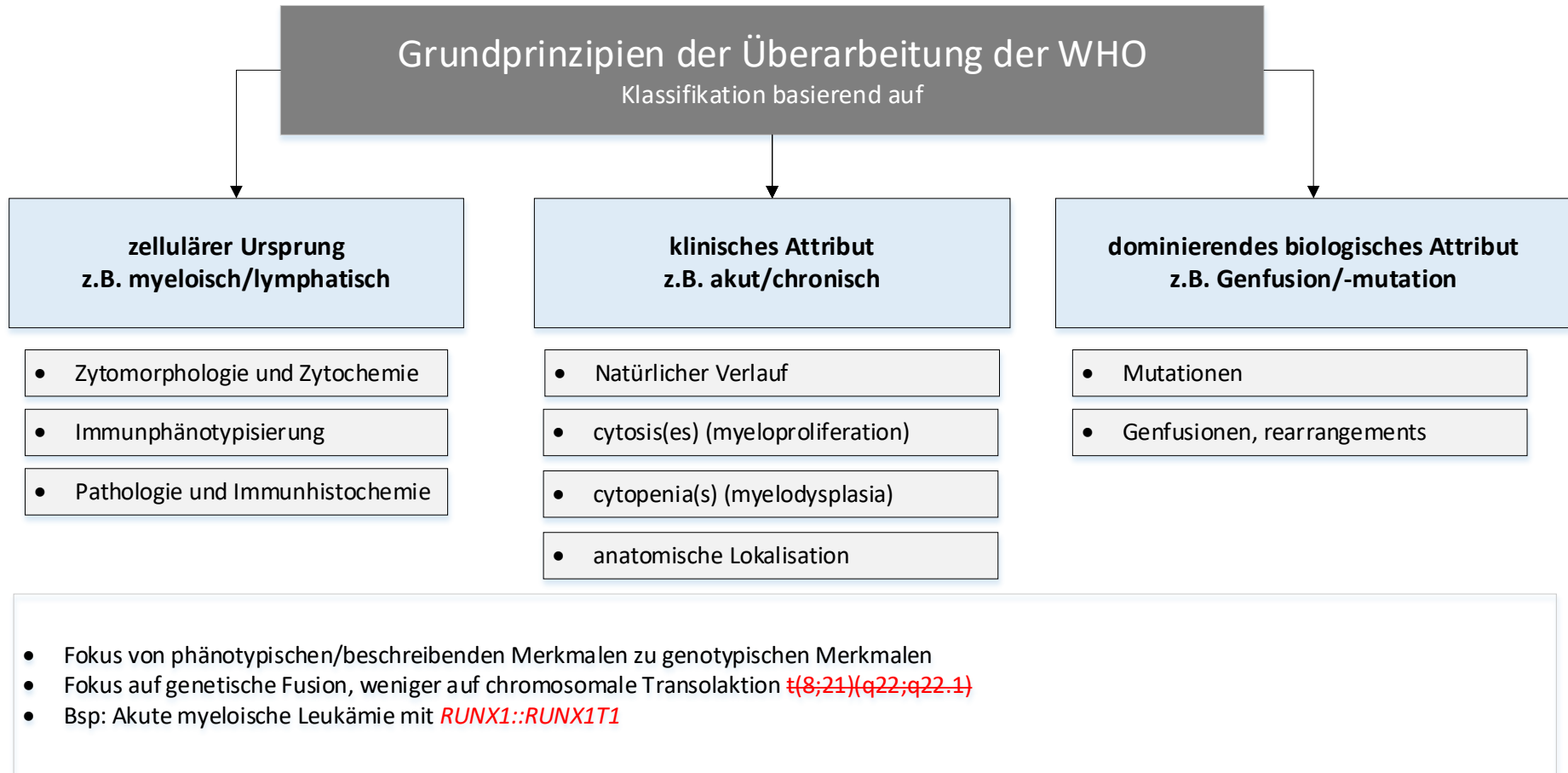
3) [BlueBooksOnline \(who.int\)](https://bluebooks.bioscienceresources.com/who-international-consensus-classification/)



1) Arber et al., *Blood*. 2022,

2) Campo et al., *Blood*. 2022

Grundprinzipien der WHO Klassifikation



WHO 2022: major changes

| | Entität | Änderung oder Anpassung |
|-------------------------------|---|---|
| Änderungen der Klassifikation | Definition Zytopenie | Neutrophile < 1.8 G/L, Hämoglobin ♀<120 bzw. ♂<130 g/L, Thrombozyten < 150 G/L |
| | Klonale Hämatopoiese | CHIP und CCUS als eigenständige Entität |
| | Akute myeloische Leukämie (AML) | 2 Kategorien: AML mit genetisch-definierten Anomalien und AML, definiert nach Differenzierung |
| | Akute myeloische Leukämie (AML) | mehrheitlich Aufgabe definierter Blastengrenzwerte bei genetisch-definierter (AML) |
| | Myelodysplastische Neoplasien (MDS) | 3 genetisch-definierte MDS-Entitäten (MDS-5q, MDS-SF3B1, MDS-biTP53) |
| | B-lymphoblastische Leukämie/Lymphom (B-ALL/B-LBL) | Erweiterung der Einteilung B-ALL/LBL anhand genetischer Merkmale |
| | Acute leukaemias of ambiguous lineage (ALAL) | Ansatz genetische Einteilung ALAL |
| | Mixed-phenotype acute leukemia (MPAL) | Ansatz genetische Einteilung MPAL |
| | Chronisch myelomonozytäre Leukämie (CMML) | Anpassung Monozytengrenzwerte im peripheren Blut |
| | Um- oder Neustrukturierung Lymphome | Neuordnung, Umbenennung von Lymphomen, Wegfall einzelner Entitäten |
| Änderung Nomenklatur | Myelodysplastisches Syndrom (MDS) | Myelodysplastische Neoplasien (MDS) |
| | Atypische CML (aCML) | Myelodysplastischen/myeloproliferativen Neoplasie mit Neutrophili (MDS/MPN-N) |
| | MDS mit Blastenexzess (MDS-EB) 1 oder 2 | MDS mit erhöhten (increased) Blasten (MDS-IB) 1 oder 2 |
| | Haarzelleukämie Variante | Splenisches B-Zell-Lymphom/Leukämie mit prominenten Nukleolen |
| | B-Prolymphozytenleukämie (B-PLL) | Entität entfällt |

Abkürzung: CHIP: Klonale Hämatopoiese unbestimmten Potenzials, engl.: clonal hematopoiesis of indeterminate potential, CCUS: klonale Zytopenie unklarer Signifikanz, eng.: clonal cytopenia of unknown

Kapitel II: Diagnostische Verfahren

Zytomorphologie

Die zytomorphologische Beurteilung von peripheren Blut und Knochenmark ist eine Grundlagendiagnostik hämatologischer Erkrankungen. Sie erlaubt die Beschreibung und Differenzierung zwischen physiologischen und malignen Zellen von Blut- und Knochenmarkausstrichen in der panoptischen Färbung, Eisenfärbung und ggfs. zusätzlich in zytochemischen Spezialfärbungen. Die Zytomorphologie wird zur Diagnosestellung und Klassifizierung hämatologischer Erkrankungen und zur Verlaufsbeurteilung verwendet. Darüber hinaus erfolgt die morphologische Diagnostik von Punktaten (Liquor, Aszites, Pleura etc.)

Angebotene Analysen:

- Zytomorphologische Beurteilungen von peripheren Blut, Knochenmark und Punktaten
- Parasitologie (Malaria etc.)

Bearbeitungszeit:

- Zytomorphologische Befundungen von peripheren Blut und Punktaten werden als Notfall- oder Routineanalysen angeboten.
- Zytomorphologische Knochenmarkbeurteilungen erfolgen innerhalb von 24-48 Stunden. Bei akuten Fragestellungen erfolgt eine Priorisierung. Der Befund wird dann innerhalb weniger Stunden zugestellt oder vorab telefonisch mitgeteilt.

Präanalytik

Untersuchungsmaterial:

- Für eine zytomorphologische Beurteilung des Knochenmarks werden 6 bis 8 ungefärbte Knochenmarkausstriche und frisches EDTA-Blut sowie optimalerweise 4 periphere Blutausstriche benötigt. Ebenfalls weniger geeignet ist Knochenmarkmaterial in EDTA oder Heparin, da es hier aufgrund der Zugabe des Antikoagulans zu feinmorphologischen Störungen kommen kann. Für externe Zusendende bieten wir auf Anfrage gerne Schulungen für die Ausstrichtechnik an.
- Einsendungen von EDTA-Blut für spätere Ausstriche sind ebenfalls weniger geeignet da feinmorphologische Beurteilungen von peripheren Ausstrichen in EDTA nach >6 Stunden nicht mehr repräsentativ sind (EDTA-Transportartefakt).
- Materialanforderungen für Untersuchungen von Punktaten kann unseren Auftragszettel entnommen werden.

Immunphänotypisierung

Ein zentraler Bestandteil der Diagnostik von hämatologischen Neoplasien stellt die Immunphänotypisierung dar. Anhand von Antigenexpressionsmuster können maligne von physiologischen Zellen abgegrenzt werden. Die Immunphänotypisierung dient neben der Sicherung der Diagnose und Klassifizierung der Erkrankung, der Prognoseabschätzung und der Quantifizierung maligner Zellen im Therapieverlauf (MRD Diagnostik).

Bearbeitungszeit:

- Immunphänotypische Beurteilungen erfolgen bei Einsendungen von Montag bis Donnerstag in der Regel innerhalb von 24-48 Stunden.
- Bei Einsendungen **bis spätestens freitags 12 Uhr** kann die Untersuchung der Probe noch erfolgen. Bei Einsendungen nach 12 Uhr kann eine Analyse nicht garantiert werden. In dringenden Fällen empfehlen wir daher telefonische Rücksprache vor geplanten Punktionen.

Präanalytik

Untersuchungsmaterial:

- Für eine immunphänotypische Analyse wird üblicherweise 5 bis 10 ml peripheres Blut oder Knochenmark in Heparin verwendet. Die Analysen werden auch in diversen anderen Punktaten sowie im Rahmen des Lymphomservices an Lymphknotenbiopsien durchgeführt
- Alternativ kann auch EDTA als Antikoagulans verwendet werden, wobei hierbei mit einem schnelleren Viabilitätsverlust der Zellen gerechnet werden muss. Daher eignet sich Untersuchungsmaterial in EDTA nicht für externe Zusendungen.
- Eine Liquoranalyse sollte aufgrund der allgemein sehr tiefen Zellzahl in einem speziellen Fixationsmedium erfolgen. Hierzu empfehlen wir das Verwenden von Transfix. Bei Bedarf kann dieses in unserem Labor angefordert werden.

| Material | Antikoagulanz |
|---------------------|--|
| Knochenmark | in Heparin (prioritär) oder EDTA |
| Peripheres Blut | in Heparin oder EDTA |
| Körperflüssigkeiten | Nativ, alternativ bei blutigem Material EDTA |
| Liquor | Nativ; alternativ Transfix-Röhrchen |
| Stammzellbeutel | EDTA |
| Biopsien | Nativ, evtl. NaCl oder PBS oder PBS-A |

Diagnostische Methoden

Allgemeine Stabilität des Probenmaterial abhängig vom Zusatz

- EDTA: 24 Stunden bei Raumtemperatur
- Heparin: 48 Stunden bei Raumtemperatur
- Citrat 4 Stunden bei Raumtemperatur
- Nativ 24 Stunden bei Raumtemperatur
- Transfix 4 Tage im Kühlschrank

Panelübersicht

| Panel | Screening/Erstuntersuchung | Folgepanel | MRD Panel | Verlaufsuntersuchung |
|---------------------------------|----------------------------|--|-------------------|----------------------|
| | Panel | ClearLLab LS Lymphoid Screening (Vd.a. Lymphom) | B-Zell-Folgepanel | MRD CLL Panel |
| MRD HZL Panel | | | | |
| T-Zell-Folgepanel | | | | |
| Plasmazell-Screening | | Plasmazellfolgepanel | MRD PZM Panel | |
| Lineage Vd.a akute Leukämie | | AML-Folgepanel | MRD AML Panel‡ | |
| | | | MRD LAIP Panel† | |
| | | B-ALL-Folgepanel | MRD B-ALL Panel | |
| | | T-ALL-Folgepanel | MRD B-ALL Liquor | |
| | | | MRD T-ALL Panel | |
| | | BPDCN* | MRD T-ALL Liquor | BPNCN Panel* |
| CMML | | | | |
| Mastzell-Panel | | | | |
| PNH (Granulozyten u. Monozyten) | | PNH Erythrozyten | | PNH |
| HbF | | | | HbF |
| CD34 Bestimmung | | | | |
| CD20 Status | | | CD20 Status | |
| CD19 CAR-T-Zellen | | | CD19 CAR-T-Zellen | |
| BCMA CAR-T-Zellen | | | BCMA CAR-T-Zellen | |

‡ nur wenn Spezifitätsanalyse günstig ist, wird bei Erstdiagnose bestimmt und schriftlich mitgeteilt

† nur wenn eine aberrante Antigenexpression (Antigenexpression ≥ 80-90%) nachweisbar ist, wird i.R. der Erstdiagnose bestimmt und schriftlich mitgeteilt

Das MRD LAIP Panel wurde nicht experimentell validiert

* in Validation

Lymphom/Plasmazell/MGUS-Panel

| Panel | Indikation | Material | Antigene |
|-------------------------------|--|---|---|
| Lymphomscreening | Screening für B, T und NK-Zelllymphome | Knochenmark Peripheres Blut | CD45, CD3, CD19, CD20, CD5, CD10, CD56, CD5, CD8, CD4, kappa, lambda, CD34 |
| B-Zell-Lymphom | Folgeuntersuchung bei Nachweis klonaler B-Zellen im Lymphomscreening | Knochenmark Peripheres Blut | CD81, CD79b, CD5, CD200, ROR-1, CD22, CD43, CD45, CD19, CD23, CD10, CD123, CD11c, CD25, CD38, CD20, CD19 |
| | Unterscheidung CLL, HZL und MCL (FL, DLBCL) | | |
| T-Zell-Lymphom | Folgeuntersuchung bei Nachweis auffälliger T-Zellen im Lymphomscreening | Knochenmark Peripheres Blut | CD8, TRBC1, CD2, TCR g/d, CD4, CD5, CD56, CD3, CD45, CD26, CD30, CD52, CD45, PD-1, CD16, CD57, CD45RA, CCR7 |
| | Nachweis oder Ausschluss klonaler T-Zellen mittels TRBC1 bei CD3/TCR a/b positiven T-Zellen | | |
| | ggfs. Zuordnung zu einer T-NHL-Entität | | |
| | Die Klonalität TCR von g/d T-Zellen und NKT-Zellen kann mit diesem Panel nicht bestimmt werden. | | |
| Plasmazellmyelom/ MGUS | Nachweis oder Ausschluss klonaler Plasmazellen | Knochenmark Peripheres Blut bei Verdacht auf Plasmazelleukämie | CD45, CD38, CD138, CD56, CD117, CD28, CD56, CD19, CD27, cykappa, cylabda, CD319, CD20, CD269, CD200 |
| | Unterscheidung zwischen physiologischen und aberranten Immunphänotyp, der für eine allfällige MRD-Folgeuntersuchung genutzt werden, inkl. alternatives Plasmazellgating nach CD38-gerichteter Therapie | | |

Diagnostische Methoden

Leukämie-Panel

| Panel | Indikation | Material | Antigene |
|--------------------------|--|--|--|
| Blasten-screening | semiquantitative Bestimmung des Blastenanteils | Knochenmark Peripheres Blut bei punctio sicca | CD45, CD117, CD34, CD19 |
| AML | Linienzugehörigkeit und Bestimmung diagnostisch und prognostisch relevanter Antigene, die u.a für eine MRD Folgeuntersuchung genutzt werden können | Knochenmark Peripheres Blut bei punctio sicca | cyMPO, cyCD79a, CD10, CD13, CD33, CD117, CD34, CD19, HLA-DR, cyCD3, CD45, CD16, CD7, CD64, CD14, CD11b, CD15, CD123, CD38, CD56, CD71, CLL1, CD41, CD61, CD4, CD42b, TIM-3, CD22, CD105, CD36, CD9, CD97, CD96, CD99, CD47, CD45RA |
| | | | |
| B-ALL | Linienzugehörigkeit und Bestimmung diagnostisch und prognostisch relevanter Oberflächenantigene (CD20 Status etc.) | Knochenmark Peripheres Blut bei punctio sicca | cyMPO, cyCD79a, CD10, CD13, CD33, CD117, CD34, CD19, HLA-DR, cyCD3, CD45, CD15, CD64, CD38, CD20, CD22, cyTDT, cyCD22, cyCD3, cyCD45 |
| | Darstellung der Abweichung im physiologischen B-Zell-Reifepfad, die für eine MRD-Folgeuntersuchung genutzt werden kann | | CD45, CD20, CD10, CD38, CD22, CD58, CD13, CD33, CD34 |
| T-ALL | Linienzugehörigkeit und Bestimmung des Immunphänotyp relevant für eine MRD Folgeuntersuchung | Knochenmark Peripheres Blut bei punctio sicca | cyMPO, cyCD79a, CD10, CD13, CD33, CD117, CD34, CD19, HLA-DR, cyCD3, CD45, CD8, CD4, CD3, CD2, CD7, CD1a, cyTDT, cyCD22, cyCD45 |
| | Unterscheidung T-ALL NOS und ETP-ALL | | |

Sonstige IP-Panel

| Panel | Indikation | Material | Antigene |
|--------------------|--|--------------------------------|---|
| Mastozytose | Nachweis von Mastzellen und Bestimmung eines aberranten Immunphänotyps, der Nachweis gilt nach gemäss WHO 2022 als Minorkriterium einer systemischen Mastozytose | Knochenmark | CD45, HLA-DR, CD25, CD2, CD117, CD30 |
| CMML | Bestimmung des relativen Anteil der Monozytensubpopulationen, die Untersuchung kann zum Nachweis eines Supportivkriteriums gemäss Diagnoskriterien der CMML nach WHO 2022 genutzt werden | Peripheres Blut | CD45, CD14, CD16, CD24, CD56, CD2 |
| PNH | Nachweis oder Ausschluss des Verlust GPI-verankerter Membran-Proteine in Granulozyten, Monozyten und Erythrozyten | Peripheres Blut | CD45, FAER, CD24, CD14, CD64, CD15, CD235, CD59 |
| CD20 Status | Bestimmung des relativen Anteils an CD20 und CD19 positiver B-Zellen nach CD20-depletierender Therapie | Knochenmark Peripheres Blut | CD19, CD20, CD3, CD4, CD8 |
| CAR-T-CD19 | Bestimmung des relativen Anteils an CD19 positiven CAR-T-Zellen | Knochenmark Peripheres Blut | CD4, CD8, 7-AAD, Biotin, CD3, CD45 |
| CAR-T-BCMA | Bestimmung des relativen Anteils an BCMA positiven CAR-T-Zellen | Knochenmark Peripheres Blut | CD4, CD8, 7-AAD, Biotin, CD3, CD45 |

Standardisierte MRD Panels

| Panel | Material | Antigene |
|-----------------|--------------------------------|---|
| MRD CLL | Peripheres Blut Knochenmark | CD45, CD19, CD23, CD43, CD200, ROR-1, CD5, kappa, lambda |
| MRD HZL | Peripheres Blut Knochenmark | CD45, CD19, CD20, CD123, CD5, CD11c, CD10, CD25, CD43, CD103 |
| MRD PZM* | Knochenmark | CD45, CD17 oder CD28 oder CD200, CD38, CD138, CD81, CD56, CD319, CD27 oder CD20, cylambda, cykappa |
| MRD AML* | Knochenmark | CD45, HLA-DR, CD34, CD13, CD16, CD7, CD10, CD13, CD64, CD11b, CD15, CD123, CD117, CD33, CD38, CD19, CD56, CD7 |

*siehe Anmerkungen auf den Folgeseiten

MRD PZM Panel Anmerkung

| | Anmerkungen | |
|---------------|---|---|
| MRD PZM Panel | Eine immunphänotypische MRD Bestimmung ist möglich aber nicht sinnvoll. | Bei Erstdiagnose wurde ein aberranter Immunphänotyp der Plasmazellen nachgewiesen. Der morphologische Plasmazellanteil liegt bei $\geq 5\%$. Die Klonalität der Plasmazellen kann in diesem Fall mit dem Plasmazell-Screening Panel untersucht werden. |
| | Eine immunphänotypische MRD Bestimmung ist nicht möglich. | Bei Erstdiagnose wurde ein kein eindeutig aberranter Immunphänotyp der Plasmazellen nachgewiesen. Dies wurde im Befund bei Erstdiagnose mitgeteilt. |
| | | Der Abstand zur Probenentnahme beträgt > 24 Stunden. |
| | Eine immunphänotypische MRD Bestimmung ist möglich und sinnvoll. | Bei einer MRD Bestimmung mittels MRD PZM Panel sollten KMPs generell am Vormittag stattfinden. Für die Analyse muss das erste Aspirat der KMP verwendet werden, dies sollte bei der Punktion beachtet und entsprechend markiert werden. |

MRD AML Panel Anmerkung

| MRD Panel | Anmerkungen | |
|---------------|---|--|
| MRD AML Panel | <p>Immunhänotypische MRD Untersuchung mit standardisierten MRD Panel (M2).</p> | <p>Die durchflusszytometrische AML-MRD Analyse wird anhand des Expressionsprofils der Marker CD15, CD123, CD117, CD13, CD33, CD34, CD38, HLA-DR, CD19, CD45, CD56, CD7 sowie FSC und SSC bestimmt. In dieser Untersuchung anhand der Erstdiagnose eine patientenspezifische Gatingstrategie erstellt und deren Spezifität gegen 20 Normalproben getestet. Die maximale Sensitivität dieses Assays beträgt maximal 0.01%, je nach Spezifitätsanalyse wird die Detektionsgrenze jedoch angepasst und im Bericht angegeben.</p> |
| | <p>Immunhänotypische MRD Untersuchung mit Patienten-spezifischem Panel (LAIP)</p> | <p>Bei Nachweis eines eindeutigen Leukämie-assoziierten aberrantem Immunphänotyp (LAIP) kann eine immunphänotypische Verlaufsuntersuchung mit einem Patienten-spezifischen Panel durchgeführt werden. Der ausgewählte LAIP ist typischerweise nicht mit physiologischen Blasten/Progenitoren vereinbar, das Panel wird aber diesbezüglich nicht experimentell validiert.</p> |
| | <p>Eine immunphänotypische MRD Bestimmung ist nicht möglich bzw. sinnvoll.</p> | <p>Eine immunphänotypische MRD-Untersuchung bei der AML wird nicht empfohlen, da kein Leukämie-assoziiertes aberrantes Immunphänotypen (LAIP) identifiziert werden konnte, welches sich signifikant von physiologischen Blasten/Progenitoren abgrenzen lässt.</p> |

Molekulargenetik

Die molekulare Diagnostik in der Hämatologie umfasst eine Reihe von Methoden welche zur Identifikation und Charakterisierung von molekulargenetischen Veränderungen in der DNA und RNA von Zellen des blutbildenden Systems eingesetzt werden.

Insgesamt stellt die molekulare Diagnostik einen essenziellen Bestandteil für die Diagnose, Prognoseabschätzung oder Therapieentscheidung bei. Durch die hohe Sensitivität die von einzelnen Methoden erreicht werden, können auch residuelle maligne Zellpopulation (MRD) detektiert werden, was eine entscheidende Rolle beim Monitoring des Therapieansprechens sowie dem Erkennen von Rezidiven spielt.

In unserem Labor werden folgende Methoden angeboten:

- Quantitative Polymerase-Kettenreaktion (qPCR): Mittels qPCR können einzelne Mutationen oder Translokationen anhand einer Standardkurve quantifiziert werden.
- Digitale Polymerase-Kettenreaktion (dPCR): Wie die qPCR erlaubt die digitale PCR eine Quantifizierung von einzelnen genetischen Aberrationen. Bei der digitalen PCR wird die absolute Anzahl der Mutationen bzw. Translokationen in einer Probe genau bestimmt und ist insbesondere im niederfrequenten Bereich sehr präzise.
- Next-Generation Sequencing (NGS): Im Gegensatz zu den PCR-basierten Tests können durch eine massive Parallelisierung der DNA-Sequenzierung beim NGS mehrere Gene in einem Assay untersucht werden. Bei den NGS-basierten Assays können Mutationen (SNV / InDel) in der kompletten kodierenden Sequenz von mehreren Genen gleichzeitig untersucht werden, die Untersuchung beschränkt sich daher nicht auf Hotspot-Mutationen. NGS Panels erlauben ein schnelles Screening von prognostisch/ therapeutisch/ diagnostisch relevanten Mutationen und können die Diagnostik durch den Ausschluss einer klonalen Hämatopoese unterstützt

Bearbeitungszeit:

- 3 bis 10 Tage (NGS mind. 5 Tage)

Präanalytik

Untersuchungsmaterial:

- Vollblut (in EDTA, ca. 30 ml)
- Knochenmark (in EDTA, ca. 1 ml)
- genomische DNA kann auch aus dem Knochenzylinder (Stanze) in der Molekularpathologie extrahiert werden

Molekulargenetik: Übersicht Analysen

| | Verfahren | Methode | Detektionsgrenze | Untersuchungsfrequenz |
|---|--|---------------|------------------|-----------------------|
| Qualitative Bestimmung von Translokationen | <i>BCR::ABL1</i> | RT-PCR | nur qualitativ | 1x/Woche |
| | HemaVision Screen | Multiplex PCR | | 1-2x/Woche |
| | HemaVision Splitout | Multiplex PCR | | 1-2x/Woche |
| Quantitative Bestimmung einzelner Hotspot-Mutationen | JAK2 V617F | cdPCR | >0.02 % | 1x/Woche |
| | NPM1 Typ A | ddPCR | ≥ 0.003 % | 1x/Woche |
| | NPM1 Typ B | RT-PCR | 0.00009‡ | unregelmässig |
| | NPM1 Typ D | RT-PCR | 0.0015‡ | unregelmässig |
| | MYD88 L265P | ddPCR | ≥ 0.1 % | unregelmässig |
| | BRAF V600E | ddPCR | ≥ 0.02 % | unregelmässig |
| | KIT p.Asp816V | ddPCR | ≥ 0.07 % | 1x/Woche |
| | CALR Typ 1 | ddPCR | ≥ 0.02 % | unregelmässig |
| | CALR Typ 2 | ddPCR | ≥ 0.025 % | unregelmässig |
| Bestimmung der Mutationsfrequenz mittels NGS AML MRD Panel | IDH1 p.R132C | NGS | 0.1-0.2% | 1-2x/Woche |
| | IDH1 p.R132H | NGS | 0.1-0.2% | 1-2x/Woche |
| | IDH2 p.R140Q | NGS | 0.1-0.2% | 1-2x/Woche |
| | IDH2 p.R172K | NGS | 0.1-0.2% | 1-2x/Woche |
| Quantitative Bestimmung einzelner Translokationen | <i>BCR::ABL1</i> , p210 | RT-PCR | * | 1-2/Woche |
| | <i>BCR::ABL1</i> , p190 | RT-PCR | | 1x/Woche |
| | <i>CBFB::MYH11</i> Typ A, D und E | RT-PCR | | 1x/Woche |
| | <i>PML::RARA</i> Typ bcr1, bcr2 und bcr3 | RT-PCR | | 1x/Woche |
| | <i>RUNX1::RUNX1T1</i> | RT-PCR | | 1x/Woche |
| Hochdurchsatz-Sequenzierung | AML Panel | NGS | 5%# | 1-2x/Woche |
| | AML MRD Panel | NGS | 0.1-0-.2% | 1-2x/Woche |
| | CHIP Panel | NGS | 2% | 1-2x/Woche |
| | CLL Panel | NGS | 1% | 1-2x/Woche |
| | Zytopenie Panel | NGS | 1% | 1-2x/Woche |

bei bekannten Mutation 1%, ‡ Ratio der Anzahl Kopien mit NPM1 Mutation bezogen auf das Referenzgen ABL1

* Ratio der Anzahl Kopien mit dem Fusionstranskript bezogen auf das Referenzgen ABL1

Hämatologie: HemaVision RT-PCR

Abklärung:

- Erstdiagnose akute myeloische (AML)
- Erstdiagnose lymphoblastische Leukämie (ALL)
- Erstdiagnose chronische myeloische Leukämie (CML)

Material:

EDTA-Peripherblut oder Knochenmark zur Isolation von RNA

Erklärung:

- HemaVision® ist ein qualitatives Multiplex RT-PCR System für den Nachweis von 28 Translokationen, welche v.a. mit Leukämien in Verbindung stehen.
- Neben den 28 Translokationen können mehr als 145 Bruchpunkte sowie assoziierte mRNA Splicing Varianten detektiert werden. Das HemaVision® Multiplex RT-PCR System dient speziell dazu, den detaillierten Aufbau von Exonen der Fusionsgene, welche durch Chromosomentranslokationen entstanden sind, nachzuweisen.
- Der Test basiert auf RNA aus Blut oder Knochenmark. Der isolierten RNA wird die für den Test benötigte cDNA mittels reverser Transkription synthetisiert.
- Die Multiplex RT-PCR wird dann im Anschluss mit einer HotStar Taq DNA Polymerase und den spezifischen Primern angesetzt. Das Reaktionsprodukt der PCR wird mit einer Kapillar-Gelelektrophorese aufgetrennt und abschliessend interpretiert.

| Translokation | |
|-----------------------------------|------------------------------------|
| del1(p32) (STIL-TAL1) | t(9;22) (q34;q11) (BCR-ABL1) |
| t(1;11) (p32;q23) (KMT2A-EPS15) | t(10;11) (p12;q23) (KMT2A-MLLT10) |
| t(1;11) (q21;q23) (KMT2A-MLLT11) | t(11;17) (q23;q21) (KMT2A-MLLT6) |
| t(1;19) (q23;p13) (TCF3-PBX1) | t(11;17) (q23;q21) (ZBTB16-RARA) |
| t(3;5) (q25;q34) (NPM1-MLF1) | t(11;19) (q23;p13.1) (KMT2A-ELL) |
| t(3;21) (q26;q22) (RUNX1-MECOM) | t(11;19) (q23;p13.3) (KMT2A-MLLT1) |
| t(4;11) (q21;q23) (KMT2A-AFF1) | t(12;21) (p13;q22) (ETV6-RUNX1) |
| t(5;12) (q33;p13) (ETV6-PDGFRB) | t(12;22) (p13;q11) (ETV6-MN1) |
| t(5;17) (q35;q21) (NPM1-RARA) | t(15;17) (q24;q21) (PML-RARA) |
| t(6;9) (p23;q34) (DEK-NUP214) | t(17;19) (q22;p13) (TCF3-HLF) |
| t(X;11) (q13;q23) (KMT2A-FOXO4) | t(9;12) (q34;p13) (ETV6-ABL1) |
| t(8;21) (q22;q22) (RUNX1-RUNX1T1) | t(9;9) (q34;q34) (SET-NUP214) |
| t(9;11) (p22;q23) (KMT2A-MLLT3) | t(6;11) (q27;q23) (KMT2A-AFDN) |
| t(16;21) (p11;q22) (FUS-ERG) | inv(16) (p13;q22) (CBFB-MYH11) |

Übersicht NGS Panels

| Panel | Indikation | Kontraindikation | Gene | Material | LOD+ (%) | n Gene |
|------------------|--|--|--|----------------------------------|----------|--------|
| AML | V.a. AML / ED AML (Screening bzgl. dem Vorliegen von prognostisch relevanten, pathogenen Mutationen vor einem Therapiestart) | | <i>FLT3, NPM1, CEBPA, RUNX1, TP53, IDH1, IDH2, ASXL1, BCOR, DDX41, EZH2, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1, ZRSR2</i> | KM/PB (bei Blastenausschwemmung) | 5# | 12 |
| AML MRD | AML-Verlauf (in Abhängigkeit des Mutationsprofils bei der Erstdiagnose wird entweder das de novo AML MRD oder das sAML MRD angesetzt oder beide) | Mutationen in weiteren Genen > Archer Myeloid Panel | de novo Reagenzien = <i>NPM1, FLT3, NRAS, KRAS, IDH1, IDH2, CEBPA</i> sAML Reagenzien = <i>RUNX1, EZH2, SF3B1, SRSF2, U2AF1, TP53</i> | KM | 0.1 | 7 6 |
| CHIP | Suche nach klonaler Hämatopoese | Bei KM > Archer Myeloid Panel (ausser explizit CHIP Panel verordnet) | <i>ASXL1, CBL, CHEK2, DNMT3A, GNAS, GNB1, JAK2, PPM1D, RAD21, SF3B1, SRSF2, TET2, TP53</i> | PB | 2 | 15 |
| Zytopenie | Ausschluss einer myeloischen Erkrankung als Ursache von Zytopenien Frage nach UBA1-Mutation (VEXAS-Syndrom) | Bei KM > Archer Myeloid Panel (ausser explizit Zytopenie Panel verordnet) | <i>ASXL1, DNMT3A, GNAS, IDH2, SF3B1, SH2B3, SRSF2, TET2, TP53, U2AF1, UBA1</i> | PB | 2 | 11 |
| MPN | V.a. MPN / MDS/MPN overlap Komplette kodierende Sequenz von JAK, MPL, CALR | Abklärung Erythrozytose, Verdacht auf PV > JAK2 p.Val617Phe Assay Bei KM > Archer Myeloid Panel (ausser explizit MPN Panel verordnet) | <i>JAK2 (auch exon 12), CALR, MPL, ASXL1, EZH2, SRSF2, IDH1, IDH2, U2AF1, CSFR3, TET2, SF3B1, SETBP1</i> | PB | 1 | 12 |
| CLL | CLL Erstdiagnose (Nachweis möglicher Resistenzmutationen sowie prognostisch und therapeutisch relevanter Mutationen) | | <i>BCL2, BIRC3, BTK, NOTCH1, PLCG2, SF3B1, TP53</i> | PB/KM | 1 | 7 |

+LOD=lower limit of detection, # bei bekannten Mutationen LOD 1%

Diagnostische Methoden

| Panel | Indikation | Kontraindikation | Gene | Material | LOD+ (%) | n Gene |
|-------------------------|--|------------------|--|----------|----------|--------|
| Archer lymphoid* | Mutationsprofil reifzelliger B- und T-Zelllymphome, | | <i>ARAF, ARID1A, BCL2, BIRC3, BRAF, BTK, CARD11, CCND1, CCND2, CD28, CD79B, CDKN2A, CREBBP, CXCR4, DNMT3A, EGR2, EP300, ETV6, EZH2, FBXW7, FOXO1, HRAS, ID3, IDH1, IDH2, IKZF1, JAK1, JAK2, JAK3, KLF2, KMT2D, KRAS, MAP2K1, MEF2B, MYC, MYD88, NOTCH1, NOTCH2, NRAS, PHF6, PLCG1, PLCG2, POT1, PRDM1, PTPRD, RHOA, SAMHD1, SF3B1, SOCS1, SPEN, STAT3, STAT5B, STAT6, TCF3, TET2, TNFAIP3, TNFRSF14, TP53, XPO1</i> | KM | 5# | 73 |
| Archer myeloid* | Grundsätzlich geeignet für die Suche nach Mutationen bei allen myeloischen Neoplasien, vorzugsweise bei: Myelodysplastische Neoplasien (MDS) Myelodysplastische/myeloproliferative Neoplasien, u.a. Chronische myelomonozytäre Leukämie (CMML) | | <i>ABL1, ANKED26, ASXL1, ATRX, BCOR, BCROL1, BRAF, BTK, CALR, CBL, CBLB, CBLC, CCND2, CDKN2A, CEBPA, CSF3R, CUX1, CXCR4, DCK, DDX41, DHX15, DNMT3A,ETNK1, ETV6, EZH2, FBXW7, FLT3, GATA1, GATA2, GNAS, HRAS, IDH1, IDH2, IKZF1, JAK2, JAK3, KDM6A, KIT, KRAS, LUC7L2, MAP2K1, PTPN11, RAD21, RBBP6, RUNX1, SETB1, SF3B1, SH2B3, SLC29A1, SIMCA1, SMC3, SRSF2, STAG2, STAT3, TET2, TP53, U2AF1, U2AF2, WT1, XPO1, ZRSR2</i> | KM | 5# | 59 |

*in Kooperation mit Molekularpathologie, +LOD=lower limit of detection, # bei bekannten Mutationen LOD 1%

Hämatologie: NGS CHIP Panel

Abklärung:

Frage nach klonaler Hämatopoese insbesondere nach zytotoxischer Therapie, Bestrahlung, Stammzelltransplantation oder bei kardiovaskulären Erkrankungen

Material:

EDTA-Peripherblut zur Isolation von genomischer DNA

Methode:

Amplikon-basierte Technologie

Gene:

ASXL1, CBL, CHEK2, DNMT3A, GNAS, GNB1, JAK2, PPM1D, RAD21, SF3B1, SRSF2, TET2, TP53

Detektionsgrenze:

2%

Frequenz:

1-2x/Woche

Erklärung:

- Unter der klonalen Hämatopoese von unbestimmtem Potential (clonal hematopoiesis of indeterminate potential, CHIP) versteht man das Vorliegen klonaler somatischer Veränderungen bei Abwesenheit von Anzeichen einer hämatologischen Neoplasie und Fehlen einer Zytopenie.
- Der Nachweis einer Mutation im NGS CHIP Panel erlaubt in Zusammenschau mit folgenden Kriterien die Diagnose einer CHIP zu stellen:
- Abwesenheit von Dysplasien der Hämatopoese im Knochenmark
- Keine Blastenvermehrung im Knochenmark/Blut
- Ausschluss von paroxysmaler nächtlicher Hämoglobinurie (PNH), MGUS und MBL
- Individuen mit CHIP weisen ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer hämatologischen Neoplasie oder/und kardiovaskuläre Erkrankung auf
- Die Prävalenz der klonalen Hämatopoese nimmt mit dem Alter zu; bei mehr als 10-20% der über 70-Jährigen kann eine CHIP (>2%) nachgewiesen werden
- Hämatologischer Stress (u.a. zytotoxische Therapie, Bestrahlung oder Stammzelltransplantation) kann zu einer Expansion einer klonalen Hämatopoese führen.

Hämatologie: NGS Zytopenie Panel

Abklärung:

persistierende Zytopenien unklarer Ätiologie (ohne Hinweise für ein MDS/AML oder knochenmark-infiltrativen Prozess), Verdacht auf VEXAS-Syndrom

Material:

EDTA-Peripherblut zur Isolation von genomischer DNA

Methode:

Amplikon-basierte Technologie

Gene:

ASXL1, DNMT3A, GNAS, IDH2, SF3B1, SH2B3, SRSF2, TET2, TP53, U2AF1 UBA1

Detektionsgrenze:

2%

Frequenz:

1-2x/Woche

Erklärung:

- Bei Patienten mit unklaren Zytopenien kann der fehlende Nachweis von somatischen Mutationen in den hier untersuchten Genen eine myeloische Neoplasie als Ursache der Zytopenien mit grosser Wahrscheinlichkeit (Negativ prädiktiver Wert: von 93%) ausschlossen werden¹
- Bei Nachweis einer klonalen somatischen Aberration (Mutation mit Allelfrequenz von mind. 2%) kann die Diagnose einer CCUS (klonale Zytopenie unklarer Signifikanz, engl.: clonal cytopenia of unknown significance) gestellt werden, sofern keine diagnostischen Kriterien für eine myeloische Erkrankung (insbesondere für die MDS) vorliegen
- Abklärung des auto-inflammatorischen VEXAS-Syndrom durch die Untersuchung einer Hotspot Mutation in *UBA1*.

Exkurs: VEXAS-Syndrom

- Erstbeschreibung 2020², Akronym für Vakuolen, Ubiquitin-aktivierendes E1-Enzym, X-chromosomal bedingt, Autoinflammatorisch und Somatisch
- Autoinflammatorische Erkrankung, die nur bei Männern im Erwachsenenalter auftritt.
- Molekulargenetisch lässt sich eine somatische Mutation p.Met41 in *UBA1* nachweisen.

1) Shanmugam et al., 2019, *Blood*; 2) Beck et al., 2022, *N Engl J Med*

Hämatologie: NGS MPN Panel

Abklärung:

- V.a. *BCR::ABL1*-negative myeloproliferative Neoplasie (MPN), insbesondere Essentielle Thrombozythämie, Polycythämia vera, Primäre Myelofibrose oder chronische Neutrophilenleukämie
- Abklärung unklarer Erythrozytosen, Thrombozytosen und Leukozytosen
- V.a. Myelodysplastische/myeloproliferative Neoplasie mit Neutrophilie
- Das Panel kann auch als einzelne Analyse (ohne *BCR::ABL1* PCR) angefordert werden

Material:

EDTA-Peripherblut zur Isolation von genomischer DNA

Methode:

Amplikon-basierte Technologie

Gene:

JAK2 (auch Exon 12), *CALR*, *MPL*, *ASXL1*, *EZH2*, *SRSF2*, *IDH1*, *IDH2*, *U2AF1*, *CSFR3*, *TET2*, *SF3B1*, *SETBP1*

Detektionsgrenze:

1%

Frequenz:

1-2x/Woche

Erklärung:

- Nachweis einer Mutation in den Genen *JAK2*, *CALR* oder *MPL* stellt gemäss WHO 2022 ein Diagnosekriterium für eine MPN dar. Bei *JAK2* und *MPL* wird, die gesamte kodierende Region sequenziert, d.h. es können auch Mutationen ausserhalb der Hotspots *JAK2* p.Val617Phe und *MPL* p.Trp515Leu/Lys identifiziert werden (insbesondere auch *JAK2* Exon 12 Mutationen).
- Nachweis von *CSF3R* Mutation p.Thr618Ile (oder andere aktivierenden Mutationen) stellt ein Diagnosekriterium für die chronische Neutrophilen Leukämie dar
- Nachweis der Mutation in *SETBP1* findet sich zu 30% bei Patienten mit Myelodysplastischer/myeloproliferativer Neoplasie mit Neutrophilie (MDS/MPN-N)
- Für die Bestimmung des Risiko-Scores MIPSS70+ Version 2.0 bei Patienten mit einer PMF wird die Information zu den molekulargenetischen Veränderungen in folgenden Genen benötigt: *ASXL1*, *EZH2*, *SRSF2*, *IDH1/2*, *U2AF1*

Hämatologie: NGS AML Panel

Abklärung:

Identifikation diagnostisch, prognostisch und therapeutisch («targets») relevanter molekularer Anomalien bei akuter myeloischer Leukämie (AML)

Material:

EDTA-koagulierendes Blut, Knochenmarkaspirat zur Isolation von genomischer DNA

Methode:

Amplikon-basierte Technologie

Gene:

FLT3, NPM1, CEBPA, RUNX1, TP53, IDH1, IDH2, ASXL1, BCOR, DDX41, EZH2, SRSF3, STAG2, U2AF1, ZRSR2

Detektionsgrenze:

5%

Frequenz:

1-2x/Woche

Erklärung:

- 2 AML-Subtypen werden gemäss WHO Klassifikation 2022 molekulargenetisch definiert: AML mit *NPM1*- und AML mit *CEBPA*-Mutation, 1 AML-Subentität wird anteilig molekulargenetisch definiert: AML, myelodysplasieassoziiert (AML-MR)
- Gezielte therapeutische Intervention: Nachweis einer Mutation in *FLT3* (ITD und TKD) sowie *IDH1/2*
- Risikostratifikation gemäss ELN-Empfehlungen 2022: Nachweis von *NPM1, FLT3, CEBPA, RUNX1, ASXL1* und *TP53* sind dafür relevant.

Hämatologie: NGS AML MRD Panels

Abklärung:

Nachweis von im Rahmen der Erstdiagnose identifizierten Mutationen im Rahmen der MRD-Diagnostik)

Material:

EDTA-koaguliertes Knochenmarkaspirat zur Isolation von genomischer DNA

Methode:

Amplikon-basierte Technologie

Gene:

- 1) *de novo* AML Panel: *NPM1, FLT3, NRAS, KRAS, IDH1, IDH2, CEBPA*
- 2) *sekundäre* AML Panel: *RUNX1, EZH2, SF3B1, SRSF2, U2AF1, TP53*

Detektionsgrenze:

0.1-0.2%

Frequenz:

1-2x/Woche

Erklärung:

- Für die NGS-basierte MRD Diagnostik wird eine fehlerkorrigierte Sequenzierungs-Methode verwendet, um im Rahmen der Erstdiagnose identifizierte Mutationen nachverfolgen zu können (Yoest, Shirai, & Duncavage, 2020).
- Der Nutzen von NGS-basierter MRD-Bestimmung bei der AML wurde in mehreren kürzlich publizierten Studien gezeigt (u.a.: (Dillon et al., 2023; Grob et al., 2023; Hourigan et al., 2020; Kim et al., 2023; Onecha et al., 2021; Patkar et al., 2021)).
- Mutationen in DNMT3A, TET2 und ASXL1 (DTA) eignen sich nicht als MRD-Marker, da sie oft auch in der altersbedingten klonalen Hämatopoese nachgewiesen werden können (Jongen-Lavrencic et al., 2018).
- Gemäss den aktuellen European LeukemiaNet (ELN)-Richtlinien sollen mittels NGS-basierter MRD-Bestimmung Varianten mit einer Sensitivität von mind. 0.1% nachgewiesen werden (Heuser et al., 2021).

Hämatologie: NGS CLL Panel

Abklärung:

CLL Erstdiagnose (Nachweis möglicher Resistenzmutationen sowie prognostisch und therapeutisch relevanter Mutationen)

Material:

EDTA-koaguliertes Blut oder auch Knochenmarkaspirat zur Isolation von genomischer DNA

Methode:

Amplikon-basierte Technologie

Gene:

BCL2, BIRC3, BTK, NOTCH1, PLCG2, SF3B1, TP53

Detektionsgrenze:

1%

Frequenz:

1-2x/Woche

Erklärung:

- Nachweis von möglichen Resistenzmutationen in den Genen *BTK* *PLGC2* bzw. *BCL2* unter Behandlung mit einem Ibrutinib-Inhibitor bzw. Venetoclax-Therapie.
- Identifikation von *TP53*, *SF3B1*, *BIRC3* und *NOTCH1* zur Risikostratifizierung.
- Der fehlende Nachweis einer Variante schliesst eine CLL nicht aus, mit diesem Multi-Gen-Panel (Targeted Sequencing) wird nur eine Auswahl an kodierenden Sequenzen in den aufgelisteten Genen untersucht.
- Mit diesem Panel werden nur SNV's und kleine InDel-Varianten detektiert. Regulatorische Mutationen in intronischen Bereichen, grössere genomische Deletionen oder Duplikationen, strukturelle Rearrangierungen (Translokationen und Inversionen) werden nicht untersucht.
- Die Analyse darf bei fehlender Einverständniserklärung für genetische Untersuchungen nicht durchgeführt werden.

Molekularpathologie: Archer VariantPlex myeloid panel

Abklärung:

Identifikation diagnostisch, prognostisch und therapeutisch-relevanter Mutationen myeloischer Neoplasien

Material:

EDTA-koaguliertes Blut, Knochenmarkaspirat, Formalin-fixiertes Paraffin-eingebettetes Gewebe (FFPE)

Methode:

Anchored Multiplex PCR

Gene:

73 (DNA)

Detektionsgrenze:

5%, im Verlauf bei bekannten Mutationen 1%

Detektion:

Basensubstitution (SNV), Insertionen, Deletionen (Indels), internal tandem duplication (ITD)

TAT:

ca. 7-10 Werkzeuge

Erklärung:

Grundsätzlich geeignet für die Suche nach Mutationen bei allen myeloischen Neoplasien, vorzugsweise bei:

- Myelodysplastische Neoplasien (MDS)
- Myelodysplastische/myeloproliferative Neoplasien, u.a. Chronische myelomonozytäre Leukämie (CMML)
- Akute myeloische Leukämie (AML), Identifikation erweitertes Mutationsprofil, beinhaltet alle die von der ELN 2022 empfohlenen Gene zur Bestimmung bei Erstdiagnose AML
- T-lymphoblastische(s) Leukämie/Lymphome (T-ALL/T-LBL)

Information:

- Genliste siehe Anhang
- Ansprechpartner bei inhaltlichen Fragen: Molekularpathologie USZ

Abkürzungen: TAT: turnaround-time, FFPE: Formalin-fixiertes Paraffin-eingebettetes Gewebe, PCR: polymerase chain reaction DNA: dt.:Desoxyribonukleinsäure

Molekularpathologie: Archer VariantPlex lymphoid panel

Abklärung:

Identifikation diagnostisch, prognostisch und therapeutisch-relevanter Mutationen lymphatischer Neoplasien

Material:

EDTA-koaguliertes Blut, Knochenmarkaspirat, Formalin-fixiertes Paraffin-eingebettetes Gewebe (FFPE)

Methode:

Anchored Multiplex PCR

Gene:

59 (DNA)

Detektionsgrenze:

5%, im Verlauf bei bekannten Mutationen 1%

Detektion:

Basensubstitution (SNV), Insertionen, Deletionen (Indels), internal tandem duplication (ITD)

TAT:

ca. 7-10 Werkzeuge

Erklärung:

- Mutationsprofil reifzelliger B- und T-Zelllymphome, Beispiele:
- *MYD88*^a und *CXCR4* Mutationsstatus (Lymphoplasmocytisches Lymphom, M. Waldenström)
- *EZH2* Mutationsstatus bei Follikulärem Lymphom
- Mutationsstatus *STAT3* und *STAT5B* bei T-large granular lymphocytic leukemia (T-LGLL) und NK-LGLL

Information:

- Genliste siehe Anhang
- Ansprechpartner bei inhaltlichen Fragen: Molekularpathologie USZ

Abkürzung: TAT: turnaround-time, FFPE: Formalin-fixiertes Paraffin-eingebettetes Gewebe, BTK: Bruton-Tyrosinkinase, BCL2: B-cell lymphoma 2, DNA: Desoxyribonukleinsäure, PCR: polymerase chain reaction

a) Wenn sich keine *MYD88-L265P* Mutation im NGS nachweisen lässt sollte diese mittels ddPCR untersucht werden da insbesondere beim Lymphoplasmocytischen Lymphom, M. Waldenström mit niedriger Knochenmarkinfiltration mutiertes *MYD88* im NGS übersehen werden (Kofides et al., 2021, *Hemasphere*).

Molekularpathologie: FoundationOne Heme

Abklärung:

Identifikation diagnostisch relevanter molekulargenetisch-definierter Subentitäten bei der akuten myeloischen Leukämie (AML), acute leukaemias of ambiguous lineage (ALAL) oder mixed phenotype acute leukaemia (MPAL) und myeloischen/ lymphatischen Neoplasien mit Eosinophilie und definierten Genrearrangements (MLN-Eo)

Material:

EDTA-koaguliertes Knochenmarkspirat, Formalin-fixiertes Paraffin-eingebettetes Gewebe (FFPE)

Methode:

Hybrid-Capture-Technologie

Gene:

406 (DNA) und 265 (RNA)

Detektionsgrenze:

1%

Detektion:

Basensubstitutionen (SNV), Insertionen/Deletionen (Indels), Kopienzahl-variations (CNV) und Genrekombinationen

TAT:

ca. 14 Tage

Erklärung:

- Untersuchung kann durchgeführt um die folgenden genetisch-definierten Subtypen der AML nachzuweisen:
 - AML mit *NUP98* rearrangement
 - AML mit *KMT2A* rearrangement
 - AML mit *MECOM* rearrangement
 - AML mit *RBM15::MRTFA* fusion
 - AML mit anderen definierten genetischen Alterationen
- Untersuchung kann durchgeführt um auch seltene Subtypen myeloischer/ lymphatischer Neoplasien mit Eosinophilie und definierten Genrearrangements nachzuweisen.

Information:

- Für die Analyse ist eine Einverständniserklärung mit Unterschrift des Patienten notwendig.
- Genliste siehe Anhang

Abkürzungen: TAT: turnaround-time, DNA: Desoxyribonukleinsäure, RNA: Ribonukleinsäure, ALAL: Acute leukaemias of ambiguous lineage, MPAL: mixed phenotype acute leukaemia

Zytogenetik

Bei vielen hämatologischen Neoplasien liegen erworbene klonale Chromosomenanomalien vor. Bestimmte zytogenetische Anomalien stehen in engem Zusammenhang mit morphologisch oder klinisch unterschiedlichen Untergruppen von Leukämien, Myelodysplastischen Neoplasien, Lymphomen und Plasmazellmyelomen. In vielen Fällen ist die zytogenetische Untersuchung für die Diagnose, die Stratifizierung der Behandlung, oder in der Einschätzung der Prognose notwendig

Die zytogenomische Untersuchung wird im Onkologielabor des Kinderspitals Zürich durchgeführt.

[Onkologie-Labor | Kinderspital Zürich \(uzh.ch\)](#)

Präanalytik

Knochenmark:

- Erstdiagnose: 1-10ml (Li-Heparin)
- Rückfall: 1-5ml (Li-Heparin)
- Verlaufskontrolle: 1-5ml (Li-Heparin)

Peripheres Blut:

- Neue Leukämie: 5-10ml (Li-Heparin)

Knochenmarkszylinder (Biopsie):

- 0,9% NaCl-Lösung

Normale und Feinnadel-Biopsien können im Labor untersucht werden, Gewebeschnitte jedoch nur mittels FISH, MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification, dt. multiplexe ligationsabhängige Sondenamplifikation) und aCGH/SNP.

Diagnostische Methoden

Empfehlungen zur zytogenomischen Untersuchung

| Enität | Erstdiagnose ^a | Verlaufskontrolle ^b | Kommentar |
|-------------------------------|----------------------------|--------------------------------|---|
| AML (inklusive APL) | CBA, FISH | | |
| ALL | aCGH, FISH, MRD (IgH, TCR) | MRD (IgH, TCR) | FISH nicht sinnvoll für T-ALL/-LBL |
| MDS | CBA, FISH, evtl. aCGH | CBA, FISH | |
| MDS/MPN | CBA, evtl. FISH | CBA, evtl. FISH | |
| CML | CBA, FISH | | |
| <i>BCR::ABL1</i> negative MPN | CBA | | sinnvoll bei präMF, CEL, CNL |
| Hypereosinophilie | CBA, evtl. FISH | | kein FISH wenn FoundationOne Heme durchgeführt wird |
| CLL | aCGH/FISH, evtl. CBA | | |
| Plasmazellmyelom | FISH, aCGH | | CBA nicht sinnvoll |
| MGUS | FISH, aCGH (Asservierung) | | primär Asservierung, ggfs. Nachforderung |
| NHL, mit KM Beteiligung | FISH, evtl. CBA | | nicht sinnvoll für alle NHL |

Abkürzung: CBA: Chromosomenbänderungsanalyse, FISH: Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung, aCGH: array comparative genomic hybridization, MRD: minimal residual disease, AML: Akute myeloische Leukämie, APL: Akute Promyelozytenleukämie, ALL: Akute lymphatische Leukämie, MDS: Myelodysplastische Neoplasie, MPN: Myeloproliferative Neoplasie, CML: Chronische myeloische Leukämie, CL: Chronische lymphatische Leukämie, MGUS: Monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz, NHL: Non-Hodgkin-Lymphom, präMF: präfibrotische Myelofibrose, CNL: Chronische Neutrophilenleukämie, CEL: Chronische Eosinophilenleukämie, T-ALL/T-LBL: T-lymphoblastische(s) Leukämie/Lymphom

a) Empfehlungen zytogenetischer Untersuchungen bei Erstdiagnose des Zytogenetiklabors des Kinderspitals (KiSpi)

b) Empfehlungen übernommen, Duncavage et al., 2022, *Blood*

Zytogenetik: Chromosomenbänderungsanalyse (CBA), Karyogramm

Abklärung:

Identifikation diagnostisch und prognostisch relevanter chromosomaler Aberrationen bei hämatologischen Neoplasien, insbesondere bei akuter myeloischer Leukämie (AML) und Myelodysplastischen Neoplasien (MDS)

Material:

Heparin-koaguliertes Blut, Knochenmarkaspirat, Knochenmarkbiopsie in NaCl 0.9%

Auflösung:

5 MB (Megabasen = 5 Millionen Basenpaare)

Sensitivität:

10%

TAT:

ca. 14 Tage

Vorteil:

- Genomweite Untersuchung, auch balancierte Aberrationen
- Einzelzellanalysen

Nachteil:

- Kultur (frisches Material)
- niedrige Auflösung
- Sensitivität

Information:

- Ansprechpartner bei inhaltlichen Fragen: David Hediger MSc, Institut für Zytogenetik, Kinderspital Zürich
- Auftragsformular: [kd00272666.pdf \(uzh.ch\)](#)
- Für die Analyse ist eine Einverständniserklärung mit Unterschrift des Patienten notwendig

Zytogenetik: Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH)

Abklärung:

Identifikation spezifischer diagnostisch, prognostisch und therapeutisch relevanter chromosomaler Aberrationen z.B. t(15;17)(q24;q21) bei dem Verdacht auf das Vorliegen einer akuten Promyelozytenleukämie (APL) u.v.m.

Material:

Heparin-koaguliertes Blut, Knochenmarkaspirat, Formalin-fixiertes Paraffin-eingebettetes Gewebe (FFPE)

Auflösung:

40-250 kb (Kilobasen = 40.000 bis 250.000 Basenpaare)

Sensitivität:

1%

TAT:

ca. 3-4 Tage

Vorteil:

- hohe Auflösung
- schnelles Resultat
- Einzelzellanalysen
- keine Kultur (Ausstriche, FFPE, etc.)
- Sensitivität

Nachteil:

- spezifisch, Regionen ausserhalb der FISH-Sonde werden nicht analysiert
- die Grösse der Anomalie kann nicht ermittelt werden

Information:

- Ansprechpartner bei inhaltlichen Fragen: David Hediger MSc, Institut für Zytogenetik, Kinderspital Zürich
- Auftragsformular: [kd00272666.pdf \(uzh.ch\)](#)
- Für die Analyse ist eine Einverständniserklärung mit Unterschrift des Patienten notwendig

Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH)

Zytogenetik: Array-basierte comparative genomische Hybridisierung (aCGH)

Abklärung:

Identifikation diagnostisch und prognostisch relevanter genomischer Veränderungen insbesondere bei akuter lymphatischer Leukämie (ALL), chronischer lymphatischer Leukämie (CLL) und Plasmazellneoplasien, Myelodysplastische Neoplasien (MDS) mit *TP53* Inaktivierung u.v.m.

Material:

Heparin-koaguliertes Blut, Knochenmarkspirat, Formalin-fixiertes Paraffin-eingebettetes Gewebe (FFPE)

Auflösung:

30 kb (Kilobasen = 30.000 Basenpaare)

Sensitivität:

10%

TAT:

ca. 14-21 Tage

Vorteil:

- genomweite Analyse, hochauflösend
- Identifikation kleiner unbalancierter Anomalien u. kyrptischer Kopienzahlveränderungen der DNA, die aufgrund ihrer Grösse in der Chromosomenbänderungsanalyse nicht erkannt werden
- Nachweis des Verlusts der Heterozygotie (engl.: loss of heterozygosity, LOH, copy-neutral loss of LOH, cnLOH)
- keine Kultur
- wenig Material

Nachteil:

- balancierte Translokationen, Inversionen, Polyploidien oder geringgradige Mosaik nicht nachweisbar
- Sensitivität

Information:

- Ansprechpartner bei inhaltlichen Fragen: David Hediger MSc, Institut für Zytogenetik, Kinderspital Zürich
- Auftragsformular:[kd00272666.pdf \(uzh.ch\)](#)
- Für die Analyse ist eine Einverständniserklärung mit Unterschrift des Patienten notwendig

Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH)

Zytogenetik: klonale Gen-Rearrangements von Immunglobulin- oder T-Zell-Rezeptorgenen

Abklärung:

Etablierung individueller, klonaler Gen-Rearrangements von Immunglobulin- (IGH, IGK) oder T-Zell-Rezeptorgenen (TRB, TRG, TRD) zur sensitiven Bestimmung der minimalen Resterkrankung (MRD) bei B- und T-lymphoblastischer Leukämie/Lymphom

Material:

Heparin-koaguliertes Blut, Knochenmarkaspirat

Sensitivität:

variabel (bis 10^{-6} möglich)

TAT:

ca. 14-21 Tage

Vorteil:

- spezifisch
- hohe Sensitivität, Verlaufsmarker

Nachteil:

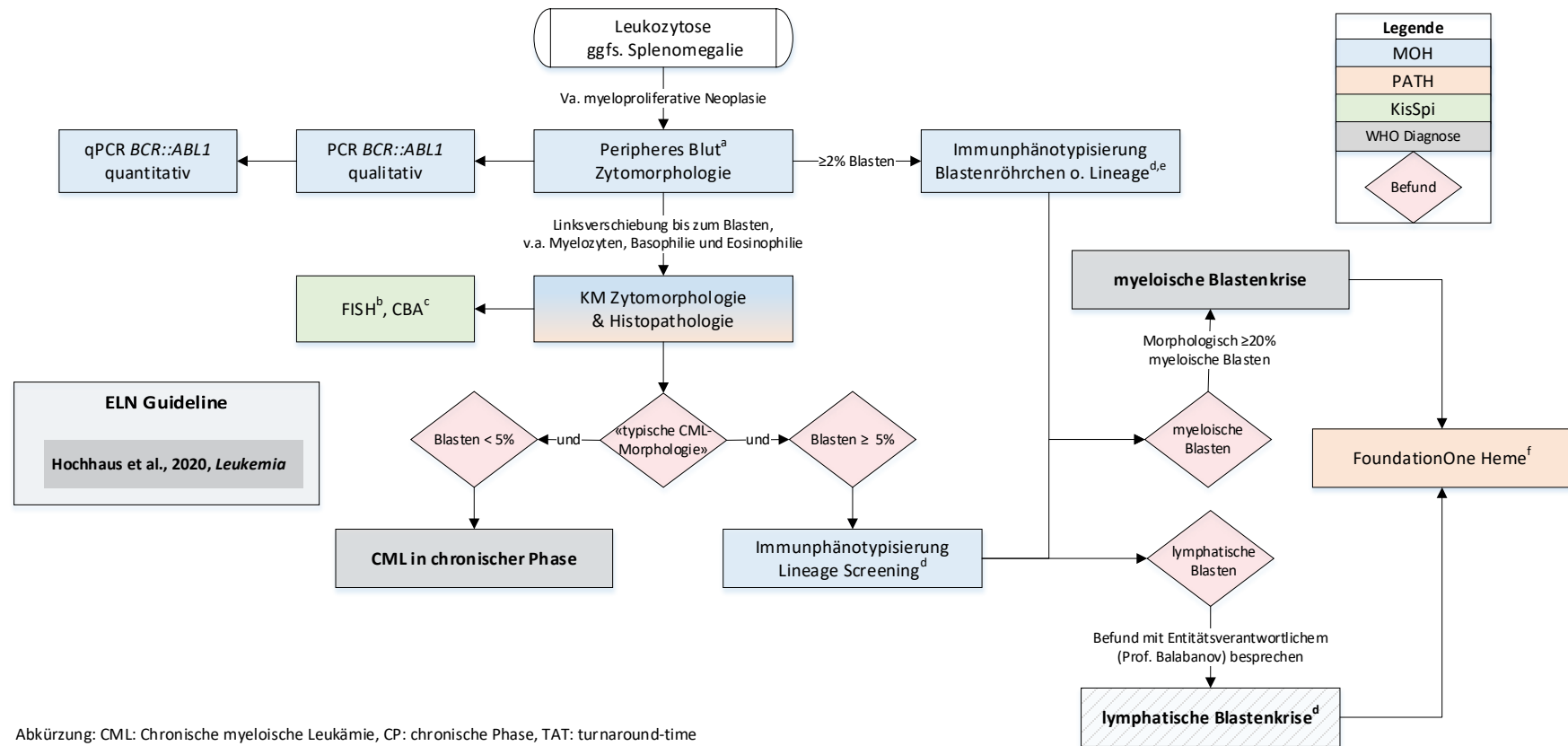
- spezifisch

Information:

- Ansprechpartner bei inhaltlichen Fragen: David Hediger MSc, Institut für Zytogenetik, Kinderspital Zürich
- Auftragsformular: [kd00272666.pdf \(uzh.ch\)](#)
- Für die Analyse ist eine Einverständniserklärung mit Unterschrift des Patienten notwendig

Kapitel III: Myeloische Neoplasien

Diagnostikpfad: Chronische myeloische Leukämie (CML), Erstdiagnose



Abkürzung: CML: Chronische myeloische Leukämie, CP: chronische Phase, TAT: turnaround-time

a) eine absolute Monozytose kann vorhanden sein, aber der Anteil an Monozyten beträgt normalerweise < 3%, außer in seltenen Fällen mit der p190 *BCR::ABL1*-Isoform

b) obligat bei Erstdiagnose

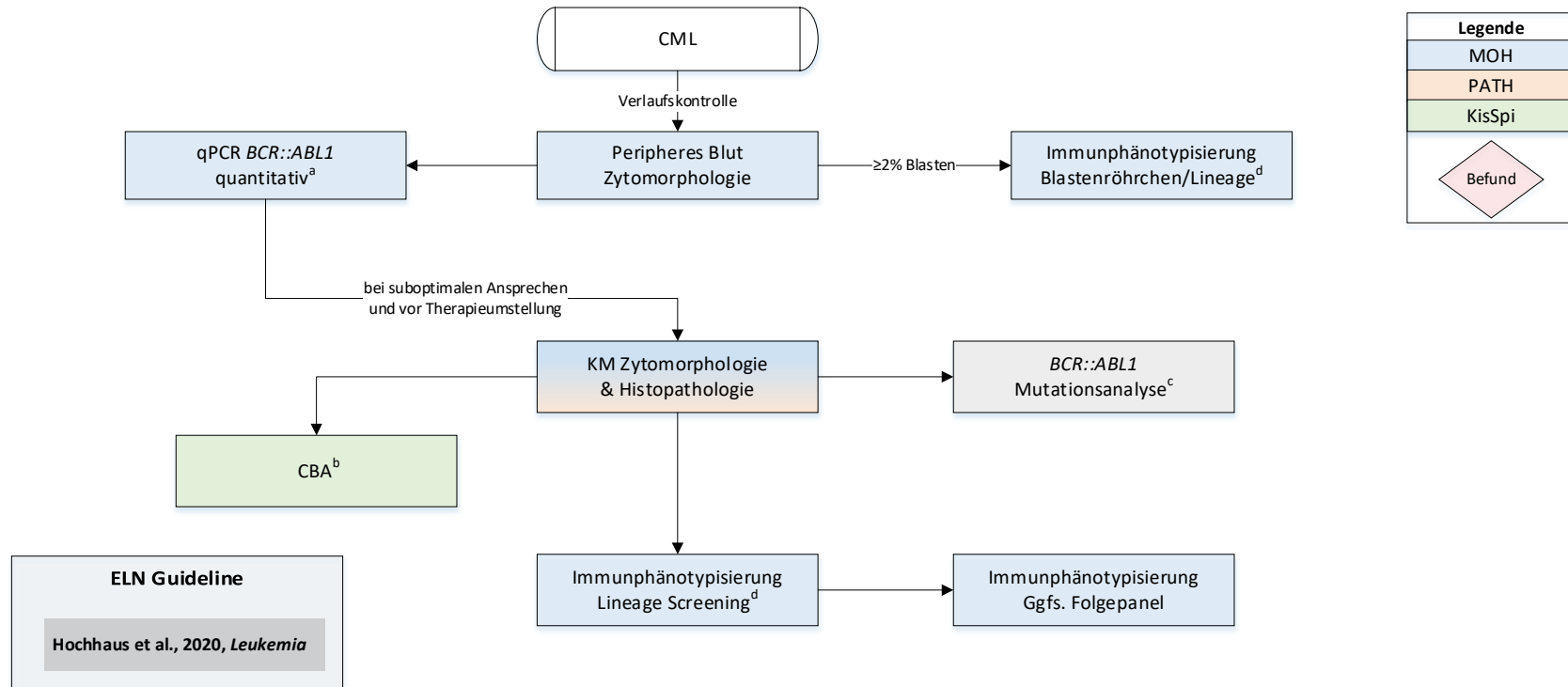
c) obligat. TAT: Karyogramm: 14 Tage, prognoserelevant bei CML in CP: zusätzliche Chromosomenanomalien in Philadelphia (Ph)-Chromosom-positiven (Ph+)-Zellen, einschließlich 3q26.2-Rearrangements, Monosomie 7, Isochromosom 17q und komplexer Karyotyp, Trisomie 8, 11q23-Umlagerungen, Trisomie 19, Trisomie 21

d) In 20-30% der-Fälle sind die Blasten Lymphblasten (normalerweise B-lymphoblastisch,, obwohl auch Fälle von T-lymphoblastischer und Fälle von NK-Zell-Transformationen berichtet wurden. Für eine lymphatische Blastenkrise hat die WHO 2022 keine Grenzwerte definiert. Somit kann auch bei Nachweis von Lymphblasten < 10 % oder tiefer im peripheren Blut oder Knochenmark formal eine lymphatische Blastenkrise diagnostiziert werden. Dieser Befund muss aber im klinischen Kontext interpretiert werden. Es empfiehlt sich eine Rücksprache mit dem Entitätsverantwortlichen Prof. Balabanov.

e) Der Nachweis abnormaler B-Lymphblasten bei CML in CP spricht möglicherweise für eine raschere Progression in eine Blastenkrise (El Rassi et al, 2015, *Cancer*; Vijayasekharan et al, 2021, *Cytometry B Clin Cytom*)

f) ambulant durchführen

Diagnostikpfad: Chronische myeloische Leukämie (CML), Verlauf



Abkürzung: CML: Chronische myeloische Leukämie, CP: chronische Phase, TAT: turnaround-time, CBA: Chromosomenbänderungsanalyse

a) Verlaufskontrollen und Management der Therapiemeilensteine gemäss Empfehlungen der ELN (Hochhaus et al., 2020, *Leukemia*)

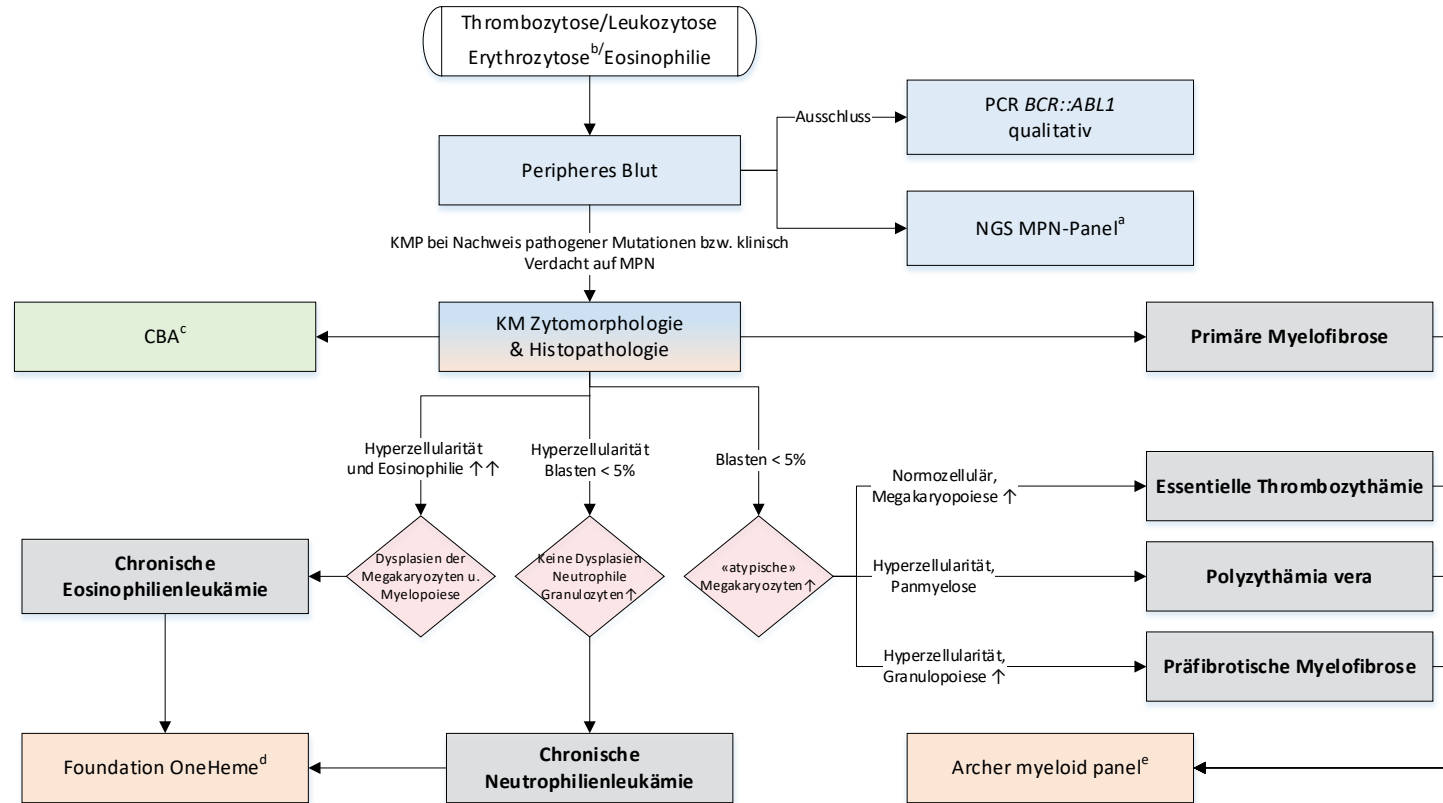
b) CBA/Karyogramm: 14 Tage, Suche nach zusätzlichen Chromosomenanomalien in Philadelphia (Ph)-Chromosom-positiven (Ph+)-Zellen

c) externe Analyse: Inselspital Bern, Auftragsformular siehe Hyperlink im Anhang

d) Der Nachweis von Lymphoblasten im peripheren Blut oder Knochenmark (auch wenn < 10 % oder tiefer) gilt formal als Blastenkrise, da von der WHO 2022 keine Grenzwerte festgelegt werden. Dieser Befund muss aber im klinischen Kontext interpretiert werden. Es empfiehlt sich eine Rücksprache mit dem Entitätsverantwortlichen Prof. Balabanov.

Diagnostikpfad: *BCR::ABL1* negative myeloproliferative Neoplasien (MPN)

| Legende |
|--------------|
| MOH |
| PATH |
| KisSpi |
| WHO Diagnose |
| Befund |



Abkürzung: Hb: Hämoglobin, PB: peripheres Blut, CEL: Chronische Eosinophilienleukämie, CNL: Chronische Neutrophilienleukämie, PMF: Präfibrotische Myelofibrose, CBA: Chromosomenbänderungsanalyse, TAT: turnround-time, KM: Knochenmark

a) TAT: ca. 4-6 Tage,

b) bei isolierter Erythrozytose und Vd.a. PV sollte initial eine ddPCR für JAK2 p.Val617Phe erfolgen und kein NGS Panel, weitere Diagnostik abhängig von der Vortestwahrscheinlichkeit einer MPN

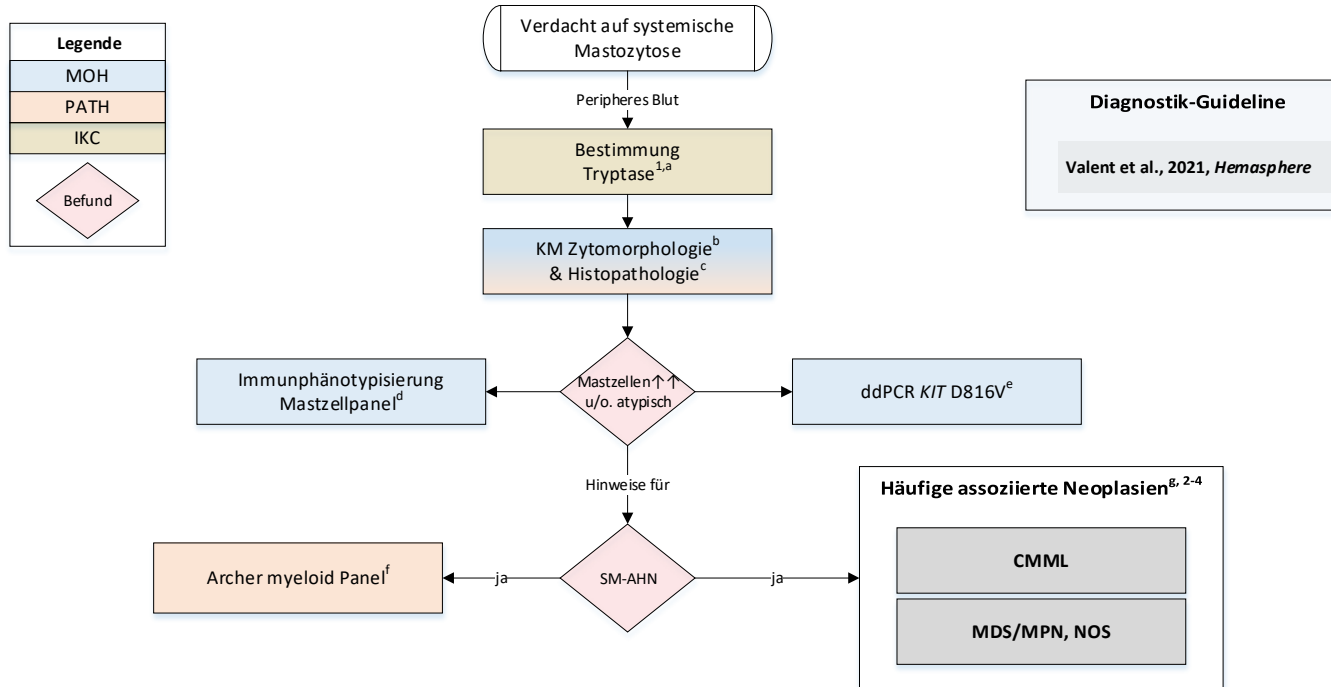
c) obligat bei PMF, CEL und CNL, Nachweis von del(13)(q12-22) oder der(6)t(1;6)(q21-23;p21.3) ist ein starker Hinweis (aber nicht diagnostisch) auf PMF

d) obligat zum Ausschluss myeloische/lymphatische Neoplasie mit Eosinophilie und definierenden Gen-rearrangements bei CEL, obligates Kriterium bei CNL: kein Nachweis von Gen-rearrangements (*PDGFRA*, *PDGFRB*, *FGFR1*, *PCM1::JAK2* Fusion etc.)

e) TAT: ca. 7-10 Werktagen, obligat wenn kein NGS MPN-Panel aus dem PB erfolgt ist, Untersuchung kann auch aus Knochenmarkstanze erfolgen z.B. bei punctio sicca

Diagnostikpfade myeloischer Neoplasien

Diagnostikpfad: Systemische Mastozytose (SM)



Literatur: 1) Valent et al., 2021, *Hemasphere* 2) Horny et al., 2004, *J Clin Pathol.*; 3) Speer et al., 2002, *Int Arch Allergy Immunol.*; 4) Horny et al., 1990, *Br J Haematol.*

Abkürzung: SM: Systemische Mastozytose, SM-AHN: Systemische Mastozytose mit assoziierter hämatologischer Neoplasie, VAF: variant allele frequency

a) Baseline-Serumtryptasekonzentration > 20 ng/mL in Abwesenheit einer assoziierten myeloischen Neoplasie. Im Falle eines bekannten HaT muss der Tryptasespiegel korrigiert werden. Anpassung wie folgt: Der basale Tryptasespiegel kann durch 1 plus die zusätzlichen Kopienzahlen des Alpha-Tryptase-Gens geteilt werden. Wenn beispielsweise der Tryptasespiegel 30 beträgt und 2 zusätzliche Kopien des Alpha-Tryptasegens bei einem Patienten mit HaT gefunden werden, beträgt der HaT-korrigierte Tryptasespiegel 10 (30/3 = 10) und es handelt sich somit nicht um ein SM-Kriterium. Myeloische Neoplasien können zu erhöhten Tryptasespiegeln im Serum führen. Daher zählt dieses Kriterium bei SM-AHN nicht.

b) Im Knochenmarkausstrich zählt eine atypische Morphologie von Mastzellen nicht als SM-Kriterium, wenn Mastzellen in oder neben Knochenmarkpartikeln lokalisiert sind, beachte: well differentiated systemic mastocytosis (WDSM)

c) Multifokale dichte Infiltrate von Mastzellen (≥ 15 Mastzellen in Aggregaten) gelten als Hauptkriterium

d) Panel: CD25, CD2 und CD30. Die Expression muss entweder durchflusszytometrisch oder immunhistochemisch bestätigt werden.

e) nach WHO 2022 gilt jede Art von KIT-Mutation gilt als untergeordnetes SM-Kriterium unabhängig von der VAF, wobei die KIT p.D816V Mutation bei SM die häufigste darstellt. Wenn die ddPCR negativ ausfällt und ein begründeter Verdacht auf Vorliegen einer SM besteht sollte eine KIT Mutationanalyse (cfPanCancer) zum Nachweis seltener KIT-Mutationen durchgeführt werden (Molekularpathologie).

f) Archer myeloid panel: bei SM-AHN

g) Diagnostik entsprechend Entität

Myelodysplastische Neoplasien (MDS)

MDS als eine Kategorie klonaler hämatopoetischer Stammzellneoplasien an, die durch Zytopenien und morphologische Dysplasien definiert sind und durch eine zunehmend ineffektive Hämatopoese und ein erhöhtes Risiko für einen Übergang in eine akute myeloische Leukämie (AML) gekennzeichnet sind.

Nach WHO 2022 wird Zytopenie definiert als:

- Hämoglobin: <13 g/dl bei Männern,
<12 g/dl bei Frauen
- Neutrophile (abs): <1,8 x 10⁹/l
- Thrombozyten: <150 x 10⁹/l

Für die Diagnose einer MDS ist eine Zytopenie in mindestens einer hämatopoetischen Linie erforderlich und der Nachweis von Dysplasien in einer oder mehrerer Zelllinien obligat.

Übersicht Dysplasienzeichen:

| | | |
|--------------------|------------|---|
| Dyserythropoiese | Kern | Knospung |
| | | Internukleare Überbrückung |
| | | Mehrkernigkeit |
| | | Megaloblastäre Veränderungen |
| | | Karyorrhesis |
| | Zytoplasma | Ringsideroblasten |
| | | Vakuolisierung |
| | | PAS Positivität |
| Dysgranulopoiese | Kern | Hyposegmentierung (Pseudo-Pelger) |
| | | Hypersegmentierung |
| | Zytoplasma | Hypogranulierung |
| | | Pseudo-Chédiak-Higashi granules |
| | | Auerstäbchen |
| | | sehr schmales Zytoplasma |
| Dysmegakaryopoiese | Kern | Hypo- und Monolobulierung |
| | | Mehrkernigkeit, Kerne liegen weit auseinander |
| | Zytoplasma | Mikromegaryozyten |

Klassifikation myelodysplastischer Neoplasien (MDS)

- MDS mit definierten genetischen Anomalien
- MDS, morphologisch definiert

MDS mit definierten genetischen Anomalien

1) MDS mit niedrigen Blasten und 5q Deletion:

- Häufigkeit 2.5%
- Diagnosekriterien:
 - Anämie mit/oder ohne weitere Zytopenie mit/oder ohne Thrombozytose
 - Nachweis von Dysplasien der Megakaryopoese mit oder ohne Dysplasie einer anderen Linie

Diagnostikpfade myeloischer Neoplasien

- Nachweis einer 5q-Deletion, isoliert oder zusammen mit einer anderen zytogenetischen Aberration außer Monosomie 7 oder 7q-Deletion. Auch bei zusätzlichem Nachweis einer SF3B1-Mutation (20 % der Fälle) kann die Diagnose gestellt werden, dass die SF3B1-Mutation wahrscheinlich ein sekundäres Ereignis darstellt¹
- Blasten im PB: <2%, Blasten im KM <5%
- Die Kriterien für eine AML, MDS mit biallelischer TP53-Inaktivierung, MDS mit erhöhten Blasten oder MDS/MPN werden nicht erfüllt

2) MDS mit niedrigen Blasten und 5q Deletion:

- Häufigkeit 17%
- Diagnosekriterien:
 - Zytopenien in einer oder mehrerer Zellreihen
 - Dysplasien in der Erythropoiese
 - Blasten im PB: <2%, Blasten im KM <5%
 - Nachweis einer SF3B1-Mutation. Wenn keine SF3B1-Mutationsanalyse verfügbar ist, Nachweis von Ringsideroblasten, die ≥15 % der erythrozytären Vorläuferzellen umfassen
 - kein Nachweis einer 5q-Deletion, einer Monosomie-7/7q-Deletion oder eines komplexen Karyotyps.
 - Die Kriterien für eine AML, MDS mit biallelischer TP53-Inaktivierung, MDS mit erhöhten Blasten, MDS mit niedrigen Blasten und 5q-Deletion oder MDS/MPN werden nicht erfüllt
 - Anmerkung: Eine SF3B1-Mutation wird in 90 % der MDS-Fälle mit ≥ 5 % der Ringsideroblasten nachgewiesen.² Bei Nachweis einer SF3B1-Mutation mit einer VAF < 5 % kann die Diagnose MDS-SF3B1 nicht gestellt werden.

3) MDS mit biallelischer TP53-Inaktivierung:

- Häufigkeit 4-7%
- Diagnosekriterien:
 - Zytopenien und Nachweis von Dysplasien
 - Blasten im PB und KM < 20%
 - Nachweis einer oder mehrerer TP53 Mutationen
 - Bei Vorliegen nur einer TP53-Mutation, Nachweis eines TP53-Kopienverlusts oder eines kopieneutralen LOH
 - Anmerkung: Es muss der «multi-hit» Status nachgewiesen werden, der sich prognostisch deutlich abgrenzt. Der Nachweis mehrere Mutationen oder Mutationen mit allelischer Deletion bestätigen den «mult-hit» Status. Dazu sind ggfs. mehrere Methoden notwendig (NGS, FISH und/oder aCGH). Häufig findet sich ein komplexer Karyotyp. Das MDS-biTP53 ersetzt andere MDS-Typen und muss formal primär von definierten AML-Subtypen abgegrenzt werden.³⁻⁵

MDS, morphologisch definiert

1) MDS mit niedrigen Blastenanteil (MDS low blasts)

- Diagnosekriterien: essentiell
 - Nachweis von Zytopenien) und Dysplasie(n)-
 - <5 % Blasten im KM und <2 % im PB
 - Ausschluss Folat- und Vitamin-B12-Mangel.
 - Die Diagnosekriterien für ein MDS mit definierten genetischen Veränderungen oder hypoplastischem MDS werden nicht erfüllt.
- Diagnosekriterien: wünschenswert!
 - Hhyperzelluläres Knochenmark
 - Nachweis klonaler zytogenetischer und/oder molekularer Marker

Diagnostikpfade myeloischer Neoplasien

2) MDS mit erhöhten Blastenanteil (MDS with increased blasts)

- Das MDS mit erhöhten Blastenanteil hat eine Häufigkeit zwischen 28-39%.
- Es werden unterschieden MDS IB-1, MDS-IB2 und MDS mit erhöhten Blastenanteil und Fibrose (MDS-F)
- Diagnosekriterien: essentiell
 - Nachweis von Zytopenien) und Dysplasie(n)-
 - MDS-IB1: 5-9 % Blasten im KM und 2-4 % im PB
 - MDS-IB2: 10-19% Blasten im KM und/oder 5-19% Blasten im PB
 - MDS-F: 5-19% Blasten im KM und/oder 2-19% Blasten im PB und Nachweis einer Fibrose Grad 2-3)
 - Die Diagnosekriterien für ein MDS mit biallelischer TP53-Inaktivierung werden nicht erfüllt.
- Diagnosekriterien: wünschenswert
 - Nachweis klonaler zytogenetischer und/oder molekularer Marker
 -
- Die Diagnose MDS mit erhöhten Blastenanteil erfordert aus diagnostischer Sicht grundsätzlich den Ausschluss eines MDS mit biallelischer TP53-Inaktivierung und genetisch-definierender Subtypen der AML.
- Bevor die Diagnose MDS mit erhöhten Blastenanteil gestellt werden sind ist formal der Ausschluss seltener genetischer Subtypen der AML erforderlich. Die Breite der Diagnostik ist von vielen Faktoren abhängig (Alter und Komorbiditäten des Patienten etc.) und muss daher im klinischen Kontext erfolgen.
- Das MDS mit erhöhten Blastenanteil 2 (MDS-IB2) wird in der ICC 2022 Klassifikation als Subentität MDS/AML geführt, da ein ähnlicher biologischer Verlauf zu erwarten ist.
- Klinische Studien berücksichtigen häufig neben Patienten mit AML auch Patienten mit MDS-IB2. Um diesem Umstand gerecht zu werden empfehlen wir in diesem Fall eine Klassifizierung nach WHO 2022 und ICC 2022.

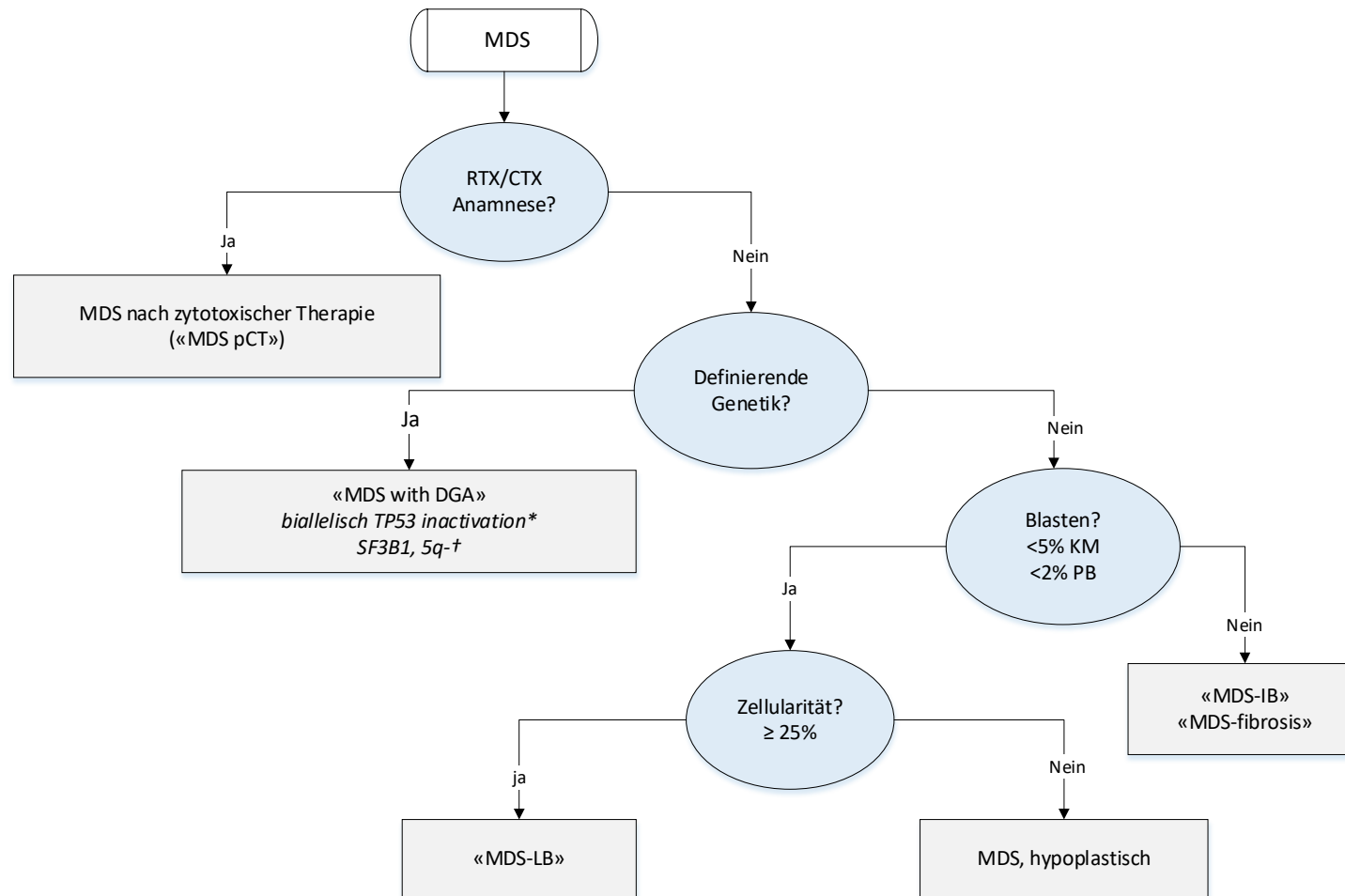
3) MDS, hypoplastisch

- Diagnosekriterien: essentiell
 - Nachweis einer/mehrerer Zytopenie(n)
 - Nachweis von Dysplasien der Myelopoiese und Megakaryopoiese
 - Hypozelluläres Knochenmark (bewertet in der Stanzbiopsie, angepasst an das Alter des Patienten), nicht durch Arzneimittel-/Toxinexposition oder relevanten Nährstoffmangel erklärt
 - <5% Blasten im KM und <2% im PB
 - Die Diagnosekriterien für ein MDS mit erhöhten Blastenanteil oder MDS mit definierten genetischen Anomalien werden nicht erfüllt.
- Diagnosekriterien: wünschenswert
 - Nachweis klonaler zytogenetischer und/oder molekularer Marker

Literatur: 1) Woll et al., 2015, *Cancer Cell*; 2) Malcovati et al., 2020, *Blood*, 3) Bernard et al., 2021, *Nat Med*. 4) Montalban et al., 2020, *Blood Adv*. 5) Sallman et al, 2016, *Leukemia* 6) Neukirchen et al., 2011, *Leuk Res*

Abkürzung: NGS: Next generation sequencing, FISH: Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung, aCGH: Microarray-based Comparative Genomic Hybridization, MDS-IB: Myelodysplastische Neoplasie mit (increased) erhöhten Blastenanteil

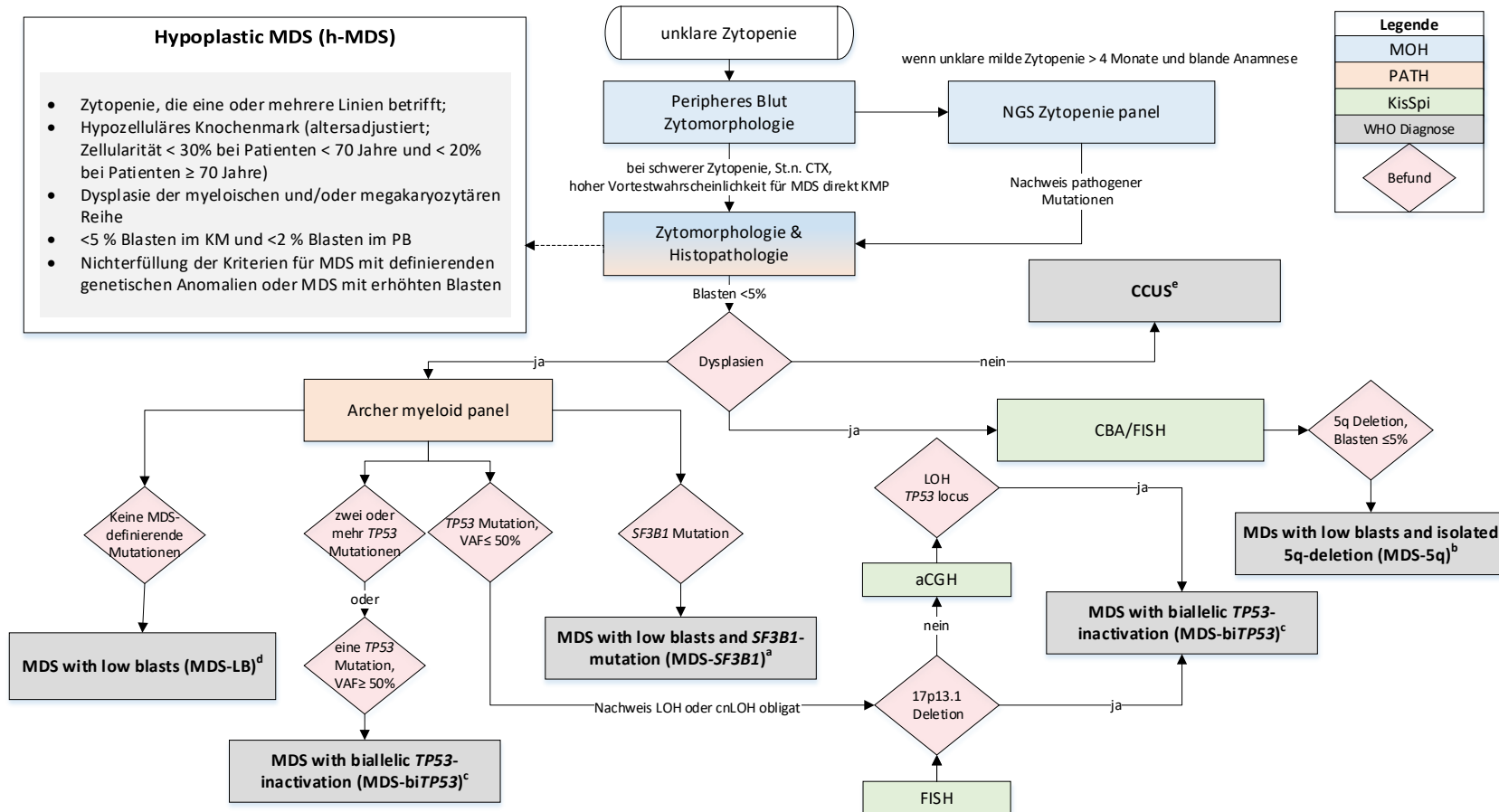
Hierarchie myelodysplastischer Neoplasien (MDS)



*Blasten PB/KM bis 19% mit Diagnose vereinbar, Abkürzung: DGA: definierende genetische Anomalie, pCT: post-cytotoxischer Therapie, IB: increased blasts, LB: low blasts, RTX/CTX: Radio- bzw. Chemotherapie

† Der Blastenanteil muss im KM <5% und PB < 2% sein

Diagnostikpfad: Myelodysplastische Neoplasien (MDS) mit niedrigem Blastenanteil

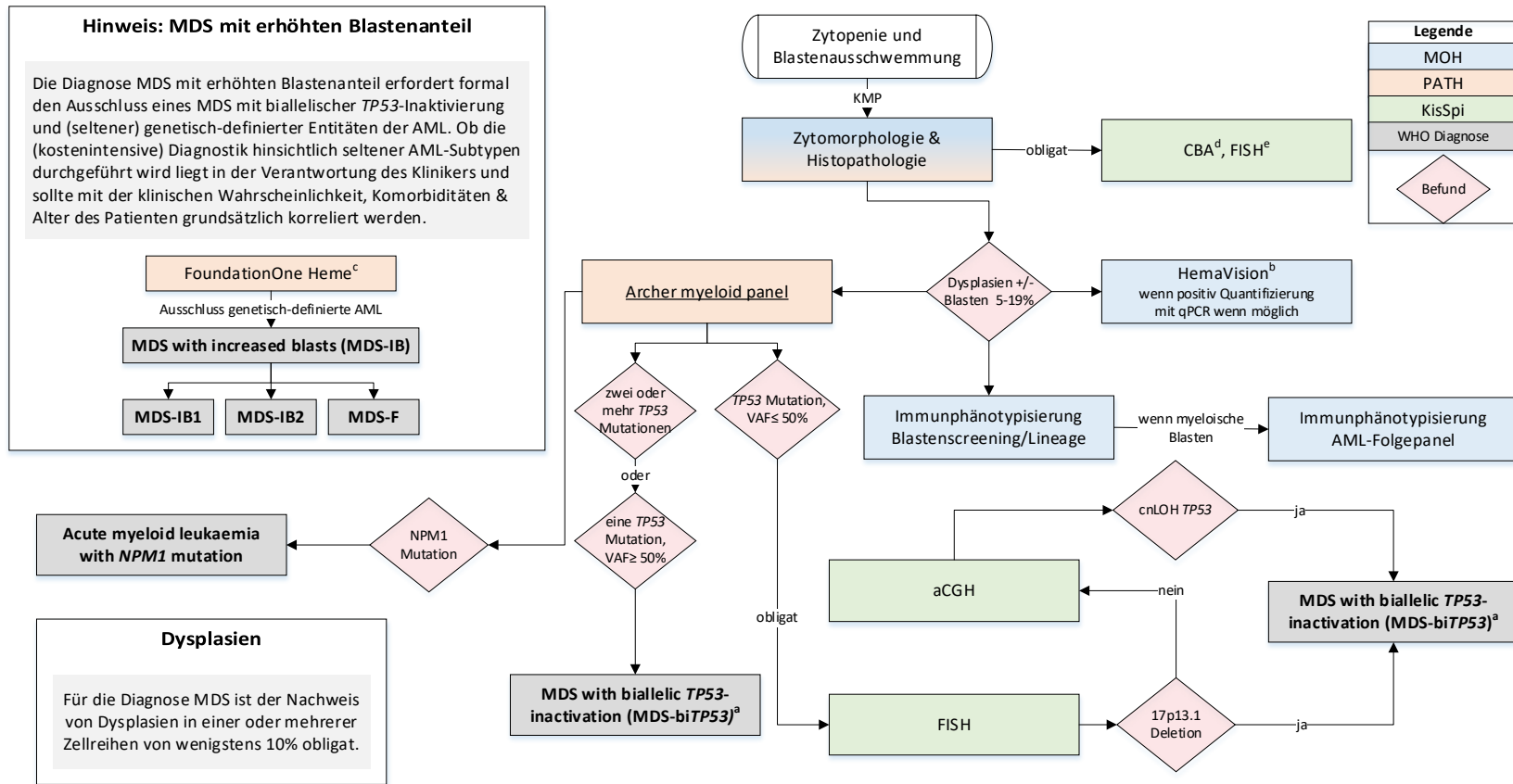


Abkürzungen: NGS: Next generation sequencing, FISH: Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung, aCGH: Microarray-based Comparative Genomic Hybridization, CBA: Chromosomenbänderungsanalyse, KMP: Knochenmarkpunktion, MDS-LB: Myelodysplastische Neoplasie mit (low) niedrigem Blastenanteil

- a) kein Nachweis 5q Deletion, Monosomie 7 oder komplexer Karyotyp
- b) alleinige 5q Deletion oder mit einer anderen Abnormalität, ausser Monosomie 7 oder 7q Deletion
- c) zwei oder mehr *TP53* Mutationen im NGS, or eine Mutation und Nachweis *TP53* copy number loss (LOH) oder copy neutral loss of heterozygosity (cnLOH), gewöhnlich komplexer Karyotyp
- d) kein Nachweis 5q Deletion
- e) Eine oder mehrere anderweitig unerklärliche Zytopenien, die länger als 4 Monate bestehen. Nachweis einer oder mehrerer somatischer Mutationen mit VAF ≥ 2% (≥ 4% für X-chromosomalen Genmutationen bei Männern) aus einer Liste von Genen oder klonalen Chromosomenanomalien in myeloischen Zellen & Fehlen diagnostischer Kriterien für definierte myeloische Neoplasien in der KMP

Diagnostikpfade myeloischer Neoplasien

Diagnostikpfad: Myelodysplastische Neoplasien (MDS) mit erhöhten Blastenanteil/AML, Blastenanteil ≤ 20%



Abkürzungen: NGS: Next generation sequencing, FISH: Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung, aCGH: Microarray-based Comparative Genomic Hybridization, CBA: Chromosomenbänderungsanalyse, MDS-IB: Myelodysplastische Neoplasie mit (increased) erhöhten Bastenanteil

- a) zwei oder mehr *TP53* Mutationen im NGS oder eine Mutation und Nachweis *TP53* copy number loss oder copy neutral loss of heterozygosity, gewöhnlich komplexer Karyotyp
- b) Multiplex-PCR: Ausschluss/Nachweis von Translokationen, Bruchpunkten (*BCR::ABL1*, *PML::RARA*, *CBFB::MYH11*, *DEK::NUP214*, *RUNX1::RUNX1T1*, *KMT2A::MLL3* etc). TAT: 3-8 Tage
- c) bevor die Diagnose MDS-IB gestellt werden kann müssen alle AML-definierenden Genveränderungen ausgeschlossen werden. FoundationOne Heme kann kann aus der Knochenmarkbiopsie nachverordnet werden, nur im ambulanten Setting verordnen, TAT:14 Tage
- d) obligat, TAT: 14 Tage
- e) ggfs. FISH Nachweis bzw. Ausschluss *del(17p)*, *KMT2A*, *MECOM rearranged*, ohne das alle Partner nachgewiesen werden können, nachgewiesen werden *KMT2A::MLL3* und *inv(3)*, *t(3;3)*, *del(17p)*, TAT: 3-4 Tage

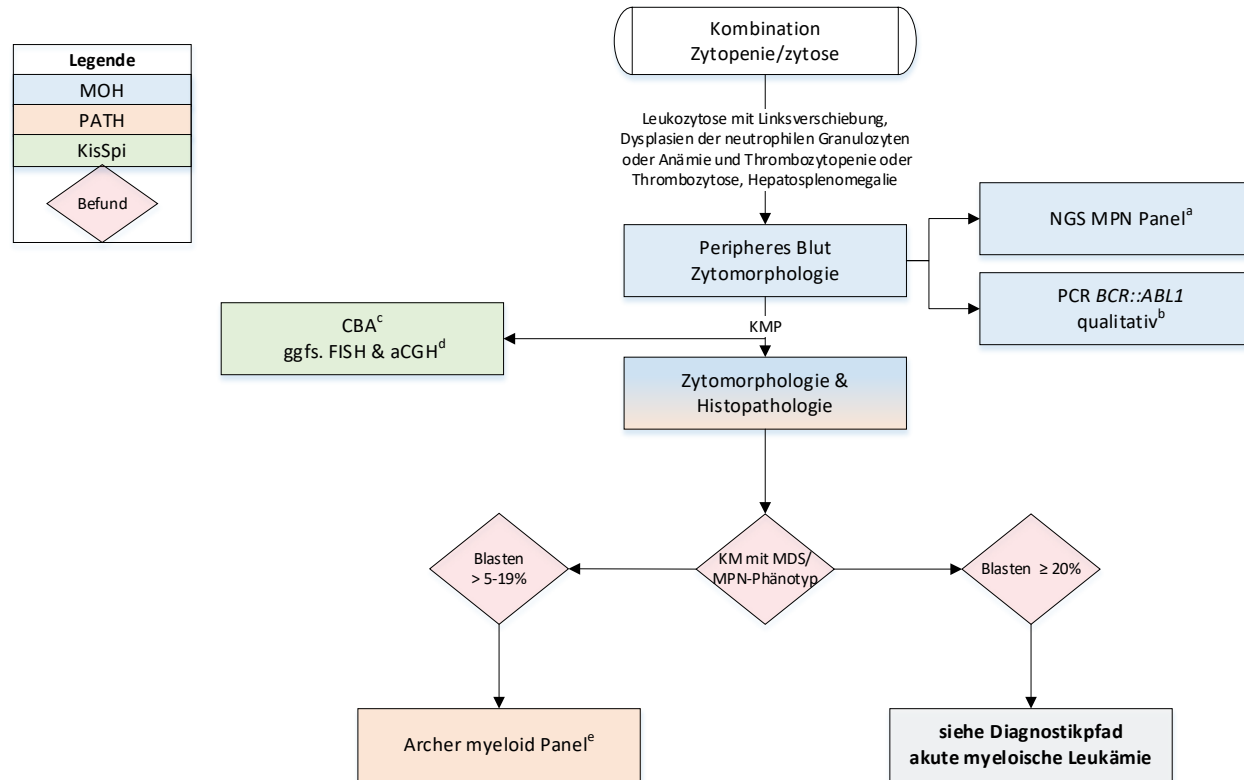
Myelodysplastische Neoplasien/Myeloproliferative Neoplasien (MDS/MPN)

| | Chronische myelo monozytäre Leukämie (CMML) | Myelodysplastische/myeloproliferative Neoplasie mit Neutrophilie (MDS/MPN-N) | Myelodysplastische/myeloproliferative Neoplasie mit SF3B1 Mutation und Thrombozytose (MDS/MPN-SF3B1-T) | Myelodysplastische/myeloproliferative Neoplasie, not-otherwise specified (MDS/MPN-NOS) |
|------------------------|---|--|--|---|
| Inzidenz | <ul style="list-style-type: none"> Inzidenz und Prävalenz 0.41 und 1.05-19.4 je 100.000 Einwohner medianes Patientenalter 71–76 Jahre | <ul style="list-style-type: none"> sehr selten, Erkrankungsalter häufig zwischen 70-80 Jahre | <ul style="list-style-type: none"> medianes Patientenalter 68–75 Jahre | <ul style="list-style-type: none"> Selten wahrscheinlich das zweithäufigste MDS/MPN overlap |
| Blutbild | <ul style="list-style-type: none"> absolute ($\geq 0,5 \times 10^9/L$) und relative ($\geq 10\%$) Monozytose im PB häufig Dysgranulopoiese (Störungen der Granulation) | <ul style="list-style-type: none"> Leukozytose $\geq 13 \times 10^9/L$ Neutrophilie und $\geq 10\%$ zirkulierenden unreifen myeloischen Vorstufen Dysplasie der neutrophilen Granulozyten | <ul style="list-style-type: none"> normochrome makrozytäre oder normozytäre Anämie Thrombozytose mit einer Thrombozytenzahl von $\geq 450 \times 10^9/L$ Leukozyten häufig normal | <ul style="list-style-type: none"> PB mit anhaltender Zytose und Zytopenie(n). Leukozytose liegt bei den meisten Patienten vor Thrombozytose bei etwa 20 % |
| Morphologie/Pathologie | <ul style="list-style-type: none"> hyperzelluläres Knochenmark mit erhöhten M:E Verhältnis sehr häufig Dysmegakaryopoiese und Dysmyelopoiese <20 % Blasten in PB und KM (inklusive Blastenäquivalenten) | <ul style="list-style-type: none"> hyperzelluläres Knochenmark mit erhöhten M:E Verhältnis und Dysplasie der Myelopoiese +/- Dysplasie der Megakaryopoiese und Erythropoiese <20 % Blasten in PB und KM. | <ul style="list-style-type: none"> Hyperzelluläres Knochenmark mit gesteigerter dysplastischer Erythropoiese, Nachweis von $\geq 15\%$ Ringsideroblasten Megakaryozyten vermehrt, morphologisch ähnlich zu <i>BCR::ABL1</i>-negativen MPN | <ul style="list-style-type: none"> Hyperzelluläres Knochenmark mit variabler Dysplasie Fibrose in ca. 30% der Fälle |
| Molekulargenetik | <ul style="list-style-type: none"> <i>TET2</i>, <i>DNMT3A</i>, <i>ASXL1</i>, <i>EZH2</i>, <i>SRSF2</i>, <i>SF3B1</i>, <i>U2AF1</i>, <i>ZRSR2</i>, <i>NRAS</i>, <i>KRAS</i>, <i>CBL</i>, <i>PTPN11</i>, <i>JAK2</i> <i>SETBP1</i>, <i>RUNX1</i>^{1,2} | <ul style="list-style-type: none"> Mutationsprofil ähnlich zu CMML und MDS/MPN-NOS Nachweis von <i>SETBP1</i>- und/oder <i>ETNK1</i>-Mutationen spricht eher für MDS/MPN-N^{4,5} | <ul style="list-style-type: none"> <i>SF3B1</i>-Mutation, häufigste p.K700E, p.H662Q und p.K666R⁷ <i>JAK2</i> p.V617F, <i>TET2</i>, <i>ASXL1</i>, <i>DNMD3A</i>, <i>SETBP1</i>, <i>SRSF2</i>, <i>U2AF1</i>, <i>ZRSR2</i>, <i>EZH2</i>, <i>IDH2</i>, <i>ETV6</i>, <i>RUNX1</i>, <i>CBL</i>, <i>CALR</i> und <i>MPL</i> | <ul style="list-style-type: none"> häufig <i>TET2</i>, <i>NRAS</i>, <i>RUNX1</i>, <i>CBL</i>, <i>SETBP1</i> and <i>ASXL1</i> Mutationen in 10-15% mono- oder bialellische TP53-Mutationen (bialellisch ist ein Ausschlusskriterium) |
| Zytogenetik | <ul style="list-style-type: none"> ca. 70 % zeigen normalen Karyotyp keine spezifischen zytogenetischen Anomalien, häufig Trisomie 8, -7 oder del(7q), Verlust von Chromosom Y und Trisomie 21 | <ul style="list-style-type: none"> Anomalien im Karyogramm in ca. 30–40 % der Fälle Chromosomen 8 und 20 sind am häufigsten betroffen | <ul style="list-style-type: none"> zytogenetische Anomalien werden bei ca. 15% der Patienten nachgewiesen | <ul style="list-style-type: none"> 50% zeigen abnormer Karyotyp häufige Anomalien sind: Trisomie 8, Monosomie 7/Deletion 7q, Deletion 20q und ein monosomaler oder komplexer Karyotyp |
| Prognose | <ul style="list-style-type: none"> Prognose schlecht medianes Gesamtüberleben 2-3 Jahre Risiko einer Transformation in eine AML 15-30%³ | <ul style="list-style-type: none"> Patienten mit MDS/MPN-N haben eine schlechte Prognose medianes Gesamtüberleben ca. 14–29 Monate⁶ | <ul style="list-style-type: none"> unter allen MDS/MPN günstigste Prognose medianes Gesamtüberleben von 76–128 Monaten⁷ | <ul style="list-style-type: none"> Prognose ungünstig medianes Gesamtüberleben zwischen 12 und 24 Monaten⁹ |

Literatur: 1) Melverde et al., 2016, *Nat Commun.*, 2) Patnaik et al., 2013, *Am J Hematol.* 3) Elena et al., 2016, *Blood* 4) Piazza et al., 2013, *Nat Genet.*, 5) Fontana et al., 2020, *Nat Commun.* 6) Wang et al., 2014, *Blood* 7) Mangaonkar et al., 2022, *Blood Cancer J.* 8) Zoi et al., 2015, *Int J Hematol.* 9) DiNardo et al., 2014, *Leukemia*

Diagnostikpfade myeloischer Neoplasien

Diagnostikpfad: Myelodysplastische Neoplasien/Myeloproliferative Neoplasien (MDS/MPN) ausser CMML



Abkürzung: KMP: Knochenmarkpunktion, KM: Knochenmark, MPN: Myeloproliferative Neoplasie, MDS: Myelodysplastische Neoplasie, CBA: Chromosomenbänderungsanalyse, FISH: Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung

a) Mutationen in *JAK2*, *CALR*, *MPL*, *CSF3R* sind bei der MDS/MPN mit Neutrophilie ungewöhnlich, die Mutation *JAK2 p.V617F* ist in 50% der Fälle bei MDS/MPN mit *SF3B1*-Mutation und Thrombozytose nachweisbar, bei Abwesenheit einer *JAK2 V617F* Mutation, werden häufig Mutationen in *MPL* oder *CALR* nachgewiesen, TAT: 4-6 Tage

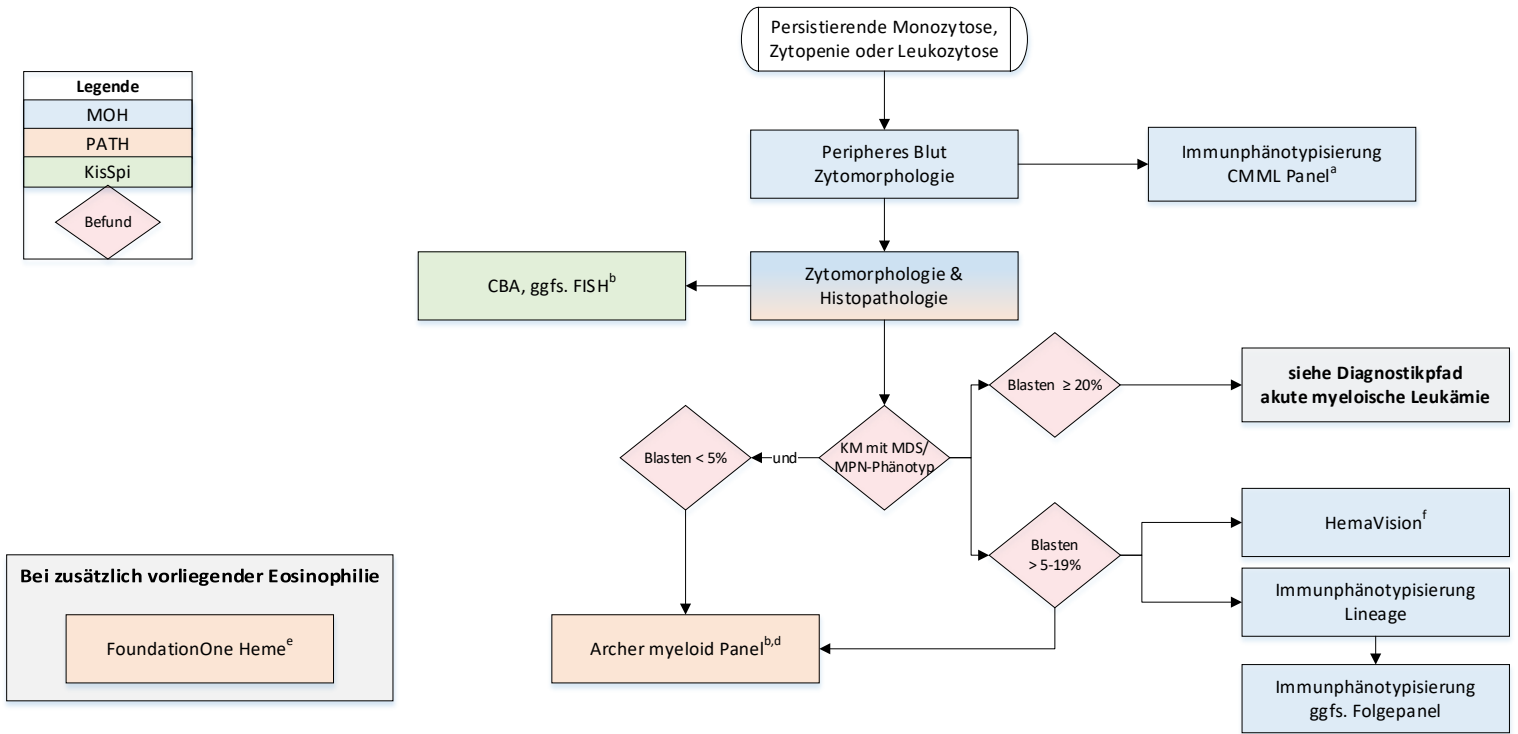
b) Die Diagnose MDS/MPN mit Neutrophilie erfordert den Ausschluss einer *BCR::ABL1*-Fusion (auch alternative *BCR::ABL1*-Transkripte)

c) CBA: nicht obligat aber empfehlenswert

d) FISH, ggfs. aCGH: Die Diagnose MDS/MPN mit *SF3B1*-Mutation und Thrombozytose erfordert den Ausschluss MDS mit isolierter *del(5q)*, Myelodysplastische Neoplasie mit biallelischer *TP53* Inaktivierung und Myeloische Neoplasie mit *t(3;3)(q21.3;q26.2)* oder *inv(3)(q21.3q26.2)*

e) obligat, Ausschluss *TP53* Mutation, TAT: 7-10 Werkstage

Diagnostikpfad: Chronische myelomonozytäre Leukämie (CMML)



Abkürzung: KM: Knochenmark, MPN: Myeloproliferative Neoplasie, MDS: Myelodysplastische Neoplasie, CBA: Chromosomenbänderungsanalyse, FISH: Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung

- a) Unterstützendes Diagnosekriterium: Abnormale Verteilung der peripheren Monozytensubpopulationen, basierend auf dem Nachweis erhöhter klassischer Monozyten (>94 %) ohne bekannte aktive Autoimmunerkrankungen und/oder systemische Entzündungssyndrome.
- b) Unterstützendes Diagnosekriterium: Nachweis einer erworbenen klonalen zytogenetischen oder molekulargenetischen Abnormalität; Die Mehrheit (~70 %) der CMML-Patienten hat einen normalen Karyotyp bei der konventionellen Karyotypisierung. Es findet sich keine spezifische CMML Aberration. Dennoch haben zytogenetische Anomalien eine prognostische Relevanz (Wassie et al., 2014, *Am J Hematol.*; Such et al. 2013, *Blood*; Such et al., 2011, *Haematologica*)
- c) Unterstützendes Diagnosekriterium: Nachweis Dysplasie in ≥ 1 Zellreihe
- d) Myeloproliferative Neoplasien (MPN) können bei Diagnosestellung oder im Verlauf der Erkrankung mit einer Monozytose einhergehen; solche Fälle können CMML imitieren. In diesen Fällen schließt eine dokumentierte MPN eine CMML aus. Das Vorhandensein von MPN-Merkmalen im Knochenmark und/oder der Nachweis MPN-assoziierte Mutationen (*JAK2*, *CALR* oder *MPL*) spricht eher für MPN mit Monozytose als für CMML
- e) Kriterien für myeloische/lymphoide Neoplasien mit Eosinophilie und definierender Gen-rearrangements sollten in Fällen mit Eosinophilie ausdrücklich ausgeschlossen werden
- f) Ausschluss AML-definierender Fusionen

Akute myeloische Leukämie (AML)

Es erfolgt eine Unterteilung in

- AML mit definierten genetischen Veränderungen (85%)
- AML, definiert durch Differenzierung (15%)

Der Blastengrenzwert von $\geq 20\%$ wurde mehrheitlich aufgehoben. Eine Ausnahme bilden die folgenden Entitäten. Bei diesen Subtypen ist der Blastengrenzwert $\geq 20\%$ obligates Diagnosekriterium.

- AML mit *BCR::ABL1* Fusion
- AML mit *CEBPA* Mutation
- AML, myelodysplasie-assoziiert (AML-MR)
- AML, definiert durch Differenzierung

Im Folgenden werden die Diagnosekriterien für eine Auswahl an Subtypen der AML aufgezeigt.

AML, myelodysplasie-assoziiert (MR)

Die Diagnose AML, myelodysplasie-assoziiert (AML-MR) kann gestellt werden, wenn:

- Blastenanteil $\geq 20\%$ im peripheren Blut und/oder Knochenmark vorliegt
- und ein MDS oder MDS/MPN anamnestisch bekannt ist
- und/oder eine oder mehrere der folgenden chromosomalen oder molekularen Aberrationen nachgewiesen werden

Definierende zytogenetische Marker

- Komplexer Karyotyp (>3 Aberrationen)
- del(5q) oder 5q-Verlust aufgrund unbalancierter Translokation
- Monosomie 7, del(7q) oder 7q-Verlust aufgrund unbalancierter Translokation
- del(11q)
- del(12p) oder 12p-Verlust aufgrund unbalancierter Translokation
- Monosomie 13 oder del(13q)
- del(17p) oder 17p-Verlust aufgrund unbalancierter Translokation
- Isochromosom 17q
- idic(X)(q13)

Definierende somatische Mutationen

Diese sind nachweisbar in 95% der Fälle bei AML post MDS oder MDS/MPN.

- *ASXL1*
- *BCOR*
- *EZH2*
- *SF3B1*
- *SRSF2*
- *STAG2*
- *U2AF1*
- *ZRSR2*

AML mit KMT2A rearrangement

Die Diagnose AML mit KMT2A rearrangement kann gestellt werden, wenn

- Blastenanteil $\geq 20\%$ im PB und/oder KM oder ein myeloisches Sarkom vorliegt Nachweis KMT2A rearrangement, Bisher sind ca. 80 Fusionspartner für KMT2 bekannt. Der Nachweis des Fusionspartners ist ein wünschenswertes aber kein obligates Diagnose-kriterium.
- die Kriterien für myeloische Neoplasien nach zytotoxischer Therapie nicht erfüllt werden.

Diagnostikpfade myeloischer Neoplasien

AML mit CEBPA Mutation

Die Diagnose AML mit CEBPA Mutation kann gestellt werden, wenn

- ≥ 20 % Blasten im KM oder PB
- Nachweis biallelischer CEBPA Mutationen oder einer einzelnen Mutation in der bZIP-Region
- Kein Nachweis von Kriterien, die eine Klassifizierung in eine andere AML mit definierenden genetischen Anomalien rechtfertigen.
- Die Kriterien für eine myeloische Neoplasien nach zytotoxischer Therapie werden nicht erfüllt.

AML mit anderen definierenden genetischen Alterationen

Die Diagnose AML mit anderen definierenden genetischen Alterationen kann gestellt werden, wenn

- ≥ 20 % Blasten im KM oder PB
- Nachweis einer oder mehrerer zytogenetischer oder molekularer Aberrationen, (siehe Tabelle)
- Die Kriterien für eine AML mit definierenden genetischen Anomalien, AML-MR, AML-pCT oder MPAL werden nicht erfüllt.

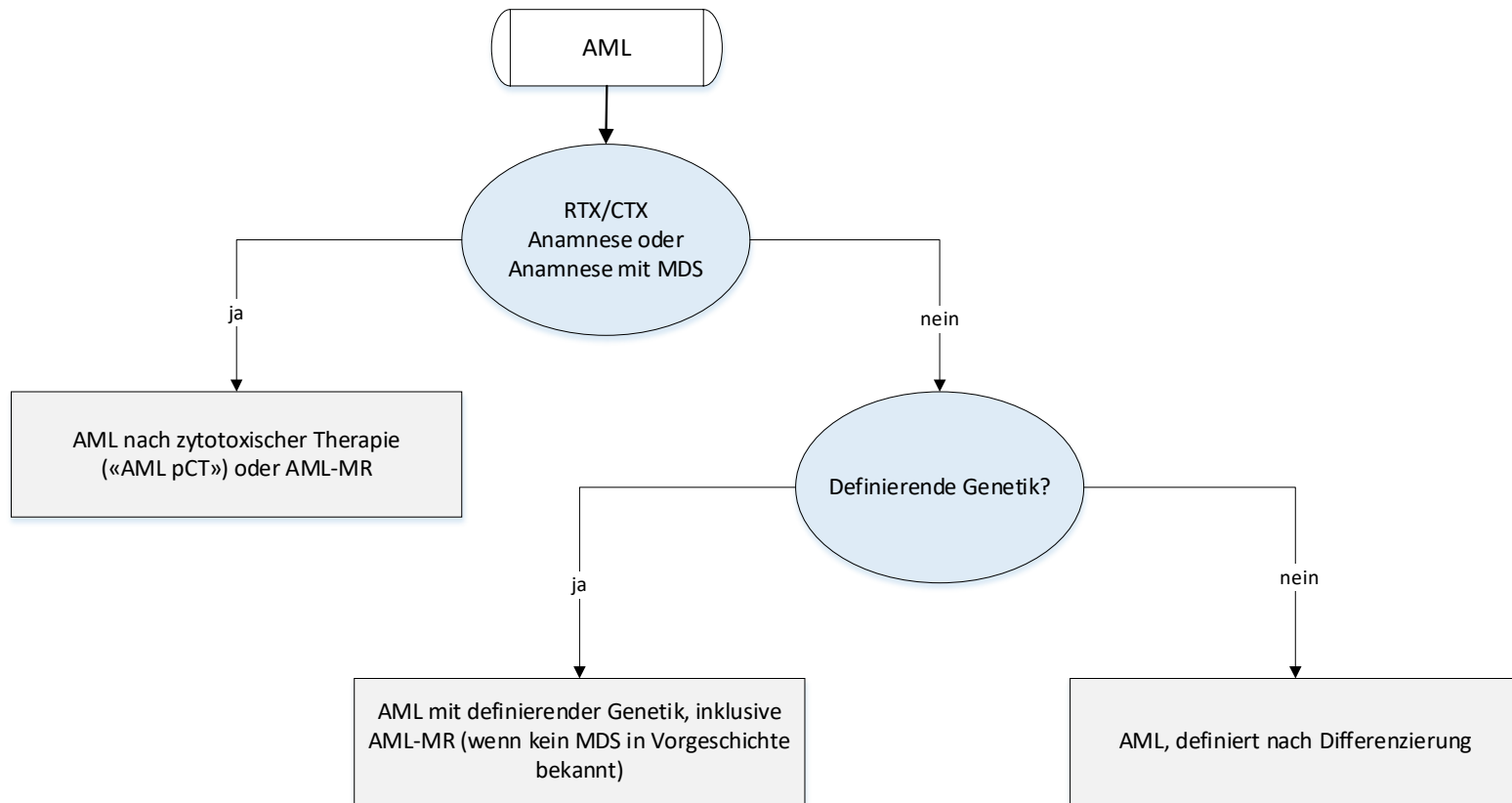
| | |
|-----------------------|----------------------|
| <i>CBFA2T3::GLIS2</i> | inv(16)(p13q24) |
| <i>KAT6A::CREBBP</i> | t(8;16)(p11.2;p13.3) |
| <i>FUS::ERG</i> | t(16;21)(p11;q22) |
| <i>MNX1::ETV6</i> | t(7;12)(q36;p13) |
| <i>NPM1::MLF1</i> | t(3;5)(q25;q35) |

Einteilung akuter myeloischer Leukämien (AML) nach WHO 2022

| Kategorie | Häufigkeit | Blasten | HemaVision | AML NGS | Archer myeloid | FoundationOne Heme | FISH | Karyogramm |
|--|------------|---------|-------------------|---------|----------------|--------------------|------|------------|
| AML with defining genetic abnormalities | 85% | | +/- | +/- | +/- | + | +/- | +/- |
| Acute promyelocytic leukaemia with <i>PML::RARA</i> fusion | 5-8% | - | ja | | | ja | ja | ja |
| Acute myeloid leukaemia with <i>RUNX1::RUNX1T1</i> fusion | 1-5% | - | ja | | | ja | ja | ja |
| Acute myeloid leukaemia with <i>CBFB::MYH11</i> fusion | 5-8% | - | ja | | | ja | ja | ja |
| Acute myeloid leukaemia with <i>DEK::NUP214</i> fusion | 1% | - | ja | | | ja | ja | ja |
| Acute myeloid leukaemia with <i>RBM15::MRTFA</i> fusion | <1% | - | | | | ja | | |
| Acute myeloid leukaemia with <i>BCR::ABL1</i> fusion | <0.5% | ≥ 20% | ja | | | ja | ja | ja |
| Acute myeloid leukaemia with <i>KMT2A</i> rearrangement | 2-3% | - | (ja) ¹ | | | ja | ja | ja |
| Acute myeloid leukaemia with <i>MECOM</i> rearrangement | 1-2% | - | | | | ja | ja | ja |
| Acute myeloid leukaemia with <i>NUP98</i> rearrangement | 2.3% | - | | | | ja | ja | |
| Acute myeloid leukaemia with <i>NPM1</i> mutation | 20-30% | - | | ja | ja | ja | | |
| Acute myeloid leukaemia with <i>CEBPA</i> mutation | 5-11% | ≥ 20% | | ja | ja | ja | | |
| Acute myeloid leukaemia, myelodysplasia-related | 24-35% | ≥ 20% | | ja | ja | (ja) | (ja) | (ja) |
| Acute myeloid leukaemia with other defined genetic alterations | selten | - | | | | ja | | |
| AML defined by differentiation | 15% | ≥ 20% | - | - | - | - | - | - |

1) Im HemaVision werden die Fusionspartner *FOXO4; AFDN, ELL; MLLT10, EPS15, MLLT6, MLLT1, MLLT3, AFF1, MLLT11* werden. Mit FoundationOne Heme können prinzipiell alle Fusionspartner nachgewiesen werden, wenn sich die Fusion im Exon oder intronisch sehr nah an einem Exon befindet. Die Sequenzierung erfolgt paired-end, somit werden auch unbekannte Bereiche in Introns sequenziert. Zeigt sich dort eine Anomalie zum Referenzgenom kann der Fusionspartner identifiziert werden.

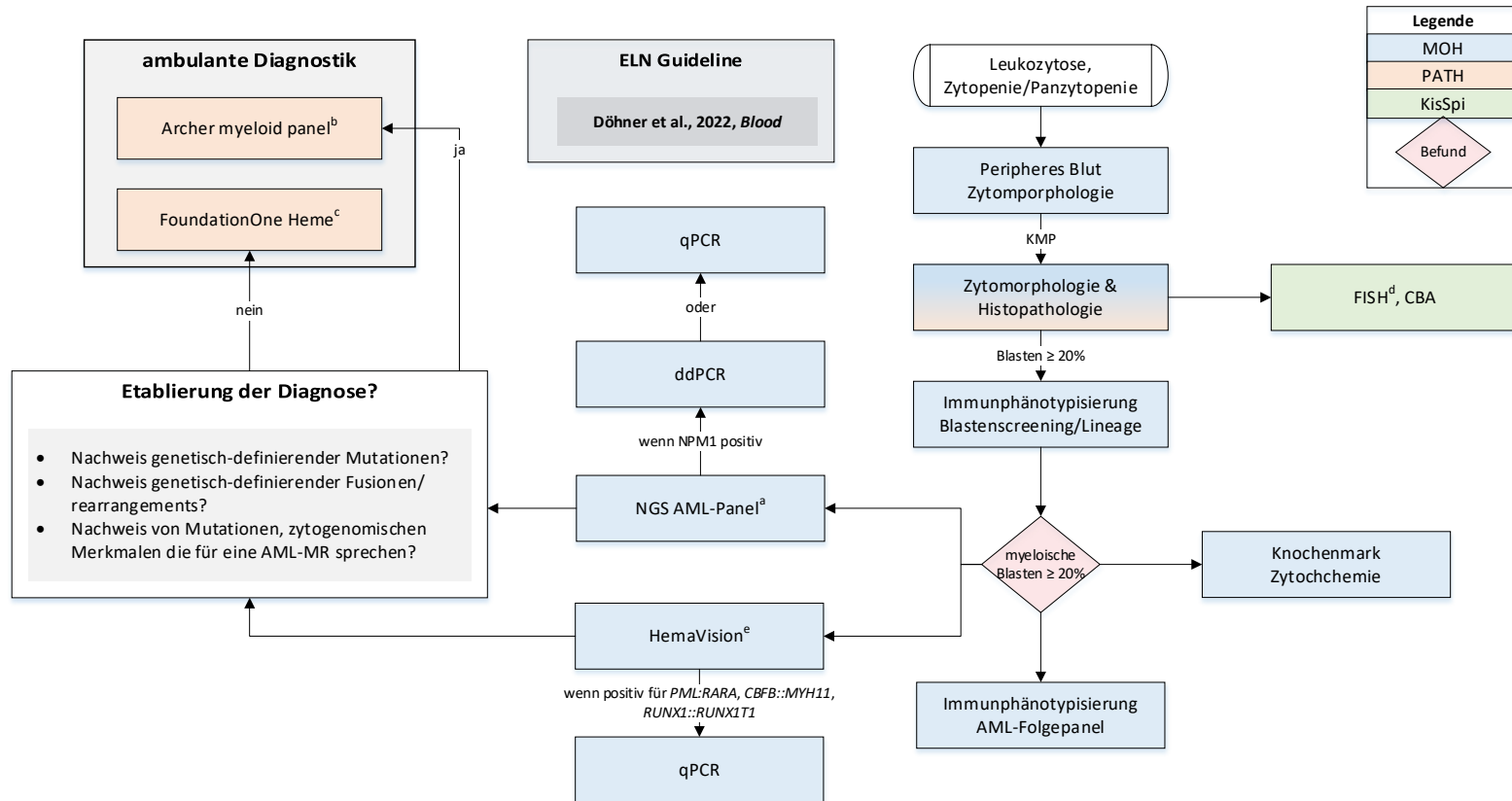
Hierarchie akute myeloische Leukämie (AML)



Abkürzungen: pCT: post-cytotoxischer Therapie, RTX/CTX: Radio- bzw. Chemotherapie, MR: myelodysplasia-related

Diagnostikpfade myeloischer Neoplasien

Diagnostikpfad: Akute myeloische Leukämie (AML), Blastenanteil $\geq 20\%$



Abkürzungen: FISH: Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung, CBA: Chromosomenbänderungsanalyse, qPCR: qualitative PCR, ddPCR: droplet digital PCR, PB: Peripherblut, AML-MR: AML myelodysplasia-related

a) Nachweis *FLT3*, *NPM1*, *CEBPA*, *RUNX1*, *TP53*, *IDH1*, *IDH2*, *ASXL1*, *DDX41*, *BCOR*, *EZH2*, *SF3B1*, *SRSF2*, *STAG2*, *U2AF1*, *ZRSR2*, TAT: 4-6 Tage

b) Nachweis *ANKRD26*, *BCORL1*, *BRAF*, *CBL*, *CSFR3*, *DNMT3A*, *ETV6*, *GATA2*, *JAK2*, *KIT*, *KRAS*, *NRAS*, *NF1*, *PHF6*, *PPM1D*, *PTPN11*, *RAD21*, *SETBP1*, *TET2*, *WT1*, TAT: 7-10 Werktagen, Bestimmung der Gene von ELN 2022 empfohlen

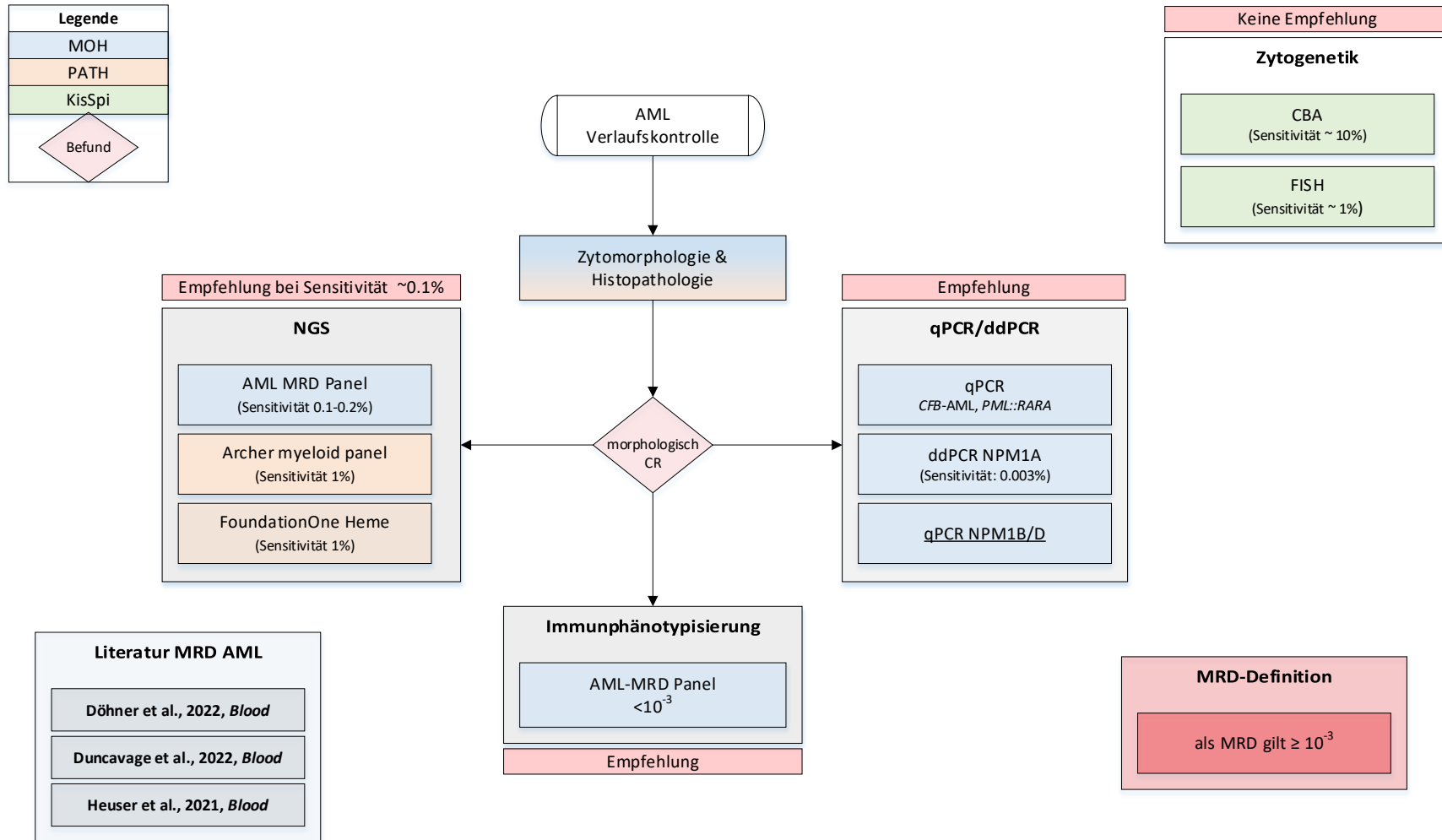
c) Prinzipiell Nachweis aller Fusionspartner *MECOM*, *KMT2A*, *NUP98*, Nachweis *RBM15::MRTFA* fusion, *KAT6A::CREBBP* und seltene Subtypen, TAT: 14 Tage

d) Nachweis *del(17p)*, *KMT2A*, *MECOM rearranged*, aber nicht alle Partner können nachgewiesen werden, nur *KMT2A::MLL3* und *inv(3)* und *t(3;3)*, *del(17p)*, TAT: 3-4 Tage

e) Multiplex-PCR: Nachweis von Translokationen, Bruchpunkten (*BCR::ABL1*, *PML::RARA*, *CBFB::MYH11*, *DEK::NUP214*, *RUNX1::RUNX1T1*, *KMT2A::MLL3* etc), TAT: 3-8 Tage

f) Kein Nachweis AML-definierender Mutationen/-fusionen/-rearrangements in HemaVision und NGS AML bzw. Archer myeloid panel

Diagnostikpfad: Akute myeloische Leukämie (AML), Verlauf, MRD



Abkürzung: KM: Knochenmark, CR: Komplette Remission, NGS: Next Generation Sequenzing, qPCR: qualitative-PCR, ddPCR: digital-droplet-PCR, CBA: Chromosomenbänderungsanalyse, FISH: Fluoreszenz in situ Hybridisierung, CBF-AML: core-binding-factor AML (*RUNX1::RUNX1T1*; *CBFH::MYH11*)

Empfehlungen zur MRD-Diagnostik bei akuter myeloischer Leukämie (AML) nach ELN 2022

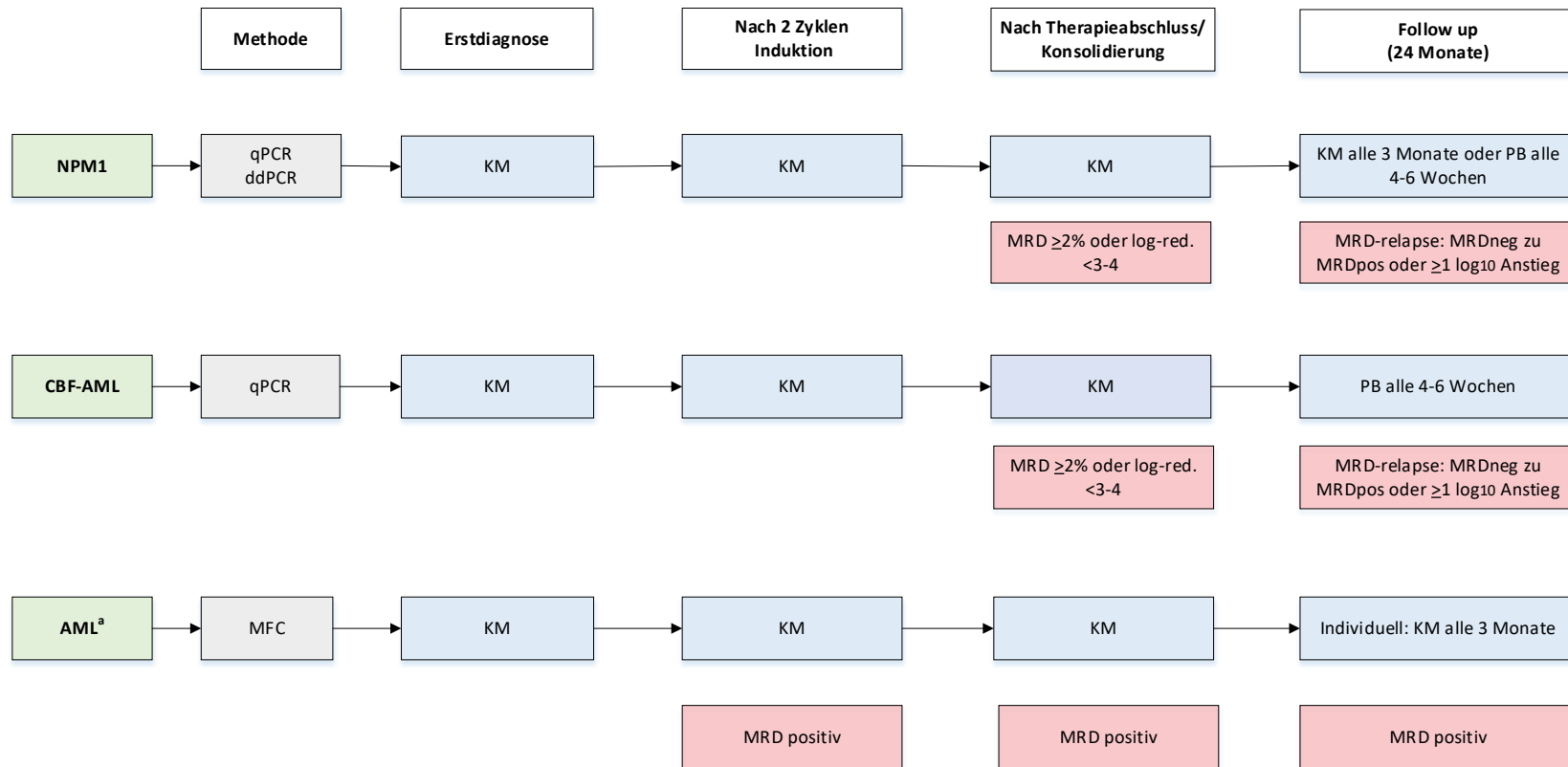


Abbildung mehrheitlich übernommen aus: Döhner et al, 2022, *Blood*

Abkürzung: MRD: Minimal Residual Disease, CBF-AML: Core Binding Factor AML (*RUNX1::RUNX1T1*, *CBFB::MYH11*), MFC: Multi-parameter Flow Cytometry, qPCR: quant. PCR, ddPCR: digital droplet PCR, KM: Knochenmark, PB: Peripherblut

a) generell für AML ohne NPM1 oder CBF-AML, PML::RARA, allerdings nicht alle AML-Typen hierfür geeignet

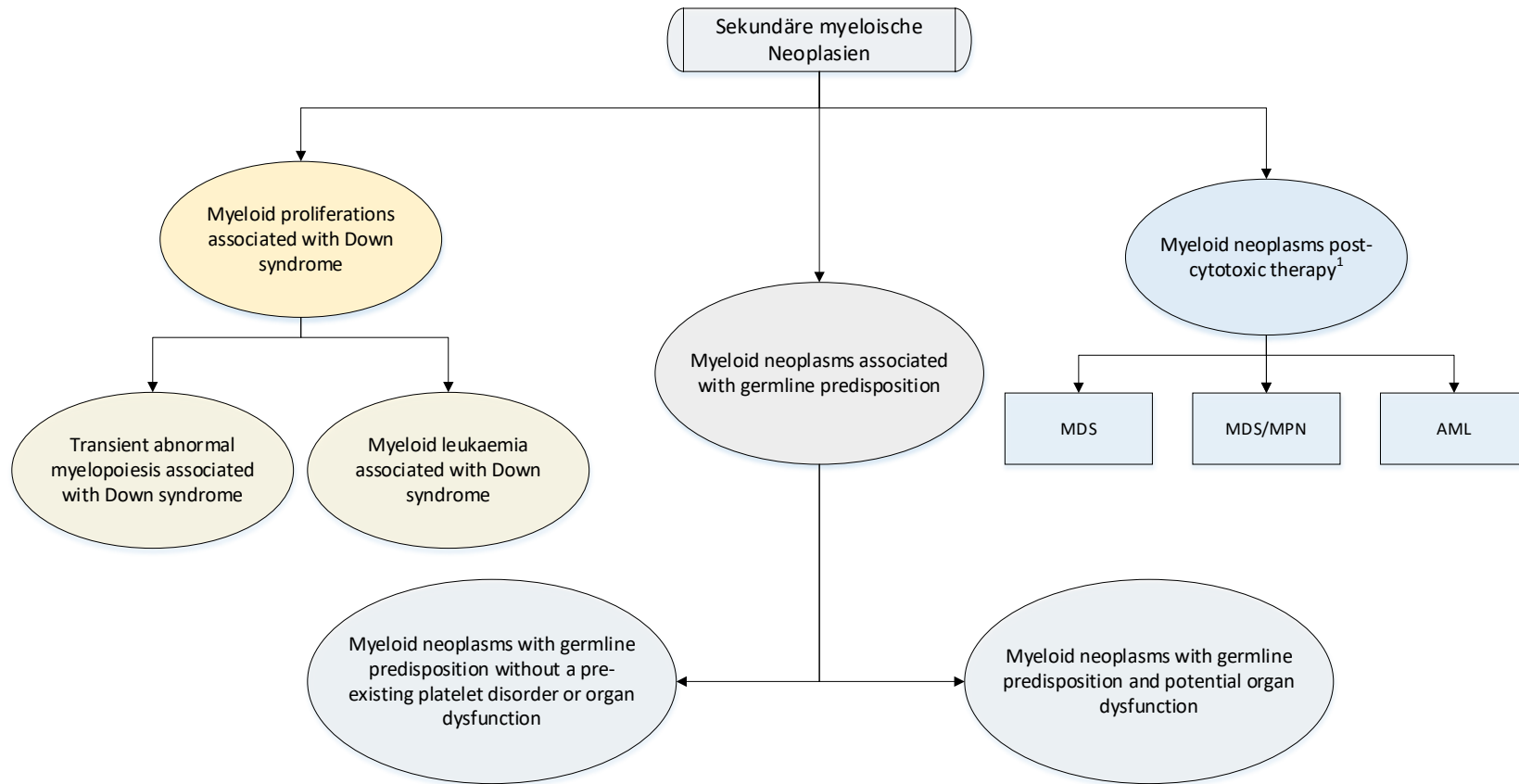
Grüner Kasten: AML-Subtyp

Grauer Kasten: Methode

Blauer Kasten: Material

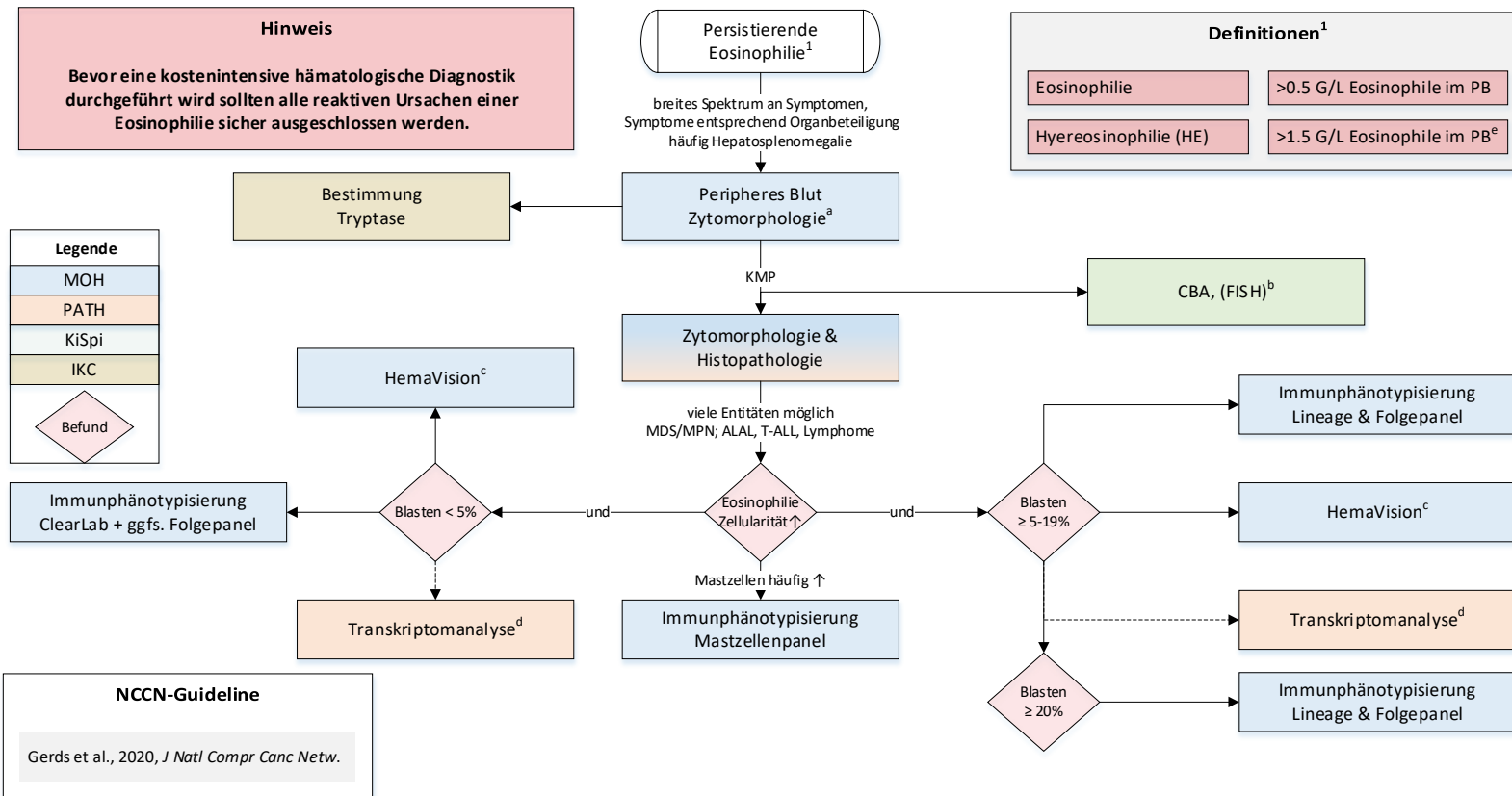
Roter Kasten: Therapieänderung aufgrund ungenügendem Ansprechen evaluieren

Übersicht: Sekundäre myeloische Neoplasien



Erklärung: 1) Alkylating agents: Melphalan, cyclophosphamide, nitrogen mustard, chlorambucil, busulfan, carboplatin, cisplatin, dacarbazine, procarbazine, carmustine, mitomycin C, thiotepa, lomustine, ionizing radiation therapy, Topoisomerase II inhibitors: Etoposide, teniposide, doxorubicin, daunorubicin, mitoxantrone, amsacrine, actinomycin, Antimetabolites: thiopurines, mycophenolate mofetil, fludarabine, Antitubulin agents (usually in combination with other agents): vincristine, vinblastine, vindesine, paclitaxel, docetaxel, PARP1 inhibitors)

Diagnostikpfad: Persistierende (klonale) Eosinophilie



1) Valent et al., 2012, *J Allergy Clin Immunol.*

Abkürzung: KM: Knochenmark, PB: peripheres Blut, KMP: Knochenmarkpunktion, MDS/MPN: Myelodysplastische/Myeloproliferative Neoplasie, FISH: Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung, ALAL: Acute leukaemias of ambiguous lineage, T-ALL: T-lymphoblastische Leukämie

a) häufig prominente Eosinophilie mit Atypien der Eosinophilen (Kernsegmentierung, Granulation), nicht indikativ für eine spezifische Entität

b) Karyogramm obligat, FISH-Panel «Eosinophilie» umfasst: *BCR::ABL1, FGFR1::R, FLT3::R, JAK2::R, PDGFRA::R, PDGFRB::R*

c) Multiplex-PCR: nachgewiesen werden die Subtypen *ETV6::PDGFRB, ETV6::ABL1*

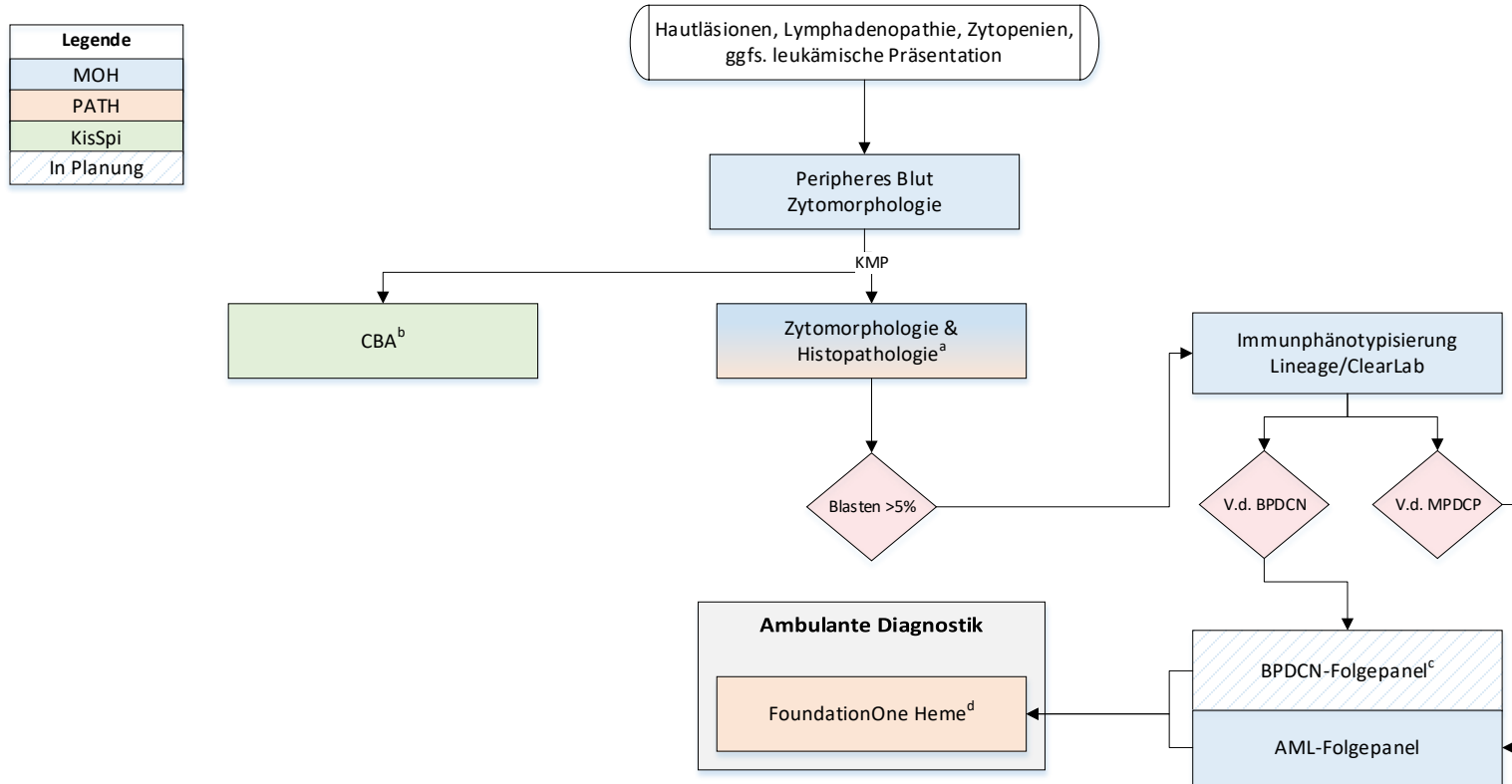
d) wenn FISH-Panel «Eosinophilie» negativ ist aber weiterhin Verdacht auf MLN-Eo besteht kann eine Transkriptomanalyse im MLL München durchgeführt werden, erfasst alle von der WHO2022 geforderten Genrearrangements, vorherige Kostengutsprache notwendig. Kontakt mit Labor aufnehmen.

e) selten bei Erstdiagnose oder im Verlauf, dann Bezeichnung Blastenkrise (lymphatisch oder myeloisch), Diagnostik analog tieferen Blastenteil

f) bei 2 Untersuchungen (Intervall ≥1 Monat) und/oder Gewebe HE definiert durch folgendes: > 20% Eosinophilie in Knochenmark, histologisch Infiltration oder Ablagerungen von Eosinophilen im Gewebe

Kapitel IV: histiozytäre/dendritische Zellneoplasien

Diagnostikpfad: BPDCN/MPDCP



Abkürzung: BPDCN: Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm, MPDCP: Mature plasmacytoid dendritic cell proliferation, AML: Akute myeloische Leukämie, CMML: Chronische myelomonozytäre Leukämie

1) MPDCP wurde neben AML, myelodysplastischen Neoplasien und myeloproliferativen Neoplasien am häufigsten in Verbindung mit CMML beschrieben. MPDCP ist in 4.9 % der AMLs vorhanden (Xiao et al., 2021, *Blood*)

a) Die Beteiligung des Knochenmarks ist variabel.

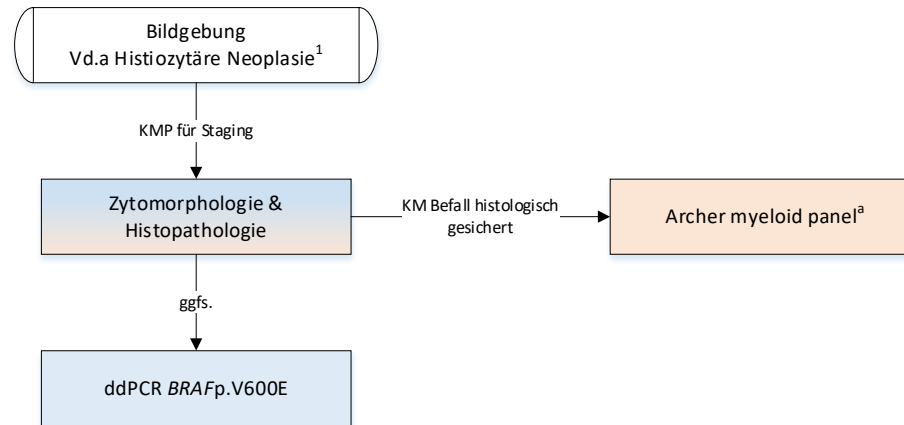
b) Nach WHO 2022 sind keine spezifischen zytogenetischen Tests erforderlich um die Diagnose BPDCN zu stellen. Wir empfehlen dennoch eine Karyotypisierung.

c) positive Expression: CD123, TCF4, TCL1, CD303, CD304, CD4, CD56, negative Expression: CD3, CD14, CD19, CD34, Lysozyme, Myeloperoxidase. BPDCN muss von der reifen pDC-Proliferation (MPDCP) bei Patienten mit myeloischen Neoplasien unterschieden werden. Die Expression von CD34 zusammen mit pDC-Markern spricht für eine AML mit pDC-Differenzierung.

d) nach WHO 2022 sind keine spezifischen molekulargenetischen Tests erforderlich, um die Diagnose BPDCN zu stellen. Es empfiehlt sich dennoch FoundationOne Heme ambulant durchführen.

Diagnostikpfad: Histiozytäre Neoplasien

| Legende |
|---------|
| MOH |
| PATH |



Abkürzung: ddPCR: digital droplet PCR, PCR: polymerase chain reaction

1) Verschiedene Untergruppen: Langerhans-Zell-Histiozytose, Erdheim-Chester-Disease, Rosai-Dorfman Disease, variabler Organbefall, Knochenmarkbefall häufig bei mulisystemischer Langerhans-Zell-Histiozytose (MS-LCH), gilt bei MS-LCH als high-risk Merkmal

a) Genmutationen des *MAPK*-Signalwegs sind in der Mehrzahl der Fälle vorhanden. Die *BRAF*-p.V600E-Mutation ist die am weitesten verbreitete und hat prognostische Bedeutung, insbesondere bei MS-LCH (Allen et al., 2018, *N Engl J Med.*; Héritier et al., 2016, *J Clin Oncol.* 2016), weitere relevante Mutationen bei Histiozytosen: *KRAS*, *NRAS*, *ARAF*, *CSF1R*, *PIK3CA* (wird vom Archer myeloid panel nicht erfasst)

Kapitel V: lymphatische Neoplasien

Übersicht: T-lymphoblastische(s) Leukämie/Lymphom (T-ALL/LBL) und Acute leukemias of ambiguous lineage (ALAL)

| | Subentität | Häufigkeit | Prognose |
|------------------|--|--|---|
| ALAL/MPAL | Mixed-phenotype acute leukaemia mit <i>BCR::ABL1</i> fusion | <ul style="list-style-type: none"> <0.5% aller akuten Leukämien 15-20% aller MPAL | <ul style="list-style-type: none"> eher günstig |
| | Mixed-phenotype acute leukaemia mit <i>KMT2A</i> rearrangement | <ul style="list-style-type: none"> selten wenn eher Kinder | <ul style="list-style-type: none"> ungünstig |
| | Mixed-phenotype acute leukaemia mit <i>ZNF384</i> rearrangement | <ul style="list-style-type: none"> Kinder > Erwachsene 20% aller MPAL knapp 50% aller B/Myeloid-MPAL | <ul style="list-style-type: none"> unbestimmt |
| | Acute leukaemia of ambiguous lineage mit <i>BCL11B</i> rearrangement | <ul style="list-style-type: none"> 10-15% aller MPAL knapp 33% aller T/Myeloid-MPAL | <ul style="list-style-type: none"> unbestimmt |
| T-ALL/LBL | T-lymphoblastische Leukämie, NOS | <ul style="list-style-type: none"> 25% aller ALLs bei Erwachsenen, T-LBL 85% aller LBLs | <ul style="list-style-type: none"> intermediär |
| | Early T-precursor lymphoblastische Leukämie | <ul style="list-style-type: none"> 12-17% aller T-ALL bei Kindern 22-40% aller T-ALL bei Erwachsenen | <ul style="list-style-type: none"> ungünstig/intermediär |

Übersicht: B-lymphoblastische(s) Leukämie/Lymphom (B-ALL/LBL)

| Subentität | Häufigkeit | Prognose |
|---|--|---|
| B-lymphoblastische Leukämia, NOS | <ul style="list-style-type: none"> • 5 bis 10% | <ul style="list-style-type: none"> • intermediär |
| B-lymphoblastische Leukämie mit high hyperdiploidy | <ul style="list-style-type: none"> • Kinder 25 bis 35%, • Erwachsene 7 bis 8% | <ul style="list-style-type: none"> • (sehr) günstig |
| B-lymphoblastische Leukämie mit hypodiploidy | <ul style="list-style-type: none"> • Kinder <1-2%, • Erwachsene 5- 10% | <ul style="list-style-type: none"> • ungünstig |
| B-lymphoblastische Leukämie mit iAMP21 | <ul style="list-style-type: none"> • gewöhnlich Kinder • selten Erwachsene | <ul style="list-style-type: none"> • hohes Rezidivrisiko nach Standardtherapie |
| B-lymphoblastische Leukämie mit <i>BCR::ABL1</i> fusion | <ul style="list-style-type: none"> • Kinder 2 bis 4%, • Erwachsene 10 bis 40% | <ul style="list-style-type: none"> • Günstig |
| B-lymphoblastische Leukämie mit <i>BCR::ABL1</i> -like features | <ul style="list-style-type: none"> • Kinder 10 bis 15%, Erwachsene 20 bis 30% • Down-Syndrom 50 bis 60% | <ul style="list-style-type: none"> • ungünstig • ggfs. Therapie mit TKI |
| B-lymphoblastische Leukämie mit <i>KMT2A</i> rearrangement | <ul style="list-style-type: none"> • Kleinkinder < 1 Jahr 70 bis 80% • häufig im fortgeschrittenen Alter | <ul style="list-style-type: none"> • ungünstig |
| B-lymphoblastische Leukämie mit <i>ETV6::RUNX1</i> fusion | <ul style="list-style-type: none"> • häufigste rekurrente Translokation bei Kindern • selten bei Erwachsenen | <ul style="list-style-type: none"> • (sehr) günstig |
| B-lymphoblastische Leukämie mit <i>ETV6::RUNX1</i> -like features ¹ | <ul style="list-style-type: none"> • Kinder 1% bis 3%, • selten bei Erwachsenen | <ul style="list-style-type: none"> • unbestimmt (ungünstig) |
| B-lymphoblastische Leukämie mit <i>TCF3::PBX1</i> fusion | <ul style="list-style-type: none"> • Kinder 5%, • Erwachsene selten | <ul style="list-style-type: none"> • intermediär/günstig • aber erhöhtes rel. Risiko für ZNS-Rezidiv |
| B-lymphoblastische Leukämie mit <i>IGH::IL3</i> fusion | <ul style="list-style-type: none"> • sehr selten (<1%) • wenn dann Kinder und junge Erwachsene | <ul style="list-style-type: none"> • Intermediär • hohe MRD Last nach Ende Induktion |
| B-lymphoblastische Leukämie mit <i>TCF3::HLF</i> fusion | <ul style="list-style-type: none"> • selten | <ul style="list-style-type: none"> • ungünstig, Frührezidive • Ansprechen auf BiTE, CAR-T-cells, Venetoclax |
| B-lymphoblastische Leukämie mit anderen definierten genetischen Abnormalitäten ¹⁻³ | <ul style="list-style-type: none"> • Kinder 10 bis 15%, • Erwachsene 20 bis 35% | <ul style="list-style-type: none"> • Variabel; <i>DUX-r</i> B-ALL 95% OS 5-yrs. bei Kindern • <i>DUX-r</i> B-ALL 95% OS 5-yrs.80% Bei Erwachsenen |

Literatur: 1) Paietta et al., 2021, *Blood*, 2) Jeha et al., 2021, *Blood Cancer Discov.* 3) Gu et al., 2019, *Nat Genet.*

Transkriptomanalyse bei B-lymphoblastischer(n) Leukämie/Lymphom (B-ALL/LBL)

Die Einteilung der Subentitäten der B-ALL erfolgt anhand genetischer Merkmale durch die Bestimmung bzw. Nachweis von Veränderungen einzelner Chromosomen oder ganzer Chromosomensätze und durch den Nachweis von Translokationen und entsprechender Fusionstranskripte. Darüber hinaus werden Subentitäten definiert die keine bekannten Fusionstranskripte aufweisen, deren Expressionsprofil sich aber von denen mit nachgewiesenen Fusionstranskripten kaum unterscheidet. Hierzu zählen die Subgruppen

- *BCR::ABL1*-like B-ALL
- *ETV6::RUNX1*-like B-ALL.

Bis auf die Subgruppen mit hyper- oder hypodiploiden Chromosomensatz können alle anderen Entitäten der B-ALL mittels Transkriptomanalyse/ whole-transcriptome-sequencing (WTS) sicher nachgewiesen werden. Die Auswertung der Untersuchung erfolgt mit einem Algorithmus, der 18 verschiedene B-ALL-Subtypen aufgrund ihrer Expressionsprofile unterscheiden und klassifizieren kann (Schmidt B et al.,2022). WTS ist am USZ noch nicht etabliert. Die Untersuchung kann am Münchner-Leukämie-Labor (MLL) durchgeführt werden. Hierzu ist eine vorherige Kostengutsprache des Leistungsträgers notwendig. Derzeit kostet die Untersuchung 865 €. Das Auftragsformular kann über den Link bezogen werden.

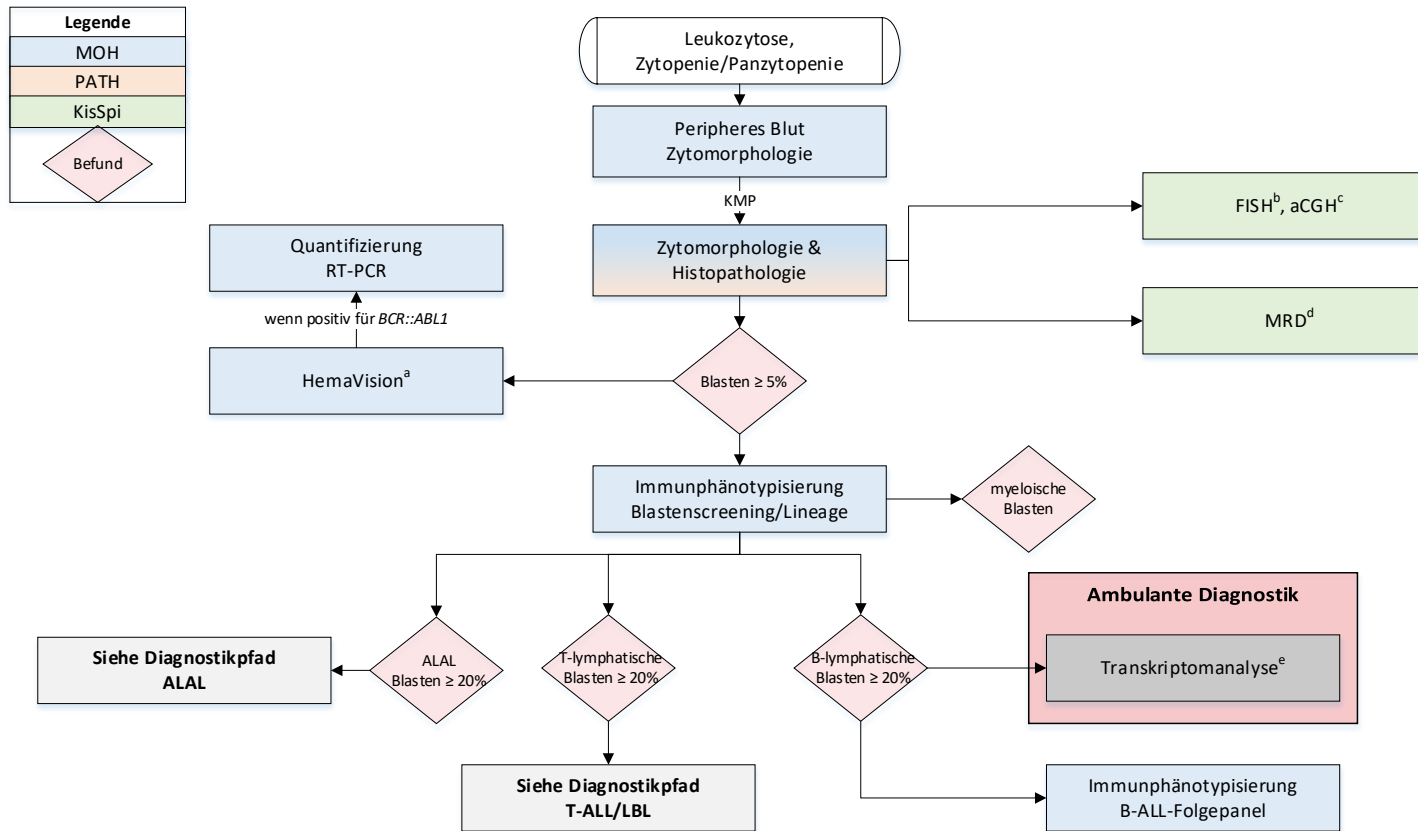
[mll_untersuchungsauftrag.pdf](#)

Die Indikation zur Transkriptomanalyse wird individuell unter Würdigung der bisherigen Untersuchungsbefunde, Komorbiditäten und Alter des Patienten gestellt und sollte im ambulanten Setting erfolgen (im Einzelfall ggfs. Untersuchung im stationären Setting, dann Rücksprache mit Klinikleitung).

Es gilt zu beachten:

Wenn mit dem am USZ/Kinderspital zur Verfügung stehenden Methoden keine Einteilung der B-ALL in Ihre Subtypen erfolgen kann und nicht mittels Transkriptomanalyse nach allen genetischen Anomalien der B-ALL gesucht werden soll, ist eine Subtypenzuordnung der B-ALL nicht möglich. Es sollte daher die Kategorie B-lymphoblastische Leukämie/Lymphom (B-ALL/LBL), NFC (nicht weiter klassifiziert) verwendet werden. Die Diagnose «*B-lymphoblastic leukemia NOS*» kann in diesen Fällen **nicht** gestellt werden.

Diagnostikpfad: B-lymphoblastische(s) Leukämie/Lymphom (B-ALL/LBL)



Abkürzung: KMP: Knochenmarkpunktion, RT-PCR: real-time-PCR, ALAL: Acute leukaemias of ambiguous lineage, FISH: Fluoreszenz-in-Situ-Hybridisierung, aCGH: Array Comparative Genomic Hybridization, MRD: minimal residual disease

a) Multiplex-PCR: Nachweis von Translokationen, Bruchpunkten (*KMT2A::AFF1*, *BCR::ABL1*, *ETV6::RUNX1*, *TCF3::PBX1*). TAT: 3-8 Tage

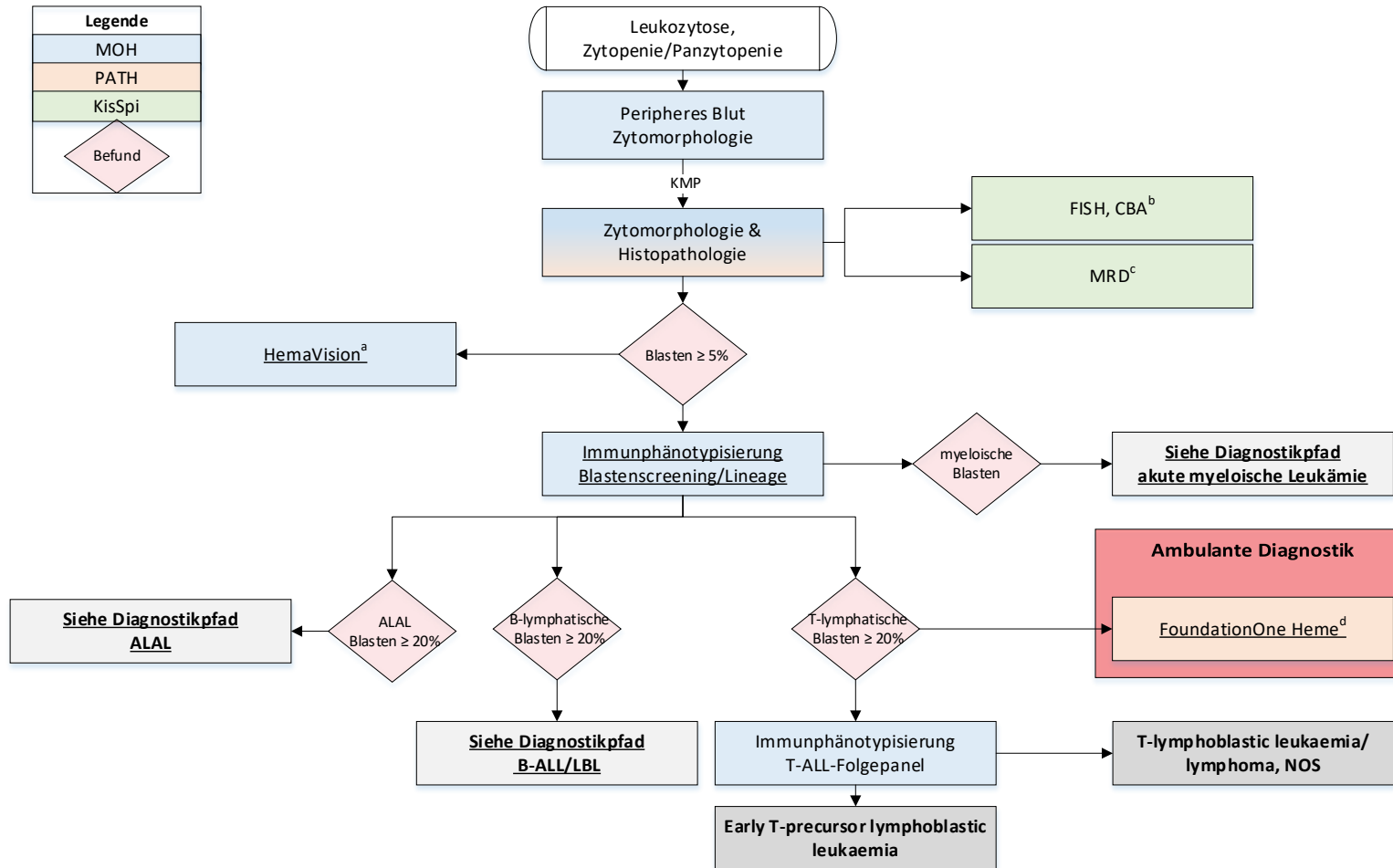
b) FISH: FISH: Nachweis *BCR::ABL1*, *KMT2A* rearrangement und *TCF3* rearrangement

c) B-lymphoblastic leukaemia with high hyperdiploidy, hypodiploidy und iAMP21

d) Nachweis individueller, klonaler Immunglobulin- (IGH, IGK)-Gen-rearrangements

e) obligat wenn *BCR::ABL1* und HemaVision negativ und keine hyper-/hypo-diploide B-ALL vorliegt, Transkriptomanalyse MLL (Deutschland): Detektion von Fusionstranskripten und Expressionsprofilen (u.a. *BCR::ABL1*-like oder auch *ETV6::RUNX1*-like B-ALL), erkennt alle Subtentitäten der B-ALL, ausser Subgruppen mit abweichender Anzahl der Chromosomenzahlen hyper-/hypo-diploid), für Untersuchung i.d. R. vorherige Kostengutsprache des Leistungsträgers notwendig, Kosten: 865 €, bei Erstdiagnose wird RNA im Labor asserviert, wenn Untersuchung gewünscht ist bitte Rücksprache mit dem Labor.

Diagnostikpfad: T-lymphoblastische(s) Leukämie/Lymphom (T-ALL/LBL)



Abkürzung: TAT: turnaround-time, ALAL: Acute leukaemia of ambiguous lineage, aCGH: aCGH: Microarray-based Comparative Genomic Hybridization

a) Multiplex-PCR: Nachweis von Translokationen, Bruchpunkten u.a. *TAL1*, *KMT2A*-rearrangements. TAT: 3-8 Tage

b) obligat: abnormaler Karyotyp in 50-70% aller T-ALL, ggfs. FISH für Rearrangement der T-Zell Rezeptorgene; TAT: ca. 14-21 Tage

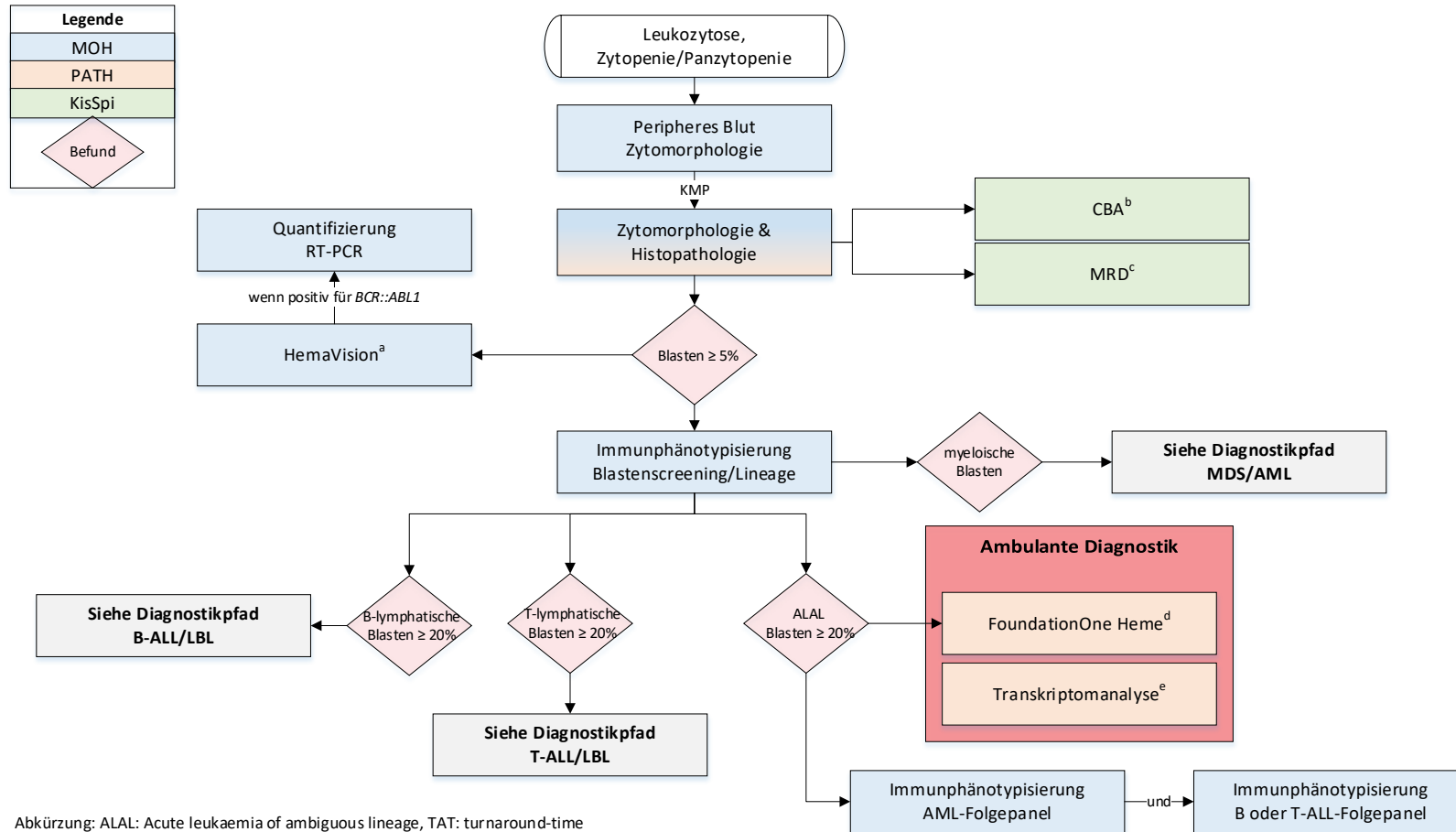
c) Nachweis klonaler Gen-Rearrangements von T-Zell-Rezeptorgenen (TRB, TRG, TRD), #dies gelingt häufig nicht bei der Early T-precursor (ETP)- lymphoblastic leukaemia

d) fakultativ FoundationOne Heme: Untersuchung auf *BCL11B::R*, *LMO2::R*, *MYB::R*, *NUP::ABL1*, *NUP214::R*, *STIL::R*, *TAL::R*, *TLX1::R*, *TLX3::R* (Duncavage et al., 2022, *Blood*), kostenintensive Untersuchung, daher zwingend im ambulanten Setting durchführen lassen, kann aus der Knochenmarkstanze der Erstdiagnose nachgeholt werden, TAT: 14 Tage

Diagnostikpfade lymphatischer Neoplasien

Diagnostikpfad: Acute leukemias of ambiguous lineage (ALAL)

Diagnostikpfade lymphatischer Neoplasien



Abkürzung: ALAL: Acute leukaemia of ambiguous lineage, TAT: turnaround-time

a) Multiplex-PCR: Nachweis von Translokationen, Bruchpunkten (*BCR::ABL1*, z.T.*KMT2A*) TAT: 3-8 Tage

b) obligat, TAT: ca 14Tage

c) Nachweis individueller, klonaler Gen-Rearrangements von Immunglobulin- (IGH, IGK) oder T-Zell-Rezeptorgenen (TRB, TRG, TRD)

d) FoundationOne Heme; Nachweis *KMT2A* rearrangement (alle Partner), *ZNF384* rearrangement, *BCL118* rearrangement, kostenintensive Methode daher nur im ambulanten Setting, TAT: 14 Tage

e) alternativ kann eine Transkriptomanalyse im MLL (Deutschland) erfolgen: Detektion von Fusionstranskripten und Expressionsprofilen erkennt die genetisch-definierten Subentitäten der ALAL, für Untersuchung ist i.d. R. eine vorherige Kostengutsprache des Leistungsträgers notwendig, Kosten: 865 €, Nachweis *KMT2A* rearrangement (alle Partner), *ZNF384* rearrangement, *BCL118* rearrangement. Bei Erstdiagnose wird RNA im Labor asserviert, wenn Untersuchung gewünscht ist bitte Rücksprache mit dem Labor.

Übersicht: reifzellige B-Zelllymphome

| Lymphomentität (WHO 2022) | Molekulargenetik (NGS, Mutationen, Häufigkeit in %) | Zytogenetik (FISH, CBA, aCGH, Häufigkeit in %) |
|--|---|--|
| Chronische lymphatische Leukämie | TP53 ^a (5-10%) ¹ , IGHV ^b (30% unmutiert im frühen Stadium ² 50-70% unmutiert in fortgeschrittenen Stadium ³) | del(11q), +12, del(13q), del(17p), komplexer Karyotyp (≥ 5 Aberrationen) |
| Haarzelleukämie | BRAF p.V600E (>95%), TP53 selten, KLF2 (15%) | del(7q) (20%) |
| Splenisches Marginalzonenlymphom | TP53 (15-20%), KLF2 (20%), NOTCH2 (20-25%) | del(7q) (40%), +3, +18 |
| B-Zell-Lymphom/Leukämie mit prominenten Nukleolen | MAP2K1 (48%), TP53 (33%), NOTCH2 und KLF2 (0%) | del(7q) (20%) |
| Splenisches diffus kleinzelliges B-Zelllymphom der roten Pulpa | CCND3 (25%), BCOR (24%), TP53 selten, NOTCH2 und KLF2 (<2%) | del(7q) (25%) |
| Nodales Marginalzonenlymphom | TP53 (15-20%, KLF2 (20-40%), NOTCH2 (10-25%), PTPRP | +3, +18 |
| Extranodales Marginalzonenlymphom (MALT Lymphom) | TP53 (15-20%, KLF2 (20-40%), NOTCH2 (10-25%) | <i>MALT1, BCL10, FOXP1</i> rearrangements, t(11;18) <i>BIRC3::MALT</i> , +3, +18 |
| Lymphoplasmazytisches Lymphom, M. Waldenström | MYD88 p.L265P (LPL: 60-90%, MW: 93-97%), CXCR4 (30-40%), TP53 <10% | del(6q) |
| Mantellzelllymphom ^c | TP53 14-31% | CCND1 rearrangement, wenn negativ CCND2 und CCND3 rearrangement |
| Follikuläres Lymphom ^d | EZH2 ^e | BCL2 rearrangement |

Übersicht in Teilen übernommen aus de Leval et al., 2022, *Blood*

Literatur: 1) Zenz et al., 2010, *J Clin Oncol*. 2) Condoluci et al., 2020, *Blood*; 3) Damle et al., 1999, *Blood*; Hamblin et al., 1999; *Blood*, Stilgenbauer et al., *Blood*, 2014

a) TP53-Sequenzierung sollte vor jeder Therapielinie durchgeführt werden, sofern mutiertes TP53 nicht bereits nachgewiesen wurde

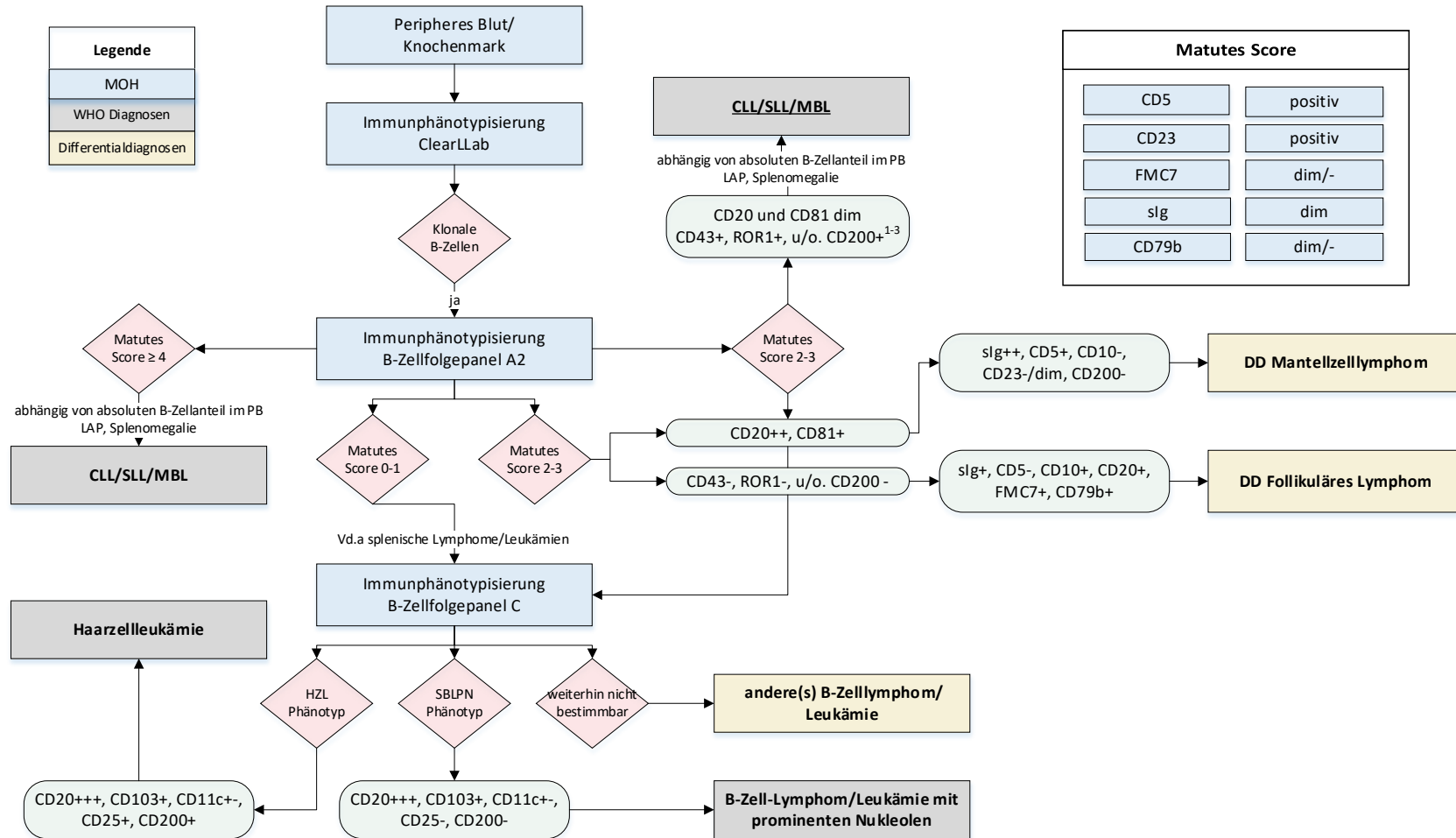
b) IGHV Mutationsstatus bleibt im Krankheitsverlauf stabil und muss nur einmal durchgeführt werden

c,d) die WHO 2022 Klassifikation berücksichtigt verschiedene Subgruppen für eine genaue Übersicht verweisen wir auf die WHO Klassifikation

d) Mutationsprofil innerhalb der Subgruppen unterscheidet sich

e) Inhibition möglich mittels EZH2 Inhibitor Tazemetostat (von FDA zugelassen)

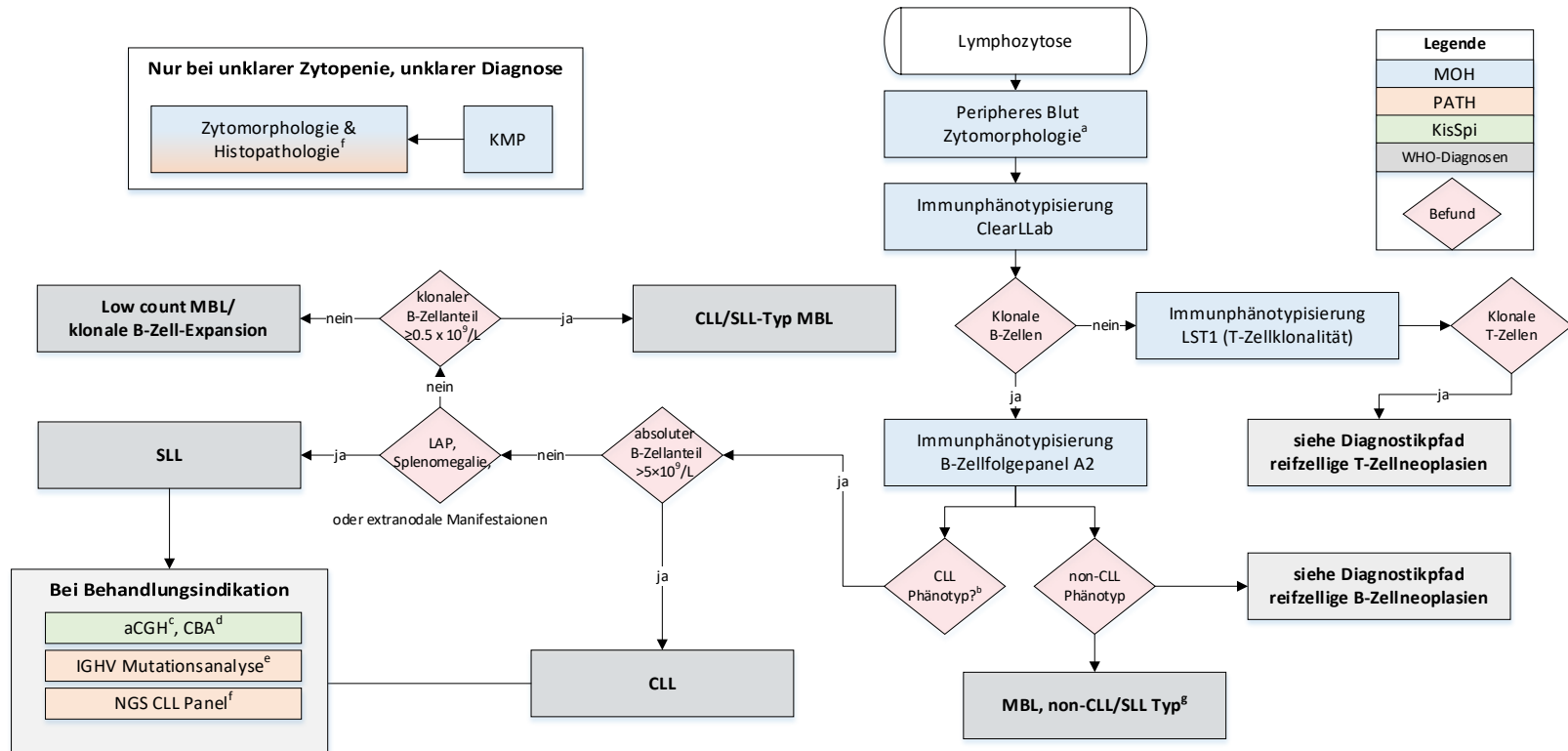
Immunphänotypisierung reifzelliger B-Zelllymphome



Literatur: 1) Uhrmacher et al., 2011, *Leuk Res.*; 2) Rawston et al., 2018, *Cytometry B Clin Cytom.* 3) Afacan-Öztürk et al., 2019, *Clin Lab.*

Abkürzung: Abkürzungen: CLL: chronische lymphatische Leukämie, SLL: Small lymphocytic lymphoma, MBL: Monoklonale B-Zell-Lymphozytose, LAP: Lymphadenopathie. SBLPN: Splenic B-cell lymphoma/leukaemia with prominent nucleoli = B-Zell-Lymphom/Leukämie mit prominenten Nukleolen

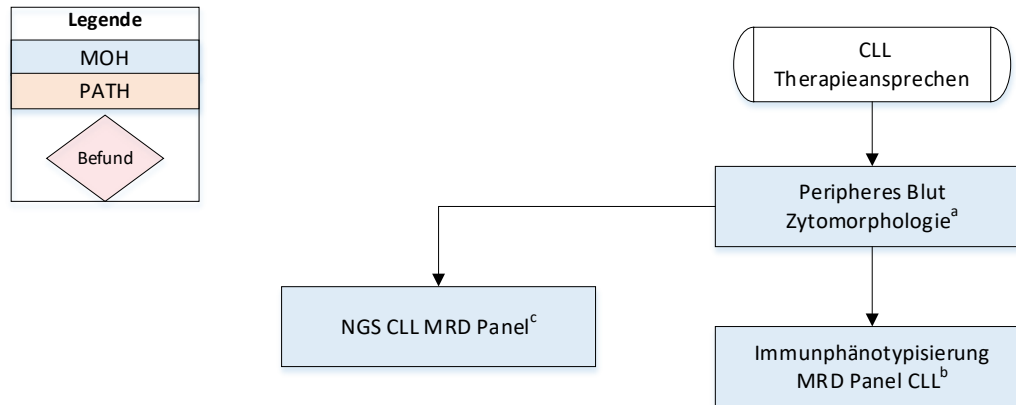
Diagnostikpfad: CLL, SLL, MBL



Abkürzungen: CLL: chronische lymphatische Leukämie, SLL: Small lymphocytic lymphoma, MBL: Monoklonale B-Zell-Lymphozytose, LAP: Lymphadenopathie

- a) Anteil an Prolymphozyten, $\geq 15\%$ Prolymphozyten: CLL in prolymphozytärer Progression, aber Ausschluss blastoides Mantelzelllymphom
- b) CD19+, CD5+, CD23+, CD43+, CD200+, CD20dim+, CD11c variable, CD10-, CD79b-, FMC7-, CD25-, CD103- und Leichtkettenrestriktion (dim) Bei unklaren Fällen indikativ für CLL starke Expression von CD200, ROR1 und fehlende Expression von CD81
- c) prognoserelevant: del(11q), del(13q), del(17p), Trisomie 12
- d) prognoserelevant; definiert als ≥ 3 oder ≥ 5 Aberrationen: unabhängiger prognostischer Einfluss in den meisten Studien, insbesondere bei ≥ 5 Aberrationen bei TP53-Wildtyp-Patienten, ca. 15% nachweisbar mit Chromosomenbänderungsanalyse (keine obligate Diagnostik)
- e) prognoserelevant: keine repetitive Diagnostik nötig, da im Krankheitsverlauf stabil
- f) u.a. TP53: prognose- und therapierelevant, repetitive Testung im Rezidiv, Progression notwendig wenn initial TP53 Wildtyp; TP53 mutation 5-12% bei early-stage CLL, TP53 mutation 8-12% bei Start der Erstlinientherapie, 40%-50% bei rezidivierter & refraktärer CLL
- g) Jede monoklonale non-CLL/SLL-Phänotyp-B-Zell-Expansion ohne Symptome oder Merkmale, die für eine andere reife B-Zell-Neoplasie diagnostisch sind.

Diagnostikpfad: CLL, Verlaufskontrolle peripheres Blut

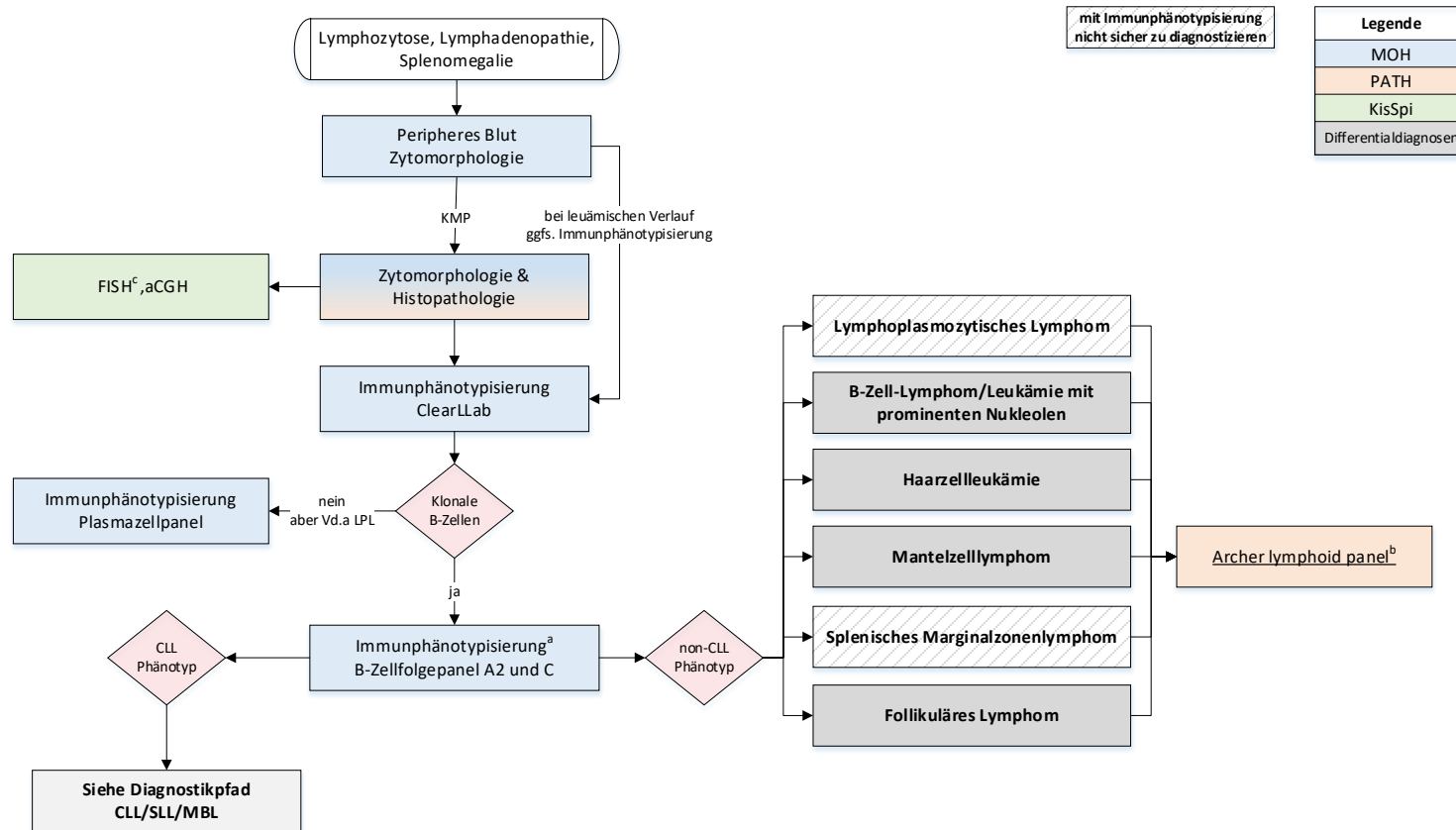


a) Anteil an Prolymphozyten; $\geq 15\%$ Prolymphozyten: CLL in prolymphozytärer Progression,

b) Gemäss European Research Initiative on CLL (ERIC) werden (u.a.) die Marker CD19, CD5, Kappa, Lambda, CD23, CD43, CD200 für die immunphänotypische MRD-Bestimmung bei der CLL empfohlen (Rawstron et al. 2018). ROR1 wurde als verlässlicher MRD Marker bei der CLL beschrieben (De Propriis et al. 2020); Der MRD-Status («nachweisbar» bzw. «nicht nachweisbar») wird in Bezug auf den MRD Cut-Off des Assays angegeben (Wierda et al. 2021):MRD4: $< 10^{-4}$ MRD (bzw. < 1 CLL-Zelle pro 10'000 kernhaltiger Zellen oder 0.01%); MRD5: $< 10^{-5}$ MRD (bzw. < 1 CLL-Zelle pro 100'000 kernhaltiger Zellen oder 0.001%).

c) Bei Verdacht auf Ibrutinib (Mutationen in BTK, PLCG) und/oder Venetoclax (Mutationen BCL2) Resistenz.

Diagnostikpfad: reifzellige B-Zelllymphome (ausser CLL)

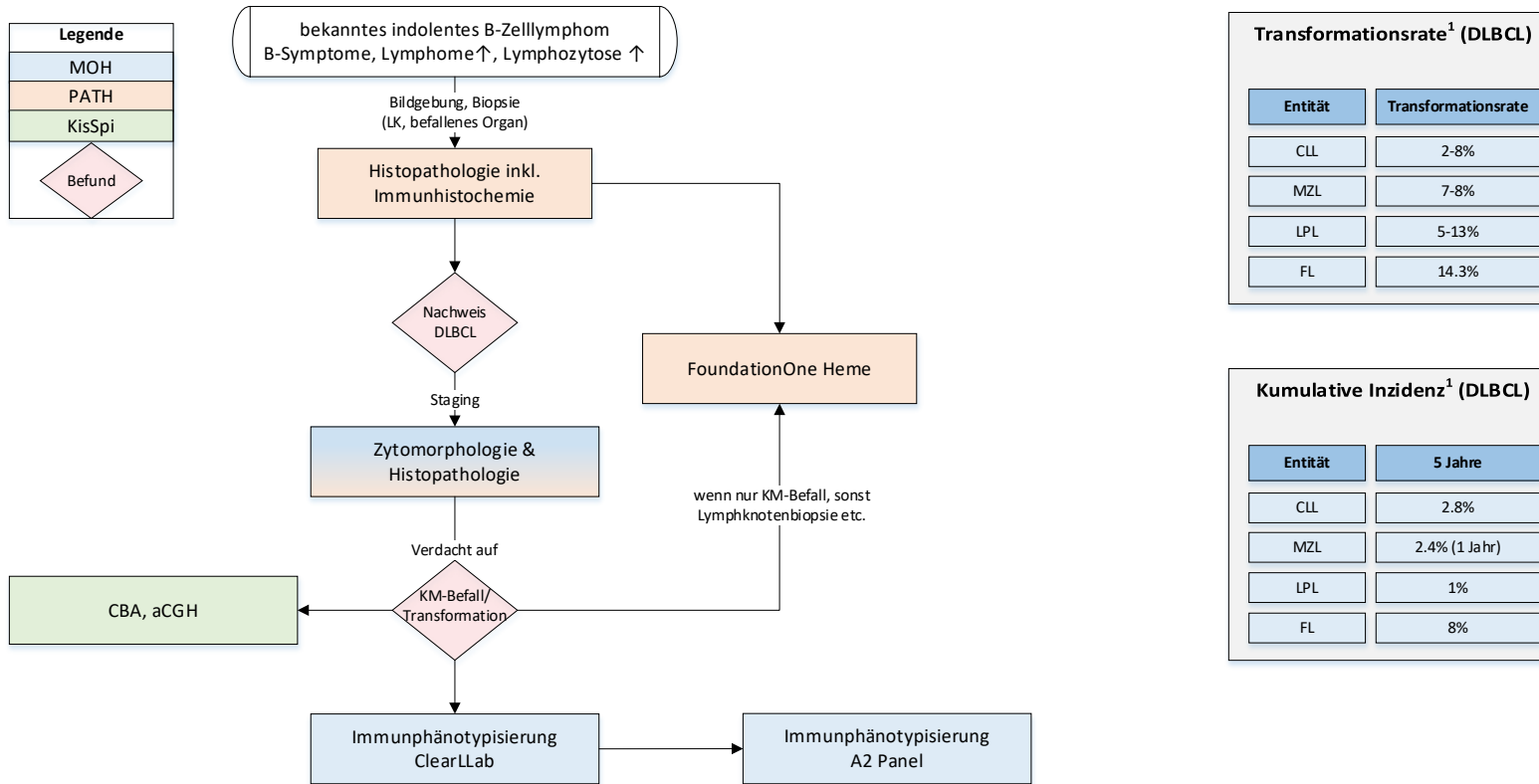


a) B-Zellfolgepanel inklusive CD200, CD43, ROR1 und CD81, CD103, CD25

b) TP53 Status, Unterscheidung und Prognose splenischer B-Zelllymphome und Leukämien (d.h. splenisches Marginalzonenlymphom, splenisches diffus kleinzelliges B-Zelllymphom der roten Pulpa, Haarzelleukämie und splenisches Lymphom/Leukämie mit prominenten Nukleolen (ehemals Haarzelleukämie Variante) und Abgrenzung Marginalzonenlymphom: *NOTCH2*, *KLF2*, *CCND3*, *BRAF p.V600E*, *PTPRD* Mutationen *MYD88*, *CXCR4* bei Lymphoplasmocytischen Lymphom, wenn nur Bestimmung TP53 Status dann NGS CLL Panel

c) Follikuläres Lymphom: *IGH::BCL2*, *BCL2* rearrangement [t(14;18)], Mantelzelllymphom: *IGH::CCND1*, *CCND1* rearrangement [t(11;14)], *IG::CCND2* fusion wenn Mantelzelllymphom negativ für *IGH::CCND1*, Splenisches B-Zelllymphome und Leukämien: del(7q)

Diagnostikpfad: Transformation indolenter B-Zelllymphome

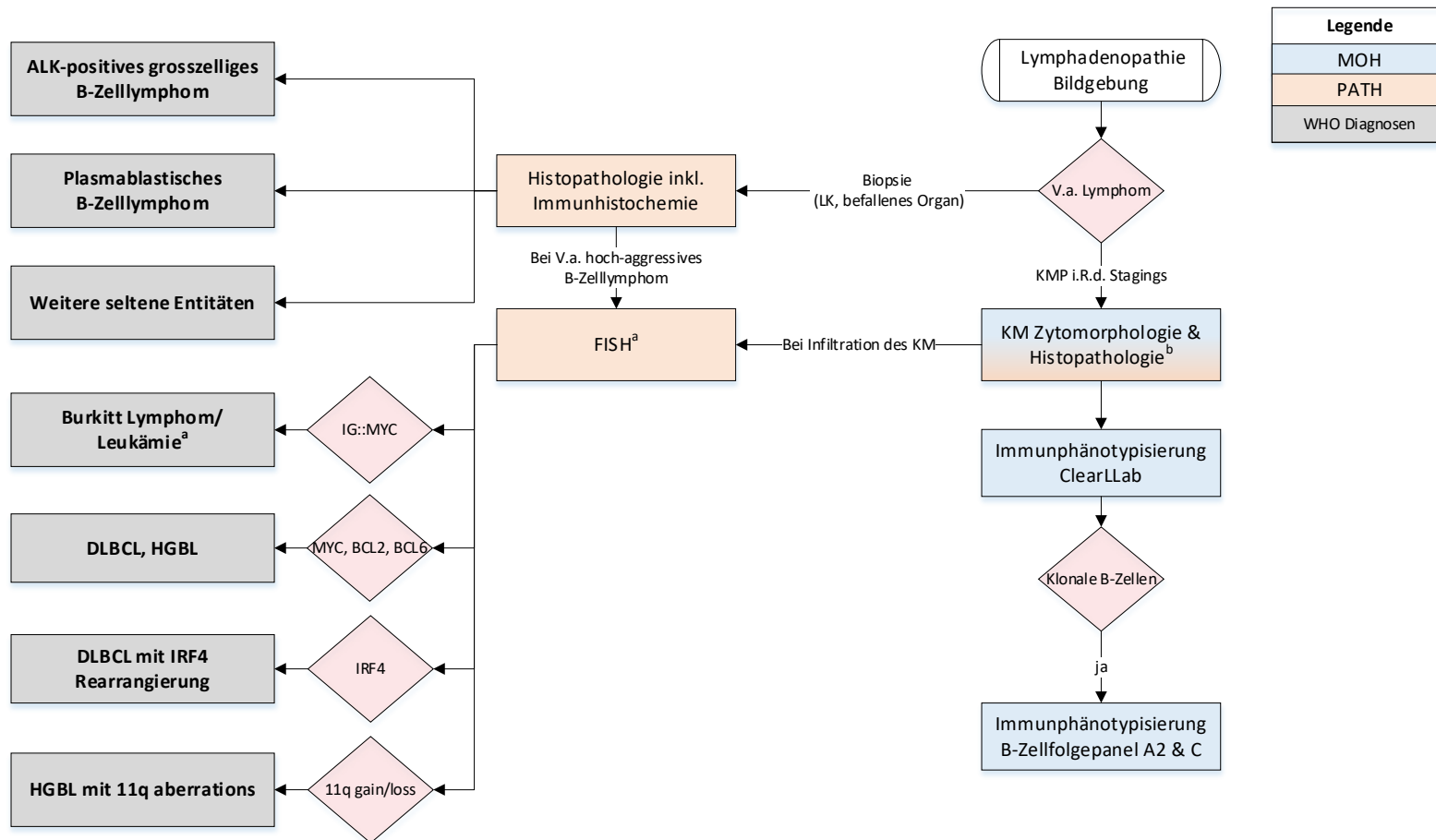


Abkürzungen CLL: Chronische lymphatische Leukämie, MZL: Marginalzonenlymphom, LPL: Lymphoplasmazytisches Lymphom, FL: Follikuläres Lymphom, DLBCL: diffuses großzellige B-Zell-Lymphom, CBA: Chromosomenbänderungsanalyse, aCGH: Array comparative genomic hybridization

1) Transformationsraten und kumulative Inzidenzen übernommen aus WHO 2022 (Tabelle #30595).

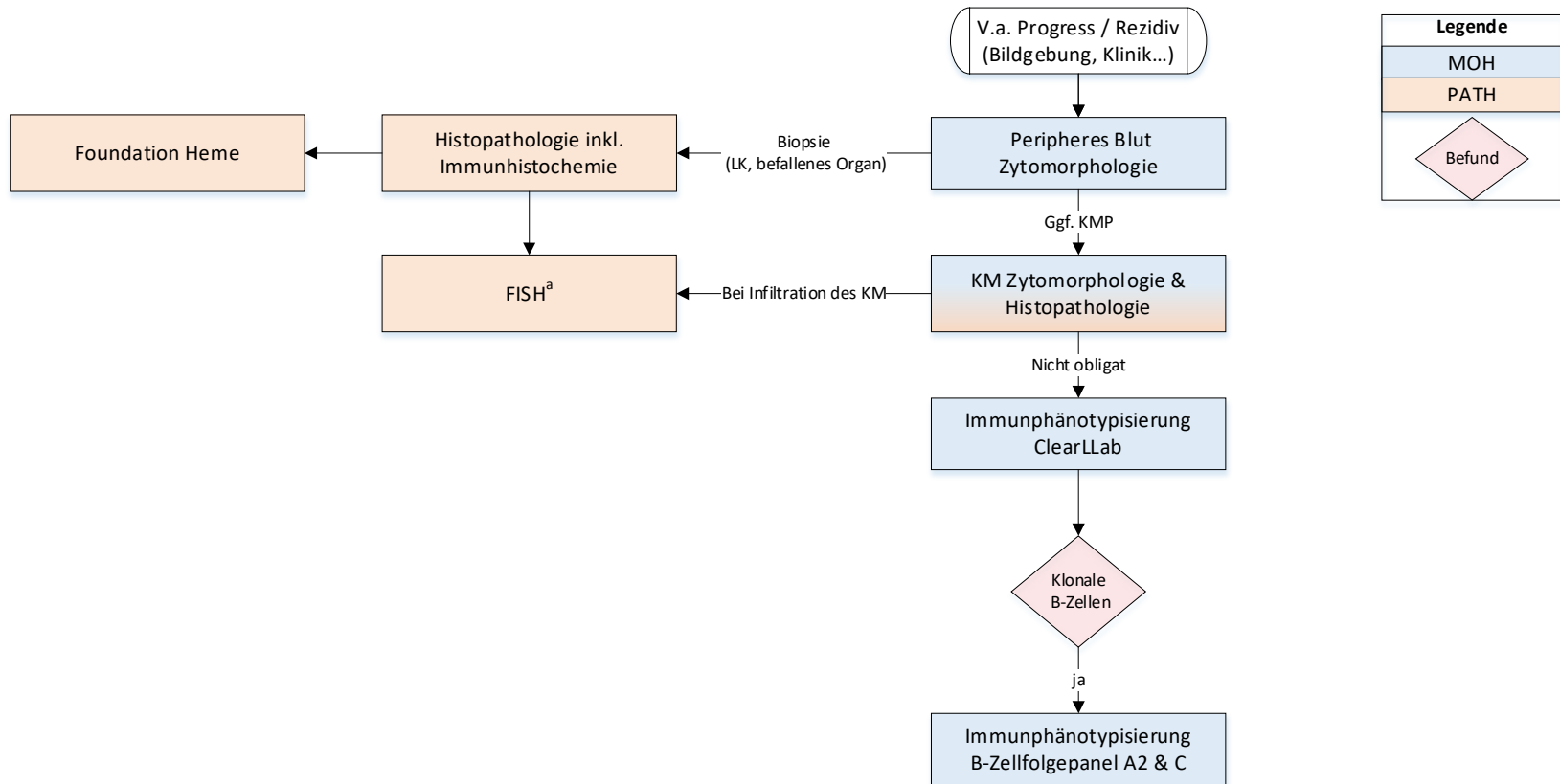
Diagnostikpfade lymphatischer Neoplasien

Diagnostikpfad: Aggressive B-Zelllymphome



Abkürzung: DLBCL: diffuses großzelliges B-Zell-Lymphom, HGBL: high grade B-cell lymphoma
 Überblick über FISH Analysen in der Pathologie: siehe Anhang
 a) IGH::MYC, MYC rearrangement [t(8;14)]
 b) Nachweis gleichzeitiger MYC- und BCL2-Umlagerungen (mit oder ohne BCL6-Umlagerung)

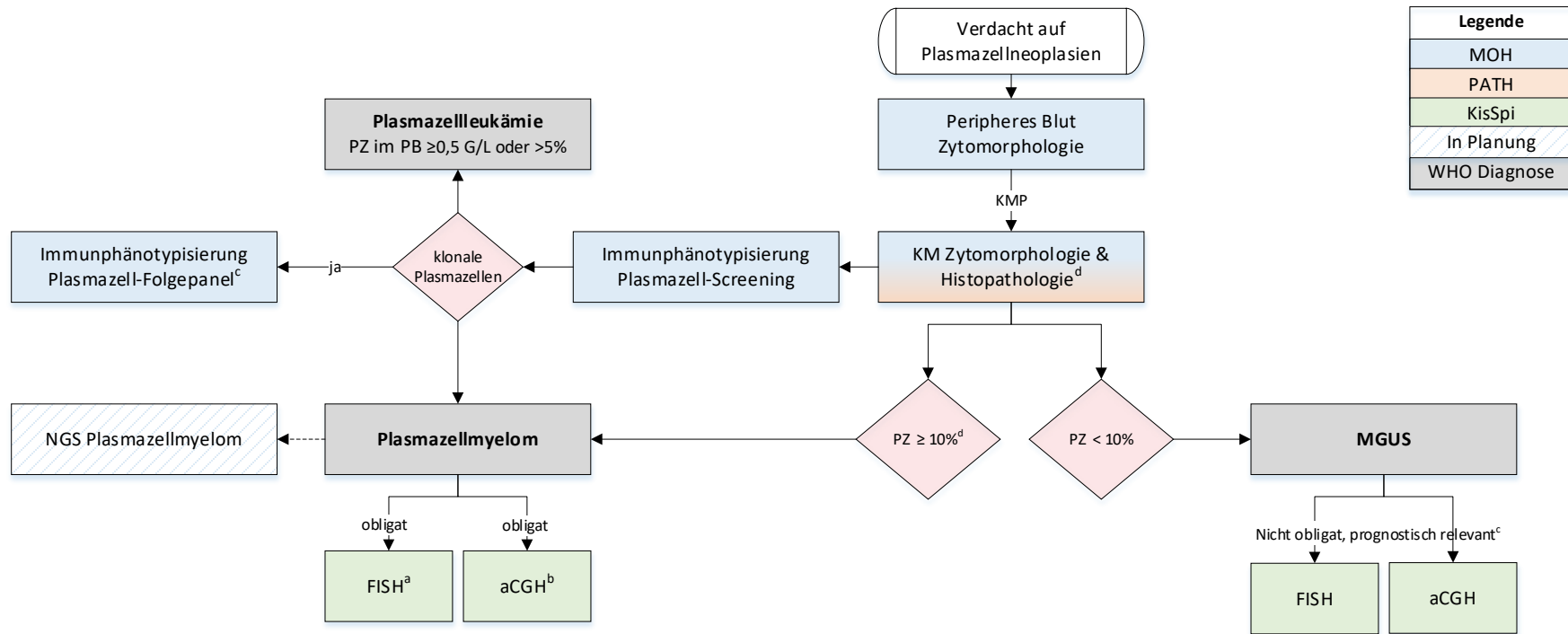
Diagnostikpfad: Aggressive B-Zelllymphome, Rezidiv, Progression



Überblick über FISH Analysen in der Pathologie: siehe Anhang

a) Suche nach vorbekannten Rearrangierungen

Diagnostikpfad: Plasmazellneoplasien



Abkürzung: FISH: Fluorescence in situ hybridization, aCGH: Array comparative genomic hybridization, PZM: Plasmazellmyelom, MGUS: monoklonale Gammopathie unbestimmter Signifikanz, PZ: Plasmazellen

a) FISH nach Anreicherung CD138 positiver Zellen: Translokation der schweren Immunglobulinkette (IGH) auf Chromosom 14q32 (ggf. Suche nach t(4;14)(p16;q32); t(6;14)(p21;q32), t(11;14)(q13;q32); t(14;16)(q32;q23), t(14;20)(q32;q12) wenn IGH rearrangement nachgewiesen wurde), MYC rearrangement; zytogenetisches Hochrisikoprofil nach IMWG: t(4;14)(p16;q32), t(14;16)(q32;q23) und t(14;20)(q32;q12), (Sonneveld et al., 2016)

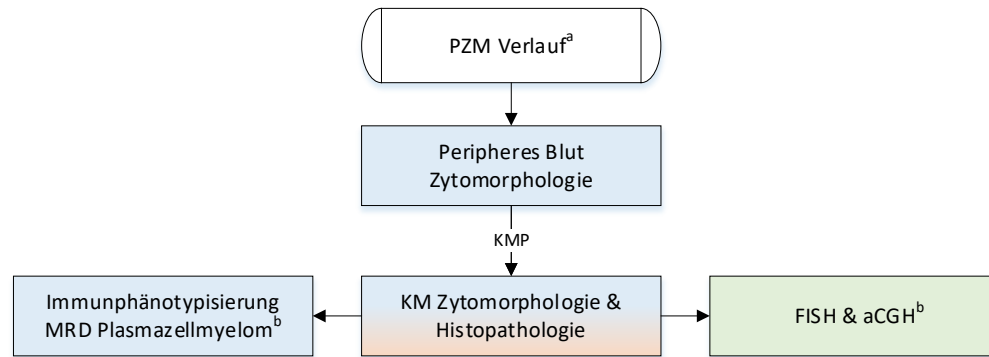
b) ca. 50% aller PZM sind hyperdiploid mit 48 bis 75 Chromosomen und haben Zugewinne von ≥ 3 der ungeradzahigen Chromosomen 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 und 21, die übrigen sind meist nicht-hyperdiploid mit 75 Chromosomen und weisen normalerweise eine Translokation der schweren Immunglobulinkette (IGH) auf Chromosom 14q32 auf; 1q21 gain/amplification, 1p Deletion, 17p13 Deletion; (13q Deletion); zytogenetisches Hochrisikoprofil nach IMWG: del(17p13) und gain/amplification of 1q21, Karyotype del(13) (Sonneveld et al., 2016, Blood)

c) der Oberflächenimmunphänotyp hat beim smouldering und symptomatischen PZM prognostische Relevanz

d) zytomorphologisch kann der tatsächliche Plasmazellanteil unterschätzt werden. Bei Diskrepanzen im Plasmazellanteil zwischen Biopsat und Aspirat, sollte nach IMWG-Konsens der höhere der beiden Werte herangezogen werden (Rajkumar et al., 2014)

Diagnostikpfad: Plasmazellneoplasien, Verlauf, MRD

| Legende |
|---------|
| MOH |
| PATH |
| KisSpi |



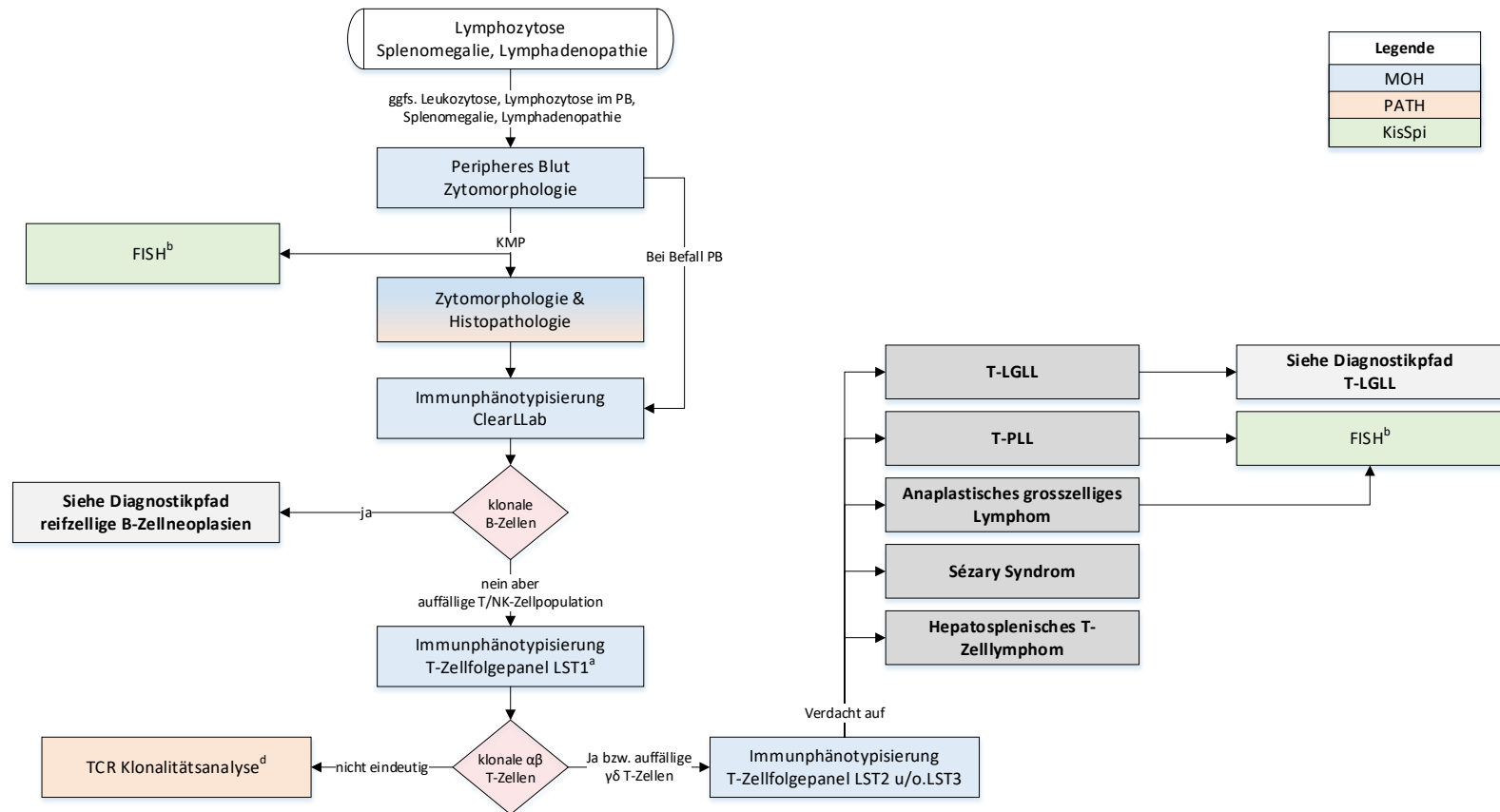
Abkürzung: FISH: Fluorescence in situ hybridization, aCGH: Array comparative genomic hybridization, PZM: Plasmazellmyelom, MRD: minimal/measurable residual disease

a) Indikation: d100 nach HD-Chemotherapie

b) nicht obligat, Sensitivität FISH 1%, aCGH 10%

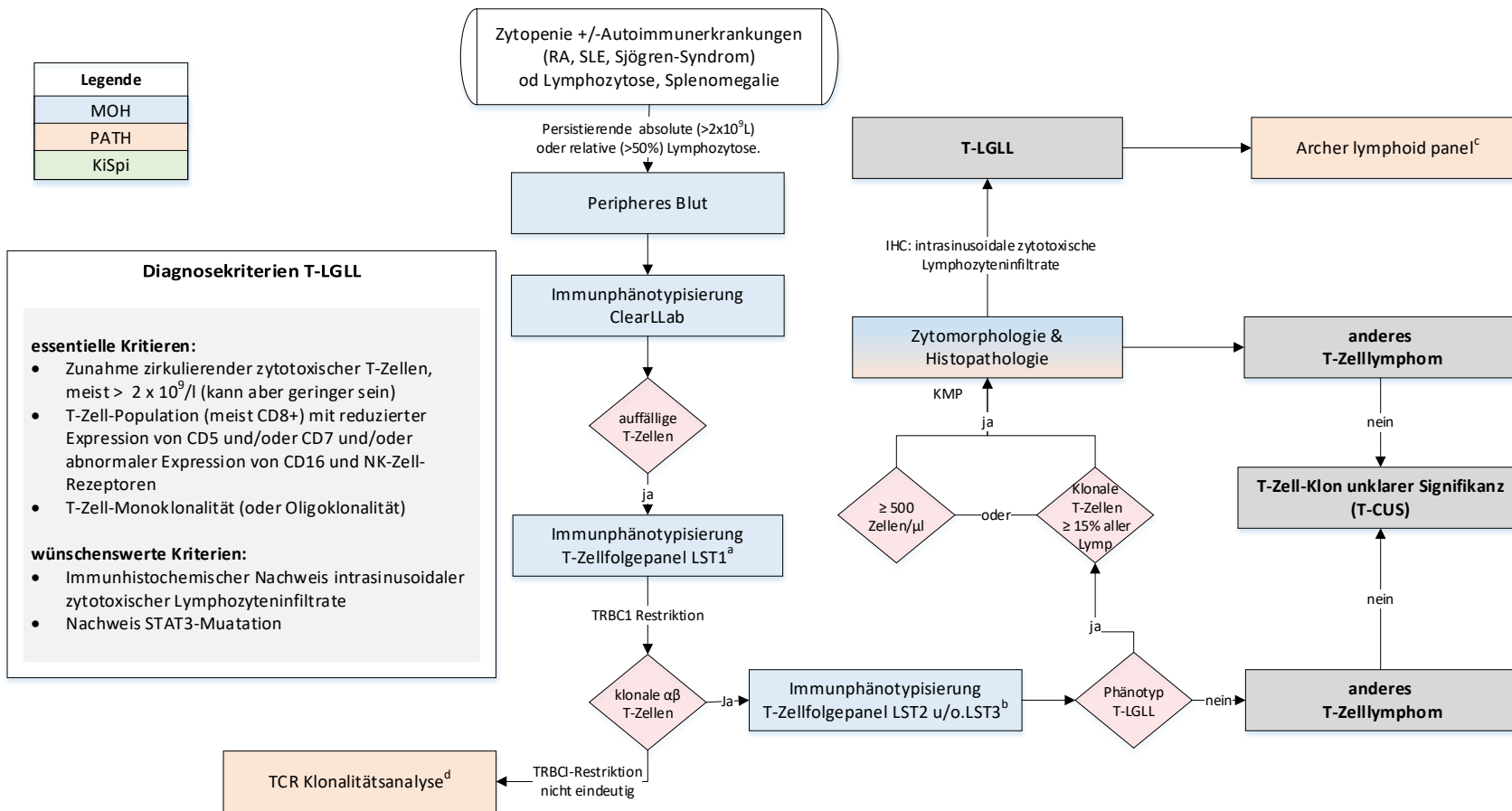
b) wenn geeignetes MRD-Antigenprofil (siehe Befund Erstdiagnose), erstes Aspirat notwendig (aufgrund Hämodilution vermindert sich der Plasmazellanteil beim Aspirieren, je mehr Material abgenommen wird), Test Sensitivität MRD5: $< 10^{-5}$ (bzw. < 1 PZM-Zelle pro 100'000 kernhaltigen Zellen bzw. 0.001%)

Diagnostikpfad: reifzellige T/NK-Zellneoplasien



a) Nachweis Z-Zell-Klonalität im LST1: Restriktion einer T-Zell-Rezeptorkette bzw. TRBC1-Expression ausserhalb des Bereichs von 15-85%
 b) T-PLL: FISH TCL1A oder MCTP1, Nachweis: inv(14)(q11q32), t(14;14)(q11;q32), t(X;14)(q28;q11), Anaplastisches grosszelliges Lymphom: ALK rearrangement
 c) Archer lymphoid panel (bei Erstdiagnose nicht obligat): T-LGLL Nachweis STAT3-Mutation
 d) bei uneindeutigen Befunden in der Klonalitätsanalyse obligat

Diagnostikpfad: T-LGLL



Abkürzungen: T-LGLL: T-large granular lymphocytic leukaemia, KMP: Knochenmarkpunktion, RA: Rheumatoide Arthritis, SLE: systemischer Lupus Erythematodes, ICH: Immunhistochemie

a) Nachweis T-Zell-Klonalität mittels TRBC1-Expression (Horna et al., 2021, *Am J Clin Pathol*)

b) Die meisten sind T-LGLL sind CD8+ TCR αβ Zellen mit Effektor-Memory-Phänotyp (CD3+/CD8+/CD57+/CD45RA+/CCR7L-). Eine Minderheit exprimiert CD4 entweder alleine oder in Verbindung mit CD8dim(CD4+ T-LGLL. Weniger als 10 % der T-LGLL tragen den TCR γδ, diese Fälle exprimieren CD57 und CD16 vollständig, exprimieren teilweise CD8 (Bourgault-Roux et al., 2008, *Leuk Res*.)

c) Archer lymphoid panel: Nachweis STAT3, STAT5b (Jerez et al., 2012, *Blood*, Rajala et al., 2013, *Blood*)

d) bei uneindeutigen Befunden in der Klonalitätsanalyse obligat

Literaturverzeichnis

Afacan-Öztürk HB, Falay M, Albayrak M, et al. CD81 Expression in the Differential Diagnosis of Chronic Lymphocytic Leukemia. *Clin Lab*. 2019;65(3):10.7754/Clin.Lab.2018.180802.

doi:10.7754/Clin.Lab.2018.180802 Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia*. 2022;36(7):1720-1748. Doi:10.1038/s41375-022-01620-2

Allen CE, Merad M, McClain KL. Langerhans-Cell Histiocytosis. *N Engl J Med*. 2018;379(9):856-868. Doi:10.1056/NEJMra1607548

Beck DB, Ferrada MA, Sikora KA, et al. Somatic Mutations in UBA1 and Severe Adult-Onset Autoinflammatory Disease. *N Engl J Med*. 2020;383(27):2628-2638. Doi:10.1056/NEJMoa2026834

Bernard E, Nannya Y, Hasserjian RP, et al. Implications of TP53 allelic state for genome stability, clinical presentation and outcomes in myelodysplastic syndromes [published correction appears in *Nat Med*. 2021 Mar;27(3):562] [published correction appears in *Nat Med*. 2021 May;27(5):927]. *Nat Med*. 2020;26(10):1549-1556. Doi:10.1038/s41591-020-1008-z

Bourgault-Rouxel AS, Loughran TP Jr, Zambello R, et al. Clinical spectrum of gammadelta+ T cell LGL leukemia: analysis of 20 cases. *Leuk Res*. 2008;32(1):45-48. Doi:10.1016/j.leukres.2007.04.011

Condoluci A, Terzi di Bergamo L, Langerbeins P, et al. International prognostic score for asymptomatic early-stage chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2020 ;135(21) :1859-1869. Doi :10.1182/blood.2019003453

Damle RN, Wasil T, Fais F, et al. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1999 ;94(6) :1840-1847

de Leval L, Alizadeh AA, Bergsagel PL, et al. Genomic profiling for clinical decision making in lymphoid neoplasms. *Blood*. 2022;140(21):2193-2227. Doi:10.1182/blood.2022015854

Dillon LW, Higgins J, Nasif H, et al. Quantification of measurable residual disease using duplex sequencing in adults with acute myeloid leukemia. Preprint. medRxiv. 2023;2023.03.26.23287367. Published 2023 Mar 27. Doi:10.1101/2023.03.26.23287367

DiNardo CD, Daver N, Jain N, et al. Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms, unclassifiable (MDS/MPN, U): natural history and clinical outcome by treatment strategy. *Leukemia*. 2014;28(4):958-961. Doi:10.1038/leu.2014.8

Döhner H, Wei AH, Appelbaum FR, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. *Blood*. 2022;140(12):1345-1377. Doi:10.1182/blood.2022016867

Duncavage EJ, Bagg A, Hasserjian RP, et al. Genomic profiling for clinical decision making in myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2022;140(21):2228-2247. Doi:10.1182/blood.2022015853

El Rassi F, Bergsagel JD, Arellano M, et al. Predicting early blast transformation in chronic-phase chronic myeloid leukemia: is immunophenotyping the missing link?. *Cancer*. 2015;121(6):872-875. Doi:10.1002/cncr.29142

Elena C, Galli A, Such E, et al. Integrating clinical features and genetic lesions in the risk assessment of patients with chronic myelomonocytic leukemia. *Blood*. 2016;128(10):1408-1417. Doi:10.1182/blood-2016-05-714030

Fontana D, Mauri M, Renso R, et al. ETNK1 mutations induce a mutator phenotype that can be reverted with phosphoethanolamine. *Nat Commun*. 2020;11(1):5938. Published 2020 Nov 23. Doi:10.1038/s41467-020-19721-w

Gerds AT, Gotlib J, Bose P, et al. Myeloid/Lymphoid Neoplasms with Eosinophilia and TK Fusion Genes, Version 3.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2020;18(9):1248-1269. Doi:10.6004/jnccn.2020.0042

Gotlib J, Maxson JE, George TI, Tyner JW. The new genetics of chronic neutrophilic leukemia and atypical CML: implications for diagnosis and treatment. *Blood*. 2013;122(10):1707-1711. Doi:10.1182/blood-2013-05-500959

Grob T, Sanders MA, Vonk CM, et al. Prognostic Value of FLT3-Internal Tandem Duplication Residual Disease in Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol*. 2023;41(4):756-765. Doi:10.1200/JCO.22.00715

Gu Z, Churchman ML, Roberts KG, et al. PAX5-driven subtypes of B-progenitor acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet*. 2019;51(2):296-307. Doi:10.1038/s41588-018-0315-5

Hamblin TJ, Davis Z, Gardiner A, Oscier DG, Stevenson FK. Unmutated Ig V(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1999;94(6):1848-1854.

Héritier S, Emile JF, Barkaoui MA, et al. BRAF Mutation Correlates With High-Risk Langerhans Cell Histiocytosis and Increased Resistance to First-Line Therapy. *J Clin Oncol*. 2016;34(25):3023-3030. Doi:10.1200/JCO.2015.65.9508

Heuser M, Freeman SD, Ossenkoppele GJ, et al. 2021 Update on MRD in acute myeloid leukemia: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood*. 2021;138(26):2753-2767. Doi:10.1182/blood.2021013626

Hochhaus A, Baccarani M, Silver RT, et al. European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2020;34(4):966-984. Doi:10.1038/s41375-020-0776-2

Horna P, Olteanu H, Jevremovic D, et al. Single-Antibody Evaluation of T-Cell Receptor β Constant Chain Monotypia by Flow Cytometry Facilitates the Diagnosis of T-Cell Large Granular Lymphocytic Leukemia. *Am J Clin Pathol*. 2021;156(1):139-148. Doi:10.1093/ajcp/aaqaa214

Horny HP, Ruck M, Wehrmann M, Kaiserling E. Blood findings in generalized mastocytosis: evidence of frequent simultaneous occurrence of myeloproliferative disorders. *Br J Haematol*. 1990;76(2):186-193. Doi:10.1111/j.1365-2141.1990.tb07870.x

Horny HP, Sotlar K, Sperr WR, Valent P. Systemic mastocytosis with associated clonal haematological non-mast cell lineage diseases: a histopathological challenge. *J Clin Pathol*. 2004 ;57(6) :604-608. Doi :10.1136/jcp.2003.014860

Hourigan CS, Dillon LW, Gui G, et al. Impact of Conditioning Intensity of Allogeneic Transplantation for Acute Myeloid Leukemia With Genomic Evidence of Residual Disease. *J Clin Oncol*. 2020 ;38(12) :1273-1283. Doi :10.1200/JCO.19.03011

Jeha S, Choi J, Roberts KG, et al. Clinical significance of novel subtypes of acute lymphoblastic leukemia in the context of minimal residual disease-directed therapy. *Blood Cancer Discov*. 2021;2(4):326-337. Doi:10.1158/2643-3230.BCD-20-0229

Jerez A, Clemente MJ, Makishima H, et al. STAT3 mutations unify the pathogenesis of chronic lymphoproliferative disorders of NK cells and T-cell large granular lymphocyte leukemia. *Blood*. 2012;120(15):3048-3057. Doi:10.1182/blood-2012-06-435297

Kim K, Ong F, Sasaki K. Current Understanding of DDX41 Mutations in Myeloid Neoplasms. *Cancers (Basel)*. 2023;15(2):344. Published 2023 Jan 5. Doi:10.3390/cancers15020344

Khoury JD, Solary E, Abla O, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia*. 2022;36(7):1703-1719. Doi:10.1038/s41375-022-01613-1

Kofides A, Hunter ZR, Xu L, et al. Diagnostic Next-generation Sequencing Frequently Fails to Detect MYD88L265P in Waldenström Macroglobulinemia. *Hemasphere*. 2021;5(8):e624. Published 2021 Jul 19. Doi:10.1097/HS9.0000000000000624

Malcovati L, Stevenson K, Papaemmanuil E, et al. SF3B1-mutant MDS as a distinct disease subtype: a proposal from the International Working Group for the Prognosis of MDS [published correction appears in *Blood*. 2021 May 27;137(21):3003]. *Blood*. 2020;136(2):157-170. Doi:10.1182/blood.2020004850

Mangaonkar AA, Lasho TL, Ketterling RP, et al. Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms with ring sideroblasts and thrombocytosis (MDS/MPN-RS-T): Mayo-Moffitt collaborative study of 158 patients. *Blood Cancer J*. 2022;12(2):26. Published 2022 Feb 1. Doi:10.1038/s41408-022-00622-8

Merlevede J, Droin N, Qin T, et al. Mutation allele burden remains unchanged in chronic myelomonocytic leukaemia responding to hypomethylating agents. *Nat Commun*. 2016;7:10767. Published 2016 Feb 24. Doi:10.1038/ncomms10767

Montalban-Bravo G, Kanagal-Shamanna R, Benton CB, et al. Genomic context and TP53 allele frequency define clinical outcomes in TP53-mutated myelodysplastic syndromes. *Blood Adv*. 2020;4(3):482-495. Doi:10.1182/bloodadvances.2019001101

Neukirchen J, Schoonen WM, Strupp C, et al. Incidence and prevalence of myelodysplastic syndromes: data from the Düsseldorf MDS-registry. *Leuk Res*. 2011 ;35(12) :1591-1596. Doi :10.1016/j.leukres.2011.06.001

Onecha E, Rapado I, Luz Morales M, et al. Monitoring of clonal evolution of acute myeloid leukemia identifies the leukemia subtype, clinical outcome and potential new drug targets for post-remission strategies or relapse. *Haematologica*. 2021;106(9):2325-2333. Published 2021 Sep 1. Doi:10.3324/haematol.2020.254623

Paietta E, Roberts KG, Wang V, et al. Molecular classification improves risk assessment in adult BCR-ABL1-negative B-ALL. *Blood*. 2021;138(11):948-958. Doi:10.1182/blood.2020010144

Patkar N, Kakirde C, Shaikh AF, et al. Clinical impact of panel-based error-corrected next generation sequencing versus flow cytometry to detect measurable residual disease (MRD) in acute myeloid leukemia (AML). *Leukemia*. 2021;35(5):1392-1404. Doi:10.1038/s41375-021-01131-6

Patnaik MM, Lasho TL, Finke CM, et al. Spliceosome mutations involving SRSF2, SF3B1, and U2AF35 in chronic myelomonocytic leukemia: prevalence, clinical correlates, and prognostic relevance. *Am J Hematol*. 2013;88(3):201-206. Doi:10.1002/ajh.2337

Piazza R, Valletta S, Winkelmann N, et al. Recurrent SETBP1 mutations in atypical chronic myeloid leukemia. *Nat Genet*. 2013;45(1):18-24. Doi:10.1038/ng.2495

Rajala HL, Eldfors S, Kuusanmäki H, et al. Discovery of somatic STAT5b mutations in large granular lymphocytic leukemia. *Blood*. 2013;121(22):4541-4550. Doi:10.1182/blood-2012-12-474577

Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol*. 2014;15(12):e538-e548. Doi:10.1016/S1470-2045(14)70442-5

Rawstron AC, Kreuzer KA, Soosapilla A, et al. Reproducible diagnosis of chronic lymphocytic leukemia by flow cytometry: An European Research Initiative on CLL (ERIC) & European Society for Clinical Cell Analysis (ESCCA) Harmonisation project. *Cytometry B Clin Cytom*. 2018;94(1):121-128. Doi:10.1002/cyto.b.21595

Sallman DA, Komrokji R, Vaupel C, et al. Impact of TP53 mutation variant allele frequency on phenotype and outcomes in myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2016;30(3):666-673. Doi:10.1038/leu.2015.304

- Schmidt B, Brown LM, Ryland GL, et al. ALLSorts: an RNA-Seq subtype classifier for B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood Adv.* 2022;6(14):4093-4097. Doi:10.1182/bloodadvances.2021005894
- Shanmugam V, Parnes A, Kalyanaraman R, Morgan EA, Kim AS. Clinical utility of targeted next-generation sequencing-based screening of peripheral blood in the evaluation of cytopenias. *Blood.* 2019;134(24):2222-2225. Doi:10.1182/blood.2019001610
- Sonneveld P, Avet-Loiseau H, Lonial S, et al. Treatment of multiple myeloma with high-risk cytogenetics: a consensus of the International Myeloma Working Group. *Blood.* 2016;127(24):2955-2962. Doi:10.1182/blood-2016-01-631200
- Sperr WR, Horny HP, Valent P. Spectrum of associated clonal hematologic non-mast cell lineage disorders occurring in patients with systemic mastocytosis. *Int Arch Allergy Immunol.* 2002;127(2):140-142. Doi:10.1159/000048186
- Stilgenbauer S, Schnaiter A, Paschka P, et al. Gene mutations and treatment outcome in chronic lymphocytic leukemia: results from the CLL8 trial. *Blood.* 2014;123(21):3247-3254. Doi:10.1182/blood-2014-01-546150
- Such E, Cervera J, Costa D, et al. Cytogenetic risk stratification in chronic myelomonocytic leukemia. *Haematologica.* 2011;96(3):375-383. Doi:10.3324/haematol.2010.030957
- Such E, Germing U, Malcovati L, et al. Development and validation of a prognostic scoring system for patients with chronic myelomonocytic leukemia. *Blood.* 2013;121(15):3005-3015. Doi:10.1182/blood-2012-08-452938
- Valent P, Akin C, Hartmann K, et al. Updated Diagnostic Criteria and Classification of Mast Cell Disorders: A Consensus Proposal. *Hemasphere.* 2021;5(11):e646. Published 2021 Oct 13. Doi:10.1097/HS9.0000000000000646
- Uhrmacher S, Schmidt C, Erdfelder F, et al. Use of the receptor tyrosine kinase-like orphan receptor 1 (ROR1) as a diagnostic tool in chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Leuk Res.* 2011;35(10):1360-1366. Doi:10.1016/j.leukres.2011.04.006
- Valent P, Klion AD, Horny HP, et al. Contemporary consensus proposal on criteria and classification of eosinophilic disorders and related syndromes. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;130(3):607-612.e9. doi:10.1016/j.jaci.2012.02.019
- Vijayasekharan K, Chatterjee G, Ramanathan S, et al. Sudden blast phase in pediatric chronic myeloid leukemia-chronic phase with abnormal lymphoid blasts detected by flow cytometry at diagnosis: Can it be considered a warning sign?. *Cytometry B Clin Cytom.* 2021;100(3):345-351. Doi:10.1002/cyto.b.21958
- Wang SA, Hasserjian RP, Fox PS, et al. Atypical chronic myeloid leukemia is clinically distinct from unclassifiable myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Blood.* 2014;123(17):2645-2651. Doi:10.1182/blood-2014-02-553800
- Wassie EA, Itzykson R, Lasho TL, et al. Molecular and prognostic correlates of cytogenetic abnormalities in chronic myelomonocytic leukemia: a Mayo Clinic-French Consortium Study. *Am J Hematol.* 2014;89(12):1111-1115. Doi:10.1002/ajh.23846
- Woll PS, Kjällquist U, Chowdhury O, et al. Myelodysplastic syndromes are propagated by rare and distinct human cancer stem cells in vivo [published correction appears in *Cancer Cell.* 2014 Jun 16;25(6):861] [published correction appears in *Cancer Cell.* 2015 Apr 13;27(4):603-5]. *Cancer Cell.* 2014;25(6):794-808. Doi:10.1016/j.ccr.2014.03.036
- Xiao W, Chan A, Waarts MR, et al. Plasmacytoid dendritic cell expansion defines a distinct subset of RUNX1-mutated acute myeloid leukemia. *Blood.* 2021;137(10):1377-1391. Doi:10.1182/blood.2020007897
- Zenz T, Eichhorst B, Busch R, et al. TP53 mutation and survival in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol.* 2010;28(29):4473-4479. Doi:10.1200/JCO.2009.27.8762

Zoi K, Cross NC. Molecular pathogenesis of atypical CML, CMML and MDS/MPN-unclassifiable. *Int J Hematol.* 2015;101(3):229-242. Doi:10.1007/s12185-014-1670-3

Anhang

Genlisten, Anforderungsscheine und SOPs

| | |
|---|---|
| Genliste Archer myeloid panel | Archer-Myeloid-Panel_Genelist.pdf (usz.ch) |
| Genliste Archer lymphoid panel | Archer-USZ-Lymphoid-Panel_Genelist.pdf |
| Genliste FoundationOne Heme | F1H_Technical_Information_190903.pdf (foundationmedicine.de) |
| Anforderungsschein Transkriptomanalyse MLL | mll_untersuchungsauftrag.pdf |
| Anforderungsschein Zytogenetik | kd00272666.pdf (uzh.ch) |
| Anforderungsschein <i>BCR::ABL</i> Mutationsanalyse | Auftragsformular_CGL_Hämatologie_Neoplastische_Erkrankungen_15.02.2023.pdf (insel.ch) |
| SOPs Hämatologische Diagnostik | Hämatologie Diagnostik – Arbeitsgebiet – Home (usz.ch) |
| FISH Analysen Molekularpathologie | FISH Untersuchungen_nienr_E (usz.ch) |
| NGS/Sequenzierung Molekularpathologie | Molekularpathologie_ruesj_C_nir_S (usz.ch) |