

CAT
Critically Appraised Topic

Titel: AML met recurrente translocaties in UZ Leuven: correlatie tussen de morfologie en cytogenetica

Author: Dr. Van den Poel Bea
Supervisor: Dr. C. Brusselmans, Prof. Dr. N. Boeckx
Date: 12-04-2015

CLINICAL BOTTOM LINE

Acute myeloïde leukemie (AML) wordt door de Wereld Gezondheidsorganisatie (WHO) ingedeeld in vier grote groepen waaronder 'AML met recurrente genetische afwijkingen'. Deze groep omvat 7 structurele genetische afwijkingen (waaronder translocaties en inversies) en 2 genmutaties, dewelke voorlopige entiteiten zijn. Deze genetische afwijkingen gaan vaak gepaard met specifieke morfologische kenmerken en het vinden van zulke afwijkingen kan aanleiding geven tot specifiekere therapeutische opties en meer informatie geven betreffende de prognose. Deze CAT bestudeert de cytologie van bloed en beenmerg van 43 patiënten met een AML met een recurrente genetische afwijking die te UZ Leuven in de periode van 2011-2014 werden opgevolgd. Naast de morfologie worden eveneens een aantal epidemiologische en hematologische parameters bekeken en dit alles wordt vergeleken met de bevindingen van de WHO en de beschrijvingen in de literatuur. In een tweede luik wordt kort nagegaan of bepaalde genetische afwijkingen al kunnen worden gesuggereerd louter o.b.v. de morfologie.

De studiepopulatie is eerder klein en er werd geen statistiek op dit onderzoek toegepast waardoor de bevindingen slechts beschrijvend zijn. De relatieve frequentie van de verschillende genetische afwijkingen in onze populatie en de leeftijdsverdeling binnen elke categorie zijn gelijklopend met de bevindingen van de WHO en in de literatuur. Zo is een *NPM-1* genmutatie de meest voorkomende afwijking en een $t(1;22)$, die zeer zeldzaam is, werd niet teruggevonden in onze populatie. De specifieke morfologische bevindingen die volgens de WHO met een welbepaalde genetische afwijking gepaard gaan, werden evenzeer in onze populatie aangetroffen. Zo vertoonden het merendeel van de patiënten met $t(15;17)$ blasten met sterk gelobde kernen, een sterk gegranuleerd cytoplasma en auerstaven o.v.v. takkenbossen en zagen we bij alle patiënten met een inversie (16) abnormale eosinofielen.

Als laatste toont deze CAT aan dat een initiële suggestie naar een recurrente genetische afwijking in het diagnostisch protocol van een beenmergonderzoek een correcte voorspelling was in de meerderheid van de gevallen met $t(15;17)$ en $inv(16)$ en dat er louter op basis van de morfologie een vermoedelijke diagnose kan worden gesteld.

CLINICAL/DIAGNOSTIC SCENARIO

AML of acute myeloïde leukemie is een neoplastische aandoening van het beenmerg die tot woekering van een klonale, maligne populatie ongedifferentieerde myeloïde cellen leidt. Accumulatie van zogenoemde 'blasten' in het beenmerg kan de aanmaak van andere bloedcellen verstoren met symptomen van anemie, leucopenie en trombopenie tot gevolg.

AML is de meest voorkomende acute leukemie bij volwassenen. De gemiddelde leeftijd bij diagnose is 65 jaar en de wereldwijde incidentie is 2.5-3 nieuwe gevallen per 100 000 inwoners per jaar. De hoogste incidentie wordt gezien in Australië, West-Europa en de Verenigde Staten. Er is een mannelijke predispositie. De prevalentie bij kinderen is beduidend lager waarbij AML slechts 15-20% van de acute leukemieën uitmaakt met een piekincidentie op de leeftijd van 3-4 jaar¹.

AML is een entiteit die verschillende subclassificaties kent. De Wereld Gezondheidsorganisatie (WHO) heeft een classificatiesysteem opgesteld gebaseerd op morfologie, immuunfenotype, genetische en moleculaire afwijkingen en klinische kenmerken¹.

Volgens de WHO wordt AML ingedeeld in 4 grote groepen:

- AML met recurrente genetische afwijkingen
- AML met myelodysplastische kenmerken
- Therapie-gerelateerde AML
- AML, niet verder te classificeren

De groep 'AML met recurrente genetische afwijkingen' omvat ca. 11% van de acute myeloïde leukemieën. Deze groep bestaat uit AML's die gepaard gaan met specifieke structurele genetische afwijkingen. Op basis hiervan zijn reeds 7 subtypes gedefinieerd.

1. AML met t(8;21)(q22;q22); *RUNX1-RUNX1T1*
2. AML met inv(16)(p13.1q22) of t(16;16)(p13.1;q22); *CBFB-MYH11*
3. APL met t(15;17)(q24.1;q21.1); *PML-RARA*
4. AML met t(9;11)(p22;q34); *MLLT3-MLL*
5. AML met t(6;9)(p23;q34); *DEK-NUP214*
6. AML met inv(3)(q21q26.2) of t(3;3)(q21;q26.2); *RPN1-EVI1*
7. AML (megakaryoblastair) met t(1;22)(p13;q13); *RBM15-MKL1*

Hiernaast worden eveneens enkele genmutaties (voorlopig) geclassificeerd onder 'AML met recurrente genetische afwijkingen', gezien hun associatie met enkele morfologische en klinische kenmerken :

8. AML met gemuteerd *NPM-1*
9. AML met gemuteerd *CEBPA*

Volgens de WHO wordt de diagnose van een acute myeloïde leukemie gesteld vanaf een blastenpercentage van $\geq 20\%$ in het beenmerg of perifeer bloed. Uitzonderingen hierop zijn t(8;21), inv(16) en t(15;17): bij het vinden van deze translocaties wordt de diagnose van AML gesteld ongeacht het blastenpercentage¹.

Vershillende van deze genetische afwijkingen komen voor bij specifieke patiëntenpopulaties. Zo is t(8;21) de meest voorkomende translocatie bij kinderen met AML maar wordt eveneens gezien bij 7% van de volwassenen met een acute myeloïde leukemie. Inversie (16) en t(9;11) worden frequenter in een jongere populatie aangetroffen, terwijl inversie (3) en t(15;17) eerder bij de volwassen populatie voorkomen. Translocatie (1;22) is een zeldzame entiteit die meestal voorkomt bij zuigelingen en jonge kinderen (mediane leeftijd is 4 maanden).

Bepaling van het subtype d.m.v. cytogenetische analyses heeft zijn belang in het geven van prognostische informatie en kan in sommige gevallen aanleiding geven tot specifiekere therapeutische opties. Het karyotype is de sterkste onafhankelijke prognostische parameter bij AML². Patiënten met inv(16) vertonen een langere complete remissie indien behandeld met hoge dosis cytarabine in de consolidatiefase en het toevoegen van ATRA ('All-trans-retinoic acid') bij patiënten met t(15;17) zorgt eveneens voor een significante verlenging van complete remissie^{3,4}. Translocatie (8;21), inversie (16) en translocatie (15;17) hebben, indien behandeld, doorgaans een gunstig ziekteverloop terwijl t(9;11) eerder een intermediaire prognose kent. Translocatie (6;9) en inversie (3) worden geassocieerd met een slechte prognose^{1,5}.

Naast een verschillende prognostische outcome, manifesteren deze genetische afwijkingen zich met specifieke morfologische kenmerken. Sommige translocaties vertonen een zeer specifieke blastenmorfologie (vb. t(15;17)) of gaan gepaard met sterke basofilie of eosinofilie (vb. resp. t(6;9) en inv(16)).

De morfologische beschrijving van enkele recurrente genetische afwijkingen volgens de WHO wordt weergegeven in tabel 1¹.

Genetische afwijking	Specifieke morfologische afwijkingen
t(8;21)	Grote blasten met ingedeukte kern, sterk basofiel cytoplasma, azurofiele korrels en perinucleaire opklaring, frequent auerstaven (lang en dun) of pseudo-Chédiak-Higashi granules
inv(16) t(15;17)	Eosinofilie met immature en abnormale vormen Promyelocyten <u>Hypergranulaire vorm</u> : abnormale promyelocyten met niervormige/bilobaire nuclei, sterke granulatie, aanwezigheid van auerstaven, soms in bundels ('takkenbossen') <u>Hypogranulaire vorm</u> : bilobaire kernvormen, afwezigheid van granules
t(9;11) t(6;9)	Monoblasten/promonocyten Geen specifieke blastenmorfologie Basofilie Ringsideroblasten mogelijk
inv(3)	Geen specifieke blastenmorfologie Multilijnen dysplasie
t(1;22) <i>NPM-1</i> mutatie <i>CEBPA</i> mutatie	Megakaryoblasten Geen specifieke blastenmorfologie Geen specifieke blastenmorfologie

Tabel 1: overzicht van specifieke morfologische afwijkingen van de subtypes van 'AML met recurrente genetische afwijkingen' volgens WHO 2008.

Het doel van deze CAT is om AML met recurrente cytogenetische afwijkingen te UZ Leuven retrospectief te bestuderen. Er worden 43 patiënten bestudeerd met een acute myeloïde leukemie die volgens WHO kunnen worden geclassificeerd in bovenstaande subgroepen van 'AML met recurrente genetische afwijkingen' in de periode 2011-2014. Er wordt nagegaan in hoeverre de morfologische bevindingen van de verschillende subtypes overeenkomen met de bevindingen in de literatuur en in hoeverre cytogenetische afwijkingen louter op basis van morfologie kunnen worden voorspeld. Naast de morfologische bevindingen worden tevens enkele epidemiologische en klinische parameters kort geëvalueerd waaronder de prevalentie, de man/vrouw ratio en de leeftijdsverdeling. Het immunofenotype van de diverse blastenpopulaties wordt in deze studie buiten beschouwing gelaten. Bovendien wordt er nagegaan in hoeverre een suggestie naar een translocatie in het protocol van een microscopisch beenmergonderzoek zinvol is en in hoeverre de gegeven suggesties correct waren. Bij foutieve suggesties wordt de vraag gesteld waarom we tot de beoordeling zijn gekomen en wat een mogelijk verklaring zou kunnen zijn voor de foutieve interpretatie. Hiernaast wordt een kleine literatuurstudie toegevoegd waarbij onze bevindingen kunnen worden vergeleken met bevindingen uit andere centra.

QUESTION(S)

- 1) Wat is de correlatie tussen morfologie, cytogenetica en kliniek bij patiënten met AML in UZ Leuven?
- 2) Zijn de epidemiologische, hematologische en cytologische bevindingen in UZ Leuven overeenkomstig met de beschrijvingen van de WHO en in de literatuur?
- 3) Kunnen we a.d.h.v. de morfologie een betrouwbare uitspraak doen over de mogelijke cytogenetische afwijkingen van AML's?

SEARCH TERMS

- 1) MeSH Database (PubMed): MeSH term: "AML with recurrent translocations", "inv16", "CBFB-MYH11", "morphology mrozek", "t(9;11) AND morphology", "t(9;11)", "MLL translocation (9;11)", "MLL translocation (9;11) AND AML", "t(6;9)", "t(6;9) AND AML", "inv3 AML teardropcells", "inv3 AML fibrosis", "inv3 AML", "inv3 AML morphology", "inv3 AML dysplasia", "inv3 AML megakaryocytes", "AML t(15;17) geographic", "CEBPA mutation", "CEBPA mutation AML blasts", "CEBPA mutation normal karyotype", "npl1 mutation normal karyotype", "inv(16)", "t(8;21) morphology"

RELEVANT EVIDENCE/REFERENCES

1. Swerdlow SH, Campo E, Lee Harris N, et al. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. 4th edition ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2008.
2. Bacher U, Kern W, Schnittger S, Hiddemann W, Schoch C, Haferlach T. Further correlations of morphology according to FAB and WHO classification to cytogenetics in de novo acute myeloid leukemia: a study on 2,235 patients. *Ann Hematol*. Nov 2005;84(12):785-791.
3. Tallman MS, Andersen JW, Schiffer CA, et al. All-trans-retinoic acid in acute promyelocytic leukemia. *N Engl J Med*. Oct 1997;337(15):1021-1028.
4. Bloomfield CD, Lawrence D, Byrd JC, et al. Frequency of prolonged remission duration after high-dose cytarabine intensification in acute myeloid leukemia varies by cytogenetic subtype. *Cancer Res*. Sep 1998;58(18):4173-4179.
5. Mrózek K, Heinonen K, Bloomfield CD. Clinical importance of cytogenetics in acute myeloid leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol*. Mar 2001;14(1):19-47.
6. Sainty D, Liso V, Cantù-Rajnoldi A, et al. A new morphologic classification system for acute promyelocytic leukemia distinguishes cases with underlying PLZF/RARA gene rearrangements. *Blood*. Aug 2000;96(4):1287-1296.
7. Brusselmans C, Goossens W, Boeckx N, Boogaerts M, Verhoef G, Bossuyt X. Reference range for bone marrow aspirate differential counts and dysmyelopoietic features in healthy subjects. *25th national symposium of the BVKB-SBBC/BVKC-SBCC2002*:5.
8. Cheng Y, Wang Y, Wang H, et al. Cytogenetic profile of de novo acute myeloid leukemia: a study based on 1432 patients in a single institution of China. *Leukemia*. Oct 2009;23(10):1801-1806.
9. Grimwade D, Walker H, Oliver F, et al. The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1,612 patients entered into the MRC AML 10 trial. The Medical Research Council Adult and Children's Leukaemia Working Parties. *Blood*. Oct 1998;92(7):2322-2333.
10. Parihar M, Kumar JA, Sitaram U, et al. Cytogenetic analysis of acute myeloid leukemia with t(8;21) from a tertiary care center in India with correlation between clinicopathologic characteristics and molecular analysis. *Leuk Lymphoma*. Jan 2012;53(1):103-109.
11. Lin P, Chen L, Luthra R, Konoplev SN, Wang X, Medeiros LJ. Acute myeloid leukemia harboring t(8;21)(q22;q22): a heterogeneous disease with poor outcome in a subset of patients unrelated to secondary cytogenetic aberrations. *Mod Pathol*. Aug 2008;21(8):1029-1036.

12. Haferlach T, Bennett JM, Löffler H, et al. Acute myeloid leukemia with translocation (8;21). Cytomorphology, dysplasia and prognostic factors in 41 cases. AML Cooperative Group and ECOG. *Leuk Lymphoma*. Oct 1996;23(3-4):227-234.
13. Grimwade D, Hills RK, Moorman AV, et al. Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trials. *Blood*. Jul 2010;116(3):354-365.
14. Sun X, Medeiros LJ, Lu D, Rassidakis GZ, Bueso-Ramos C. Dysplasia and high proliferation rate are common in acute myeloid leukemia with inv(16)(p13q22). *Am J Clin Pathol*. Aug 2003;120(2):236-245.
15. Lex S. Morfologie van bloed en beenmerg. 2015; <http://www.hematocytologie.eu/wordpress/>. Accessed 13-04-2015.
16. Sierra M, Alonso A, Odero MD, et al. Geographic differences in the incidence of cytogenetic abnormalities of acute myelogenous leukemia (AML) in Spain. *Leuk Res*. Aug 2006;30(8):943-948.
17. Mrózek K, Heinonen K, Lawrence D, et al. Adult patients with de novo acute myeloid leukemia and t(9;11)(p22;q23) have a superior outcome to patients with other translocations involving band 11q23: a cancer and leukemia group B study. *Blood*. Dec 1997;90(11):4532-4538.
18. Slovak ML, Gundacker H, Bloomfield CD, et al. A retrospective study of 69 patients with t(6;9)(p23;q34) AML emphasizes the need for a prospective, multicenter initiative for rare 'poor prognosis' myeloid malignancies. *Leukemia*. Jul 2006;20(7):1295-1297.
19. Alsabeh R, Brynes RK, Slovak ML, Arber DA. Acute myeloid leukemia with t(6;9) (p23;q34): association with myelodysplasia, basophilia, and initial CD34 negative immunophenotype. *Am J Clin Pathol*. Apr 1997;107(4):430-437.
20. Lugthart S, Gröschel S, Beverloo HB, et al. Clinical, molecular, and prognostic significance of WHO type inv(3)(q21q26.2)/t(3;3)(q21;q26.2) and various other 3q abnormalities in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. Aug 2010;28(24):3890-3898.
21. Bernstein J, Dastugue N, Haas OA, et al. Nineteen cases of the t(1;22)(p13;q13) acute megakaryoblastic leukaemia of infants/children and a review of 39 cases: report from a t(1;22) study group. *Leukemia*. Jan 2000;14(1):216-218.
22. H.H. R, J.C. N. HematologyOutlines.com. An online textbook & atlas of hematology. 2012; <http://hematologyoutlines.com/index.php?SCREEN=home>. Accessed 13-04-2015.
23. Haferlach T, Bacher U, Alpermann T, Haferlach C, Kern W, Schnittger S. Amount of bone marrow blasts is strongly correlated to *NPM1* and *FLT3-ITD* mutation rate in AML with normal karyotype. *Leuk Res*. Jan 2012;36(1):51-58.
24. Fasan A, Haferlach C, Alpermann T, et al. The role of different genetic subtypes of *CEBPA* mutated AML. *Leukemia*. Apr 2014;28(4):794-803.

APPRAISAL

I. AML met recurrenente translocaties UZ Leuven: retrospectieve studie

a. Patiënten en methoden

Gegevens werden verkregen m.b.v. coderingsregels die ingebouwd zijn in het laboratorium informatie systeem (LIS) en die worden toegepast bij elke nieuwe AML waarbij een microscopisch beenmergonderzoek wordt uitgevoerd. Zo werden er 120 patiënten verzameld die zich tussen augustus 2011 en juni 2014 aanmeldden te UZ Leuven met een acute myeloïde leukemie. Bij 43 van deze 120 patiënten werd een gebalanceerde translocatie of genetische afwijking teruggevonden die kan worden gecatalogeerd onder 'AML with recurrent genetic abnormalities' volgens de WHO. Bij één patiënt met inversie (3) echter, werd de diagnose van een acute myeloïde leukemie in vraag gesteld gezien slechts 15% blasten in het beenmerg. Gezien de talrijke gelyseerde cellen en vermoedelijke onderschatting van het blastenaantal, werd deze patiënt toch meegenomen in de studiepopulatie.

De diagnostische beenmergpreparaten en/of perifere bloeduitstrijkjes werden opnieuw cytologisch beoordeeld en morfologisch gecodeerd volgens het standaard protocol te UZ Leuven (zie specifieke SOP's). Witte bloedcelpercentages werden bekomen door differentiatie van 100 witte bloedcellen in perifeer bloed en 300 witte bloedcellen in beenmerg (dit in tegenstelling tot de WHO die een witte bloedceldifferentiatie van resp. 200 en 500 witte bloedcellen voorstelt op perifeer bloed en beenmerg¹). Blastenmorfologie werd nauwkeurig omschreven en zowel de grootte van de blasten, kernvorm, granulatie, vacuolisatie en aanwezigheid van auerstaven werden zo gestandaardiseerd mogelijk beoordeeld (zie bijlage 1). Blasten vertoonden een onregelmatige kern indien deze gekleefd, ingedeukt of gelobd waren. De kern werd als regelmatig afgeijnd beschouwd indien deze volledig rond/ovaal was. Takkenbossen werden beschouwd indien er >3 auerstaven in het cytoplasma aanwezig waren⁶. Het cytoplasma werd als sterk gegranuleerd beschouwd indien de granules in ≥50% van de blasten ¾ van het cytoplasma bedekten. Dysplasie van de myeloïde, erythroïde of megakaryocyttaire reeks werd als sterk beschouwd indien er in ≥50% van de cellijn dysplastische afwijkingen voorkwamen (zie

specifieke SOP's). Bij cellijnen waarbij er slechts één of minder dan één cel per veld (beoordeling op 50x vergroting) kon worden waargenomen, werd er geen uitspraak gedaan over de graad van dysplasie. Multilijnendysplasie werd gedefinieerd als dysplasie in $\geq 50\%$ van de cellen in 2 of meer mergreeksen¹. Dysplasie van de eosinofielen onder de vorm van hybride korreling (d.i. de aanwezigheid van donkerpaarse, grote granules in het cytoplasma) werd apart beschreven. De oorspronkelijke kleuring van de preparaten gebeurde volgens de May-Grünwald-Giemsa methode m.b.v. de Mirastainer II (MIDAS® III). Tweeëntwintig preparaten werden beoordeeld door 2 personen m.n. een arts-specialist tot de klinische biologie in opleiding en een klinisch bioloog-hematoloog. De overigen werden enkel beoordeeld door een arts-specialist tot de klinische biologie in opleiding.

Bij 5 patiënten kon het diagnostische perifeer bloed-en beenmergpreparaat niet worden teruggevonden; bij 3 patiënten ontbrak een perifeer bloeduitstrijkje en bij 1 patiënt ontbrak het beenmergpreparaat maar kon er wel een beoordeling van perifeer bloed gebeuren. Bij deze patiënten werd het oorspronkelijk protocol geraadpleegd. Naast de morfologische beoordeling werden eveneens de belangrijkste hematologische data (bv. hemoglobine, leucocytenaantal, trombocytenaantal,...) op het moment van aanmelding in het ziekenhuis herbekeken, samen met relevante klinische en epidemiologische inlichtingen (leeftijd, geslacht, overleving). Mutatie-analyse en karyotypering werden uitgevoerd in het centrum menselijke erfelijkheid te UZ Leuven. De gebruikte methode gebeurde volgens het standaardprotocol van het centrum menselijke erfelijkheid en wordt hier niet verder belicht. Na morfologische revisie werden de resultaten gebundeld en werden relevante percentages bepaald die de belangrijkste parameters per genetische afwijking in kaart brengen.

b. Resultaten

De frequentie van de genetische afwijkingen, de mediane leeftijd, de man/vrouw-ratio en de belangrijkste hematologische parameters bij diagnose (hemoglobine, leucocyten- en trombocytenaantallen) zijn weergegeven in tabel 2. Er wordt geen patiënt geïdentificeerd waarbij translocatie (1;22) of het fusiegen *RMB15-MKL1* aanwezig is. Slechts één patiënt vertoont de translocatie (6;9). *NPM-1* genmutatie is de meest voorkomende afwijking, die aanwezig is bij 13 van de 43 patiënten (30%) en in 11% van alle 120 AML's. De jongste mediane leeftijd (34 jaar) wordt gevonden bij t(8;21) (opmerking: t(6;9) wordt buiten beschouwing gelaten gezien er slechts één patiënt deze translocatie vertoont) en de grootste spreiding in leeftijd wordt gezien bij gemuteerd *NPM-1* gen, waarbij er patiënten worden gevonden gaande van 12 tot 79 jaar. Bij t(8;21) bestaat er een mannelijk overwicht terwijl bij inversie (16) er meer vrouwelijke patiënten worden gezien.

Forse leukocytoses bij diagnose worden teruggevonden bij inv(16) (tot $158 \times 10^9/L$) en bij een *NPM1*-mutatie (tot $179 \times 10^9/L$). Forse trombocytose (tot $557 \times 10^9/L$) wordt gezien bij inversie (3) (N=3), terwijl t(15;17), t(8;21), inv(16) en *CEBPA*-genmutatie in onze populatie steeds gepaard gaan met een trombopenie.

Genetische afwijking	N (% van AML)	Leeftijd mediaan (bereik)	M/V	Hb (g/dL) mediaan (bereik)	Leucocytose ($\times 10^9/L$) mediaan (bereik)	Trombocytenaantal ($\times 10^9/L$) mediaan (bereik)
t(8;21)	7 (6%)	34 (4-63)	5/2	8.5 (5.4-13.2)	11.9 (4.2-66.3)	58 (16-135)
inv(16)	7 (6%)	58 (46-75)	2/5	9.4 (7.2-13.1)	34.5 (4.8-157.8)	57 (35-118)
t(15;17)	7 (6%)	61 (25-77)	3/4	9.9 (7.9-11.8)	1.2 (0.5-3.1)	25 (14-97)
t(9;11)	2 (2%)	54 (28-80)	1/1	9.7 (8.2-11.2)	24.6 (3.4-45.7)	136 (102-170)
t(6;9)	1 (1%)	32	1/0	9.6	29.3	22
inv(3)	3 (3%)	66 (35-83)	1/2	8.9 (5.2-9.7)	3.1 (2.8-4.2)	285 (158-557)
t(1;22)	0 (0%)	-	-	-	-	-
<i>NPM-1</i> mutatie	13(11%)	55 (12-79)	5/8	10 (6.2-14.2)	34.1 (2.7-178.8)	61 (30-165)
<i>CEBPA</i> -mutatie	3 (3%)	45 (33-80)	2/1	9.2 (8.5-12.6)	22.3 (2.5-79)	74 (17-126)

Tabel 2: epidemiologische (frequentie, leeftijd, man/vrouw-ratio) en hematologische (hemoglobine, leucocyten- en trombocytenaantallen) parameters van de verschillende genetische afwijkingen binnen de patiëntenpopulatie (N=43).

Translocatie (8;21), inversie (16) en translocatie (15;17) kunnen theoretisch gezien een blastenpercentage $< 20\%$ in het beenmerg hebben maar worden toch als een acute myeloïde leukemie gediagnosticeerd. Dit wordt gezien bij één patiënt met inversie (16) waarbij het blastenpercentage in perifeer bloed en beenmerg resp. 10% en 18.7% bedraagt (tabel 3). Er wordt in de patiëntenpopulatie tevens één patiënt teruggevonden met inversie (3) en een perifeer bloed en beenmergpercentage $< 20\%$ maar bij nazicht van het klinisch dossier, blijkt dat deze patiënt met een acute myeloïde leukemie werd gediagnosticeerd. Tabel 3 geeft een overzicht van de beenmergblastose, -eosinofilie, -basofilie en -monocytose bij de verschillende afwijkingen en geeft weer bij hoeveel patiënten er sterke dysmyelopoïese en abnormale eosinofielen wordt gezien. Er wordt gesproken van eosinofilie, basofilie en monocytose indien het beenmergpercentage resp. $> 6.3\%$, $> 0.6\%$ en $> 5.2\%$ bedraagt (deze cut-off waarden werden bepaald bij een studie op 50 gezonde beenmergdonoren⁷). Doorgaans lijkt er een grote spreiding aanwezig te zijn in de blastenpercentages bij de verschillende genetische afwijkingen. De hoogste waarden vinden we terug bij t(9;11) en *NPM-1* mutatie met een mediane centrale blastose van resp. 87.8% en 72.7% (tabel 3).

De beoordeling van dysplasie van de myeloïde, erythroïde en megakaryocytaire mergreeksen werd bemoeilijkt door de vaak zeer zwakke aanwezigheid van de mergreeksen wegens verdringing door een sterke blastenpopulatie of een weinig representatieve punctie. De interpretatie van dysmyelopoïese, dyserythropoïese en dysmegakaryopoïese gebeurt dan ook onder voorbehoud. Sterke dysmyelopoïese werd gedefinieerd als zijnde dysplasie in $\geq 50\%$ van de cellen. Bij de gevallen waarbij er minder dan één of slechts één mature granulocyt aanwezig was per veld (op 50x vergroting), werd dysmyelopoïese niet beoordeeld. Dit is het geval bij 8 patiënten. Drie patiënten tonen multilijnendysplasie (d.i. dysplasie in $\geq 50\%$ van de cellen in 2 of meer hematopoïetische cellijnen¹): één patiënt met t(9;11), één met t(6;9) en één met *NPM-1* genmutatie. Opvallende dysplasie van eosinofielen en voorlopers o.v.v. hybride korreling (d.i. multiële donkerpaarse, grote granules in het cytoplasma) wordt aangetroffen bij 100% van de patiënten met inversie (16). Bij 57% van deze patiënten wordt er eveneens een verhoogde beenmergeosinofilie ($>6.3\%$) aangetroffen. Eén patiënt toonde een beenmergeosinofilie van 50%. Een verhoogd basofielen aantal in het beenmerg ($>0.6\%$) wordt slechts bij 2 van de 43 patiënten aangetroffen (één met t(8;21) en één met inversie (16)). De meeste patiënten met een centrale monocytose ($>5.2\%$) bevinden zich in de groep met inv(16), gevolgd door deze met t(8;21).

Genetische afwijking	N (% van AML)	BM blastose (%), mediaan (bereik)	Sterke dysmyelopoïese	Abnormale eo's (hybride korreling)	BM eosinofilie ($>6,3\%$)	BM basofilie ($>0,6\%$)	BM monocytose ($>5,2\%$)
t(8;21)	7 (6%)	30.3 (22-70.3)	3	2 (29%)	1 (14%)	1 (14%)	3 (43%)
inv(16)	7 (6%)	37.3 (18.7-85)	3	7 (100%)	4 (57%)	1 (14%)	4 (57%)
t(15;17)	7 (6%)	46.3 (37.8-94.7)	0	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
t(9;11)	2 (2%)	87.8 (82.3-93.3)	1	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
t(6;9)	1 (1%)	79.3	1	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
inv(3)	3 (3%)	17 (11.3-41)	0	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (33%)
t(1;22)	0 (0%)	-	-	-	-	-	-
<i>NPM-1</i> mutatie	13(11%)	72.7 (34.3-89.7)	2	5 (38%)	0 (0%)	0 (0%)	5 (38%)
<i>CEBPA</i> -mutatie	3 (3%)	48.7 (22.3-75.7)	0	1 (33%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

Tabel 3: beenmerg (BM) blastose, -eosinofilie, -basofilie en -monocytose per genetische afwijking, samen met het voorkomen van sterke dysmyelopoïese (dysplasie $>50\%$ van de myeloïde cellen) en abnormale eosinofielen;

Tabel 4 geeft een overzicht van enkele morfologische blastenkenmerken m.n. de aanwezigheid van onregelmatige kernaflijning, sterke granulatie, en auerstaven. *Figuur 1* geeft de blastengrootte bij de verschillende afwijkingen grafisch weer.

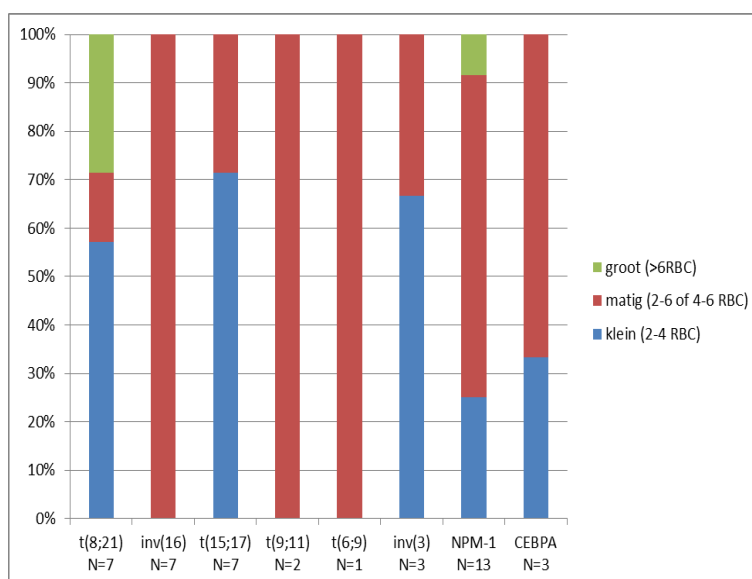
Bij t(8;21) vinden we een polymorfe blastenpopulatie, gaande van kleine blasten (2-4 RBC) tot zeer grote blasten (>6 RBC) (zie *figuur 1*). De kern is in 100% van de gevallen onregelmatig afgelijnd: meestal ingedeukt/gekliefd en bij één patiënt zelfs gelobd zodat aanvankelijk een t(15;17) werd gesuggereerd. Granulatie is wisselend maar doorgaans niet uitgesproken. Bij twee patiënten worden Chediak-Higashi granules aangetroffen en bij 4 patiënten auerstaven, die bij twee patiënten opvallend lang en dun zijn. Er werden echter geen takkenbossen waargenomen binnen deze groep. De blasten bij inversie (16) zijn matig tot groot (vaak tot 6 RBC) (zie *figuur 1*), sterk gevacuoliseerd en bevatten zeldzaam een auerstaf. Het opvallendste kenmerk bij inversie (16) zijn echter de uitrijpingsstoornissen binnen de eosinofielen en -voorlopers.

Bij translocatie (15;17) zien we bij alle patiënten onregelmatig afgelijnde kernen die bij 4 van de 7 patiënten (57%) duidelijk gelobd zijn. Het cytoplasma bevat in 86% van de gevallen auerstaven in de vorm van takkenbossen. De blasten/promyelocyten zijn sterk gegranuleerd in 71% van de gevallen. Bij 3 patiënten (43%) worden Chédiak-Higashi granules teruggevonden.

De kernen van de blasten bij t(9;11) (N=2) zijn bij beide patiënten regelmatig afgelijnd met een rond-ovale vorm. Bij één patiënt vertonen de blasten in het perifeer bloed duidelijk monoblastaire kenmerken (ruimer, basofieler cytoplasma met lichte korreling en wat rijper kernchromatine). Blastenmorfologie bij inversie (3), *NPM-1* mutatie en *CEBPA*-mutatie is variabel en valt niet uniform te beschrijven.

Genetische afwijking	N (% van AML)	BM blastose (%), mediaan (bereik)	Blasten met onregelmatige kernaflijning	Blasten met sterke granulatie	Blasten met auerstaven
t(8;21)	7 (6%)	30.3 (22-70.3)	7 (100%)	1 (14%)	4 (57%)
inv(16)	7 (6%)	37.3 (18.7-85)	7 (100%)	0 (0%)	1 (14%)
t(15;17)	7 (6%)	46.3 (37.8-94.7)	7 (100%)	5 (71%)	6 (86%) (o.v.v. takkenbossen)
t(9;11)	2 (2%)	87.8 (82.3-93.3)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
t(6;9)	1 (1%)	79.3	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
inv(3)	3 (3%)	17 (11.3-41)	1 (33%)	0 (0%)	0 (0%)
t(1;22)	0 (0%)	-	-	-	-
<i>NPM-1</i> mutatie	13 (11%)	72.7 (34.3-89.7)	11 (92%)	1 (8%)	1 (8%)
<i>CEBPA</i> -mutatie	3 (3%)	48.7 (22.3-75.7)	2 (67%)	0 (0%)	0 (0%)

Tabel 4: aanwezigheid van onregelmatige kernaflijning, sterke granulatie en auerstaven bij de blastenpopulatie



Figuur 1: blastengrootte: de grootte van de blasten (uitgedrukt in aantal rode bloedcellen) wordt weergegeven in percentages per type genetische afwijking.

Als laatste topic wordt retrospectief nagegaan in hoeverre de translocaties die initieel gesuggereerd waren in het protocol van het diagnostische beenmergaspiraats correct waren en wat een mogelijke verklaring zou kunnen zijn in het geval van incorrecte suggesties (tabel 5).

Van de 43 patiënten werd er bij 18 een mogelijke translocatie gesuggereerd op basis van de morfologie. Dit was correct bij 15 patiënten en incorrect bij 3 patiënten. Binnen de groep van de juist gesuggereerde translocaties bevinden zich zeven patiënten met t(15;17), vijf met inv(16), één met inv(3) en twee met t(8;21).

De incorrect gesuggereerde translocaties zijn twee patiënten met een inversie (16) (waarbij uiteindelijk een t(8;21) en een *NPM-1* mutatie werden teruggevonden) en t(15;17), dewelke finaal een t(8;21) bleek te zijn.

Bij 25 van de 43 patiënten werd geen genetische afwijking gesuggereerd. Hieronder bevinden zich 15 patiënten met een uiteindelijke genmutatie (*NPM-1* of *CEBPA*), drie met een t(8;21), twee met inv(3) en twee met inv(16). Bij de ene patiënt met t(6;9) en de twee met (9;11) werd eveneens geen suggesties gedaan.

	Aantal patiënten (N = 43)	Gesuggereerde genetische afwijking	Uiteindelijke diagnose
Juist gesuggereerd (N=15)	7	t(15;17)	t(15;17)
	5	inv(16)	inv(16)
	1	inv(3)	inv(3)
	2	t(8;21)	t(8;21)
Foutief gesuggereerd (N=3)	1	inv(16)	<i>NPM-1</i> mutatie
	1	inv(16)	t(8;21)
	1	t(15;17)	t(8;21)
Niet gesuggereerd (N=25)	2	-	inv(16)
	2	-	inv(3)
	3	-	<i>CEBPA</i> -mutatie
	12	-	<i>NPM-1</i> mutatie
	1	-	t(6;9)
	3	-	t(8;21)
	2	-	t(9;11)

Tabel 5: overzicht van de gesuggereerde genetische afwijkingen in het initiële beenmergprotocol vs. uiteindelijke diagnose

2. Vergelijking met WHO en literatuurstudie

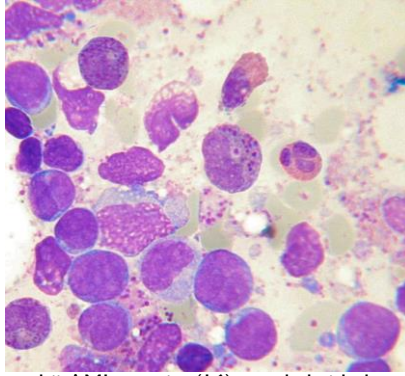
Een belangrijk doel van deze CAT is om na te gaan in hoeverre de epidemiologische en morfologische bevindingen van de verschillende subtypes overeenkomen met deze zoals ze in de WHO-classificatie worden beschreven en met de bevindingen uit de literatuur. De patiëntenpopulatie in deze studie is echter eerder klein (N=120 waarvan slechts 43 AML-patiënten werden gediagnosticeerd met een recurrente genetische afwijking) en de interpretatie van de bloed- en beenmergpreparaten werd bemoeilijkt door het niet altijd terugvinden van het diagnostisch preparaat. Toch konden een aantal epidemiologische en morfologische parameters uit dit onderzoek de WHO-bevindingen bevestigen of ondersteunen. Gezien de uitgebreidheid van dit onderzoek (er werd niet toegespitst op één bepaalde genetische afwijking), worden enkel de voornaamste conclusies belicht en deze worden per genetische afwijking besproken. Er dient bijkomend bemerkt te worden dat het aantal studies die zich toespitsen op de morfologische bevindingen van AML's eerder beperkt zijn.

a. AML met t(8;21)(q22;q22); *RUNX1-RUNX1T1*

In onze patiëntenpopulatie wordt t(8;21) in 6% van alle AML's teruggevonden, wat vergelijkbaar is met de gegevens van WHO (5%), Cheng et al. (8%, N=1432), Grimwade (8%, N=1966) en Parihar et al. (8%, N=1410)⁸⁻¹⁰. Translocatie (8;21) komt doorgaans bij een jongere populatie voor: de mediane leeftijd in deze studie is 34 jaar met een relatief grote spreiding (4-65 jaar). De literatuur geeft eveneens een significant jongere leeftijd aan bij t(8;21) in vergelijking met patiënten met een normaal karyotype^{8,9}. De meeste studies komen evenzeer tot een lichte mannelijke predispositie^{8,10-12}. De WHO beschrijft de morfologie van de blasten bij een t(8;21) als zijnde grote blasten met ingedeukte kern, een sterk basofiel cytoplasma, sterke granulatie en frequent (lange en dunne) auerstaven of pseudo-Chédiak-Higashi granules, die ook aanwezig kunnen zijn in mature neutrofielen. Dysplasie in de myeloïde reeks is variabel¹. Onze bevindingen ondersteunen deze beschrijving, hoewel de blastengrootte in onze populatie eerder variabel is en er slechts bij twee patiënten duidelijk lange en dunne auerstaven kunnen worden waargenomen. Het aantal studies die zich toelichten op de morfologische bevindingen bij een t(8;21) zijn beperkt. Parihar et al. vonden lange en dunne auerstaven bij 54% van de patiënten met t(8;21) en dysmyelopoïese bij 66% (N=117)¹⁰, terwijl Haferlach et al. bij 68% van de patiënten auerstaven vonden, waarvan 24% lang en dun en 90% dysmyelopoïese beschreven (N=41)¹².

b. AML met inv(16)(p13.1q22) of t(16;16)(p13.1;p22); *CBFB-MYH11*

Inversie (16) kent een prevalentie en een leeftijdverdeling gelijkaardig aan t(8;21)^{1,13}. In onze studie vinden we een mediane leeftijd van 58 jaar wat hoger is dan deze volgens Grimwade et al. (38 jaar, N=284)¹³. Inversie (16) kenmerkt zich door de aanwezigheid van dysplasie binnen de eosinofielen en –voorlopers o.v.v. hybride korreling (figuur 2)¹. In onze patiëntenpopulatie wordt dit in 100% van de gevallen waargenomen. Inversie (16) gaat vaak gepaard met een hoge perifere leucocytose⁵: in onze studie zien we bij vijf van de zeven patiënten een leucocytose > 10*10⁹/L en het witte bloedcel aantal stijgt bij één patiënt zelfs tot +/-158*10⁹/L. Het aantal eosinofielen in het beenmerg kan verhoogd zijn maar is meestal variabel¹. Multilijnendysplasie wordt beschreven bij 15% van de patiënten met inv(16), echter in onze studie wordt er geen patiënt met multilijnendysplasie aangetroffen¹⁴. De opmerking dient wel te worden gemaakt dat in onze populatie bij 4 van 7 patiënten met inv(16) minstens één van de drie mergreeksen niet betrouwbaar kon worden beoordeeld wat de interpretatie van multilijnendysplasie bemoeilijkt.

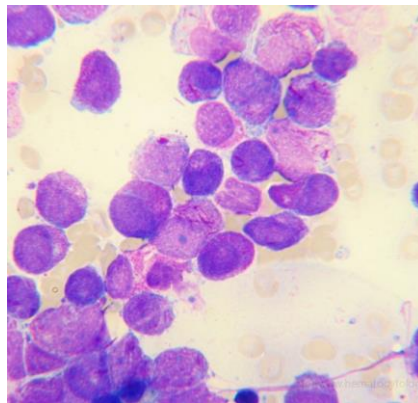


Figuur 2: beenmergaspiraats bij AML met inv(16) met hybride korreling van de eosinofielen¹⁵

c. Acute promyelocyten leukemie met t(15;17)(q22;q12);PML-RARA

Translocatie (15;17) is een AML waar abnormale promyelocyten domineren. Morfologisch wordt er onderscheid gemaakt tussen een hypergranulaire en een hypogranulaire vorm. In onze populatie zien we deze afwijking in 6% van de AML's, wat overeenkomt met de percentages volgens de WHO¹. In de literatuur echter zien we doorgaans wat hogere percentages zoals 13% volgens Grimwade et al.¹³ en 14% volgens Cheng et al.⁸ De prevalentie van AML met translocatie (15;17) blijkt sterk geografisch bepaald te zijn. Zo wordt er in één studie zelfs een significant hogere prevalentie (tot 21%) in het zuiden van Spanje aangetoond dan in centraal-Spanje¹⁶. Hypergranulaire APL kenmerkt zich door een zeer specifieke blastenmorfologie m.n. zeer onregelmatige kernvormen die niervormig of gelobd kunnen zijn en een cytoplasma dat sterke korreling (promyelocyten-like) en vaak auerstaven met 'takkenbosaspect' bevat (figuur 3). De hypogranulaire vorm kenmerkt zich door afwezigheid van granules en opvallende bilobaire kernvormen. Bij deze laatste wordt vaak een forse leucocytose waargenomen en omvat 15-20% van de APL's⁶.

In deze studie kunnen we bij 6 van de 7 patiënten de hypergranulaire vorm van APL aantreffen. Bij één patiënt werd eerder de hypogranulaire variant vermoed, wegens verminderde granulatie en sterk gelobde kernen. Auerstaven worden gezien in 86% van de gevallen en komen ook in bundels (takkenbossen) voor (tabel 4). Sainty et al. vonden in een kleine groep van 20 patiënten met t(15;17), 16 patiënten met de typische presentatie van hypergranulaire APL (d.i. onregelmatige kernaflijning met hypergranulatie). Tevens vonden zij slechts bij 1 patiënt Chediak-Higashi granules terwijl in onze studie dit in 43% voorkomt⁶.



Figuur 3: blastenmorfologie bij t(15;17) met het voorkomen van 'takkenbossen'¹⁵

d. AML met t(9;11)(p22;q23); MLLT3-MLL

Deze recurrenente afwijking wordt geassocieerd met monoblastaire kenmerken en komt frequenter voor op kinderleeftijd. De frequentie wordt geschat op 9-12% binnen de pediatrische AML's en 2% van de volwassen AML's¹. In deze studie worden slechts 2 patiënten met deze afwijking weerhouden, waarvan één op de leeftijd van 28 jaar en de ander van 80 jaar.

Opvallend hoge leucocytose ($46 \times 10^9/l$) wordt gezien bij één patiënt uit onze populatie. Het monocytenaantal in het beenmerg is niet verhoogd maar één patiënt vertoont wel een hoge perifere monocytose van 33%. Het monoblastaire aspect van de blasten is slechts bij één patiënt duidelijk zichtbaar in het perifere bloeduitstrijkje. Beide patiënten uit de studie vertonen een hoge beenmergblastose van 82% en 93%. Zulke hoge waarden werden ook aangetroffen bij een studie van Mrózek et al. in 1997: binnen een populatie van 24 patiënten met t(9;11) vonden zij een mediane centrale blastose van 90%¹⁷. Tevens vertoonde 83% van hun patiënten blasten met typische monoblastaire kenmerken¹⁷.

e. AML met t(6;9)(p23;q34); DEK-NUP214

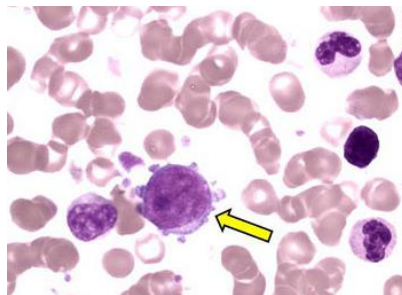
AML met t(6;9) is een weinig frequente entiteit die wordt geschat op 0.74-1.8% van de AML's¹. In onze patiëntenpopulatie kon er slechts één patiënt van jongvolwassen leeftijd (32 jaar) met deze afwijking worden aangetoond. De aandoening kan zowel op kinderleeftijd (mediaan 13 jaar) als op volwassen leeftijd (mediaan 35 jaar) voorkomen^{1,18}. Deze afwijking is geassocieerd met basofilie en multilijnendysplasie, hoewel er bij de patiënt uit onze studie geen duidelijke basofilie kan worden aangetoond. Toch dient de opmerking worden gemaakt dat er bij morfologisch nazicht mogelijks meerdere aberrante (ontkorrelde) basofielen worden vermoed. Tevens zien we bij deze patiënt dysplasie in de drie mergreeksen dewelke het meest uitgesproken is in de myeloïde en megakaryocytair reeks. Slovak et al. en Alsabeh et al. beschrijven eveneens het voorkomen van myelodysplasie in resp. 67% en 50% van de gevallen^{18,19}. Auerstaven kunnen voorkomen maar deze werden niet waargenomen bij de patiënt uit onze studie, hetzelfde geldt voor ringsideroblasten, dewelke wel werden teruggevonden bij 3 op 8 patiënten in een studie van Alsabeh et al.^{18,19}.

f. AML met inv(3)(q21;q26.2) of t(3;3)(q21;q26.2); *RPN1-EVI1*

AML met inv(3) vertegenwoordigt ongeveer 1-2% van alle AML's en komt meestal^{1,13} voor op volwassen leeftijd^{1,13}. De aandoening kan *de novo* voorkomen (in 87%) of kan secundair/therapie-geïnduceerd ontstaan (in 13%)^{1,20}. In onze studie werden er 3 patiënten geïdentificeerd met deze afwijking (3% van alle AML's). Echter, bij één patiënt is de diagnose van AML onduidelijk daar het blastenpercentage in perifeer bloed of beenmerg <20% en werd de differentieel diagnose met MDS gesteld. Bij nazicht van het klinisch dossier werd deze patiënt echter met een AML gediagnosticeerd, waardoor deze in onze studie werd geïnccludeerd. Eén patiënt vertoonde bij diagnose een perifeer verhoogd trombocytenaantal ($557 \times 10^9/L$), wat beschreven wordt bij 7-22% van de patiënten met een inv(3)¹. Opvallend bij onze 3 patiënten is het voorkomen van mergfibrose, dysplasie binnen de megakaryocytair reeks (met o.a. kleine mono- of hypolobaire vormen en losse kernlobben) en de aanwezigheid van dysplastische bloedplaatjes (o.v.v. macrothrombocyten en hypogranulatie). Deze bevindingen worden specifiek beschreven bij een inv(3)^{1,5}. Inv(3) is gekend voor zijn agressief karakter en zijn slechte overleving. De 3 patiënten uit onze studie zijn allen overleden binnen een periode van 3 jaar.

g. AML (megakaryoblastair) met t(1;22)(p13;q13); *RBM15-MKL1*

AML met t(1;22) is een zeldzame entiteit (<1% van alle AML's) en wordt vooral gezien bij vrouwelijke zuigelingen (mediane leeftijd van 4 maanden)^{1,13}. In een studie met 39 patiënten met t(1;22) was 95% jonger dan 24 maanden en kon er geen volwassen patiënt worden aangetoond²¹. Toch kon Grimwade et al. in een studie uit 2010 één patiënt van 37 jaar met een t(1;22) identificeren¹³. In onze patiëntenpopulatie kan er echter geen patiënt met een t(1;22) worden teruggevonden. De afwijking kenmerkt zich door de aanwezigheid van megakaryoblasten (matig tot grote blasten met een hoge N/C ratio, onregelmatige kern en basofiel cytoplasma zonder granulatie, zie *figuur 4*). Dysmegakaryopoïese o.v.v. micromegakaryocyten kan aanwezig zijn maar doorgaans is er geen dysmyelo- of dyserythro-poïese¹.



Figuur 4: aanwezigheid van een megakaryoblast (pijl) bij AML met t(1;22)²²

h. AML met gemuteerd *NPM-1*

AML met *NPM-1* mutatie is één van de meest voorkomende genetische afwijkingen binnen de AML's en komen meest frequent voor bij patiënten met een normaal karyotype. Het kent een prevalentie van 2-8% bij kinderen en 27-35% bij volwassenen en stijgt bijgevolg met toenemende leeftijd¹. Ook in onze populatie is een *NPM-1* mutatie de meest voorkomende afwijking (in 11% van alle AML's) met één patiënt van 12 jaar en de overigen ouder dan 35. Patiënten met een *NPM-1* mutatie hebben vaak een hogere leucocytose dan andere AML-types. In onze populatie zien we een mediaan wittebloedcel-aantal van +/- $34 \times 10^9/L$ en deze is bij één patiënt zelfs gestegen tot $178 \times 10^9/L$. Ook wordt er een hogere centrale blastose beschreven bij deze afwijking. Haferlach et al. beschreef een gemiddeld beenmerg blastenpercentage van 67,5% en toonde aan dat *NPM-1* mutatie sterk geassocieerd is met een verhoogde blastenproliferatie²³. In onze populatie kan een mediaan blastenpercentage van +/- 73% worden teruggevonden. De blastenmorfologie bij een *NPM-1* mutatie is variabel en de blasten kunnen zowel matuur als immatuur voorkomen of monocytair kenmerken hebben. Ook in onze populatie zien we een grote verscheidenheid in blastenmorfologie: sommigen zijn sterk gegranuleerd, anderen slechts licht; de kernaflijning is meestal onregelmatig met indeuking en zeldzaam zelfs gelobd, terwijl anderen een eerder regelmatig afgelijnde,

ovale kern vertonen. Bij één patiënt worden er auerstaven waargenomen en bij één kon er duidelijk multilijnendysplasie worden aangetoond.

i. AML met gemuteerd *CEBPA*

CEBPA-mutatie wordt gevonden in +/- 10% van de AML's en er bestaat geen correlatie met leeftijd of geslacht^{1,24}. In onze populatie konden we slechts 3 patiënten met een normaal karyotype en een *CEBPA*-mutatie identificeren. De WHO beschrijft het voorkomen van een hogere perifere blastose bij patiënten met een *CEBPA*-mutatie. Dit is in onze populatie niet opvallend. Slechts één patiënt vertoont een perifere blastose van 94%. *CEBPA*-gemuteerde AML's gaan wederom niet met een specifieke blastenmorfologie gepaard. Sterk gevacuoliseerde blasten is opvallend bij één patiënt er worden zeldzame auerstaven aangetroffen in onze populatie.

3. Correlatie morfologie en cytogenetica

Bij 18 van de 43 patiënten werd een mogelijke translocatie gesuggereerd op basis van de morfologie. Dit was correct bij 15 patiënten en incorrect bij 3 patiënten. De translocaties die op basis van de morfologie het best kunnen worden voorspeld, zijn t(15;17), inv(16) en in mindere mate inv(3) en t(8;21). Dit ligt in de lijn van de verwachtingen gezien deze afwijkingen met een specifieke morfologie worden geassocieerd.

De incorrect gesuggereerde translocaties zijn inversie (16) en t(15;17). Bij twee patiënten werd een inversie (16) vermoed, gezien de opvallende aanwezigheid van aberrante eosinofielen maar cytogenetica bracht uiteindelijk een t(8;21) en *NPM-1* mutatie aan het licht. Bij een andere patiënt werd een t(15;17) verspeld omwille van de duidelijke aanwezigheid van gelobde kernen en een opvallende populatie promyelocyten. Uiteindelijk werd bij deze patiënt een AML met t(8;21) vastgesteld. Bij revisie kunnen we inderdaad zeldzame lange en dunne auerstaven terugvinden.

Bij 25 van de 43 patiënten werd geen specifieke genetische afwijking gesuggereerd. De meeste patiënten die binnen deze groep vallen zijn degenen met een genmutatie (*NPM-1* of *CEBPA*) (N=15). Dit kan verwacht worden gezien deze mutaties niet geassocieerd worden met een specifieke blastenmorfologie of een andere duidelijke morfologische afwijking.

Bij twee patiënten met inv(16) werd een acute myelomonocytair leukemie gesuggereerd, gezien de hoge beenmergmonocytose (38% en 52%) en het voorkomen van promonocyten. Hybride korreling van de eosinofielen is bij beide patiënten aanwezig maar niet uitgesproken en niet sterk opvallend.

Twee patiënten met inv(3) vertoonden matig tot sterke dysmegakaryopoïese en dysmyelopoïese waardoor er bij één patiënt 'AML met MDS-related changes' en bij de ander MDS (gezien <20% blasten) werd voorgesteld.

Een t(6;9) werd gemist gezien de afwezigheid van basofilie. Er werd bij deze patiënt 'AML met MDS-related changes' voorgesteld gezien de aanwezigheid van multilijnendysplasie maar dit kan evenzeer voorkomen bij een t(6;9).

Bij de twee patiënten met een t(9;11) werd geen uitspraak gedaan over een mogelijke genetische afwijking maar bij één werd wel 'acute monoblasten leukemie' vermoed gezien de aanwezigheid van duidelijke monoblasten. Bij de andere patiënt werden er morfologisch geen duidelijke monoblasten/promonocyten weerhouden en werd er bijgevolg geen uitspraak gedaan over het subtype.

Ten slotte zijn er 3 patiënten met een t(8;21) waarbij de translocatie morfologisch niet kon worden gesuggereerd. Bij 2 hiervan werd het diagnostisch beenmergpreparaat niet teruggevonden en konden we enkel het oorspronkelijk protocol bekijken. Bij deze patiënten werden geen auerstaven of Chediak-Higashi granules waargenomen. Eén patiënt vertoonde echter wel duidelijk dysmyelopoïese, terwijl bij de andere het diagnostisch preparaat te weinig representatief was waardoor er geen uitspraak over de aanwezigheid van dysplasie kon worden gedaan. Bij de derde patiënt werd er na morfologische revisie zeldzame lange en dunne auerstaven teruggevonden en waren de blastennuclei duidelijk onregelmatig afgelijnd en ingedeukt, waardoor een t(8;21) gesuggereerd had kunnen worden.

j. COMMENTS

De bevindingen uit deze kleinschalige studie met een beperkt aantal patiënten komen relatief goed overeen met de beschrijvingen volgens de WHO en in de literatuur. Dit is het duidelijkst bij de relatieve frequentie van de verschillende genetische afwijkingen. De leeftijdsverdeling is eveneens in lijn met de WHO, enkel inv(16) komt in onze populatie bij een iets oudere leeftijdsgroep voor en er bevinden zich geen kinderen in onze populatie met t(9;11). Bij differentiatie dienen we bewust te zijn van de mogelijke onderschatting van het aantal basofielen gezien er ontkorrelde basofielen aanwezig kunnen zijn die een t(6;9) doen vermoeden. Een translocatie (15;17), inv(16) en in mindere mate t(8;21), kunnen we tamelijk goed voorspellen louter o.b.v. de morfologie en hier dienen we bijgevolg aandacht voor te hebben tijdens het schrijven van een beenmergprotocol. Enkele minder opvallende morfologische afwijkingen (zoals lange en dunne auerstaven en pseudo-Chédiak Higashi granules) kunnen ons helpen een bepaalde cytogenetische afwijking te suggereren en dus dienen we hiervoor eveneens oplettend te zijn. Als algemene conclusie kunnen we stellen dat met de nodige ervaring, cytogenetische afwijkingen op basis van de morfologie voorspeld kunnen worden maar toch is er steeds nood aan karyotypering en moleculaire analyses om een definitieve diagnose te kunnen stellen.

TO DO/ACTIONS

- 1) Blijvend opvolgen van de epidemiologische, hematologische en cytologische parameters bij patiënten met een AML met een recurrenente genetische afwijking
- 2) Nood aan meer gestandaardiseerde beschrijving van de blastenmorfologie
- 3) Statistiek toepassen indien de patiëntenpopulatie groot genoeg is zodat statistisch significante verschillen of gelijkenissen kunnen worden aangetoond.

ATTACHMENTS

Attachment I

CRITERIA BLASTENMORFOLOGIE

morfologie	beschrijving	opmerking
<u>grootte</u>	2-4 RBC	gemiddeld aantal rode bloedcellen die in een blast passen
	4-6 RBC	
	6-8 RBC	
<u>kernvorm</u>	ovaal	
	rond	
	ingedeukt	
	gelobd	
	gekliefd	
<u>kernaflijning</u>	regelmatig	indien regelmatig rond of ovaal
	onregelmatig	indien ingedeukt, gelobd of gekliefd
<u>cytoplasma</u>	licht basofiel	
	matig basofiel	
	sterk basofiel	
	azurofiel	
<u>granules</u>	afwezig	
	licht	alle blasten vertonen discrete granulatie
	matig	

	sterk	in \geq 50% van de cellen, $>$ 3/4 van het cytoplasma bedekt
<u>N/C ratio</u>	laag	
	matig	
	hoog	
<u>kernchromatine</u>	losmazig	
	geklumpt	
<u>nucleoli</u>	aanwezig / afwezig	
<u>auerstaven</u>		
<u>takkenbossen</u>		$>$ 3 auerstaven per cel
<u>vacuolen</u>		
<u>Chédiak-Higashi granules</u>		

Revisie 140224: geen wijzigingen