

Syllabus

PAOKC-cursus Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde

Hemato-oncologie anno 2007



Nederlandse Vereniging
voor Klinische Chemie
en Laboratoriumgeneeskunde



Onder auspiciën van de Vereniging
Hematologische Laboratoriumdiagnostiek

Dinsdag 13 maart 2007
De Eenhoorn, Amersfoort

Programma

08:45 – 09.25	Koffie en Inschrijving
09.25 – 09.30	Opening Drs. F.L.A. Willekens
	OCHTENDPROGRAMMA Voorzitter: Drs. F.L.A. Willekens
09.30 – 10.15	Interactieve sessie: lymfoïde pathologie Dr. G.A. van den Berg en dr. H.J. Adriaansen
10.15 – 10.50	Laboratorium technische en klinische aspecten van de m-proteïne bepaling Dr. P.W. Wijermans
10.50 – 11.20	Koffie en bezoek expositie
11.20 – 11.55	Maligne Lymfomen Prof.dr. J.C. Kluin-Nelemans
11.55 – 12.30	Chronische lymfatische leukemie: risicostratificatie en behandeling Prof.dr. M.H.J. van Oers
12.30 – 13.45	Lunch en bezoek expositie
	MIDDAGPROGRAMMA Voorzitter: Dr. M. de Metz
13.45 – 14.30	Interactieve sessie: myeloïde pathologie Dr. P.A. Kuiper-Kramer en dr. J.W. Smit
14.30 – 15.05	Myelodysplastisch Syndroom Prof.dr. G. Verhoef
15.05 – 15.25	Thee en bezoek expositie
15.25 – 16.00	Myeloproliferatieve ziekten, nieuwe ontwikkelingen in diagnostiek en therapie Prof.dr. G.J. Ossenkoppele
16.00 – 16.35	Stamcel- en beenmergtransplantatie Prof.dr. J.J. Cornelissen
16.35 – 17.30	Borrel

Sprekers

Dr. H.J. Adriaansen

Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium
Gelre Ziekenhuizen, Apeldoorn/Zutphen

Mevr. dr. G.A. van den Berg

Klinisch Chemisch Laboratorium
Stg. Klinisch Chemisch Laboratorium, Leeuwarden

Prof.dr. J.J. Cornelissen

Afdeling Hematologie
Erasmus MC - Daniël den Hoed, Rotterdam

Prof.dr. M.H.J. van Oers

Afdeling Hematologie
Academisch Medisch Centrum UvA, Amsterdam

Prof.dr. G.J. Ossenkoppele

Afdeling Hematologie
Vrije Universiteit Medisch Centrum, Amsterdam

Mevr. prof.dr. J.C. Kluin-Nelemans

Afdeling Hematologie
Universitair Medisch Centrum Groningen

Mevr. dr. P.A. Kuiper-Kramer

Klinisch Chemisch Laboratorium
Isala klinieken, Zwolle

Dr. J.W. Smit

Klinisch Chemisch Laboratorium
Lab Noord, sector Martini Ziekenhuis, Groningen

Prof.dr. G. Verhoef

Afdeling Hematologie
Universitaire Ziekenhuizen Leuven

Dr. P.W. Wijermans

Afdeling Hematologie
HagaZiekenhuis, Den Haag

Organisatie

Dr. H.J. Adriaansen

Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium
Gelre Ziekenhuizen, Apeldoorn/Zutphen

Dr. K.M.T. de Bruyn

Afdeling Klinische Chemie
Medisch Centrum Rijnmond Zuid, Rotterdam

Dr. P.H.M. Kuijper

Klinisch Laboratorium
Máxima Medisch Centrum, Veldhoven/Eindhoven

Dr. M. de Metz

Klinisch Chemisch Laboratorium
Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis, Nijmegen

Dr. E.M. van Wijk

Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium
Twee Stedenziekenhuis, Tilburg

Drs. F.L.A. Willekens

Klinisch Chemisch Laboratorium
Alysis Zorggroep, Arnhem

Inhoud

	pagina
Interactieve sessie: lymfoïde pathologie	6
Laboratorium technische en klinische aspecten van de m-proteïne bepaling <i>Dr. P.W. Wijermans</i>	8
Het non-Hodgkin's lymfoom (NHL) in bloed en beenmerg <i>Prof.dr. J.C. Kluin-Nelemans</i>	18
Chronische lymfatische leukemie: risicostratificatie en behandeling <i>Prof.dr. M.H.J. van Oers</i>	25
Interactieve sessie: myeloïde pathologie	34
Het myelodysplastisch syndroom <i>Prof.dr. G. Verhoef</i>	36
Myeloproliferatieve ziekten, nieuwe ontwikkelingen in diagnostiek en therapie <i>Prof.dr. G.J. Ossenkoppele</i>	46
Myeloablative HLA-identical sibling stem cell transplantation in first remission acute myeloid leukemia in young and middle aged adults: benefits for whom? Results of a HOVON/SAKK donor versus no donor analysis <i>Prof.dr. J.J. Cornelissen</i>	48

INTERACTIEVE SESSIE: LYMFOÏDE PATHOLOGIE

AANTEKENINGEN

LABORATORIUM TECHNISCHE EN KLINISCHE ASPECTEN VAN DE M-PROTEÏNE BEPALING

P.W.Wijermans, afdeling Hematologie, HagaZiekenhuis, Den Haag

Inleiding

Monoclonale immunoglobulines worden al sinds de eerste beschrijvingen gerelateerd aan multipel myeloom (1). Toch is er een scala van aandoeningen waarbij een M-proteïne kan voorkomen. Ong et al beschreven de diagnoses bij patiënten uit een populatieonderzoek naar het voorkomen van een M-proteïne in de IKW regio (2). De behandelend arts stelde bij n=1275 personen met een M-proteïne de in tabel 1 genoemde diagnoses. Duidelijk is dat serieus en ter degen onderzoek over het algemeen geïndiceerd is indien een bij een persoon een M-proteïne aangetroffen wordt in het serum. Toch werd bij veel patiënten (400) een directe noodzaak tot het doen van beenmerg en ander onderzoek in dit cohort patiënten niet opportuun geacht.

Tabel 1

Diagnoses gesteld in IKW M-proteïne project		
	n	%
Multipel myeloma	230	18
Plasmocytoma	9	
MGUS	189	15
Andere hematologische	141	11
Andere lymfomen	114	
Myeloproliferatief/MDS	21	
Anders	6	
Andere interne aandoeningen	191	15
Paraneoplastisch	95	
Auto-immuun	29	
Infecties	59	
Anders	8	
Geen diagnose	524	41
Geen actie arts	400	
Anders	123	

Incidentie en prevalentie

Uit dit Nederlands onderzoek in de IKW regio uit 1992 bleek een incidentie van een monoclonale gammopathie van 30/100.000 inwoners. Bij inwoners van 70 jaar en ouder liep deze incidentie op tot 189/100.000. De myeloomincidentie was beduidend lager (4/100.000). Deze incidentie liep op met de leeftijd tot 64/100.000 voor mannen en 37/100.000 voor vrouwen boven de 80 jaar. De prevalentie van multipel myeloom bedraagt voor mannen 18 en voor vrouwen 10 per 100.000 inwoners.

Natuurlijk is de gebruikte techniek van belang. Kyle et al screende een groep van ruim 21.000 personen van 50 jaar en ouder in een circumschipt gebied in Minnesota (bijna 77% van alle 50+ individuen uit het gebied) (3). Door eerst een agarose gel elektroforese gevolgd door een immunofixatie bij verdenking op een bandje in de elektroforese te verrichten, vonden zij een hogere prevalentie van MGUS bij mannen dan bij vrouwen. Op 1 januari 1995 bedroeg deze prevalentie 3,2%. Dit getal liep op tot 5,3% bij 70+ personen. Het maximale voorkomen was bij mannen > 80 jaar namelijk 1 op de 12. Tabel 2 geeft de verdeling weer van het voorkomen van de verschillende isotypes.

Tabel 2

Isotypes in monoclonale gammopathie			
	MGUS	Multipel myeloom	Plasmocytoïd NHL
IgG	75-80%	55-60%	--
IgA	15-20%	20-25%	--
IgM	5-10%	Sporadisch	100%
IgD	Sporadisch	Sporadisch	--
IgE	1 casus	Zeer zeldzaam	--
Lichte ketens	??	15-20%	--

Van belang voor zowel de klinisch chemicus als de internist (hematoloog) is de conclusie uit het onderzoek verricht in de IKW regio dat het gerechtvaardigd is bij een M-proteïne van het IgG of IgA type van verder (invasief) diagnostisch onderzoek af te zien indien het een toevalsbevinding betreft, er geen bijkomende klachten (bijv. botpijn) of laboratorium bevindingen (bijv. anemie) bestaan die aan een multipel myeloom

moeten doen denken en het M-proteïne gehalte < 10 g/l bedraagt. Bij IgD en lichte keten M-proteïne dient altijd verder onderzoek verricht te worden.

Techniek

In de CBO consensus van 2001 “Monoclonale gammopathie (paraproteïnemie)” wordt aanbevolen om bij een gericht onderzoek naar een M-proteïne naast een elektroforese nog een aanvullende techniek te gebruiken. Het belang hiervan wordt nog eens geïllustreerd door een kwaliteitsonderzoek in 2004 van Klasen e.a. binnen de Nederlandse laboratoria waar opviel dat de kwaliteitsscore voor detectie en typering tot verbeteringen leidden indien aan de eiwitelektroforese een tweede techniek (veelal immunofixatie) werd toegevoegd (4).

Screening op lichte ketens kan geschieden op een portie ochtend urine. Worden ze aangetoond dan dienen ze gedetermineerd en gekwantificeerd worden. Tot voor kort was de bepaling in 24-uurs urine aangewezen waarbij een immunofixatie met specifieke antisera werd uitgevoerd zo mogelijk met antisera gericht tegen epitopen die in het intacte immunoglobuline molecuul verborgen zijn. De concentratie van vrije lichte ketens in de urine is echter afhankelijk van aanmaak, uitscheiding en tubulaire terugresorptie. Het aantal kappa producerende cellen is hoger dan het aan lambda producerende cellen. Kappa lichte ketens zijn monomere moleculen terwijl lambda lichte ketens vaak dimeren zijn, die middels een bisulfide brug met elkaar verbonden zijn. Glomerulofiltratie zal dus verschillen evenals de terugresorptie terwijl bij nierfunctiestoornissen een verschillende invloed zal hebben. Concluderend kan gezegd worden dat, vooral bij lagere concentraties de klinische interpretatie van verschillen in de korte keten uitscheiding in de urine moeilijk is.

Free light test

De “Free light test” is een test voor de bepaling van lichte ketens in het serum en urine waarbij gebruik gemaakt wordt van antistoffen gericht tegen de “hidden” epitopen, dus die epitopen op de lichte keten die bij het intacte immunoglobuline molecuul niet tot expressie komen (5). Omdat gebruik gemaakt wordt van een concentratie bepaling van zowel kappa als lambda lichte ketens kan niet alleen uitspraak gedaan worden op basis

van de hoogte van de concentraties maar ook op basis van de ratio van de concentraties tussen de twee lichte ketens. Hierdoor kan nauwkeuriger gemeten worden en conclusies getrokken worden bij lage concentraties en in het geval van bijzondere subtypes van plasmacel woekering zoals lichte keten myeloom, non-secretor myeloom en amyloidosis. Tabel 3 geeft voorbeeld van de spreiding van de normaal waarden (5).

Tabel 3

Normaal waarden van 282 individuen	
	Free light chains
Kappa (95% range)	7,3 mg/l (3,3 - 19,4)
Lambda (95% range)	12,7 mg/l (5,7 - 26,3)
K/L ratio (100% range)	0,6 (0,26 - 1,65)
K/L ratio (95% range)	0,6 (0,3 - 1,2)

In een studie gepubliceerd in 2003 bij Bradwell e.a. werd aangetoond dat de bepaling van vrije lichte ketens in het serum betrouwbaarder was dan de 24-uurs urine bepaling (6). Bij zgn non-secretor myeloom patiënten kon vaak met de serum lichte keten bepaling toch abnormale concentraties of ratio's gevonden worden die bijdroegen tot de diagnose die bij deze patiënten vaak moeilijk te stellen is. Ook bij het monitoren van het klinisch beloop kan deze test toegevoegde waarde hebben. Bij verdenking op amyloidosis of de light chain deposition disease kan deze bepaling ook zeer nuttig zijn (7).

Richtlijnen

In de afgelopen jaren zijn er door een internationale “working group” criteria vastgesteld voor de diagnose, staging, prognose en response bepaling van multipel myeloom (8-10). De grens voor het M-proteïne tussen MGUS en myeloom is gesteld op 30 g/l. Indien er > 30 g/l wordt vastgesteld en er geen ander voor myeloom definiërende bevindingen zijn, moet volgens deze richtlijn gesproken worden van een “smouldering myeloma”.

Interessant is wat in deze richtlijnen bijvoorbeeld “meetbare ziekte” genoemd wordt. Tabel 4 geeft de criteria voor meetbare ziekte aan. Aangegeven wordt dat response evaluatie alleen kan plaatsvinden indien er meetbare ziekte parameters zijn. Zijn die er

niet dan valt alleen een zeer strikte CR te definiëren als response en dit houdt een normale lichte keten ratio in samen met het ontbreken van een monoclonale populatie plasmacellen middels een immunohistochemisch of immunofluorescentie onderzoek van het beenmerg. Ook lijken ze enigszins in contrast te staan met de definitie van non-secretor myeloom volgens de Working Group die stelt dat voor deze diagnose er geen M-proteïne in serum of urine m.b.v. immunofixatie aantoonbaar mag zijn.

Tabel 4

Meetbare ziekte parameters volgens de internationale working group
Serum M-proteïne ≥ 10 g/l
Urine M-proteïne ≥ 200 mg/24 uur
Serum vrije lichte ketens > 100 mg/l mits K/L ratio afwijkend is.

In criteria voor de diagnose van multipel myeloom is opgenomen dat bij afwezigheid van een detecteerbare M-proteïne in het serum een afwijkende vrije lichte keten ratio in het serum deze belangrijke parameter kan vervangen. Tevens zijn in de richtlijnen nieuwe stageringsparameters opgenomen. Was de hoogte van het M-proteïne gehalte van belang bij de Salmon en Durie indeling, in de nieuwe stageringssysteem van de internationale “working group” zijn deze vervangen door een combinatie van de serum beta-2-microglobuline en het albumine gehalte (tabel 5) (8)

Tabel 5

Stadierung multipel myeloom	
Stadium I	Beta-2-microglobuline $< 3,5$ mg/l + albumine ≥ 35 g/l
Stadium II	Niet voldoen aan stadium I en niet aan stadium III criteria
Stadium III	Beta-2-microglobuline $> 5,5$ mg/l

Voor de technische richtlijnen omtrent het zoeken naar of de bepaling van een M-proteïne wordt in Nederland nog steeds de meest recente CBO consensus “M- proteïne (paraproteïne)” aangehouden.

Klinisch beloop

Het monitoren van een behandeling geschiedt natuurlijk op basis van meerdere belangrijke parameters. M-proteïne bepaling is daarvan niet de onbelangrijkste. Dit onderzoek dient dan ook regelmatig te geschieden. Er bestaan grote databanken van MGUS patiënten waaruit een progressie van MGUS tot multipel myeloom blijkt van 1% jaar (11). Vrije lichte ketens in het serum kan ook bij deze vraagstelling van belang zijn. Namelijk een gestoorde kappa/lambda ratio in het serum van MGUS patiënten was gecorreleerd aan een hoger risico op het ontwikkelen van een multipel myeloom met een relatief risico van 2,5 (CI 1,6-4.0) (12).

Daling van het eiwitgehalte moet bijvoorbeeld bij de behandeling van oudere patiënten met Melphalan en Prednison nauwkeurig gemonitord worden om op tijd te constateren dat er een plateaufase bereikt is. Verdere behandeling kan dan vaak enige tijd opgeschort worden. Uit de gegevens van de HOVON 16 studie kwam naar voren dat bij oudere patiënten met een multipel myeloom de mate van daling na de eerste behandeling een goede parameter voor de prognose was (13). Nieuwe inzichten bij het gebruik van nieuwe behandelings-modaliteiten zijn er wat dit betreft nog niet.

Response bepaling

Een internationale working group heeft onlangs een voorstel gedaan omtrent de criteria voor response bij het multipel myeloom (10). Hierin worden vergaande uitspraken gedaan omtrent het nut en wenselijkheid van kwantitatieve lichte keten bepaling in 24-uurs urine monsters. Deze wordt als onbetrouwbaar gekenschetst en niet zinvol geacht voor de response bepaling. Hiervoor in de plaats wordt voorgesteld de vrije lichte keten ratio te gebruiken.

Pitfalls

Klonale evolutie is een van de pitfalls bij de behandeling van patiënten met een monoclonale gammopathie. Het meest bekend is het probleem van de patiënt waarbij de plasmacellen gedurende het beloop van de ziekte en de behandeling de eigenschap tot het maken van een M-proteïne verliest. Minder frequent maar daarom niet minder

verrassend is het indien de pathologische plasmacel overgaat tot de secernering van lichte ketens na aanvankelijk een totaal immunoglobuline molecuul als M-proteïne te secernereren.

Zelf zagen we een patiënt met een biclonale gammopathie waarbij een van de twee klonen sterk overheerste. Toename van deze kloon maakte behandeling noodzakelijk. Toen zich na een goede response er weer progressie voordeed, bleek dit de andere kloon plasmacellen te zijn die duidelijk therapie resistenter geweest was dan de kloon waarvoor aanvankelijk therapie gegeven was.

IgM monoclonale gammopathie

Tijdens een internationale workshop on Waldenstrom's macroglobulinemia" werden vier klinische entiteiten gedefinieerd die gepaard gaan met een IgM gammopathie. (zie tabel 6) (14). De groep van Kyle bestudeerde niet alleen het beloop van klassieke MGUS patiënten (zie boven) maar ook het beloop van de follow-up van 213 patiënten met een IgM MGUS met een mediane follow up duur van 6,3 jaar (16). In 14% van hen ontwikkelde zich een lymfoproliferatieve aandoening. Hiermee was het risico tot progressie naar een lymfoproliferatieve aandoening ongeveer 1,5% per jaar. Uit Italiaanse gegevens bleek dat een IgM gehalte > 3 g/l en een Hb < 7,5 mmol/l voorspellend waren voor het ontwikkelen van een offerte Waldenström vanuit een IgM MGUS.

Onder de IgM related disorders worden die aandoeningen verstaan waarbij een IgM M-proteïne aanleiding is tot een bepaald klinisch beeld zoals bijvoorbeeld een cryoglobulinemie.

Tabel 6

Indeling IgM monoclonale gammopathieën.
IgM MGUS
IgM related disorders
Indolent Waldenstrom's macroglobulinemia / lymfoplasmacytoid lymphoma
Symptomatic/ treatment requiring Waldenstrom's macroglobulinemia

Incidentie

Incidentieschattingen voor de ziekte van Waldenström uit de US komen uit op 4,4/1.000.000. Voor Nederland zou dit ongeveer 60-70 nieuwe patiënten per jaar betekenen. In de enquête uit de IKW regio werd bij 48 van de 1275 M-proteïnes de diagnose plasmocytoïd NHL gesteld.

Ook voor de IgM monoclonale gammopathieën werden prognostische scorings-systemen en response criteria recent geformuleerd (14; 16-17). Wat betreft de prognose waren eigenlijk vooral de hoogte van het M-proteïne en het albumine van waarde.

Zelden gaat een IgM monoclonale gammopathie gepaard met de morfologische en klinische bevindingen passend bij een multipel myeloom (18). Klinisch dit ziektebeeld vaak op beide ziektebeelden dus een soort mengvorm.

IgM monoclonale gammopathie en polyneuropathie

In de CBO consensus werd al speciaal de aandacht gevestigd op de combinatie van een IgM monoclonale gammopathie en de aanwezigheid van een polyneuropathie. Geadviseerd werd ook bij zeer kleine eiwitconcentraties het eiwit te identificeren. d.m.v. immunofixatie.

Er zijn meer relaties tussen gammopathie en polyneuropathie dan die van een IgM met anti MAG activiteit (19). Bij deze laatste is de polyneuropathie vooral demyeliniserend. Hematologische afwijkingen gepaard gaand met een M-proteïne en vaak meer axonale polyneuropathie zijn: cryoglobulinemie, amyloidosis en de ziekte van Castleman. Bij het POEMS syndroom is de polyneuropathie geassocieerd met de daarbij voorkomende kappa lichte keten M-proteïne.

Heavy chain ziekte

Deze uitermate zeldzame aandoening gedraagt zich meestal als een laaggradig lymfoom. Uit een kleine serie uit de Mayo Clinic bleek een mediane overleving van 7,4 (20).

De diagnose wordt gesteld nadat de immunofixatie de aard van de abnormale eiwitband, gevonden in de serum elektroforese, als zware keten identificeert.

Literatuur

1. Jones H.B. Papers on Chemical Pathology, Lecture III. *Lancet* 1847; II; 88-92
2. Ong F, Hermans J, Noordijk EM, Wijermans PW, Seelen PJ, de Kieviet W, Gerrits WB, Kluin PM, Kluin-Nelemans JC. A population-based registry on paraproteinaemia in The Netherlands. *Comprehensive Cancer Centre West, Leiden, The Netherlands. Br J Haematol.* 1997 Dec;99(4):914-20.
3. Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, Larson DR, Plevak MF, Offord JR, Dispenzieri A, Katzmann JA, Melton LJ 3rd. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med.* 2006;354:1362-1369.
4. Klasen I.S, Jol-van der Zijde E.M, Jansen Hogendijk A, Bast B, J, Radl J, van Tol M.J.D. Kwaliteit van de detectie van M-proteïnen in Nederland. *Ned. Tijdschr. Klinische Chem. Labgeneesk.* 2004; 29; 151-155
5. Bradwell AR, Mead G,P, Carr-Schmith H,D. Serum free light chain analysis. Third edition. Publ: The binding Site 2005
6. Bradwell AR, Mead G,P, Carr-Schmith H,D, Drayson MT. Serum test for assessment of patients with Bence Jones myeloma. *Lancet* 2003; 361; 489-491.
7. Katzmann JA, Abraham RS, Dispenzieri A, Lust JA, Kyle RA. Diagnostic performance of quantitative kappa and lambda free light chain assays in clinical practice. *Clin Chem.* 2005;51:878-881.
8. Greipp PR, San Miguel J, Durie BG, Crowley JJ, Barlogie B, Blade J, Boccadoro M, Child JA, Avet-Loiseau H, Kyle RA, Lahuerta JJ, Ludwig H, Morgan G, Powles R, Shimizu K, Shustik C, Sonneveld P, Tosi P, Turesson I, Westin J. International staging system for multiple myeloma. *J Clin Oncol.* 2005;23:3412-3420.
9. The International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working group. *Br. J. Haematol* 2003; 121; 749-757
10. Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS, Blade J, Barlogie B, Anderson K, Gertz M, Dimopoulos M, Westin J, Sonneveld P, Ludwig H, Gahrton G, Beksac M, Crowley J, Belch A, Boccadoro M, Turesson I, Joshua D, Vesole D, Kyle R, Alexanian R, Tricot G, Attal M, Merlini G, Powles R, Richardson P, Shimizu K, Tosi P, Morgan G, Rajkumar SV; International Myeloma Working Group. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia.* 2006;20:1467-1473
11. Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, Larson DR, Plevak MF, Melton LJ 3rd. Long-term follow-up of 241 patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance: the original Mayo Clinic series 25 years later. *Mayo Clin Proc.* 2004; 79: 859-866.
12. Rajkumar SV, Kyle RA, Therneau TM, Clark RJ, Bradwell AR, Melton LJ 3rd, Larson DR, Plevak MF, Katzmann JA. Presence of monoclonal free light chains in the serum predicts risk of progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Br J Haematol.* 2004 Nov;127(3):308-10.
13. Schaar CG, Kluin-Nelemans JC, le Cessie S, Franck PF, te Marvelde MC, Wijermans PW. Early response to therapy and survival in multiple myeloma. *Br J Haematol.* 2004;125:162-166.

14. Baldini L, Goldaniga M, Guffanti A, Broglia C, Cortelazzo S, Rossi A, Morra E, Colombi M, Callea V, Pogliani E, Ilariucci F, Luminari S, Morel P, Merlini G, Gobbi P. Immunoglobulin M monoclonal gammopathies of undetermined significance and indolent Waldenstrom's macroglobulinemia recognize the same determinants of evolution into symptomatic lymphoid disorders: proposal for a common prognostic scoring system. *J Clin Oncol*. 2005; 23: 4662-4668.
15. Kyle RA, Rajkumar SV, Therneau TM, Larson DR, Plevak MF, Melton LJ. Prognostic factors and predictors of outcome of immunoglobulin M monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Clin Lymphoma*. 2005; 5: 257-260.
16. Kimby E, Treon SP, Anagnostopoulos A, Dimopoulos M, Garcia-Sanz R, Gertz MA, Johnson S, LeBlond V, Fermand JP, Maloney DG, Merlini G, Morel P, Morra E, Nichols G, Ocio EM, Owen R, Stone M, Blade J. Update on recommendations for assessing response from the Third International Workshop on Waldenstrom's Macroglobulinemia. *Clin Lymphoma Myeloma*. 2006;6: 380-383.
17. Treon SP, Gertz MA, Dimopoulos M, Anagnostopoulos A, Blade J, Branagan AR, Garcia-Sanz R, Johnson S, Kimby E, Leblond V, Fermand JP, Maloney DG, Merlini G, Morel P, Morra E, Nichols G, Ocio EM, Owen R, Stone MJ. Update on treatment recommendations from the Third International Workshop on Waldenstrom's macroglobulinemia. *Blood*. 2006;107:3442-34466.
18. Annibali O, Petrucci MT, Bianco PD, Gallucci C, Levi A, Foa R, Avvisati G. IgM multiple myeloma: Report of four cases and review of the literature. *Leuk Lymphoma*. 2006;47:1565-1569.
19. Joint Task Force of the EFNS and the PNS. European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society Guideline on management of paraproteinemic demyelinating neuropathies. Report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society. *J Peripher Nerv Syst*. 2006;11:9-19.
20. Wahner-Roedler DL, Witzig TE, Loehrer LL, Kyle RA. Gamma-heavy chain disease: review of 23 cases. *Medicine (Baltimore)*. 2003; 82: 236-250.

HET NON-HODGKIN'S LYMFROOM (NHL) IN BLOED EN BEENMERG

J.C. Kluin-Nelemans, afdeling Hematologie, Universitair Medisch Centrum Groningen

Inleiding: het stellen van de diagnose, de WHO classificatie en stadiëringsonderzoek.

Non-Hodgkin's lymfomen (NHL) ontstaan als maligne ontandingen uit hun fysiologisch normale tegenhanger, de lymfocyt. Net zoals lymfocyten overal in het lichaam aanwezig kunnen zijn geldt dit ook voor de NHL's. Het merendeel zal ontstaan in lymfklieren of beenmerg, maar meer dan 40% kan ontstaan in zogenaamde "extranodale" (= buiten de lymfklieren) lokalisaties, zoals de huid, de maag, de schildklier, de botten, de testis, en zelfs de hersenen.

De diagnose van een NHL wordt bij voorkeur op lymfklierbiopten gesteld. Daarmee wordt allereerst het onderscheid gemaakt tussen *kwaadaardig* versus bijvoorbeeld *reactief* (vele goedaardige aandoeningen kunnen lymfkliervergroting geven). Vervolgens wordt het NHL *geclassificeerd*, en ingedeeld in de grote variëteit die er aan lymfatische maligniteiten bestaat, zo'n 30-40 verschillende categorieën. Uitgangspunt hierbij is de terminologie van de WHO classificatie^{1,2}.

Aangezien een aanzienlijk deel van de NHL's ook leukemisch kan zijn, komt het nogal eens voor dat alleen al een eenvoudig bloedbeeld met leukocytdifferentiatie een aanwijzing geeft richting NHL. Wanneer er geen vergrote klieren of anderszins weefsellokalisaties zijn, zijn bloed- en beenmergonderzoek soms het enige middel om een NHL te diagnostiseren en te classificeren.

Voor de behandeling van patiënten met een NHL is het nodig geïnformeerd te zijn over de uitgebreidheid ervan. Zij ondergaan een zogenaamd *stadiëringsonderzoek*, waarbij standaard een CT scan van hals, borst en buik verricht wordt, en een bloed- en beenmergonderzoek gedaan worden. LDH meting is hierbij belangrijk, aangezien het LDH gehalte een rol speelt bij de vaststelling van de prognose. Tegenwoordig vindt ook nogal eens een PET scan plaats, met name om deze na de behandeling te kunnen gebruiken als een zeer gevoelige manier om te meten of er nog vitaal restweefsel aanwezig is gebleven. Bij het beenmergonderzoek is het essentieel dat er een voldoende lang beenmergbiopt verricht wordt. Veel NHL's zitten hardvormig in het beenmerg, soms zelfs met verbindweefseling vast aan de botbalkjes, zodat ze in het aspiraatsel gemist kunnen worden.

Geef daarom m.b.v. een beenmergaspiraats nooit een definitieve uitslag af in de zin van: geen NHL aantoonbaar; hierbij heeft de patholoog die het biopt beoordeelt altijd het laatste woord.

Morfologie en immunofenotypering

Het is goed te realiseren dat bij de diagnostiek van het scala van (leukemische) lymfomen naast de morfologie vaak ook andere factoren essentieel kunnen zijn voor een definitieve diagnose, zoals de kliniek en immunofenotypering, en steeds vaker cytogenetica of moleculaire diagnostiek. Bij de morfologie moet onderscheid gemaakt worden tussen *cytomorfologie* (beschrijving van individuele celkenmerken verkregen uit analyses van cellen uit suspensies) en *histomorfologie* (beschrijving van celkenmerken in histologisch verband). Beide morfologische technieken vullen elkaar meestal aan. Afhankelijk van de organisatie van een laboratorium zullen de analyses op verschillende plaatsen plaats vinden: histologisch onderzoek altijd bij de patholoog; cytologisch onderzoek van bloed meestal bij de klinisch chemicus of hematoloog; cytologisch onderzoek van beenmergaspiraten eveneens bij de klinisch chemicus of hematoloog, maar soms ook bij de patholoog. Goed onderling overleg tussen beide beoordelaars is vereist om tot een eensluidend oordeel naar de kliniek te komen.

Meer nog dan bij de acute leukemieën geldt bij de lymfoproliferatieve aandoeningen dat *immunofenotypering* bijna altijd een aanvullende vereiste is om een diagnose te bevestigen of te verkrijgen. Ook hier is samenwerking belangrijk, vooral wanneer immunofenotypering verricht wordt op een immunologisch georiënteerd laboratorium zonder cytomorfologische en/of hematologische kennis.

Sinds 1985 wordt in een Samenwerkingsverband, tot 2006 onder de naam Stichting Immunotypering Hematologische Oncologie in Nederland (SIHON), nadien als onderdeel van de Nederlandse vereniging voor cytometrie (NVC), samengewerkt met als hoofddoel het standaardiseren en verbeteren van de immunofenotypering van hematologische maligniteiten. De SIHON/NVC Werkgroep Nomenclatuur heeft de definities in tabellen vastgelegd, die door alle laboratoria gehanteerd worden.

Dezelfde naam voor verschillende ziekten

Traditioneel wordt er een onderscheid gemaakt tussen (chronische) leukemieën en non-

Hodgkin's lymfomen. In de WHO is dit klinisch duidelijke, maar biologisch kunstmatige onderscheid niet van toepassing. Elke entiteit wordt gedefinieerd, waarbij betrokkenheid van perifeer bloed geen rol speelt. Chronisch lymfatische leukemie (CLL) en Lymfocytair lymfoom (small lymphocytic lymphoma, SLL) zijn derhalve synoniemen. Ditzelfde geldt voor bijvoorbeeld de oude naam acute rijpcellige lymfatische leukemie (FAB L3) en het Burkitt lymfoom, of voor de T-ALL en het T cel lymfoblastaire lymfoom. In alle gevallen gaat het om een één-en-dezelfde maligniteit die zich alleen verschillend gedraagt: nu weer voornamelijk leukemisch is, dan weer zich bij voorkeur ophoopt in lymfklierstations.

Non-Hodgkin's lymfomen: een aantal voorbeelden

Alle NHL's kunnen bloed- en beenmerginfiltratie laten zien; het meest wordt dit natuurlijk aangetroffen bij de lymfoblastaire beelden (de ALL-varianten), het Burkitt lymfoom, de kleincellige varianten zoals het lymfocytair lymfoom (de CLL variant, zie boven), het lymfoplasmocytair NHL (immunocytoom, Waldenström), het mantelcellilymfoom en het folliculaire lymfoom. Maar ook de grootcellige lymfomen, zoals het diffuus grootcellig B cel lymfoom (DLBCL) en de zeer zeldzame T cel lymfomen komen wel in het beenmerg voor. Enkele karakteristieke beelden zullen hier kort besproken worden, omdat de kans groot is dat die in het beenmerg aangetroffen worden.

Lymfoplasmocytair lymfoom (oude naam: immunocytoom/Morbus Waldenström)

- Morfologie

Het bloedbeeld wordt meestal gekenmerkt door agglutinatie van de erythrocyten in samenhang met een M-proteïne, terwijl ook afwijkende circulerende lymfatische cellen aangetroffen kunnen worden. Vaak is er dan sprake van een mengbeeld van kleine lymfocyten met een grof chromatine (CLL-achtig) en middelgrote lymfocyten met veel meer cytoplasmaontwikkeling. In het beenmergspiraat worden vaak grote haarden aangetroffen bestaande uit kleine, middelgrote en grotere lymfocyten, plasmacellen en - heel karakteristiek - een toename van mestcellen.

- Immunofenotypering

De maligne cellen zijn van het rijpe B cel type en brengen naast op de membraan ook al in het cytoplasma immuunglobulinen tot expressie. CD138 is positief op de plasmocytair elementen.

Mantelcellymfoom (MCL)

Een zeldzaam lymfoom (5-10% van alle NHL's), karakteristiek bij oudere mannen, dat bijna altijd al zeer uitgebreid is met infiltratie in bloed en beenmerg. Wordt nogal eens voor CLL aangezien. De prognose van een MCL is echter slecht met een overlevingsverwachting van slechts enkele jaren.

- *Morfologie*

In het bloed variërend een normaal tot hoog leukocytengetal met kleine tot middelgrote lymfocyten met minder grof chromatine dan de CLL; er zijn geen of zeer onduidelijke nucleoli. De kern is vaak onregelmatig met een kliefje. Er is zeer weinig cytoplasma. Naast deze kleincellige variant worden ook meer "blastaire" varianten van MCL gezien². Bij beenmerginfiltratie worden dezelfde cellen gezien. De infiltratie kan massaal zijn.

- *Immunofenotypering*

Net als de gewone mantelcellen zijn de maligne mantelcellymfoomcellen van het B cel type (CD19, CD20) met in 90-95% co-expressie van CD5. Als onderscheid met de CLL geldt dat de immuunglobuline-expressie op de membraan (IgM/IgD positief) veel sterker is dan bij de CLL, en dat de marker CD23 bij het mantelcellymfoom ontbreekt. Kenmerkend is verder de nucleaire expressie van Cycline D1 (zie onder).

- *Cytogenetica*

Karakteristiek is de t(11;14)(q13;q32) met een translocatie van bcl-1 naar de zware Ig keten, resulterend o.a. in overexpressie van het cycline D1. De over-expressie van cycline D1 kan immunohistochemisch aangetoond worden (niet met flowcytometrie!) en is ook zeer specifiek voor MCL³.

Folliculair lymfoom

25-35% van alle NHL's, indolent beloop, maar desondanks moeilijk te genezen. Bij circa de helft van de patiënten zal het lymfoom in de loop van vele jaren een transformatie ondergaan, waarbij het lymfoom grootcelliger, en veel agressiever wordt.

- *Morfologie*

Als het lymfoom leukemisch is dan is het totale leukocytengetal meestal slechts licht verhoogd. De lymfoomcellen zijn herkenbaar als kleine lymfocyten met een vaak

gekleefde kern, geen of onduidelijke nucleoli, en weinig cytoplasma. Een enkele keer wordt ook een meer "blastaire variant" gezien met soms wandstandige nucleoli. Beenmerginfiltratie komt vaak voor, maar wordt in het aspiraat veel gemist, omdat de lymfoomcellen heel karakteristiek in zomen of haarden gelokaliseerd zijn pal tegen de botbalkjes aan (paratrabeculair), waarbij ze vaak omringd worden door reticulinevezels, en dus niet geaspireerd zullen worden. Zoals bij alle NHL-stadiëringen, geldt bij dit type NHL dus nog meer dan anders, dat een goed beenmerg**biopt** (minimaal 2 cm lang) noodzakelijk is om met zekerheid beenmerglokalisatie uit te sluiten; vaar nooit op de cytologie alleen!

- *Immunofenotypering*

De lymfoomcellen zijn van het B cel type, hebben meestal vrij sterk monoklonale membraanimmuunglobuline-expressie. CD5-expressie ontbreekt; CD10 (CALLA) wordt daarentegen nogal eens aangetroffen, maar is veel zwakker dan bij de acute lymfatische leukemie.

- *Cytogenetica*

Translocatie tussen bcl-2 (chr.18) en de zware Ig keten (chr. 14), de t(14;18)(q32;q21), resulterend in overexpressie van het anti-apoptose eiwit bcl-2. Dit is echter geen behulpzaam criterium, aangezien bcl-2 expressie ook bij andere en lymfatische leukemieën (bij CLL en MCL bijvoorbeeld altijd zeer sterk) voorkomt.

Milt marginale zone lymfoom (oude naam SLVL, splenaal lymfoom met villeuze lymfocyten)

Dit is een zeer zeldzaam ziektebeeld. Relevant echter om te herkennen, omdat er sprake is van een uitgesproken miltvergroting met daarbij circulerende maligne cellen die enigszins lijken op hairy cellen of prolymfocyten⁴. Lymfklieren zijn niet vergroot, een miltbiopt is te gevaarlijk, dus het bloed- en beenmergonderzoek zijn erg belangrijk om de diagnose te stellen.

- *Morfologie*

Middelgrote lymfocyten met vrij ruim cytoplasma, en met een ronde kern met (zeer) grof chromatine, en in de helft van de gevallen een duidelijke kleine nucleolus. Zoals de naam aangeeft hebben de cellen kleine uitlopers (villi), vaak aan één zijde van de cel gelokaliseerd. De mate van infiltratie is in het bloed vaak duidelijker dan in het

beenmerg. Cytologisch moet differentiaal diagnostisch een leukemisch lymfoplasmacytair lymfoom, hairy cel leukemie of prolymfocytenleukemie overwogen worden.

- *Immunofenotypering*

SLVL cellen zijn rijpe B lymfocyten met sterke membraanimmuunglobuline-expressie. De typische HCL kenmerken zoals CD11c, CD25 en CD103 ontbreken meestal of zijn slechts partieel of zwak aanwezig. CD24 is daarentegen sterk positief en zou kunnen helpen ter onderscheid.

T cel lymfomen

T cel maligniteiten zijn zeldzaam. Als algemeen kenmerk geldt dat het rijpcellige maligniteiten betreft^{2, 5}. Meestal gaat het om patiënten met een reeds gediagnostiseerd T-NHL, waarbij in een latere fase zich een beenmerglokalisatie en/of leukemische ontanding ontwikkelt. Een uitzondering hierop vormt het angio-immunoblastair lymfoom, waarbij in 50% van de patiënten bij diagnose een positief beenmerg optreedt. De pathologische circulerende cellen van T-NHL's zijn meestal pleiomorf met sterk variabele immunofenotypen. Het meest kenmerkende van het immunofenotype is het optreden van *celmerkerverlies*⁵. Hierbij wordt een rijpcellig T cel markerpatroon gezien, waarbij obligate markers ontbreken, hetgeen de diagnostiek soms niet makkelijker maakt. Bij kwaliteits-controles van deze NHL's werden door veel laboratoria fouten gemaakt⁶.

Literatuur

1. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J et al. World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues: Report of the Clinical Advisory Committee Meeting - Airlie House, Virginia, November 1997. *J Clin Oncol* 1999; 17:3835-3849.
2. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. *Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon: IARC Press; 2001.
3. Boer de CJ, Schuurin E, Dreef EJ et al. Cyclin D1 protein analysis in the diagnosis of mantle cell lymphoma. *Blood* 1995; 86:2715-2723.
4. Melo JV, Hegde U, Parreira A, Thompson I, Lampert IA, Catovsky D. Splenic B cell lymphoma with circulating villous lymphocytes: differential diagnosis of B cell leukaemias with large spleens. *J Clin Pathol* 1987; 40:642-651.
5. Matutes E, Catovsky D. Mature T-cell leukemias and leukemia/lymphoma syndromes. Review of our experience in 175 cases. *Leuk Lymphoma* 1991; 4:81-91.

6. Kluin-Nelemans JC, Wering van ER, Veer van 't MB et al. Pitfalls in immunophenotyping of leukaemia and leukaemic lymphomas. Survey of 9 years quality control in The Netherlands. *Br J Haematol* 1996; 95:692-699.

CHRONISCHE LYMFATISCHE LEUKEMIE: RISICOSTRATIFICATIE EN BEHANDELING

M.H.J. van Oers, afdeling Hematologie, Academisch Medisch Centrum, Amsterdam

Inleiding

Nog niet zo lang geleden werd CLL beschouwd als een wat saai ziektebeeld, waarvoor behandeling zelden geïndiceerd was. Eventueel noodzakelijke therapie bestond bovendien al decennia lang uit eenvoudige orale toediening van chloorambucil. De laatste jaren is echter door moleculair genetisch en immunologisch onderzoek niet alleen meer inzicht ontstaan in de pathofysiologie van CLL, maar is ook de prognose veel beter te voorspellen. Daarnaast is ook het therapeutisch arsenaal aanzienlijk uitgebreid. De consequenties van deze ontwikkelingen voor het diagnostisch en therapeutisch beleid bij patiënten met een CLL zullen hier kort worden besproken.

Pathofysiologie: herkomst van de CLL-cellen

Bij CLL is sprake van een sterke toename van maligne, CD5 positieve rijpe B lymfocyten, die niet zozeer wordt veroorzaakt door ongebreidelde celdelingactiviteit, als wel door een verstoorde apoptose (geprogrammeerde celdood). Als een gezonde rijpe B-cel voor het eerst in contact komt met antigeen vindt er een serie fascinerende processen plaats. Uitvoerige bespreking daarvan valt buiten het bestek van dit verhaal. Voor het vervolg is belangrijk dat er na stimulering door het antigeen, in de B-cel mutaties plaatsvinden in de genen die coderen voor de antigeenreceptor. Mutaties die resulteren in een antigeenreceptor met een *slechtere* binding aan het antigeen leiden tot de dood van de betreffende B-cel, terwijl B-cellen met mutaties die resulteren in een *sterk verbeterde* antigeenbinding positief geselecteerd worden. De aanwezigheid van mutaties in de antigeenreceptorgenen is derhalve het onomstotelijke bewijs dat de B-cel ooit in contact is geweest met antigeen. Het zal nu duidelijk zijn dat naïeve B-cellen – B-cellen die nog nimmer door hun specifieke antigeen zijn geactiveerd – geen mutaties hebben. Tot voor enkele jaren gold als axioma dat de kwaadaardige lymfocyten bij de CLL ontspoorde naïeve B-cellen waren. Derhalve was de voorspelling dat de antigeenreceptorgenen van

de leukemiecellen géén mutaties zouden hebben. Groot was dan ook de verrassing toen in recente studies werd aangetoond dat bij ongeveer de helft van alle CLL-patiënten wél mutaties in deze genen aanwezig zijn. Er lijken dus twee vormen van de CLL te bestaan: één ontstaan uit naïeve B-cellen, en één ontstaan uit cellen met antigeenervaring (geheugen B-cellen).

Dit onderscheid is niet alleen van academisch belang. Zeer onlangs is namelijk door verschillende onderzoekers aangetoond dat er een groot verschil bestaat in de levensverwachting van beide subgroepen CLL patiënten. Patiënten met *ongemuteerde* antigeenreceptorgenen hebben een aanzienlijk kortere overleving dan de CLL-patiënten met gemuteerde genen. Buitengewoon belangrijk is de observatie dat dit ook geldt *binnen* de risicogroepen zoals gedefinieerd door het klinisch stadium (zie later).

Met behulp van het zogenaamde cDNA micro-array onderzoek, waarbij de expressie van duizenden genen tegelijk kan worden onderzocht, bleken beide CLL subgroepen onderling slechts te verschillen in de expressie van ongeveer 30 genen. Opvallend hierbij was dat de ongemuteerde cellen een genexpressiepatroon hebben passend bij activatie van de B cel receptor. Mogelijk worden deze cellen dus continu door een, tot nog toe onbekend, (auto-?) antigeen geactiveerd, waardoor ze sterker prolifereren en daardoor wellicht een agressiever karakter hebben. Verrassend was ook dat het genexpressiepatroon van beide subgroepen sterk bleek te verschillen van dat van normale CD5-positieve B-cellen, en het meest homolog bleek met normale geheugen B-cellen. Dat dus ook de ongemuteerde CLL qua genexpressie lijkt op normale geheugen B-cellen is opmerkelijk en geeft aan dat onze kennis over de pathogenese van CLL nog beperkt is.

Prognostische factoren

Klinisch stadium

Rai en collega's beschreven meer dan 20 jaar geleden een stadiëringssysteem waarbij patiënten werden ingedeeld in 5 verschillende prognostische stadia. Dit systeem werd later gesimplificeerd tot 3 risico groepen: laag risico (stadium 0), gemiddeld risico (stadium I en II) en hoog risico (stadium III en IV). Van de nieuw gediagnosticeerde patiënten behoort 30% tot de laag risico groep, 60% tot de gemiddeld risico groep en 10% tot de hoog risico groep. De gemiddelde overleving in deze groepen is

respectievelijk >10, 7 en 1,5 jaar. Ook Binet en collega's beschreven een –iets simpeler stadiëringssysteem. Dit systeem beschrijft ook 3 stadia met een gemiddelde overleving van respectievelijk >10, 5 en 2 jaar. Van de nieuw gediagnosticeerde patiënten heeft 60% stadium A, 30% stadium B en de resterende 10% stadium C. Deze schema's worden tot op heden gebruikt om de prognose bij patiënten met CLL in te schatten. Echter, van de patiënten met asymptomatische CLL (Binet stadium A/ Rai 0) blijkt ruim 30% toch een snelle ziekte progressie door te maken en op relatief korte termijn aan de directe of indirecte gevolgen van de CLL te overlijden. Dat deze belangrijke subgroep van de CLL patiënten met een vermeend laag risico bij diagnose niet als zodanig kan worden herkend, is een grote tekortkoming van het klinisch stadiëringssysteem. *Het klinisch stadium definieert dus slechts een schijneenheid.*

Aangezien de diagnose op steeds jongere leeftijd wordt gesteld bij veelal asymptomatische patiënten en de therapeutische mogelijkheden toenemen (zie verder), bestaat er grote behoefte aan goede inschatting van de prognose in deze groep.

Lymfocyten verdubbelingstijd (LDT) en serum thymidine kinase (sTK)

De verdubbelingstijd van het aantal lymfocyten in het perifere bloed (LDT) is gecorreleerd met de prognose van CLL. Patiënten met Binet stadium A met een LDT < 1 jaar hebben een slechtere mediane overleving (58 maanden versus 150+maanden). Hoewel de LDT na een (korte) observatieperiode geëxtrapoleerd kan worden is ze uiteraard niet beschikbaar ten tijde van het stellen van de diagnose. Een veelbelovende statische parameter is de serum thymidine kinase (TK) spiegel. Dit eiwit speelt een rol speelt in de DNA synthese. De hoogte van het serum TK is een onafhankelijke risicofactor gebleken, die binnen de groep patiënten met Binet A identificatie van een subgroep met een ongunstige prognose mogelijk maakt.

Mutatiestatus

De prognose bij patiënten met ongemuteerde antigeenreceptorgen (IgV genen) is veel slechter dan van patiënten met gemuteerde IgV genen. Dit geldt zowel voor de hele groep CLL patiënten als voor patiënten met hetzelfde Binet stadium. Zo is bij ongemuteerde Binet A patiënten de mediane overleving 8 jaar, versus 24,5 jaar voor patiënten met gemuteerde IgV genen. De mutatiestatus blijkt dus een krachtige

onafhankelijke prognostische factor te zijn. Het aantonen van mutaties is echter een technisch lastige en tijdrovende procedure en derhalve moeilijk toepasbaar in de routine diagnostiek. Er is en wordt dan ook hard gezocht naar 'surrogaatmarkers' voor de mutatiestatus. Aanvankelijk leek hoge expressie van het activatie antigeen CD38 op het oppervlak van de CLL cellen te correleren met zowel slechte prognose als met de aanwezigheid van ongemuteerde IgV genen. Hoewel in principe eenvoudig, kleven aan de bepaling van de CD38 expressie middels immunofluorescentie en flowcytometrie een aantal problemen m.b.t. reproduceerbaarheid en vergelijkbaarheid tussen verschillende laboratoria. Bovendien lijkt de grenswaarde voor CD38-positiviteit (>30% van de cellen) vrij arbitrair gekozen en voor discussie vatbaar. Daarnaast is recent gebleken dat minstens eenderde van de CLL patiënten "discordant" is: lage CD38 expressie en toch ongemuteerde IgV genen, of hoge CD38 expressie en wèl gemuteerde IgV genen. De prognose van deze 'discordante'groep ligt tussen die van de ongemuteerde en gemuteerde varianten .

Een betere surrogaatmarker lijkt het intracellulaire eiwit ZAP70, een tyrosine kinase dat aanwezig is in normale T en NK cellen, en een belangrijke rol speelt bij T cel receptor signalering. ZAP70 expressie is (vrijwel) uitsluitend aanwezig in de ongemuteerde CLL subgroep. Ook hier is sprake van 5-15% discordantie, waarbij een recente studie van het US CLL Consortium suggereert dat de prognostische waarde van ZAP70 zelfs sterker is dan van de mutatiestatus. Problemen m.b.t. reproduceerbaarheid en vergelijkbaarheid tussen verschillende laboratoria zijn bij deze (immunofluorescentie) assay echter minstens zo groot als bij CD38.

Cytogenetische afwijkingen

De meest voorkomende afwijking bij CLL is deletie van de lange arm van chromosoom 13 (del13q14). Deze afwijking wordt bij ruim 50% van de patiënten met CLL gevonden en is gerelateerd aan een gunstige prognose. Laagrisicopatiënten met de gunstigste chromosoomafwijkingen hebben een gemiddelde overlevingsduur van tien à twaalf jaar. De groep met de ongunstigste afwijkingen (trisomie 12, deleties van de lange arm van chromosoom 11 en vooral deletie van de korte arm van chromosoom 17) overleeft echter gemiddeld slechts tweeënhalf à drie jaar. Deze ongunstige chromosoomafwijkingen worden vrijwel alleen gevonden in patiënten met ongemuteerde variabele

immunoglobuline genen. Overigens kunnen in het beloop van de ziekte nieuwe chromosoomafwijkingen ontstaan waarbij vaak progressie van de ziekte optreedt.

De komende jaren zal nog veel onderzoek verricht moeten worden om op te helderen hoe de verschillende chromosoomafwijkingen leiden tot verschillende prognoses. Inzicht daarin zal uiteindelijk wellicht de basis kunnen vormen van meer doelgerichte behandeling.

Deze chromosomale afwijkingen en de mutatiestatus van de antigeenreceptor zijn beide zeer krachtige en onafhankelijke prognostische parameters voor patiënten met een CLL. Anders geformuleerd: zij stellen ons in staat zeer relevante verschillen aan te tonen tussen patiënten die ogenschijnlijk hetzelfde stadium van dezelfde ziekte hebben.

Behandeling

Huidige richtlijnen

Gezien het heterogene beloop en het feit dat vroege behandeling van CLL de overleving niet verbetert en tot op heden geen curatieve therapie voorhanden is, moet per patiënt besloten worden óf en wanneer deze voor therapie in aanmerking komt. Het is van belang om vast te stellen dat behandeling alleen wordt gestart bij (het ontstaan van) ziektegerelateerde klachten en symptomen, en/of snelle progressie van de ziekte.

De klassieke eerstelijns therapie voor CLL bestaat uit alkylerende middelen als *chloorambucil* (*Leukeran*®) en *cyclofosfamide* (*Endoxan*®). Bij 30% tot 70% van de patiënten wordt een respons gezien, alhoewel zelden compleet. De behandeling dient te worden voortgezet tot een maximale respons is bereikt en kan dan worden gestaakt. Bij patiënten met Binet stadium A heeft het starten van de therapie (met chloorambucil) direct na diagnose geen voordeel boven behandeling na een “wait-and-see” periode. Er is wel uitstel van ziekte progressie maar geen betere overleving. Tevens zijn er aanwijzingen dat vroege behandeling de kans op het krijgen van acute myeloïde leukemie verhoogt.

Combinatie chemotherapie als *CVP* (cyclofosfamide, vincristine, en prednison) en *CHOP* (*CVP* met doxorubicine) geeft vergeleken met chloorambucil monotherapie geen

duidelijke verbetering van de respons. *CHOP* induceert alleen bij patiënten met Binet C een langere ziektevrije overleving dan chloorambucil, al is de overlevingsduur gelijk. Corticosteroiden zijn bij CLL minder werkzaam dan alkylerende middelen. Mede gezien de bijwerkingen dienen ze alleen te worden gebruikt als er ook auto-immuun complicaties zijn.

Het purine analogon *fludarabine* is een aanwinst bij de behandeling van CLL. In een recente grote studie waarin fludarabine en chloorambucil als eerstelijns behandeling werden vergeleken, werd in de fludarabine groep een totale respons gezien bij 63% versus 37% in de chloorambucil groep. Ook het percentage complete remissies was duidelijk hoger in de fludarabine groep (20% vs. 4%). Er was echter geen verschil in overlevingsduur tussen beide behandelingen. Dit zou deels kunnen worden verklaard door het cross-over design van de studie: veel chloorambucil- resistente patiënten reageerden op fludarabine, terwijl het omgekeerde slechts zelden het geval was. Fludarabine had wel meer bijwerkingen, met name hoge infectiekans door myelosuppressie. Of fludarabine, dat sinds kort ook in orale vorm beschikbaar is, nu de eerste keus van therapie wordt staat, mede gezien de prijs, nog ter discussie. Gezien de relatief hoge leeftijd van de patiënten is keuze voor het minst toxische middel goed verdedigbaar. De combinatie fludarabine en cyclofosfamide (FC) werd in een recente Duitse studie in onbehandelde jonge (≤ 65 jaar) CLL patiënten, vergeleken met Fludarabine monotherapie. FC resulteerde in een hogere response rate (94 vs. 85%), meer complete remissies (20 vs. 0%) en een langere progressievrije overleving (28 vs. 22 maanden). FC had echter wel meer bijwerkingen, met name myelosuppressie (25 vs. 13% graad 3-4), overigens zonder toename in infecties (2% in beide studiearmen). In Duitsland is FC derhalve nu de standaard eerstelijns behandeling in CLL patiënten ≤ 65 jaar.

Bij lokale klachten kan ook radiotherapie worden overwogen, omdat CLL cellen meestal gevoelig zijn voor bestraling. Bij herhaalde ernstige infecties en een lage immunoglobuline bloedspiegels (< 2 gram/l) is het (maandelijks) toedienen van immuunglobulines zinvol.

Monoclonale antistoffen

Anti-CD20 (*Rituximab, Mabthera®*) monotherapie is bij CLL niet erg effectief, waarschijnlijk door een lage expressie van CD20 op de CLL cellen. Afhankelijk van de dosis en het dosisinterval varieert de repons tussen de 14% en 35%. De combinatie van Rituximab, Fludarabine en Cyclofosfamide lijkt veelbelovend: in fase II studies werden ORR van 85% bereikt, waarvan 59% (moleculaire CR (MD)). De (toegevoegde) waarde van Rituximab in deze combinatie wordt momenteel in een aantal fase 3 studies onderzocht.

Anti-CD52 (*alemtuzumab, MabCampath®*) is sinds kort geregistreerd voor de derdelijns behandeling van CLL. In 2 studies werd een totale respons van 33% en een mediane overleving van 32 maanden gezien bij patiënten die progressieve ziekte hadden onder Fludarabine therapie. In een zeer recent gepubliceerd fase-2 onderzoek naar de waarde van anti-CD52 in de eerste lijn, werden 19% complete en 68% partiële remissies aangetoond. Aangezien CD52 ook tot expressie komt op normale B- en T-lymfocyten leidt deze behandeling, zeker bij voorbehandelde patiënten, tot (passagere) immuundeficiëntie met aanzienlijke kans op opportunistische infecties. en (deels subklinische) CMV reactivatie. Voor behandeling in de eerste lijn moeten de resultaten van grote gerandomiseerde studies worden afgewacht.

Stamceltransplantatie

Patiënten onder de 70 jaar met progressie onder standaard therapie zijn in kleine fase 2 studies behandeld met *autologe stamceltransplantatie*. De transplantatie gerelateerde mortaliteit varieerde van 4 tot 19%. Het percentage complete remissie na autologe stamceltransplantatie bedroeg ongeveer 80%, met een totale overlevingsduur tussen 50% en 80% na 4 jaar. Uiteindelijk treedt helaas toch vaak een recidief op. Autologe transplantatie lijkt dus geen curatieve therapie te zijn voor CLL, maar geeft wel verbetering van overleving bij patiënten met progressieve ziekte.

Allogene stamceltransplantatie kent een zeer hoge transplantatie gerelateerde mortaliteit, variërend van 25% tot 50%. In tegenstelling tot autologe transplantaties lijkt in 40% tot 60% curatie op te treden en bedraagt het percentage recidieven slechts 10 tot 25%.

Er is bij CLL nog maar beperkte ervaring met de zgn. non-myeloablatieve stamceltransplantatie (reduced intensity transplantation = RIST). De transplantatie gerelateerde mortaliteit lijkt echter aanzienlijk lager dan bij de “klassieke” allogene transplantatie. Het moge duidelijk zijn dat er op dit moment zeker (nog) geen plaats is voor stamceltransplantatie als eerstelijns behandeling van CLL. Stamceltransplantaties bij CLL dienen bij voorkeur in studieverband te geschieden.

Conclusie en richtlijnen voor een op het risico afgestemd beleid

Moet nu bij elke nieuwe CLL patiënt cytogenetisch onderzoek worden verricht en de mutatiestatus bepaald worden?

Vooralsnog moet deze vraag duidelijk ontkennend worden beantwoord. Het probleem is namelijk dat we nu weliswaar beter dan voorheen in staat zijn de individuele prognose van de CLL patiënt in te schatten, maar dat de optimale benadering van de hoogrisico patiënt (ongemuteerd, ongunstige chromosomale afwijkingen, korte LDT) onbekend is. Belangrijke vragen zijn: a) is voor deze groep “wait and see” geen optie meer en moet er, ook indien er geen klachten zijn, direct worden gestart met behandeling? b) zo ja, is intensieve therapie dan de beste keus? en c) waar dient die dan uit te bestaan?. In een aantal recent gestarte internationale studies worden niet eerder behandelde CLL patiënten gestratificeerd naar prognostische factoren. In de begin 2005 te starten Nordic-Dutch CLL studie worden onbehandelde CLL patiënten met klinisch stadium Binet B/C en Binet A (met indicatie tot behandeling !!), met ongunstige factoren (ongemuteerd en/of ongunstige chromosoomafwijkingen) gerandomiseerd tussen FC en FC gecombineerd met subcutaan MabCampath. Voor patiënten met een relapse loopt er in een aantal centra een internationale gerandomiseerde studie waarin de waarde van het toevoegen van Mabthera aan FC wordt onderzocht.

Hoe nu buiten trials?

Voor asymptomatische patiënten met Binet stadium A is “wait and see” de juiste benadering. Bij (ontstaan van) een indicatie voor behandeling is chloorambucil als eerste keus nog steeds verdedigbaar. In geval van resistentie en /of snelle relapse is het zinvol (zeker bij jonge patiënten) cytogenetisch onderzoek te doen en de mutatiestatus te bepalen. Bij hoog-risico patiënten lijkt momenteel de combinatie Fludarabine,

Cyclofosfamide en Rituximab het meest effectief. Bij jonge hoogrisico patiënten (<65 jaar) dient men in deze fase na te gaan of er HLA identieke sibs zijn, zodat een RIST (in trialverband) als eventuele tweede- of derdelijns therapie kan worden overwogen.

Literatuur

1. Shanafelt TD, Geyer SM, Kay NE. Prognosis at diagnosis: integrating molecular biologic insights into clinical practice for patients with CLL. *Blood*. 2004; 103:1202-10.
2. Oscier D, Fegan C, Hillmen P, Illidge T, Johnson S, Maguire P, Matutes E, Milligan D. Guidelines on the diagnosis and management of chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2004; 125:294-317.
3. Johnson AJ, Mone AP, Abhyankar V, Byrd JC. Advances in the therapy of chronic lymphocytic leukemia. *Curr Opin Hematol*. 2003;10(4):297-305.
4. 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;94:1848-54.
5. Damle RN, Wasil T, Fais F, Ghiotto F, Valetto A, Allen SL, et al. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999;94:1840-7.
6. Rosenwald A, Alizadeh AA, Widhopf G, Simon R, Davis RE, Yu X, et al. Relation of gene expression phenotype to immunoglobulin mutation genotype in B cell chronic lymphocytic leukemia. *J Exp Med* 2001;194:1639-47.
7. Hamblin TJ, Orchard JA, Ibbotson RE, Davis Z, Thomas PW, Stevenson FK, et al. CD38 expression and immunoglobulin variable region mutations are independent prognostic variables in chronic lymphocytic leukemia, but CD38 expression may vary during the course of the disease. *Blood* 2002;99:1023-9.
8. Dohner H, Stilgenbauer S, Benner A, Leupolt E, Krober A, Bullinger L, et al. Genomic Aberrations and Survival in Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med* 2000; 343: 1910-16.
9. Rassenti LZ, Huynh L, Toy TL, Chen L, Keating MJ, Gribben JG, Neuberger DS, Flinn IW, Rai KR, Byrd JC, Kay NE, Greaves A, Weiss A, Kipps TJ. ZAP-70 compared with immunoglobulin heavy-chain gene mutation status as a predictor of disease progression in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2004;351:893-901.
10. Dighiero G, Maloum K, Desablens B, Cazin B, Navarro M, Leblay R, et al. Chlorambucil in indolent chronic lymphocytic leukemia. French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med*. 1998;338:1506-14.
11. Rai KR, Peterson BL, Appelbaum FR, Kolitz J, Elias L, Shepherd L, et al. Fludarabine compared with chlorambucil as primary therapy for chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2000;343:1750-7.
12. Keating MJ, Flinn I, Jain V, Binet JL, Hillmen P, Byrd J, et al. Therapeutic role of alemtuzumab (Campath-1H) in patients who have failed fludarabine: results of a large international study. *Blood* 2002;9:3554-61.
13. van Besien K, Keralavarma B, Devine S, Stock W. Allogeneic and autologous transplantation for chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2001;15:1317-1325.

INTERACTIEVE SESSIE: MYELOIDE PATHOLOGIE

AANTEKENINGEN

HET MYELOYDYSPLASTISCH SYNDROOM

G. Verhoef, afdeling Hematologie, Universitaire Ziekenhuizen, Leuven

Inleiding

Klinisch wordt het myelodysplastisch syndroom (MDS) gekenmerkt door een heterogene groep van kwaadaardige hematologische aandoeningen. MDS openbaart zich meestal op oudere leeftijd met tekens van ineffektieve productie van bloedcellen (pancytopenie). Deze cytopenie staat in schril contrast met het meestal celrijke beenmerg, waarbij dysplastische kenmerken in één of meerdere cellijnen nooit ontbreken. Twintig tot 30% van de patiënten evolueert naar een acute, meestal myeloïde vorm van leukemie. Alhoewel er zowel klinische als morfologische gemeenschappelijke kenmerken zijn, heeft de FAB groep al in hun eerste publicaties een onderscheid gemaakt tussen AML (abrupt begin van symptomen en klachten, noodzaak tot snelle behandeling) en MDS. Deze laatste aandoening kent meestal een meer subacuut tot chronisch beloop. In de nieuwe WHO voorstellen wordt dit onderscheid misschien nog wat duidelijker getrokken (zie later).

Diagnose

Men moet aan de diagnose van MDS denken in het geval van anemie, leukopenie, trombopenie, monocytose of combinaties hiervan, tezamen met kenmerken van dysplasie waar niet direct een goede verklaring voor gegeven kan worden. Nauwkeurig onderzoek van zorgvuldig gekleurde en uitgestreken bloed- en beenmergpreparaten, aangevuld met een beenmergbiopsie is van groot belang om de diagnose MDS niet te missen. Geen enkele morfologische afwijking is diagnostisch, eerder een combinatie van afwijkingen leidt tot de diagnose. Daarentegen kunnen bepaalde aandoeningen (Vitamine B₁₂/foliumzuur deficiënties, virale infecties [b.v. HIV], gebruik van bepaalde medicamenten, blootstelling aan zware metalen, systeempathologie, nier en leveraandoeningen, alcoholmisbruik etc.) MDS nabootsen, vooral de beginstadia van MDS. Deze aandoeningen dienen dan ook uitgesloten te zijn alvorens men de diagnose MDS stelt, want MDS is een potentieel preleukemische ziekte met een slechte prognose!

Morfologische kenmerken (zie tabel 1)

Bij de meerderheid van de patiënten vindt men dysplastische kenmerken in twee of drie cellijnen. Dit ondersteunt de hypothese dat het defect bij MDS terug te vinden is op het niveau van de vroege progenitorcel. In de FAB classificatie is dysplasie in een celreeks daarentegen al voldoende voor het stellen van de diagnose. In tabel 6 zijn de dysplastische kenmerken samengevat, waar bij onderzoek van bloed en beenmerg naar moet worden gezocht. Alhoewel de nog te bespreken FAB classificatie zich hier nooit duidelijk over heeft uitgelaten, zal men in het algemeen deze afwijkingen in 10% van de aangedane cellijn moeten terugvinden. De WHO voorstellen zijn op dit punt duidelijker.

Tabel 1 Morfologische afwijkingen bij het myelodysplastisch syndroom

Cellijn	Bloed	Beenmerg
Erytropoïese	macro-ovalocytose, anisopoikilocytose dimorf bloedbeeld, basofiele punctering	hyperplasie, megaloblastoïd (ring)sideroblasten kernafwijkingen
Myelopoïese	voorlopercellen, hypo-agranulatie pseudo Pelger Huët, clumping, hypersegmentatie, hyperploïdie eosinofilie/basofilie (zelden) monocytose, abnormale lobulatie promonocyten	hypogranulatie, toename van myeloblasten Auerse staafjes, ringvormen toename van monocyten en promonocyten
Megakaryopoïese	macroplaatjes, hypogranulatie	mononucleaire/bilobaire vormen, micromegakaryocyten

Dyserytropoïese

Macrocytose (MCV>100 fl) is een opvallende bevinding, vaak in combinatie met anisocytose en poikilocytose van de rode bloedcellen. Een dimorf bloedbeeld (aanwezigheid van twee afzonderlijk te onderscheiden populaties van rode bloedcellen) is typisch, maar kan b.v. ook na een bloedtransfusie worden gevonden. In het beenmerg zijn de dysplastische kenmerken van de rode reeks vaak duidelijker te herkennen, zoals afwijkingen van de kern (abnormale vormen, kernfragmentatie, etc.) of cytoplasma (intense basofilie, Howell Jolly lichaampjes) of een combinatie van beide

(megaloblastoïde kenmerken). Een ijzerkleuring wordt verricht voor het zichtbaar maken van ijzerkorrels. Men spreekt van ringsideroblasten indien de erytroblast 5 of meer korrels bevat die gelokaliseerd zijn als een ring rond de kern. Ook het percentage van ringsideroblasten is belangrijk voor een verdere onderverdeling van MDS (zie later).

Dysgranulopoïese

Veel voorkomende afwijkingen van de granulopoïese zijn hypogranulatie en hyposegmentatie van de granulocyt (pseudo Pelger Huët). Deze dysplastische afwijkingen (b.v. hypogranulatie) verklaren deels ook de verhoogde infectiegevoeligheid van patiënten met MDS (kwantitatief naast kwalitatief). In het beenmerg vertonen de myeloïde voorlopercellen vaak hypogranulatie. Andere, minder vaak voorkomende kernafwijkingen, zijn hypersegmentatie en clumping van het kernchromatine (blokken van kernchromatine die los van elkaar lijken te liggen en daardoor de indruk van kernfragmentatie geven). Men lette ook op de aanwezigheid van Auerse staafjes in het cytoplasma van de myeloblasten of granulocyttaire voorlopercellen.

Dysmegakaryopoïese

Kwalitatieve afwijkingen van de megakaryocyten zijn bij het morfologisch onderzoek belangrijker dan de kwantitatieve afwijkingen, alhoewel soms het aantal zowel verhoogd als verlaagd kan zijn. Op het bloeduitstrijkje vindt men dikwijls grote, hypogranulaire bloedplaatjes. Bij meer dan 50 procent van patiënten met MDS worden er afwijkingen gevonden aan de megakaryocyten. Vaak vindt men micromegakaryocyten (< 20µm diameter), megakaryocyten met meerdere kleine lobben en grotere monolobaire vormen. De aanwezigheid van micromegakaryocyten en pseudo Pelger vormen van de granulocyt is de meest specifieke marker voor MDS. Een kleine, monolobaire megakaryocyt met een ronde, aan de buitenkant gelegen kern, wordt geassocieerd met een typische cytogenetische afwijking (deletie van de lange arm van chromosoom 5, 5q-).

Deze kwantitatieve en, met name, kwalitatieve afwijkingen van de megakaryopoïese vertalen zich ook in functionele stoornissen (verlengde bloedingstijd).

Indeling van het myelodysplastisch syndroom volgens de FAB criteria

Indien men op grond van de hierboven beschreven afwijkingen denkt aan de diagnose van myelodysplasie, is het voor de patiënt van belang te weten hoe zijn prognose is en welke behandeling hij of zij zal moeten ondergaan. Op grond van het aantal blasten in het bloed en beenmerg, het aantal monocytën en de aan- of afwezigheid van Auerse staafjes, heeft de FAB groep vijf subgroepen onderscheiden (zie tabel 2). Patiënten met refractaire anemie (RA) en refractaire anemie met ringsideroblasten (RARS) hebben een mediane overleving tussen de 40-60 maanden en kans op leukemische transformatie van 10-15%. Daarentegen hebben patiënten met refractaire anemie met excess aan blasten (RAEB) en RAEB in transformatie een mediane overleving tussen de 6-12 maanden en kans op leukemische evolutie van 30-50%. De overleving en kans op leukemische onttaarding van de groep van patiënten met chronische myelomonocyttaire anemie houdt het midden tussen RA/RARS enerzijds en RAEB/RAEBt anderzijds.

Tabel 2 Indeling van MDS volgens de FAB criteria

FAB categorie	Blood		Beenmerg
Refractaire anemie (RA)*	Blasten $\leq 1\%$ monocytën $\leq 1 \times 10^9/l$	en	blasten $< 5\%$, ringsideroblasten $\leq 15\%$ v.d. erytroblasten
RA met ringsideroblasten (RARS)*	als RA	en	blasten $< 5\%$, ringsideroblasten $> 15\%$ v.d. erytroblasten
RA met excess aan blasten (RAEB)	Blasten $> 1\%$ en $< 5\%$ monocytën $< 1 \times 10^9/l$	en/of	blasten $\geq 5\%$ en $\leq 20\%$
RAEB in transformatie (RAEBt)	Blasten $\geq 5\%$ of Auerse staafjes	of	blasten $> 20\%$ en $< 30\%$ of Auerse staafjes
Chronische myelomonocyttaire leukemie (CMML)	Monocytën $> 1 \times 10^9/l$ blasten $< 5\%$	en	blasten $\leq 20\%$

- * De meeste patiënten presenteren zich met anemie, sommigen echter zonder anemie maar met granulopenie en/of trombopenie. Refractaire cytopenie zou een meer gepaste term zijn. De WHO is hier duidelijker (zie later).

Het percentage myeloblasten bij een sterk vertegenwoordigde erythropoïese

Indien het percentage van erytroblasten meer dan 70% bedraagt, zou de diagnose van acute myeloïde leukemie niet meer gesteld kunnen worden aangezien het aantal myeloblasten per definitie onder de 30% valt. Wanneer echter de myelopoïese uitrijpt tot het stadium van myeloblasten/promyelocyten, lijkt de diagnose van acute leukemie wel gerechtvaardigd.

Daarom heeft de FAB de volgende aanbevelingen gedaan:

- Bepaal eerst het absolute percentage van rode voorlopercellen
- Indien het percentage van erytroïde voorlopercellen 50% of meer bedraagt, bepaalt het percentage niet-erytroïde blasten (NEC) de diagnose van AML (FAB M6) of MDS.

Bedraagt b.v. het percentage erytroblasten 80% en het percentage van myeloblasten 10%, dan zal het percentage van myeloblasten daarna worden berekend op de NEC (10/20 of 50%) en dient de diagnose van AML M6 te worden gesteld. Bedraagt daarentegen het percentage myeloblasten 2% (2/20 of 10%), dan wordt de diagnose van MDS (RAEB) gesteld. Bij de bespreking van acute leukemie is het belang van aanvullend onderzoek naast het morfologisch onderzoek al ter sprake gekomen. Dezelfde bedenkingen gelden bij het myelodysplastisch syndroom voor het stellen van een precieze diagnose en bepaling van prognose. Informatie vanuit de botbiopsie is aanvullend en van prognostisch belang (bepaling van cellulariteit, fibrose, ALIP, CD34-positiviteit etc.). Het immunologisch onderzoek geeft nog niet dezelfde informatie als bij acute leukemie, maar lijkt toch belangrijker te worden (% CD34 positieve cellen en prognose, onderscheid myeloblasten, erytroblasten in botbiopsie, identificeren van (micro)megakaryocyten (blasten) m.b.v. CD41, CD61 etc.). Het (moleculair) cytogenetisch onderzoek is essentieel bij een onzekere diagnose van MDS (b.v. minimale dysplastische afwijkingen), voor het herkennen van bepaalde varianten (5q-syndroom) en typen (secundaire MDS en monosomie 7), maar vooral ook voor het prognostische belang en het voorspellen van resultaat van therapie. Ook andere

moleculaire onderzoeken (bestuderen van mutaties aan RAS oncogen, tumor-suppressor genen, telomerase activiteit, X-chromosoom inactivatie etc.) worden steeds belangrijker, niet alleen vanuit pathogenetisch standpunt, maar ook voor screeningsdoeleinden in risicogroepen, zeker indien men zich realiseert dat een morfologisch herkenbare diagnose eigenlijk een laat evolutiestadium van MDS vertegenwoordigt.

Prognose bij MDS

De FAB heeft wel degelijk enig prognostisch belang (RA/RARS beter dan RAEB/RAEBt). Toch blijkt uit meerdere publicaties dat de prognose van RA en RARS sterk verschilt. Enkele jaren geleden hebben hematologen aan beide kanten van de oceaan daarom getracht op grond van relatief eenvoudige karakteristieken te komen tot een betere voorspelling wat betreft de kans op leukemische evolutie en overleving. Aan bepaalde prognostische variabelen (het percentage blasten, het karyotype en de graad van cytopenie) werden punten toegekend (zie tabel 3).

Tabel 3. International Prognostic scoring system for MDS

Score	0	0.5	1.0	1.5	2.0
% blasten	< 5	5-10	--	11-20	20-30
Karyotype*	Goed	Intermediair	slecht		
Cytopenie**	0-1	2-3			

*Karyotype: goed=normaal, -Y, del(5q), del(20q); Slecht= complexe afwijkingen (≥ 3 afwijkingen) of afwijkingen chromosoom 7; intermediair=andere afwijkingen

**Cytopenie=Hb < 10 g/dl, neutrofielen < 1500/ μ l, trombocyten < 100x10⁹/l

Door de toegekende punten op te tellen onderscheidt dit scoringssysteem vier risicogroepen: laag: 0 punten; intermediair I: 0.5-1; intermediair II: 1.5-2; en hoog risico: ≥ 2.5 punten. Vergeleken met de FAB classificatie blijkt dit scoringssysteem in de praktijk beter in staat de prognose (overleving en kans op leukemische ontaarding) voor de individuele patiënt te voorspellen.

De World Health Organization (WHO) classificatie van myelodysplastische syndromen

De hierboven besproken FAB classificatie voor myelodysplastische syndromen is grotendeels een beschrijvende indeling die gebruik maakt van de Romanowsky kleuring en aangevuld wordt door een beperkt aantal andere kleuringen. Toch bleek de FAB classificatie niet altijd in staat te zijn het klinische beloop en overleving in een bepaalde FAB categorie consistent te voorspellen (antwoord op therapie en bereiken van complete remissie, leukemie-vrije overleving en overleving). Andere technieken, zoals immuun-fenotypering, en cytomoleculaire genetica waren vaak beter in staat een uitspraak doen over de prognose.

Daarom zijn er de laatste jaren intensieve contacten geweest tussen klinici en pathologen om deze nieuwe technieken te integreren binnen de morfologie. De nieuwe WHO classificatie die onlangs is gepubliceerd, is het uiteindelijke resultaat van deze integratie. Het is een voorstel en werkdocument waarvan men hoopt dat het kan rekenen op een brede consensus aan beide kanten van de oceaan en waarvan de prognostische waarde zich in de praktijk nu moet bewijzen. Het is met grote zekerheid te zeggen dat deze classificatie regelmatig moet worden herwerkt gezien de snelle ontwikkelingen binnen de moleculaire diagnostiek en het noodzakelijk valideren van deze voorstellen. De belangrijkste verschilpunten zijn als volgt samen te vatten:

- percentage blasten voor de diagnose van acute leukemie is verlaagd naar $\geq 20\%$. Hierdoor vervalt de MDS subcategorie RAEBt
- integreren van cytomoleculaire bevindingen voor (zij het nog zeer beperkt) myelodysplastische syndromen
- onderscheid tussen unilineage versus multilineage dysplasie en vereiste percentage hiervoor (MDS en acute myeloïde leukemie)
- integreren van de voorgeschiedenis en eventuele behandeling van patiënt

Hieronder volgt een korte samenvatting van de belangrijkste voorstellen betreffende de indeling van myelodysplastische syndromen. Voor meer details wordt u verwezen naar de gelijktijdige publicaties in JCO en Annals of Oncology (1999) en de inmiddels al weer verfijnde versie in het “blue book” (zie literatuurlijst).

WHO classificatie voor het myelodysplastisch syndroom

De belangrijkste verschillpunten met de FAB classificatie zijn als volgt samen te vatten:

- **FAB categorie RAEBt vervalt** omdat de diagnose van AML nu wordt gemaakt wanneer het percentage blasten 20% of meer bedraagt. Patiënten met MDS en Auurse staafjes met minder dan 20% blasten worden nu geclassificeerd als RAEB-2
- **Betere afspraken wanneer men een cellijn dysplastisch mag noemen** ($\geq 10\%$ van de cellen) en onderscheid of één of meerdere cellijnen dysplastisch is/zijn met herdefiniëring van RA/RARS en nieuwe categorieën RCMD/RS en MDS-U

De subcategorie RA volgens de WHO mag gesteld worden wanneer er sprake is van anemie en slechts de rode cellijn dysplastisch is (unilineage erythroïd) met dezelfde criteria voor het percentage blasten als in de FAB ($< 1\%$ blasten in bloed, $< 1 \times 10^9/L$ monocytën, $< 5\%$ blasten in beenmerg en $< 15\%$ ringsideroblasten zonder de aanwezigheid van Auurse staafjes). Uiteraard dienen alle secundaire oorzaken te zijn uitgesloten. Voor RARS volgens de WHO gelden dezelfde criteria als RA maar met $\geq 15\%$ ringsideroblasten.

Een nieuwe categorie is toegevoegd indien er sprake is van bi- of pancytopenie en minstens twee cellijnen dysplastisch zijn met verder dezelfde exclusiecriteria als voor RA/RARS volgens WHO: refractaire cytopenie met multilineage dysplasie (RCMD) en RCMD met ringsideroblasten (RCMD-RS). De rede waarom de WHO met dit voorstel komt en dit onderscheid wenst te benadrukken, wordt ingegeven door publicaties die een verschil hebben aangetoond in leukemische evolutie en overleving ten nadele van de multilineage dysplasie.

Indien er sprake is van leukopenie of trombopenie en slechts één cellijn dysplastisch is anders dan de erythroïde cellijn (b.v. dysplastische granulopoïese of dysplastische megakaryopoïese) met wederom dezelfde exclusiecriteria als voor RA/RARS, dan spreekt men van MDS unclassified (MDS-U).

- **Onderverdeling RAEB op grond van percentage blasten:** RAEB-1 en RAEB-2. Het prognostisch belang van het percentage blasten wordt in dit voorstel geapprecieerd.

In het geval van RAEB-1 is sprake van cytopenie, $< 5\%$ blasten en $< 1 \times 10^9/L$ monocytën in bloed, geen Auurse staafjes en in het beenmerg dysplasie (uni- of multilineage) en 5-9% blasten. Voor RAEB-2 worden de volgende eisen gesteld:

cytopenie, 5-19% blasten en $<1 \times 10^9/L$ monocyten in bloed \pm Auerse staafjes met in het beenmerg dysplasie, 10-19% blasten \pm Auerse staafjes.

- **Aparte categorie MDS met geïsoleerde del(5q).** Deze entiteit stond vroeger al bekend als het zogenaamde “5q- syndroom”: macrocytaire anemie, meestal lichte leukopenie, normaal tot verhoogd aantal trombocyten, de typische mono- of bilobaire megakaryocyten en eerder gunstige prognose.
- **FAB categorie CMMOL wordt niet meer bij MDS ondergebracht** maar in een aparte categorie ‘MDS/MYPRO’. CMMOL presenteert zich vaak met zowel kenmerken van myelodysplasie (ineffectieve hematopoïese) als myeloproliferatie (verhoogd aantal leukocyten/monocyten, vaak splenomegalie).
- **Cytogenetica.** Patiënten met een laag percentage blasten ($< 20\%$) en de cytogenetische afwijkingen t(8;21), inv(16) en t(15;17) worden niet meer bij MDS ondergebracht, maar bij AML.

Tabel 4. WHO classificatie voor MDS

Categorie	Bloed	Beenmerg
Refractaire anemie (RA)	Anemie, $< 1\%$ blasten, geen Auerse staafjes, $< 1 \times 10^9/l$ monocyten	Dysplastische erythroïde reeks, $< 5\%$ blasten, $< 15\%$ ringsideroblasten
RA met ringsideroblasten (RARS)	Zie RA	Zie RA, maar $\geq 15\%$ ringsideroblasten
Refractaire cytopenie met multilineage dysplasie (RCMD)	Bi- of pancytopenie, zie verder RA	Dysplasie in 2 of 3 cellijnen, zie verder RA
RCMD met ringsideroblasten (RCMD-RS)	Zie RCMD	Zie RCMD, maar $\geq 15\%$ ringsideroblasten
Refactaire anemie met teveel aan blasten-1 (RAEB-1)	Cytopenie, $< 5\%$ blasten, geen Auerse staafjes, $< 1 \times 10^9/l$ monocyten	Uni- of multilineage dysplasie, 5-9% blasten, geen Auerse staafjes
Refactaire anemie met teveel aan blasten-2 (RAEB-2)	Cytopenie, 5-19% blasten, \pm Aueser staafjes, $< 1 \times 10^9/l$ monocyten	Uni- of multilineage dysplasie, 10-19% blasten, \pm Auerse staafjes
MDS-niet verder te klasseren (MDS-U)	Cytopenie, geen of zelden blast, geen Auerse staafjes, $< 1 \times 10^9/l$ monocyten	Unilineage dysplasie van of myelopoïese of megakaryopoïese, $< 5\%$ blasten, geen Auerse staafjes
MDS met geïsoleerde del(5q)	Anemie, meestal normaal of verhoogd aantal trombocyten, $< 5\%$ blasten, $< 1 \times 10^9/l$ monocyten	Vaak verhoogd aantal megakaryocyten met hypolobulaire kern, $< 5\%$ blasten, geen Auerse staafjes en geïsoleerde del(5q)

Ik zou nogmaals willen benadrukken dat de WHO classificatie voor myelodysplastische syndromen een voorstel is en nog niet algemeen aanvaard wordt. Wel lijkt deze classificatie door o.a integratie van immuunfenotypering en cytomoleculaire genetica, tegemoet te komen aan een aantal tekortkomingen van de FAB indeling. Persoonlijk betreur ik dat chromosomale afwijkingen, met uitzondering van het 5q- syndroom, niet zijn opgenomen in de WHO classificatie voor MDS, aangezien chromosomale afwijkingen, tezamen met het percentage blasten, een belangrijke prognostische waarde hebben. Ik mag voor de geïnteresseerde lezer voor de problematiek rond FAB en WHO verwijzen naar recente discussies hieromtrent in Blood.

In ons ziekenhuis wordt tot nader orde de diagnose volgens de FAB- en WHO classificatie beide opgegeven.

**MYELOPROLIFERATIEVE ZIEKTEN; NIEUWE ONTWIKKELINGEN IN
DIAGNOSTIEK EN THERAPIE**

*G.J. Ossenkoppele, Afdeling Hematologie, Vrije Universiteit Medisch Centrum,
Amsterdam*

AANTEKENINGEN

MYELOABLATIVE HLA-IDENTICAL SIBLING STEM CELL TRANSPLANTATION IN FIRST REMISSION ACUTE MYELOID LEUKEMIA IN YOUNG AND MIDDLE AGED ADULTS: BENEFITS FOR WHOM? RESULTS OF A HOVON/SAKK DONOR VERSUS NO DONOR ANALYSIS

J. J. Cornelissen, afdeling Hematologie, ErasmusMC-Daniël Den Hoed, Rotterdam

The HOVON-SAKK collaborative study group evaluated outcome of patients (pts) with AML in first remission (CR1) entered in 3 consecutive studies according a donor versus no donor comparison. Between 1987 and 2004, 2287 pts were entered in these studies of whom 1032 pts (45%) without FAB M3 or t(15;17) were in CR1 after 2 cycles of chemotherapy, received consolidation treatment, and were younger than 55 years of age and therefore eligible for allo-SCT. An HLA-identical sibling donor was available for 326 pts (32%), while 599 pts (58%) lacked such a donor and information was not available in 107 pts. Compliance with allo-SCT was 82% (268 out of 326). Cumulative incidences of relapse were, respectively, 32% versus 59% for pts with versus those without a donor ($P < 0.001$). Despite more treatment related mortality (TRM) in the donor group (21% versus 4%, $P < 0.001$), disease free survival (DFS) appeared significantly better in the donor group (48% (± 3) versus 37% (± 2) in the no-donor group, $P < 0.001$). Following risk-group analysis, DFS was significantly better for pts with a donor and an intermediate ($P = 0.01$) or poor risk profile ($P = 0.003$) and also better in pts younger than 40 years of age ($P < 0.001$). We evaluated our results and those of the previous MRC, BGMT and EORTC studies in a meta-analysis, which revealed a significant benefit of 12% in overall survival (OS) by donor availability for all patients with AML in CR1 without a favorable cytogenetic profile.