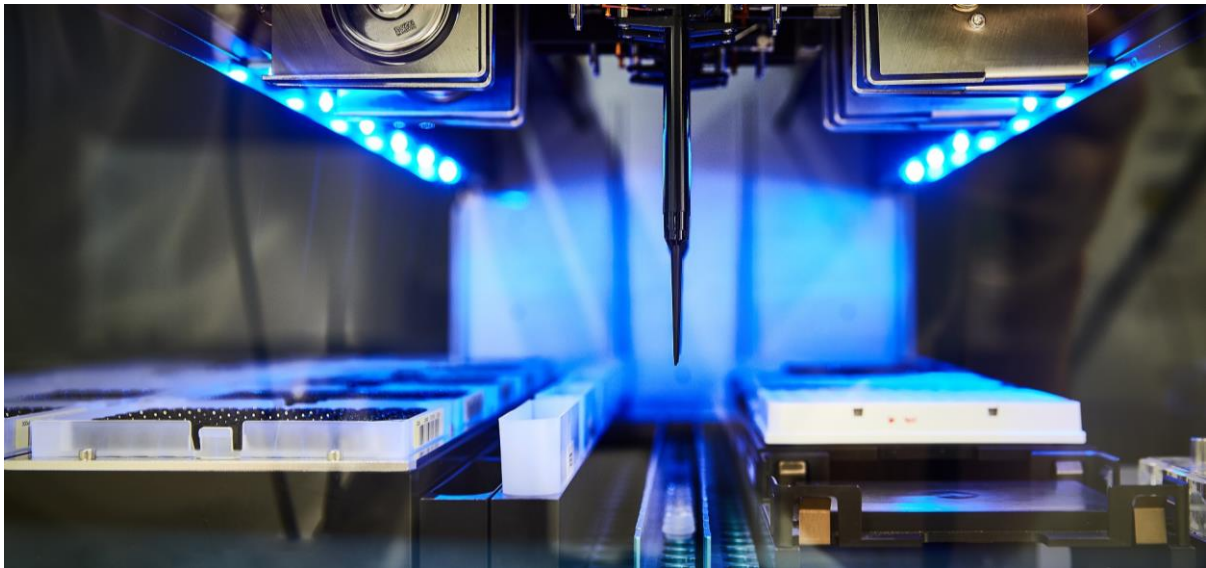




MLL News

15.06.2020



4-stufiges (4-Tier) System zur Bewertung von Sequenzvarianten

In den letzten Jahren haben Sequenzdaten, die uns sowohl aus erkrankten wie auch aus gesunden Geweben zur Verfügung stehen, deutlich zugenommen. Einer der Hauptgründe für diese Entwicklung ist die Einführung neuer Sequenziertechnologien, dem sogenannten Next-Generation-Sequencing (NGS), das es uns aktuell erlaubt, komplette menschliche Genome in wenigen Tagen zu sequenzieren. Die Vielzahl an Veränderungen, die im Rahmen dieser Entwicklung zwischen unterschiedlichen gesunden Individuen und – für uns von besonderem Interesse – zwischen gesundem und erkranktem Gewebe identifiziert wurden, stellt die Diagnostik bei der Klassifizierung dieser Veränderung vor große Herausforderungen.

Was unterscheidet „eindeutig pathogen“ von „Polymorphismus“?

Sequenzveränderungen wurden klassischerweise in die Kategorien „Mutation“ und „Polymorphismus“ unterteilt, wobei lediglich erstere als relevant oder pathogen erachtet wurde. Mittlerweile ist das Spektrum allerdings wesentlich breiter. Das eindeutig pathogene Ende des Spektrums machen die Veränderungen aus, die funktionell bestens charakterisiert sind und die beispielsweise therapeutische oder auch diagnostische oder prognostische Konsequenzen nach sich ziehen. Das andere Ende stellen eben jene Veränderungen dar, die man als Polymorphismen bezeichnet und die nach derzeitigem Wissensstand keine krankheitsauslösenden Funktionen aufweisen. Letztere können in vielen Fällen über die Häufigkeit, mit der sie in der Bevölkerung vorkommen, identifiziert werden.

Welche Veränderungen liegen zwischen diesen Extremen?

Eine Abstufung in der Bewertung wird dann nötig, wenn anstatt der typischen Mutation („hotspot“) in einem Gen, für die eine zielgerichtete Therapie existiert, eine andere Aminosäureposition betroffen ist. Als Therapie-Targets sollen hier stellvertretend die Veränderungen p.V600E im **BRAF** Gen oder auch p.V617F im **JAK2** Gen genannt werden. Sind bei beiden Genen Positionen außerhalb der hotspots



betroffen und sind diese funktionell bisher nicht charakterisiert, dann ist eine zielgerichtete Therapie nicht zwingend möglich und diese Veränderungen können nicht als eindeutig, sondern nur als „möglicherweise pathogen“ bezeichnet werden.

Im Gegensatz zu den Genen, die durch *hotspot* Mutationen charakterisiert sind, sind andere durch Veränderungen über die komplette Gensequenz hinweg betroffen. Hier ist wiederum ein Abgleich mit vorhandenen Datenbanken wichtig, ggf. in Verbindung mit *in silico* Vorhersagen, um eine „eindeutig“ oder nur „möglicherweise pathogen“ Bewertung zu treffen.

Veränderungen, die in den bekannten Datenbanken oder auch der sehr großen MLL-internen Datenbank noch (nahezu) unbekannt sind und bei denen aufgrund der Mutationslast der Verdacht auf einen angeborenen Polymorphismus besteht, werden bestenfalls als *Variante (unbekannter Signifikanz)* klassifiziert. Eine Analyse von Normalgewebe (z. B. Mundschleimhaut, Fingernagel) bringt hier Aufschluss über die Herkunft der Veränderung (somatisch oder angeboren).

Angelehnt an das weltweit am meisten genutzte 4-Klassensystem (4-Tier) zur Bewertung von Sequenzvarianten¹, hat das MLL nun auch ein 4-stufiges Bewertungssystem eingeführt. Dieses reicht von Tier 1 = eindeutig pathogen, über Tier 2 = möglicherweise pathogen, Tier 3 = Variante unbekannter Signifikanz, bis hin zu Tier 4 = Polymorphismus. [Weitere Erläuterungen zum Thema finden Sie auf unserer Webseite.](#)

¹ Li MM et al. Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists. *J Mol Diagn* 2017;19:4-23.

Autor: Dr. Frank Dicker

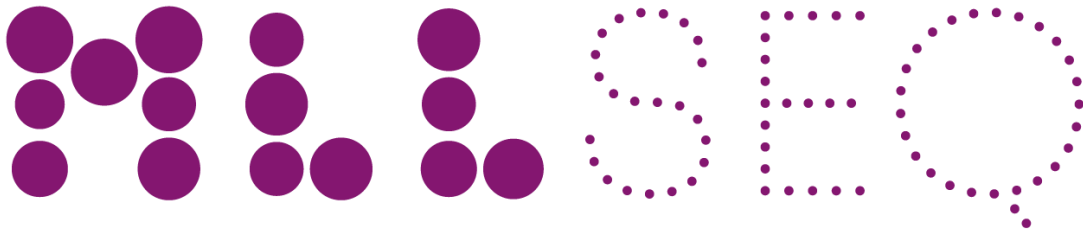
MLLSEQ – unser Sequencing-Service erscheint in neuem Outfit

Vor einem Jahr haben wir Ihnen MLL Dx vorgestellt, das Schwesterunternehmen vom MLL, das unser umfangreiches Expertenwissen für Einsender aus dem Ausland und der Pharmaindustrie für klinische Studien anbietet. Daneben ermöglicht der Sequenzierungsservice Forschern und Klinikern unser Sequenzierungs-Knowhow und die komplette Infrastruktur des MLL zu nutzen. Dieser Sequenzierungsservice wurde sehr gut angenommen, sodass wir ihn nun weiter ausbauen wollen. Dazu haben wir das neue Label MLLSEQ ins Leben gerufen und mit einem eigenen Logo sowie einer komplett neuen Homepage ausgestattet. Schauen Sie es sich an, unter www.mllseq.com.

Zusammen mit dem Münchner Design Studio Blackspace haben wir in einem spannenden Entwicklungsprozess zur Markenarchitektur das neue Erscheinungsbild und die dazugehörige Homepage für den Sequenzierungsservice geschaffen: **MLLSEQ – we are the next generation: Sequencing Services**. Unter diesem Label bieten wir nun unser umfangreiches Next Generation Sequencing (NGS) Wissen von der *Library Preparation* bis zum *Sequencing only* sowie umfassende bioinformatische Prozessierung und auch Visualisierung der generierten Daten an.



Im neuen MLLSEQ Logo in *deep purple* erscheint die Selbstständigkeit des Labels mit klarer Assoziation zur großen Schwester MLL. Maximaler Qualitätsanspruch, Flexibilität und schnelle Bearbeitungszeiten sind daher auch bei MLLSEQ das Credo. MLLSEQ ist nach ISO 15189 und 17025 akkreditiert und Illumina Propel zertifiziert.



In den letzten fünf Jahren konnten wir sehr viel Erfahrung bei der Sequenzierung von Exomen, Genomen und Transkriptomen sammeln, die wir jetzt gerne in der Projektplanung auch an unsere Kunden weitergeben. Wir sehen uns als Partner in Wissenschaft und Forschung und wollen daher beim Thema NGS maximal unterstützen. Unsere Workflows sind in allen Schritten qualitätskontrolliert und gleichzeitig durch Automatisierung auf hohen Durchsatz ausgelegt. So können wir in unserem Setting bis zu 250 humane Genome (WGS¹) mit 90x Coverage pro Woche sequenzieren und durch die parallelisierte Prozessierung in der privaten Cloud schnell bioinformatisch verarbeiten. Das erlaubt uns bereits nach sieben Tagen ein WGS abzuschließen und die Ergebnisse bereitzustellen. Auch unsere dafür aufgesetzten bioinformatischen Pipelines sind akkreditiert und entsprechen der DSGVO² folgend allen Datenschutzerfordernungen.

Neben den targeted NGS Panels, die wir in der MLL-Routine zur Diagnostik von Leukämien und Lymphomen täglich nutzen, bieten wir auch ein CHIP³ Panel an, das z.B. für kardiologische Patienten von Interesse ist, sowie jede weitere Form von customized Panel. In letzterem Falle arbeiten wir eng mit IDT - Integrated DNA Technologies zusammen, deren Panel Design wir *in silico* und dann auch im Labor in 5-6 Wochen kurzfristig testen und optimieren können.

Wenn Sie einen Partner im Bereich der Sequenzierung suchen, freuen wir uns, Sie unterstützen zu können. Unser gesamtes Angebot zeigen wir unter www.mllseq.com.

Im *Glossary* auf der Homepage haben wir außerdem Erklärungen zusammengestellt, um die Begrifflichkeiten der Sequenzierung leichter einordnen zu können. Daneben finden sich unter *Publications* auch Links mit Veröffentlichungen zu „unseren“ Sequenzierungsprojekten und Themen wie Whole Genome Sequencing und RNASeq. Über Ihre Fragen freuen wir uns entweder über das Kontaktformular „contact us“ oder direkt an info@mllseq.com. Wir freuen uns über Ihren virtuellen Besuch!

¹ Whole Genome Sequencing

² Datenschutzgrundverordnung

³ clonal hematopoiesis of indeterminate potential

Autorin: Dr. Manja Megendorfer



Zum Sinn von Next Generation Sequencing bei Verdacht auf myeloische Neoplasie

Vor kurzem publizierten die Kolleginnen und Kollegen um S. Vantyghem (Haematologica 01.03.2021, Seite 701-707)^{1,2} eine „Real-Life-Studie“. Im Mittelpunkt der Analysen standen 177 Patienten mit gemutmaßten oder bereits gesicherten myeloischen Neoplasien wie MDS oder MPN ohne finale Diagnose mittels Zytomorphologie und Immunphänotypisierung. Dabei wurde in einer ersten Kohorte ein NGS-Panel mit 34 Genen verwendet, um eine definitive Diagnose auszuschließen beziehungsweise zu stellen. In einer zweiten Kohorte wurde der Frage nachgegangen, inwiefern daraus prognostische und insbesondere auch therapeutische Konsequenzen zu ziehen wären, wenn somatische Mutationen nachweisbar waren. Diese Studie möchte ich Ihnen in diesem Artikel vorstellen.

Die Ausgangskonstellationen waren z. B. Anämie, Thrombozytopenie, Neutropenie oder insgesamt Panzytopenie, in anderen Fällen aber auch Thrombozytose oder Monozytose. Bis zur Auswertung der molekularen Analysen waren die finalen Diagnosen z. B. ICUS, Verdacht auf MDS/MPN oder auch Verdacht auf aplastische Anämie, fragliche MPN waren unauffällig für die klassischen 3 Treibermutationen. Für die Patienten in der zweiten Gruppe lagen schon Diagnosen auf der Basis der Morphologie und der Zytogenetik vor, zumeist mit Niedrigrisiko eines entsprechenden Scoring Systems.

Mittels NGS zeigte sich für die erste Gruppe bei einem Drittel der Patienten eine klonale Hämatopoese mit zumindest einer somatischen Mutation. Am häufigsten waren die Gene *ASXL1*, *TET2* und *DNMT3A* betroffen. Diese finden sich natürlich auch bei **klonaler Hämatopoese von unbestimmtem Potenzial (CHIP)**. Der Nachweis bei schon auffälligen Blutveränderungen sollte zu engmaschigeren weiteren Kontrollen führen; gegebenenfalls wäre aber auch ein fehlender Nachweis von somatischen Mutationen ein hilfreicher klinischer Informationsgewinn. Bei 33 % der Fälle konnte durch Positivbefund jedenfalls die Diagnose erhärtet, in weiteren 50 % durch Negativbefund weitestgehend eine maligne Erkrankung ausgeschlossen werden. Die Autoren regen an, solche Ergebnisse bei unklarer Konstellation in die klinische Entscheidungsfindung mit einzubeziehen, um diagnostische und therapeutische Unsicherheiten zu reduzieren.

Für die zweite Kohorte waren neben prognostisch relevanten Mutationen wie *ASXL1* oder *RUNX1* auch therapeutisch wichtige Mutationen wie z. B. in *SF3B1* nachgewiesen worden. Insgesamt gehen die Autoren somit davon aus, dass bei unklaren Konstellationen die klinische Sicherheit der Diagnostik und die Beratung der Patienten bei 83 % der untersuchten Fälle verbessert werden, und für 19 % der untersuchten Fälle (Kohorte 2) sich prognostische und/oder therapeutische relevante Informationen ergeben haben. Die Publikation beschäftigt sich darüber hinaus auch mit der Frage, inwieweit die hier enthaltenen Informationen durch das myeloische NGS-Panel nicht nur klinisch und therapeutisch, sondern auch im Rahmen einer Gesamtkostenkalkulation relevant sein können. Wiederholte und weitere diagnostische Maßnahmen oder gegebenenfalls auch eine Übertherapie (z. B. allogene Transplantation) bei Patienten könnten durch Ausschluss klonaler Veränderungen



vermieden werden. Weitere vergleichende Analysen werden angeregt. In Anbetracht der fallenden Kosten für Sequenzierung ist aber schon jetzt davon auszugehen, dass nicht nur der klinische Zugewinn für Patienten sondern auch der ökonomische Nutzen in Zukunft eine frühzeitigere Verwendung von molekularen Screenings mittels NGS sinnvoll macht.

¹Vantyghem S et al. Diagnosis and prognosis are supported by integrated assessment of next-generation sequencing in chronic myeloid malignancies. A real-life study. *Haematologica* 2021;106(3):701-707.

²Haferlach T. The time has come for next-generation sequencing in routine diagnostic workup in hematology. *Haematologica* 2021;106(3):659-661.

Autor: Prof. Dr. Dr. Torsten Haferlach



Neuerungen auf der MLL-Website im Bereich „Erkrankungen/Diagnostik“

Die [Seite „Erkrankungen/Diagnostik“](#) auf der Website des Münchner Leukämielabors beschreibt unter anderem ausführlich Diagnostik, Klassifikationen und Prognosen hämatologischer Erkrankungen. In den letzten Monaten wurde die Website weiter aktualisiert. Neue hämatologische Entitäten wurden mit aufgenommen. Und im Rahmen der weiteren Internationalisierung des Unternehmens sind die [Texte ab sofort auch in englischer Sprache verfügbar](#).

Höchste wissenschaftliche Ansprüche und interdisziplinäre Zusammenarbeit führen zu einer kontinuierlichen Erweiterung des Angebots des Münchner Leukämielabors. Das Team des MLL, bestehend aus erfahrenen Ärzten/innen, Biologen/innen, Bioinformatikern/innen und Medizinisch-technischen Assistenten/innen arbeitet intensiv daran, die Diagnostik hämatologischer Erkrankungen weiter zu optimieren und somit gezieltere und effizientere Therapien für den Patienten noch schneller zu ermöglichen.

Auch die Website muss diesen Ansprüchen gerecht werden und bietet deshalb umfangreiche Informationen an. So finden Sie auf der Webseite beispielsweise ausführliche und aktuelle Texte über eine Vielzahl von hämatologischen Erkrankungen und deren Klassifikationen. Die diagnostischen Möglichkeiten der Zytomorphologie und Immunphänotypisierung zur Definition des Phänotyps als auch der



Chromosomenanalyse, Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH) und der Molekulargenetik werden für jede einzelne hämatologische Entität beschrieben. Insbesondere die Molekulargenetik führt uns zu neuen Erkenntnissen über die Pathogenese hämatologischer Erkrankungen, welche direkten Einfluss haben auf Therapieentscheidungen, Therapiesteuerung und somit Prognose des Patienten.

In den vergangenen Wochen wurde die Webseite zusätzlich um neue Entitäten ergänzt. Hierzu zählt beispielsweise die **Mastozytose**, die eine heterogene Erkrankung darstellt und seit 2017 in der neuen WHO-Klassifikation als eigenes Kapitel geführt wird. Seit Mai 2020 bietet die Webseite des Münchner Leukämielabors alle relevanten Informationen hinsichtlich der Mastozytose-Diagnostik an.

Außerdem findet sich ein neues ausführliches Infoblatt zur sogenannten „**klonalen Hämatopoese von unbestimmtem Potential**“ (CHIP) bei kardiovaskulären Erkrankungen. In den letzten Jahren hat sich gezeigt, dass Mutationen in Genen, die Einfluss auf die epigenetische Regulation nehmen, in höherem Lebensalter auch bei hämatologisch gesunden Menschen gefunden werden. Diese scheinen nicht nur ein höheres Risiko zur Entwicklung von hämatologischen, sondern auch von kardialen Erkrankungen aufzuweisen. Hierbei ist der Nachweis bestimmter somatischer Mutationen mit einer erhöhten Rate an Atherosklerose, Aortenklappenstenose und Herzinsuffizienz assoziiert. Es fehlen jedoch bisher noch evidenzbasierte Empfehlungen oder Therapien, um das CHIP-assoziierte kardiovaskuläre Risiko spezifisch zu senken.

Auch die Internationalisierung des Unternehmens steht weiter im Fokus des Handelns. Die gesamte Website des MLL wird nicht nur in deutscher sondern auch in englischer Sprache angeboten. Erkrankungen machen vor Ländergrenzen nicht halt. Somit ist es nur konsequent, die Expertise und die diagnostischen Möglichkeiten des Münchner Leukämielabors über die Landesgrenzen zur Verfügung zu stellen. Ziel ist es, den internationalen Einsendern und Partnern noch gerechter zu werden und ihnen die Expertise des Münchner Leukämielabors besser zugänglich zu machen.

Autor: Prof. Dr. Rainer Ordemann

Terminankündigungen

Onkologisches Symposium 2021

Save the Date: Die erfolgreiche Symposiumsreihe „Onkologisches Symposium 2021 - vom Biomarker zur Therapie“ geht am 5. November 2021 in die dritte Runde. Die Veranstaltung bietet einen Einblick in die moderne onkologische Präzisionsmedizin, die innovative Diagnoseverfahren und Therapiestrategien zu einem großen Ganzen verbindet. Das Symposium findet virtuell und – falls möglich – auch als Präsenzveranstaltung im MLL Münchner Leukämielabor statt. Ab sofort können Sie sich Ihren Platz reservieren.

Weitere Informationen sowie den Link zur Anmeldung finden Sie hier.



Gemeinsam die Medizin von morgen gestalten

Zur Verstärkung unseres engagierten Teams suchen wir ab sofort und jederzeit FachärztInnen (m/w/d) mit dem jeweiligen Schwerpunkt Hämatologie/Onkologie, Labormedizin oder Pathologie für den Bereich Zytomorphologie oder Immunphänotypisierung sowie Biologen (m/w/d) – Schwerpunkt Zytomorphologie.

Alle Infos zur Ausschreibung, zur Bewerbung und weitere Stellenangebote finden Sie [hier](#).

© 2021 MLL Münchner Leukämielabor GmbH

MLL Münchner Leukämielabor GmbH

Max-Lebsche-Platz 31
81377 München, Germany
Phone: +49 89 990 17 0
Fax: +49 89 990 17 111
E-mail: info@mll.com
Internet: www.mll.com