



Akute myeloische Leukämie (AML)

Diagnostische Empfehlung

Methode	Antikoagulans	Empfehlung
Zytomorphologie	EDTA	obligat
Immunphänotypisierung	EDTA oder Heparin	obligat
Chromosomenanalyse	Heparin	obligat
FISH	EDTA oder Heparin	fakultativ
Molekulargenetik	EDTA oder Heparin	obligat



Akute myeloische Leukämien (AML) sind eine heterogene Gruppe von Erkrankungen. AML können entweder *de novo*, nach einer vorausgegangenen zytotoxischen und/oder Strahlentherapie (t-AML), oder sekundär aus einer vorbestehenden myeloproliferativen Erkrankung bzw. einem MDS (s-AML) entstehen. Die Inzidenz der AML liegt bei 2,5 – 3,0 / 100.000 Einwohner pro Jahr. Das mediane Alter liegt bei 65 Jahren. Bei Kindern unter 15 Jahren machen AML nur etwa 15-20% der akuten Leukämien aus.

Klassifikation

Die neue AML WHO Klassifikation 2017 teilt die AML zunächst nach der Anamnese (*de novo*, t-AML, s-AML) und dann unter Berücksichtigung einer großen Anzahl rekurrenter, balancierter zytogenetischer Anomalien in spezifische AML-Subgruppen ein (siehe Tabelle 1). Insgesamt sind dadurch mittlerweile 80% - 90% der Patienten mit AML durch zytogenetische und/oder molekulargenetische Marker klassifizierbar.

AML WHO Klassifikation 2017 (Arber DA et al. 2016)

Akute myeloische Leukämie (AML) und verwandte Neoplasien

AML mit rekurrenten genetischen Anomalien

- AML mit t(8;21)(q22;q22.1); *RUNX1-RUNX1T1*
- AML mit inv(16)(p13.1q22) oder t(16;16)(p13.1;q22); *CBFB-MYH11*
- Akute Promyelozytenleukämie (APL) mit *PML-RARA*
- AML mit t(9;11)(p21.3;q23.3); *KMT2A-MLLT3*
- AML mit t(6;9)(p23;q34.1); *DEK-NUP214*
- AML mit inv(3)(q21.3q26.2) oder t(3;3)(q21.3;q26.2); *GATA2, MECOM*
- AML (megakaryoblastisch) mit t(1;22)(p13.3;q13.3); *RBM15-MKL1*
- Provisorische Entität: AML mit *BCR-ABL1*
- AML mit *NPM1*-Mutation
- AML mit biallelischer *CEBPA*-Mutation
- Provisorische Entität: AML mit mutiertem *RUNX1*

AML mit Myelodysplasie-assoziierten Veränderungen

Therapie-assoziierte myeloische Neoplasie

AML, nicht anderweitig klassifiziert (NOS)

- AML mit minimaler Differenzierung
- AML ohne Ausreifung
- AML mit Ausreifung
- Akute myelomonozytäre Leukämie
- Akute Monoblasten-/Monozytenleukämie
- Reine Erythrozytenleukämie
- Akute Megakaryoblastenleukämie
- Akute Basophilenleukämie
- Akute Panmyelose mit Myelofibrose

Myeloisches Sarkom

Myeloische Down-Syndrom-assoziierte Proliferation

- Transiente abnormale Myelopoese (TAM)
- Myeloische Leukämie bei Down Syndrom

Gemäß WHO-Klassifikation ist für die Diagnosestellung der AML ein Blastenanteil von mindestens 20% im peripheren Blut bzw. Knochenmark erforderlich. Bei einer AML mit t(8;21)(q22;q22.1), *RUNX1-RUNX1T1* oder inv(16)(p13.1q22) bzw. t(16;16)(p13.1;q22); *CBFB-MYH11* und Akuter Promyelozytenleukämie (APL) mit *PML-RARA* wird die Erkrankung auch bei einem Blastenanteil von unter 20% als akute Leukämien klassifiziert.

Fakten

≥20%

Blasten im Blut oder Knochenmark definieren eine AML (Onkopedia Leitlinie AML)

Diagnostik

Zytomorphologie

Die Zytomorphologie gehört zusammen mit der Zytochemie (Myeloperoxidase und Esterase) zur Standard-Diagnostik. Sie dient der Sicherung der Diagnose und ist auch erforderlich zur Klassifikation nach WHO. Bei Verlaufskontrollen unter Therapie stellt die zytomorphologische Remissionsbeurteilung nach wie vor einen Goldstandard dar.

Immunphänotypisierung

Immunphänotypisierung wichtig zur Diagnose der AML M0 und M7

Die akute myeloische Leukämie (AML) wird grundsätzlich auf der Basis von Zytomorphologie und Zytochemie diagnostiziert. Die einzigen Ausnahmen bilden die AML mit minimaler Differenzierung und die Akute Megakaryoblasten Leukämie, die sicher nur mittels Immunphänotypisierung diagnostiziert werden. Darüber hinaus liegen für einige bei der AML auftretende genetische Aberrationen typische Immunphänotypen vor. Diese Korrelationen sind jedoch nicht vollständig und haben daher im Rahmen der Diagnostik lediglich einen wegweisenden Stellenwert.



Bei der Akuten Promyelozytenleukämie (APL) zeigt sich in Assoziation zu der Infiltration durch atypische Promyelozyten ein charakteristischer Befund im Scatter-Plot. Darüber hinaus wird HLA-DR und CD34 in der Regel nicht exprimiert. Diese Befunde können aber auch in einigen anderen AML-Fällen gefunden werden (z.B. AML mit NPM1 Mutation und normalem Karyotyp). Die AML mit Ausreifung und t(8;21)(q22;q22)/RUNX1-RUNX1T1 geht typischerweise mit einer aberranten Koexpression von CD19 und CD56 einher. Auch diese Konstellation ist nicht spezifisch für einen bestimmten AML-Subtyp. Gleiches gilt für den Immunphänotyp der myelo-monozytären AML mit abnormen Eosinophilen, bei der man speziell eine Positivität für CD2 sowie eine asynchrone Koexpression von CD15 und CD34 finden kann.

Die AML mit minimaler Differenzierung weist in der Zytochemie keine Myeloperoxidase (MPO)-Positivität (<3%) auf, so dass diese Diagnose nicht allein morphologisch gestellt werden kann. Die Immunphänotypisierung nimmt die Abgrenzung gegenüber der ALL vor und weist die Expression von CD13, CD33 und CD117 sowie anderer myeloischer Antigene nach. Gleichzeitig werden lymphatische Antigene nicht exprimiert, bzw. der lymphatische Score ist nicht ausreichend für die Diagnose einer biphenotypischen akuten Leukämie. In etwa der Hälfte der Fälle kann trotz der zytochemischen Negativität für Myeloperoxidase durchflusszytometrisch eine Expression von MPO nachgewiesen werden.

Auch die Akute Megakaryoblasten Leukämie ist in der Zytochemie negativ für MPO und Esterase. Aufgrund der häufig bestehenden Myelofibrose ist eine zytologische Beurteilung häufig auch nicht möglich. In der Immunphänotypisierung ist die Expression von CD41 oder CD61 nachweisbar.

Chromosomenanalyse

Die klassische Chromosomenanalyse zur Bestimmung des Karyotyps der Leukämiezellen gehört heute bei jedem AML-Patienten zur Standard-Diagnostik. Der Karyotyp und die zahlreichen charakteristischen Chromosomenaberrationen dienen zum einen zur Klassifikation nach WHO, stellen aber auch die wichtigsten unabhängigen prognostischen Parameter. Für einige genetisch definierte Subtypen der AML leiten sich aus dem Befund der Chromosomenanalyse therapeutische Konsequenzen ab. Etwa 50-75% der erwachsenen Patienten und 75-85% der Kinder mit AML weisen klonale Chromosomenveränderungen auf. Während die Inzidenz der verschiedenen Chromosomenaberrationen altersabhängig ist, stellt sich die prognostische Bedeutung einer zytogenetischen Veränderung jedoch weitgehend unabhängig vom Alter der Patienten dar.

Fluoreszenz-in situ-Hybridisierung (FISH)

FISH ist eine schnelle Methode zum Nachweis spezifischer Aberrationen

Die FISH-Analyse dient als wichtige Ergänzung der klassischen Chromosomenanalyse und beantwortet gezielte Fragestellungen, z.B. den Nachweis der Translokation t(15;17)(q24;q21) (mit einem Rearrangement der Gene *PML* und *RARA*) bei Verdacht auf das Vorliegen einer Akuten Promyelozyten Leukämie. Sie stellt eine schnelle und zuverlässige Methode dar, mit der beispielsweise bereits nach 3 Stunden ein *PML-RARA*-Rearrangement nachgewiesen werden kann. Weitere häufig bei der AML auftretende genetische Aberrationen, wie die t(8;21)(q22;q22), die inv(16)(p13q22) sowie Rearrangements des *KMT2A*-Gens, sind im Rahmen der WHO-Klassifikation für die Einteilung der AML maßgeblich. Sie sind ebenfalls mittels FISH nachweisbar. Auch häufige unbalancierte Veränderungen, wie Deletionen des langen Arms von Chromosom 5 oder 7 oder Monosomien (-7) bzw. Trisomien (+8, +11, +13, +21) können mit FISH detektiert werden. Mit Hilfe eines überschaubaren FISH-Sondensets kann auch ein großer Teil der AML-Fälle mit komplex aberrantem Karyotyp richtig klassifiziert werden.

24-Farben-FISH bei komplexen Karyotypen

Das so genannte „chromosome painting“ mit 1-3 bzw. 24 Farben (24-Farben-FISH) an Metaphase-Chromosomen wird ergänzend zur klassischen Chromosomenanalyse durchgeführt, sofern sich der Karyotyp mit der Chromosomenanalyse nach klassischer Bänderungstechnik nicht eindeutig aufklären lässt. Dies ist häufig bei komplex aberrantem Karyotyp der Fall.

Nachweis der minimalen Resterkrankung mit FISH

Die FISH-Methodik kann ferner im Verlauf der AML nach Therapie zum Nachweis von Resterkrankung eingesetzt werden. Sie ist sensitiver und spezifischer als die Zytomorphologie, jedoch weniger sensitiv als PCR und Immunphänotypisierung.

Molekulargenetik

Zum Nachweis molekularer Mutationen stehen eine Vielzahl von Nachweis-Techniken zur Verfügung. Beispielhaft erwähnt seien hier die konventionelle reverse Transkriptions-(RT)-PCR (Fusionsgene), die „Gene-Scan“-Analytik (*NPM1*, *FLT3-ITD*), Schmelzkurvenanalyse (*FLT3-TKD*, *NPM1*, *RAS*, *KITD816*) sowie Real-time PCR (*KMT2A-PTD*, Fusionsgene, *EVI1*-Expression). Bei Nachweis einer Mutation anhand dieser Techniken bietet sich dann die Sequenzierung zur genauen Charakterisierung an. Diese molekularen Marker eröffnen im Folgenden neue Zielstrukturen für die PCR-basierte Detektion minimaler Resterkrankung (= „minimal residual disease“; MRD).

Häufige reziproke Chromosomen-Rearrangements (Fusionsgene)

Bei ca. 25% aller AML liegen reziproke Chromosomen-Rearrangements vor. Die molekularen Korrelate bzw. Fusionsgene der meisten reziproken auch zytogenetisch detektierbaren Rearrangements sind bekannt. Die häufigsten reziproken Translokationen t(15;17)(q24;q21), t(8;21)(q22;q22), und inv(16)(p13q22)/t(16;16)(p13;q22) führen auf molekularer Ebene zur Bildung der Fusionsgene *PML-RARA*, *RUNX1-RUNX1T1* sowie *CBFB-MYH11*. Rearrangements des *KMT2A*-Gens finden sich bei ca. 5% aller AML, wobei mehr als 50 verschiedene Translokationspartner beschrieben wurden. Darüber hinaus lassen sich zahlreiche weitere seltene Rearrangements nachweisen, welche zwar oftmals weniger als 1% aller Fälle betreffen, jedoch im Einzelfall nützliche Zielstrukturen für die Diagnostik darstellen. Für Fusionsgene ist eine Quantifizierung zum Diagnosezeitpunkt sinnvoll, da dieser Messwert als Ausgangswert für künftige Verlaufskontrollen dient.


Mittels RT-PCR nachweisbare Fusionsgene (Auswahl, häufige in rot):

- **RUNX1-RUNX1T1**
- **CBFB-MYH11**
- **PML-RARA**
- KMT2A-Fusionen
- CALM-AF10
- CHIC2-ETV6
- NUP98-HOXA9
- DEK-NUP214
- MYST3-CREBBP
- BCR-ABL1

Tabelle 1: Rearrangements mit den dazugehörigen Fusionsgenen bei der AML

Zytogenetik	Fusionsgen	Häufigkeit	
		Kinder	Erwachsene
t(8;21)(q22;q22)	RUNX1-RUNX1T1	10-15%	8-12%
inv(16)(p13q22)	CBFB-MYH11	6-12%	8-12%
t(15;17)(q24;q21)	PML-RARA	8-15%	8-10%
t(6;11)(q27;q23)	KMT2A-MLLT4 (KMT2A-AF6)	2-5%	< 1%
t(9;11)(p21;q23)	KMT2A-MLLT3 (KMT2A-AF9)	8-10%	1-2%
t(10;11)(p12;q23)	KMT2A-MLLT10 (KMT2A-AF10)	< 1%	1-2%
t(11;19)(q23;p13)	KMT2A-MLLT1 (KMT2A-ENL)	< 1%	< 1%
t(11;19)(q23;p13)	KMT2A-ELL	< 1%	< 1%
t(3;21)(q26;q22)	RUNX1-EV1	1%	< 1%
t(6;9)(p23;q34)	DEK-NUP214	1-2%	< 1%
t(8;16)(p11;p13)	KAT6A-CREBBP	< 1%	< 1%
t(1;22)(p13;q13)	RBM15-MKL1	2%	-
t(7;11)(p15;p15)	NUP98-HOXA9	-	< 1%
t(10;11)(p13;q14)	CALM-AF10	-	< 1%
t(16;21)(p11;q22)	FUS-ERG	-	< 1%

Molekulare Mutationen häufig in NPM1 und FLT3-ITD und RUNX1

Mutationen im Nucleophosmin (NPM1)-Gen sind bei ca. 35% aller AML-Fälle und 55% der Fälle mit normalem Karyotyp zu finden. Der Transkriptionsfaktor RUNX1 ist bei 15-30% der AML-Fälle mutiert. Mutationen im Transkriptionsfaktor CEBPA wurden bei 7-15% der AML mit normalem Karyotyp beschrieben. In der WHO-Klassifikation von 2017 wurden sowohl die NPM1- als auch die biallelische CEBPA-Mutation als eigene AML-Entität eingeführt.



Tabelle 2: Molekulare Mutationen bei AML

Mutation	Häufigste Subtypen	Häufigkeit gesamt	Prognose
<i>NPM1</i>	normaler Karyotyp (55%)	30%	günstig
<i>FLT3-ITD</i>	normaler Karyotyp (40%)	25%	ungünstig
<i>FLT3-TKD</i>	alle AML	6-7%	je nach zusätzl. Alterationen
<i>KMT2A-PTD</i>	normaler Karyotyp (11%) Trisomie 11 (20-50%)	6,5%	ungünstig
<i>CEBPA</i>	normaler Karyotyp (7%)	4%	günstig, wenn biallelisch
<i>KITD816</i>	t(8;21) (12%)	1,5%	ungünstig
<i>KITexon8</i>	inv(16) (10%)	< 1%	ungünstig
<i>NRAS</i>	inv(16) (45%) inv(3)/t(3;3) (40%)	10%	neutral
<i>KRAS</i>	inv(16); t(8;21) (5-20%) (bei Kindern)	< 1%	prognost. Bedeutung unklar
<i>RUNX1</i>	AML mit minimaler Diff. (22%) Trisomie 21 (30%)	15%	ungünstig
<i>IDH1/2</i>	normaler Karyotyp (30%)	15-20%	abhängig von der Art der Mutation
<i>TET2</i>	-	15-25%	noch nicht klar definiert
<i>DNMT3A</i>	Normaler Karyotyp (35%)	20%	ungünstig

Next-Generation-Sequencing (NGS) identifizierte neue molekulare Marker

Durch die Einführung neuer Sequenzierungstechniken („next-generation-sequencing“, NGS) wurde die Erweiterung des Spektrums der molekularen Marker erleichtert. Mutationen im *TET2*-Gen („*TET* oncogene family member 2“) auf dem Chromosom 4q24 wurden bei 15-25% aller AML-Fälle detektiert. Sie sind auch bei zahlreichen anderen myeloischen Entitäten wie z.B. MDS nachweisbar. Ob ein Einfluss auf die Prognose besteht, ist Gegenstand aktueller Studien. Mutationen der Isocitrat-Dehydrogenase-1 (*IDH1*) und *IDH2*-Gene wurden bei bis zu 20% aller AML-Patienten festgestellt. Hier sind spezifische Medikamente seit kurzem verfügbar. Darüber hinaus wurden bei ca. 10% aller Patienten mit *de novo* AML Mutationen im *ASXL1* (additional sex-comb like 1)-Gen, welches auf dem Chromosomenabschnitt 20q11 lokalisiert ist, identifiziert. Sehr selten sind Mutationen im „Casitas B-cell lymphoma“ (*CBL*)-Gen auf Chromosom 11q23 (< 2% aller AML-Fälle).

Prognose

Karyotyp und molekulargenetische Veränderungen wichtigste prognostische Parameter

Neben Alter, Leukozytenzahl und Allgemeinzustand stellen der Karyotyp und molekulargenetische Veränderungen wichtige prognostische Parameter dar und haben einen großen Einfluss auf die Therapiestrategie. Mehrere Studien haben gezeigt, dass speziell Patienten mit normalem Karyotyp von zusätzlichen molekular-genetischen Informationen hinsichtlich Therapiewahl und Prognoseeinschätzung profitieren (Döhner et al. 2010, 2015, 2017). Moderne genetische Prognose-Systeme kombinieren molekulare Mutationen und Zytogenetik (Grimwade et al. 2016, Döhner et al. 2017).

Die bisher definierten zytogenetischen Aberrationen und molekulargenetischen Veränderungen mit prognostischer Relevanz sind in Tabelle 3 und 4 aufgeführt.



Tabelle 3: Risikoeinteilung mit unabhängiger prognostischer Relevanz bei jüngeren AML Patienten (16 - 60 Jahre)
(nach Grimwade et al. 2016)

Risikogruppe	Zyto- und molekulargenetische Veränderung
Günstig	t(15;17)(q24;q21) / PML-RARA t(8;21)(q22;q22) / RUNX1-RUNX1T1 inv(16)(p13q22) / t(16;16)(p13;q22) / CBFβ-MYH11 NPM1 Mutation (keine FLT3-ITD und keine DNMT3A Mutation) Biallelische CEBPA Mutationen
Intermediär	Aberrationen, welche nicht als günstig oder ungünstig eingestuft werden
Ungünstig*	abn(3q) außer t(3;5)(q21~25;q31~35) / NPM1-MLF1 inv(3)(q21q26) / t(3;3)(q21;q26) / GATA2/EVI1 add(5q) / del(5q), -5- t(5;11)(q35;p15.1) / NUP98-NSD1 t(6;9)(p23;q34) / DEK-NUP214 add(7q) / del(7q), -7 t(11q23) außer t(9;11)(p21~22;q23) und t(11;19)(q23;p13) t(9;22)(q34;q11) / BCR-ABL1 -17 / abn(17p) / TP53 Mutation Komplexer Karyotyp (≥ 4 unabhängige Aberrationen) ASXL1 Mutation, DNMT3A Mutation, RUNX1 Mutation FLT3-ITD, KMT2A-PTD

*nur wenn keine der als günstig klassifizierten zyto- und molekulargenetischen Aberrationen vorliegen

Tabelle 4: Risikoeinteilung nach ELN Empfehlung
(Döhner et al. 2017)

Risikogruppe	Zyto- und molekulargenetische Veränderung
Günstig	t(8;21)(q22;q22); RUNX1-RUNX1T1 inv(16)(p13.1q22) oder t(16;16)(p13.1;q22); CBFβ-MYH11 NPM1 Mutation ohne FLT3-ITD oder mit niedriger FLT3-ITD Mutationslast (<0,5) Biallelische CEBPA Mutationen
Intermediär	NPM1 Mutation mit FLT3-ITD und hoher Mutationslast (≥0,5) Keine NPM1 Mutation und keine FLT3-ITD bzw. FLT3-ITD <0,5 (ohne ungünstige zytogenetische Aberrationen) t(9;11)(p21.3;q23.3); MLLT3-KMT2A zytogenetische Aberrationen, welche nicht als günstig oder ungünstig eingestuft werden
Ungünstig*	t(6;9)(p23;q34.1); DEK-NUP214 t(v;11q23.3); KMT2A rearrangiert t(9;22)(q34.1;q11.2); BCR-ABL1 inv(3)(q21.3q26.2) oder t(3;3)(q21.3;q26.2); GATA2-MECOM (EVI1) -5 oder del(5q); -7; -17/abn(17p) Komplexer Karyotyp (≥ 3 unabhängige Aberrationen)* Monosomaler Karyotyp (eine Monosomie außer Verlust des X- oder Y-Chromosoms zusammen mit mindestens einer zusätzlichen Monosomie oder strukturellen Abnormität) [#] Keine NPM1 Mutation aber FLT3-ITD ≥0,5 RUNX1-Mutation ASXL1-Mutation TP53-Mutation

* nur wenn keine der nach WHO definierten rekurrenten Chromosomenaberrationen vorliegen

[#] außer bei core-binding-factor (CBF) AML, nicht bei gleichzeitigem Vorhandensein von günstigen Prognosemarkern

Empfehlung

Die AML ist definiert durch ≥20% Blasten im peripheren Blut und/oder Knochenmark. Dies grenzt die AML gegenüber den myelodysplastischen Syndromen ab. Zur Sicherung der Diagnose werden gemäß den aktuellen Onkopedia-Leitlinien zur AML die nachstehend zusammengefassten Untersuchungen empfohlen

Diagnosesicherung bei Verdacht auf AML (Onkopedia-LL AML; 03/2017)

Untersuchung

Anamnese und körperlicher Untersuchungsbefund

Blutbild und Differenzialblutbild

Knochenmarkzytologie und -zytochemie

Knochenmarkbiopsie (zwingend notwendig bei punctio sicca)

Immunphänotypisierung

Zytogenetik

FISH

(wenn die zytogenetische Analyse nicht erfolgreich ist: Nachweis von Translokationen wie RUNX1-RUNX1T1, CBFβ-MYH11, KMT2A und EVI1; oder Verlust von Chromosom 5q, 7q oder 17p)

**Molekulargenetik (Mutationen)**

- *NPM1*
- *CEBPA*
- *RUNX1*
- *FLT3* (interne Tandemduplikationen (ITD), Mutant-Wildtyp-Quotient)
- *FLT3*-TKD (Codon D853 und I836)
- *TP53*
- *ASXL1*

Molekulargenetik (Genfusionen)

- *PML-RARA*
- *CBFB-MYH11*
- *RUNX1-RUNX1T1*
- *BCR-ABL1*

Referenzen

Die zugehörigen Referenzen finden Sie hier:

<https://www.mll.com/erkrankungendiagnostik/akute-myeloische-leukaemie-aml/akute-myeloische-leukaemie-aml.html#referenzen>