

**EXPERTISE ET PRESTATIONS DE SERVICE
QUALITE DES LABORATOIRES**

COMITE DES EXPERTS *AD HOC*

BENCHMARKING TRIAL

RAPPORT GLOBAL DEFINITIF
Next Generation Sequencing (NGS)
Case studies
Hémopathies malignes

2019/2

Sciensano/NGS benchmarking trial/5-FR

Expertise et prestations de service
Qualité des laboratoires
Rue J. Wytsman, 14
1050 Bruxelles | Belgique

www.sciensano.be

COMITE DES EXPERTS AD HOC

Sciensano					
Secrétariat		TEL:	02/642.55.21	FAX:	02/642.56.45
Aline Antoniou	Coordinateur d'enquête	TEL:	02/642.55.27		
		e-mail:	Aline.Antoniou@sciensano.be		
Vanessa Ghislain	Coordinateur d'enquête remplaçant	TEL:	02/642.52.08		
		e-mail:	Vanessa.Ghislain@sciensano.be		
Experts	Institution				
Elke Boone	AZ Delta Hospital				
Laurent Dewispelaere	LHUB-ULB				
Guy Froyen	Jessa Hospital				
Koen Jacobs	AZ-St-Lucas Hospital				
Suzan Lambin	University Hospital Antwerp				
Marie Le Mercier	Universitair Ziekenhuis Antwerpen				
Friedel Nollet	AZ Sint-Jan Brugge-Oostende				
Karl Vandepoele	Ghent University Hospital				
Sara Vander Borght	UZ Leuven				
Joni Van Der Meulen	Ghent University Hospital				
Stefanie Vermeire	AZ Sint-Jan Brugge-Oostende				
Hilde Vranckx	UZ Leuven				
Thomas Delcourt	Sciensano				
Aline Hébrant	Sciensano				
Mohamed Rida Soumali	Sciensano				
Marc Van Den Bulcke	Sciensano				
Philippe Van de Walle	Sciensano				
Els Van Valckenborgh	Sciensano				

Une version provisoire de ce rapport a été transmise aux experts les : 17/09/2019 et 8/11/2019.

Ce rapport a été discuté lors de la réunion du comité des experts *ad hoc* le : 08/10/2019

Responsabilités :

Lors de cette réunion, le comité d'experts *ad hoc* a été consulté pour avis au sujet du contenu du rapport global, de l'interprétation des résultats, des critères d'évaluation et de l'organisation des prochaines évaluations. La responsabilité du choix des échantillons utilisés et de la conception finale de l'enquête est portée par le service Qualité des laboratoires de Sciensano.

Autorisation de diffusion du rapport:

Par Aline Antoniou, coordinateur d'enquête du Benchmarking trial NGS, le 16/12/2019.



Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:
https://www.wiv-isp.be/QML/activities/NGS/fr/rapports_annee.htm

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION	5
1.1. Objectif du Benchmarking trial NGS - case studies	5
1.2. Demande	5
1.3. Critères d'évaluation	5
2. RESULTATS	6
2.1. Participation au Benchmarking trial NGS	6
2.2. Aperçu des méthodes	6
2.3. Aperçu des résultats	7
2.3.1. Cas 1:	7
2.3.2. Cas 2:	9
2.3.3. Cas 3:	11
2.3.4. Cas 4:	14
2.3.5. Cas 5:	16
2.3.6. Cas 6:	19
2.3.7. Taux de réussite des participants	21
2.4. Aperçu des conclusions cliniques	21
3. ANNEXE	22
3.1. Conclusions cliniques	22
3.1.1. Cas 1	22
3.1.2. Cas 2	26
3.1.3. Cas 3	32
3.1.4. Cas 4	37
3.1.5. Cas 5	43
3.1.6. Cas 6	47

1. INTRODUCTION

L'organisation des benchmarking trials fait partie du projet pilote national relatif à l'introduction de la technologie NGS dans notre système de soins de santé qui a débuté en janvier 2016. Ce projet, qui s'étale sur une période de 5 ans, vise à bien intégrer cette nouvelle technologie au sein de la pratique clinique à l'aide d'actions concrètes. Toutes les informations relatives à l'étude pilote NGS sont détaillées dans le NGS Roadbook :

<http://www.e-cancer.be/publications/Documents/Roadbook%20PersMed%20NGS%20FR.pdf>

Depuis février 2018, le ComPerMed a mis sur pied un groupe de travail afin de standardiser l'interprétation des variants et le contenu des rapports cliniques NGS. Ce projet répond à la demande des experts suite à la diversité des réponses observées lors des premiers *benchmarking trials* réalisés en 2017.

Ce groupe travaille plus particulièrement sur la standardisation :

- 1) de la nomenclature des variants
- 2) de la classification biologique des variants
- 3) de la classification clinique des variants
- 4) du contenu du rapport clinique

Les conclusions retenues ont été publiées sur le site du Belac après le début de l'étude:

<https://economie.fgov.be/sites/default/files/Files/Publications/files/Belac-FR/2-405NGS-FR.pdf>

Une version provisoire des guidelines avait été transmise aux participants lors du lancement de l'étude. Suite à l'analyse des résultats des participants, une révision des guidelines belges pour l'interprétation des variants est prévue pour 2020.

1.1. **Objectif du Benchmarking trial NGS - case studies**

L'objectif de cette étude est d'établir l'état des lieux de la manière dont les variants somatiques dans les hémopathies malignes sont sélectionnés et rapportés dans les protocoles cliniques suite à ce travail de standardisation mené par le ComPerMed.

1.2. **Demande**

L'évaluation a été réalisée sur 6 cas d'études théoriques provenant de la routine clinique dans leur première phase d'investigation diagnostique et provenant de différents types de tumeurs. Pour chaque cas clinique, 1) un contexte clinique et 2) une liste des variants à interpréter avaient été transmis aux participants.

Il a été demandé aux participants :

- De choisir une classification biologique et clinique pour chaque variant (par choix multiple).
- De préciser, pour chaque classification, si celle-ci serait rapportée ou non par le laboratoire participant dans le rapport clinique final.
- De rédiger une conclusion générale pour chaque cas clinique sous forme de texte libre.
- D'indiquer les guidelines utilisées pour répondre à cette étude.

1.3. **Critères d'évaluation**

Ce rapport contient les résultats des laboratoires participants pour chaque cas théorique. Les résultats de cette étude ne sont pas formellement évalués. Cependant, à titre d'information, les réponses des laboratoires ont été classées en "résultat attendu" (en vert), "acceptable" (en jaune), "non-recommandé mais acceptable" (en orange), "non-acceptable" (en rouge) et "non-évalué" (en gris). Ces catégories ont été définies par un groupe d'experts en comparant les résultats du consensus des laboratoires aux résultats obtenus à l'aide des guidelines belges. Les experts ont décidé de ne pas émettre d'avis concernant les classifications cliniques pour l'ensemble des cas théoriques: catégorie "non-évaluée".

2. RESULTATS

2.1. Participation au Benchmarking trial NGS

23 laboratoires belges se sont inscrits au Benchmarking trial NGS - case studies – hémopathies malignes 2019/2 et sont repris dans l'analyse des résultats.

Aperçu des participants

Région	N	Laboratoire	N
Région flamande	16	Anatomie pathologique	1
Région bruxelloise	3	Biologie Clinique	19
Région wallonne	4	Génétique humaine	3
Total	23	Total	23

Laboratoire	N
Accrédité	13
En cours d'accréditation au moment de l'inscription	10
Total	23

2.2. Aperçu des méthodes

Guidelines utilisées pour l'analyse

Guidelines utilisées par au moins 2 laboratoires	Laboratoires
The Belgian next generation sequencing guidelines for haematological and solid tumours (BELAC 2-405-NGS Rev 0-2018); NGS report content - december 2018 ; the Belgian variant interpretation algorithm - january 2019	22
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, Li et al., JMD, 2017, 19(1), (PMID: 27993330)	6
World Health Organization guidelines	5
European LeukemiaNet guidelines	4
National Comprehensive Cancer Network Guidelines	3
ACMG-AMP: Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology, Richard et al., Genet Med, 2015, 17(5), (PMID: 25741868)	3

2.3. Aperçu des résultats

2.3.1. Cas 1:

genre	M
année de naissance	1930
informations médicales	myélofibrose primitive
type d'échantillon	moelle osseuse

EZH2 NM_004456.4 c.486del p.(Glu162Aspfs*5) (Fréquence allélique: 43%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Pathogénique	0	2	2
Probablement pathogénique	0	7	7
VUS	0	14	14
Total	0	23	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Tier I: Impact clinique avéré	0	3	3
Tier II: Impact clinique potentiel	0	6	6
Tier III: Impact clinique indéterminé	0	14	14
Total	0	23	23

Commentaires

En fonction des pathologies, le gène EZH2 montre un rôle différent dans le processus tumoral: suppresseur de tumeur pour les tumeurs myéloïdes et oncogène pour les tumeurs lymphoïdes et les tumeurs solides. Cette information n'est actuellement pas reprise dans les guidelines belges. La réponse attendue pour ce variant est donc la classification probablement pathogénique puisqu'il s'agit d'une perte de fonction (LoF) de type frameshift dans un gène Tumeur Suppresseur (TS). Le tableau "tumor suppressor & oncogene List" sera adapté lors de la prochaine révision des guidelines. Les résultats pour ce variant ne sont donc pas évalués.

IDH1 NM_005896.3 c.395G>A p.(Arg132His) (Fréquence allélique: 42%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Pathogénique	0	23	23
Total	0	23	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Tier I: Impact clinique avéré	0	18	18
Tier II: Impact clinique potentiel	0	5	5
Total	0	23	23

Commentaires

Le résultat attendu pour ce variant est la classification pathogénique.

JAK2 NM_004972.3 c.1849G>T p.(Val617Phe) (Fréquence allélique: 29%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		Total
	Non	Oui	
Pathogénique	0	21	21
Probablement pathogénique	0	1	1
VUS	0	1	1
Total	0	23	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		Total
	Non	Oui	
Tier I: Impact clinique avéré	0	22	22
Tier II: Impact clinique potentiel	0	1	1
Total	0	23	23

Commentaires

Le résultat attendu pour ce variant est la classification pathogénique. Les classifications probablement pathogénique et VUS sont considérées comme non-acceptables. Dans les guidelines belges: ce variant est présent dans le tableau "Consensus pathogenic variants in the Convention genes of Myeloid tumors v1". Ce variant est considéré comme critère diagnostic majeur pour des néoplasies myéloprolifératives.

Informations types reprises dans la conclusion générale	Informations spécifiques au cas 1	N
Diagnostic	Myélobrose primitive	20
	PMF/ET/PV	4
Pronostic	Intermédiaire	5
	Défavorable	17
	Transformation LAM	8
	Utilisation scores (MIPSS/DIPPS)	4
Traitement	Thérapie anti-JAK2	4
	Thérapie anti-IDH1	3

2.3.2. Cas 2:

genre	F
année de naissance	1944
informations médicales	Leucémie chronique à neutrophiles (LCN) à évolution vers syndrome myélodysplasique (SMD)-RAEB1?
type d'échantillon	moelle osseuse

ASXL1 NM_015338.5 c.1934dup p.(Gly646Trpfs*12) (Fréquence allélique: 32%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Pathogénique	0	3	3
Probablement pathogénique	0	19	19
VUS	0	1	1
Total	0	23	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Tier I: Impact clinique avéré	0	12	12
Tier II: Impact clinique potentiel	0	11	11
Total	0	23	23

Commentaires

Le résultat attendu pour ce variant est la classification probablement pathogénique. Dans les guidelines belges: Une perte de fonction (LoF) de type frameshift dans un gène Tumeur Suppresseur (TS) est classée probablement pathogénique. La classification pathogénique n'est pas recommandée selon les guidelines belges mais est considérée comme acceptable. Les frameshifts dans le gène ASXL1 ne sont pas présents dans le tableau "Consensus pathogenic variants in the Convention genes of Myeloid tumors v1" mais leur présence dans ce tableau sera reconsidérée lors de la prochaine révision des guidelines. La classification VUS est considérée comme non-acceptable.

CSF3R NM_156039.3 c.1853C>T p.(Thr618Ile) (Fréquence allélique: 37%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Pathogénique	0	23	23
Total	0	23	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Tier I: Impact clinique avéré	0	23	23
Total	0	23	23

Commentaires

Le résultat attendu pour ce variant est la classification pathogénique.

RUNX1 NM_001754.4 c.601C>T p.(Arg201*) (Fréquence allélique: 37%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Pathogénique	0	5	5
Probablement pathogénique	0	18	18
Total	0	23	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Tier I: Impact clinique avéré	0	14	14
Tier II: Impact clinique potentiel	0	7	7
Tier III: Impact clinique indéterminé	0	2	2
Total	0	23	23

Commentaires

Le résultat attendu pour ce variant est la classification probablement pathogénique. Dans les guidelines belges: Une perte de fonction (LoF) dans un gène Tumeur Suppresseur (TS) est classée probablement pathogénique. La classification pathogénique n'est pas recommandée selon les guidelines belges mais est considérée comme acceptable.

TET2 NM_001127208.2 c.4175_4177dup p.(Ser1392dup) (Fréquence allélique: 32%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Pathogénique	0	1	1
Probablement pathogénique	0	1	1
VUS	1	20	21
Total	1	22	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Tier II: Impact clinique potentiel	0	2	2
Tier III: Impact clinique indéterminé	4	17	21
Total	4	19	23

Commentaires

Le résultat attendu pour ce variant est la classification VUS. Les classifications probablement pathogénique et pathogénique sont considérées comme non-acceptables. Dans les guidelines belges: 1) d'après le tableau "Variant Classification Scoring Table", les variants ayant <= 5 entrées dans Cosmic obtiennent un score de 0 qui les classe automatiquement dans la catégorie VUS; 2) Les variants classés VUS doivent être rapportés dans le rapport clinique. L'absence dans le rapport des variants appartenant à la classification VUS est considérée comme non-acceptable.

U2AF1 NM_006758.2 c.470A>C p.(Gln157Pro) (Fréquence allélique: 31%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Pathogénique	0	21	21
Probablement pathogénique	0	1	1
VUS	0	1	1
Total	0	23	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Tier I: Impact clinique avéré	0	17	17
Tier II: Impact clinique potentiel	0	5	5
Tier III: Impact clinique indéterminé	0	1	1
Total	0	23	23

Commentaires

Le résultat attendu pour ce variant est la classification pathogénique. Les classifications probablement pathogénique et VUS sont considérées comme non-acceptables. Dans les guidelines belges: ce variant est présent dans le tableau "Consensus pathogenic variants in the Convention genes of Myeloid tumors v1".

Informations types reprises dans la conclusion générale	Informations spécifiques au cas 2	N
Diagnostic	LCN	21
	LCN progression vers SMD	8
Pronostic	Défavorable	21
	Transformation LAM	3
Traitement	Sensibilité au traitement Ruxolitinib	9

2.3.3. Cas 3:

genre	F
année de naissance	1952
informations médicales	Leucémie aigüe myéloblastique (LAM)
type d'échantillon	moelle osseuse

DNMT3A NM_175629.2 c.2645G>A p.(Arg882His) (Fréquence allélique: 42%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Pathogénique	0	22	22
VUS	0	1	1
Total	0	23	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Tier I: Impact clinique avéré	0	17	17
Tier II: Impact clinique potentiel	0	6	6
Total	0	23	23

Commentaires

Le résultat attendu pour ce variant est la classification pathogénique. La classification VUS est considérée comme non-acceptable. Dans les guidelines belges: ce variant est présent dans le tableau "Consensus pathogenic variants in the Convention genes of Myeloid tumors v1".

FLT3 NM_004119.2 c.1775T>G p.(Val592Gly) (Fréquence allélique: 2%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Pathogénique	0	1	1
Probablement pathogénique	0	2	2
VUS	7	12	19
Bénin	1	0	1
Total	8	15	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Tier I: Impact clinique avéré	0	1	1
Tier II: Impact clinique potentiel	0	2	2
Tier III: Impact clinique indéterminé	9	10	19
Tier IV: Variant présumé bénin	1	0	1
Total	10	13	23

Commentaires

Le résultat attendu pour ce variant est la classification VUS. Dans les guidelines belges: 1) d'après le tableau "Variant Classification Scoring Table", les variants ayant <= 5 entrées dans Cosmic obtiennent un score de 0 qui les classe automatiquement dans la catégorie VUS; 2) Les variants classés VUS doivent être rapportés dans le rapport clinique. L'absence dans le rapport de ce variant est considérée comme acceptable en raison de sa fréquence allélique détectée à 2%. Dans une prochaine étude, il sera précisé que tous les variants à évaluer sont validés par la technique utilisée. La classification probablement pathogénique est considérée comme acceptable, basée sur la littérature existante sur ce variant (Fröhling et al., 2007 Cell). Le tableau "Variant Classification Scoring" va être réévalué concernant le score lié à la littérature scientifique. Les classifications pathogénique et bénin sont considérées comme non-acceptables.

NPM1 NM_002520.6 c.860_863dup p.(Trp288Cysfs*12) (Fréquence allélique: 31%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Pathogénique	0	22	22
Probablement pathogénique	0	1	1
Total	0	23	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Tier I: Impact clinique avéré	0	23	23
Total	0	23	23

Commentaires

Le résultat attendu pour ce variant est la classification pathogénique. La classification probablement pathogénique est considérée comme non-acceptable. Dans les guidelines belges: 1) ce variant est présent dans le tableau "Consensus pathogenic variants in the Convention genes of Myeloid tumors v1".

TET2 NM_001127208.2 c.5298C>G p.(Tyr1766*) (Fréquence allélique: 45%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Pathogénique	0	2	2
Probablement pathogénique	0	20	20
Probablement bénin	1	0	1
Total	1	22	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Tier I: Impact clinique avéré	0	7	7
Tier II: Impact clinique potentiel	0	13	13
Tier III: Impact clinique indéterminé	0	2	2
Tier IV: Variant présumé bénin	1	0	1
Total	1	22	23

Commentaires

Le résultat attendu pour ce variant est la classification probablement pathogénique. Dans les guidelines belges: Une perte de fonction (LoF) dans un gène Tumeur Suppresseur (TS) est classée probablement pathogénique. La classification pathogénique n'est pas recommandée selon les guidelines belges mais est considérée comme acceptable. La classification probablement bénin est considérée comme non-acceptable.

TET2 NM_001127208.2 c.4115C>T p.(Thr1372Ile) (Fréquence allélique: 51%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Pathogénique	0	1	1
Probablement pathogénique	1	1	2
VUS	0	19	19
Probablement bénin	1	0	1
Total	2	21	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Tier I: Impact clinique avéré	1	0	1
Tier II: Impact clinique potentiel	0	2	2
Tier III: Impact clinique indéterminé	4	15	19
Tier IV: Variant présumé bénin	1	0	1
Total	6	17	23

Commentaires

Le résultat attendu pour ce variant est la classification VUS. Dans les guidelines belges: d'après le tableau "Variant Classification Scoring Table", les variants ayant ≤ 5 entrées dans Cosmic obtiennent un score de 0 qui les classe automatiquement dans la catégorie VUS. Les classifications pathogénique, probablement pathogénique et probablement bénin sont considérées comme non-acceptables.

Informations types reprises dans la conclusion générale	Informations spécifiques au cas 3	N
Diagnostic	LAM avec mutation NPM1	19
Pronostic	Favorable (lié à NPM1)	12
	Intermédiaire	3
	Défavorable (lié aux autres mutations)	15
Traitement	Sensibilité aux agents hypométhylants	3
	Meilleure réponse à la thérapie d'induction, Dose élevée de thérapie d'induction	4

2.3.4. Cas 4:

genre	M
année de naissance	1952
informations médicales	diagnostic différentiel entre syndrome myélodysplasique (SMD) et néoplasie myéloproliférative (NMP)
type d'échantillon	sang

ASXL1 NM_015338.5 c.1934dup p.(Gly646Trpfs*12) (Fréquence allélique: 44%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Pathogénique	0	3	3
Probablement pathogénique	0	19	19
VUS	0	1	1
Total	0	23	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Tier I: Impact clinique avéré	0	13	13
Tier II: Impact clinique potentiel	0	10	10
Total	0	23	23

Commentaires

Le résultat attendu pour ce variant est la classification probablement pathogénique. Dans les guidelines belges: Une perte de fonction (LoF) de type frameshift dans un gène Tumeur Suppresseur (TS) est classée probablement pathogénique. La classification pathogénique n'est pas recommandée selon les guidelines belges mais est considérée comme acceptable. Les frameshifts dans le gène ASXL1 ne sont pas présents dans le tableau "Consensus pathogenic variants in the Convention genes of Myeloid tumors v1" mais leur présence dans la liste sera reconsidérée lors de la prochaine révision des guidelines. La classification VUS est considérée comme non-acceptable.

SETBP1 NM_015559.3 c.2612T>C p.(Ile871Thr) (Fréquence allélique: 49%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Pathogénique	0	3	3
Probablement pathogénique	0	18	18
VUS	0	2	2
Total	0	23	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Tier I: Impact clinique avéré	0	8	8
Tier II: Impact clinique potentiel	0	13	13
Tier III: Impact clinique indéterminé	0	2	2
Total	0	23	23

Commentaires

Le résultat attendu pour ce variant est la classification probablement pathogénique. Dans les guidelines belges: d'après le tableau "Variant Classification Scoring Table", les variants ayant ≥ 10 entrées dans Cosmic obtiennent un score de 2 qui les classe automatiquement dans la catégorie probablement pathogénique. La classification pathogénique n'est pas recommandée selon les guidelines belges mais est considérée comme acceptable. La classification VUS est considérée comme non-acceptable.

SRSF2 NM_003016.4 c.284C>A p.(Pro95His) (Fréquence allélique: 49%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Pathogénique	0	22	22
VUS	0	1	1
Total	0	23	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Tier I: Impact clinique avéré	0	18	18
Tier II: Impact clinique potentiel	0	5	5
Total	0	23	23

Commentaires

Le résultat attendu pour ce variant est la classification pathogénique. La classification VUS est considérée comme non-acceptable. Dans les guidelines belges: ce variant est présent dans le tableau "Consensus pathogenic variants in the Convention genes of Myeloid tumors v1".

TET2 NM_001127208.2 c.826del p.(Ser276Profs*17) (Fréquence allélique: 52%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Pathogénique	0	1	1
Probablement pathogénique	0	22	22
Total	0	23	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Tier I: Impact clinique avéré	0	3	3
Tier II: Impact clinique potentiel	0	15	15
Tier III: Impact clinique indéterminé	0	5	5
Total	0	23	23

Commentaires

Le résultat attendu pour ce variant est la classification probablement pathogénique. Dans les guidelines belges: Une perte de fonction (LoF) de type frameshift dans un gène Tumeur Suppresseur (TS) est classée probablement pathogénique. La classification pathogénique n'est pas recommandée selon les guidelines belges mais est considérée comme acceptable.

Informations types reprises dans la conclusion générale	Informations spécifiques au cas 4	N
Diagnostic	SDM, NMP, SDM/NMP	22
	Corrélation avec autres analyses nécessaire	9
Pronostic	Défavorable	19
	Transformation LAM	7

2.3.5. Cas 5:

genre	M
année de naissance	1945
informations médicales	Leucémie aigüe myéloblastique (LAM)
type d'échantillon	moelle osseuse

CEBPA NM_004364.3 c.166dup p.(Cys56Leufs*52) (Fréquence allélique: 42%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Pathogénique	0	2	2
Probablement pathogénique	0	21	21
Total	0	23	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Tier I: Impact clinique avéré	0	17	17
Tier II: Impact clinique potentiel	0	6	6
Total	0	23	23

Commentaires

Le résultat attendu pour ce variant est la classification probablement pathogénique. Dans les guidelines belges: Une perte de fonction (LoF) de type frameshift dans un gène Tumeur Suppresseur (TS) est classée probablement pathogénique. La classification pathogénique n'est pas recommandée selon les guidelines belges mais est considérée comme acceptable. Les frameshifts dans le gène CEBPA ne sont pas présents dans le tableau "Consensus pathogenic variants in the Convention genes of Myeloid tumors v1" mais leur présence dans ce tableau sera reconsidérée lors de la prochaine révision des guidelines.

CEBPA NM_004364.3 c.878_880del p.(Asn293del) (Fréquence allélique: 44%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Pathogénique	0	2	2
Probablement pathogénique	0	12	12
VUS	0	9	9
Total	0	23	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Tier I: Impact clinique avéré	0	10	10
Tier II: Impact clinique potentiel	0	4	4
Tier III: Impact clinique indéterminé	0	9	9
Total	0	23	23

Commentaires

Selon les guidelines belges: 1) une délétion ou une insertion dans le cadre de lecture (in-frame indels) n'est pas considérée comme une perte de fonction (LoF) claire; 2) d'après le tableau "Variant Classification Scoring Table", les variants ayant ≤ 5 entrées dans Cosmic obtiennent un score de 0 qui les classe automatiquement dans la catégorie VUS. Cependant, les guidelines belges seront adaptées pour les insertions-délétions "in-frame" dans le domaine bzip du gène CEBPA qui seront considérées comme une exception et seront classées comme probablement pathogéniques. Les résultats pour ce variant ne sont donc pas évalués.

TET2 NM_001127208.2 c.3247C>T p.(Gln1083*) (Fréquence allélique: 45%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Pathogénique	0	2	2
Probablement pathogénique	0	20	20
Probablement bénin	1	0	1
Total	1	22	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Tier I: Impact clinique avéré	0	6	6
Tier II: Impact clinique potentiel	0	13	13
Tier III: Impact clinique indéterminé	0	3	3
Tier IV: Variant présumé bénin	1	0	1
Total	1	22	23

Commentaires

Le résultat attendu pour ce variant est la classification probablement pathogénique. Dans les guidelines belges: Une perte de fonction (LoF) dans un gène Tumeur Suppresseur (TS) est classée probablement pathogénique. La classification pathogénique n'est pas recommandée selon les guidelines belges mais est considérée comme acceptable. La classification probablement bénin est considérée comme non-acceptable.

TET2 NM_001127208.2 c.5103G>A p.(Met1701Ile) (Fréquence allélique: 46%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
VUS	0	6	6
Probablement bénin	16	0	16
Bénin	1	0	1
Total	17	6	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Tier III: Impact clinique indéterminé	0	6	6
Tier IV: Variant présumé bénin	17	0	17
Total	17	6	23

Commentaires

Les résultats attendus pour ce variant sont les classifications bénin et probablement bénin. Selon GnomAD, ce variant est présent dans la population à une fréquence supérieure à 0,1%. Dans les guidelines belges: 1) les variants sont classés comme bénin ou probablement bénin s'ils sont présents dans la population ou dans une sous-population à une fréquence supérieure à 0,1%; 2) les variants classés bénin et probablement bénin ne doivent pas être rapportés dans le rapport clinique. La présence dans le rapport des variants appartenant à ces classifications est considérée comme non-acceptable. La classification VUS est considérée comme non-acceptable.

TET2 NM_001127208.2 c.3571C>T p.(Gln1191*) (Fréquence allélique: 47%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		Total
	Non	Oui	
Pathogénique	0	1	1
Probablement pathogénique	0	21	21
Probablement bénin	1	0	1
Total	1	22	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		Total
	Non	Oui	
Tier I: Impact clinique avéré	0	6	6
Tier II: Impact clinique potentiel	0	13	13
Tier III: Impact clinique indéterminé	0	3	3
Tier IV: Variant présumé bénin	1	0	1
Total	1	22	23

Commentaires

Le résultat attendu pour ce variant est la classification probablement pathogénique. Dans les guidelines belges: Une perte de fonction (LoF) dans un gène Tumeur Suppresseur (TS) est classée probablement pathogénique. La classification pathogénique n'est pas recommandée selon les guidelines belges mais est considérée comme acceptable. La classification probablement bénin est considérée comme non-acceptable.

Informations types reprises dans la conclusion générale	Informations spécifiques au cas 5	N
Diagnostic	LAM avec mutations CEBPa bialléliques	18
	Corrélation avec autres analyses nécessaire (caryotype, RTqPCR, Sanger sequencing)	6
	Suspicion d'un syndrome familial	7
Pronostic	Favorable (lié à CEBPa)	19
	Défavorable (lié à TET2)	12

2.3.6. Cas 6:

genre	M
année de naissance	1959
informations médicales	Leucémie aigüe myéloblastique (LAM)
type d'échantillon	moelle osseuse

NPM1 NM_002520.6 c.860_863dup p.(Trp288Cysfs*12) (Fréquence allélique: 35%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Pathogénique	0	20	20
Probablement pathogénique	0	3	3
Total	0	23	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Tier I: Impact clinique avéré	0	23	23
Total	0	23	23

Commentaires

Le résultat attendu pour ce variant est la classification pathogénique. La classification probablement pathogénique est considérée comme non-acceptable. Dans les guidelines belges: ce variant est présent dans le tableau "Consensus pathogenic variants in the Convention genes of Myeloid tumors v1".

TET2 NM_001127208.2 c.4879C>T p.(Gln1627*) (Fréquence allélique: 8%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Pathogénique	0	3	3
Probablement pathogénique	0	19	19
Probablement bénin	1	0	1
Total	1	22	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		
	Non	Oui	Total
Tier I: Impact clinique avéré	0	6	6
Tier II: Impact clinique potentiel	0	12	12
Tier III: Impact clinique indéterminé	0	4	4
Tier IV: Variant présumé bénin	1	0	1
Total	1	22	23

Commentaires

Le résultat attendu pour ce variant est la classification probablement pathogénique. Dans les guidelines belges: Une perte de fonction (LoF) dans un gène Tumeur Suppresseur (TS) est classée probablement pathogénique. La classification pathogénique n'est pas recommandée selon les guidelines belges mais est considérée comme acceptable. La classification probablement bénin est considérée comme non-acceptable.

WT1 NM_024426.4 c.1104dup p.(Arg369Alafs*16) (Fréquence allélique: 35%)			
	Classification biologique à rapporter dans le rapport clinique?		Total
	Non	Oui	
Pathogénique	0	1	1
Probablement pathogénique	0	22	22
Total	0	23	23
	Classification clinique à rapporter dans le rapport clinique?		Total
	Non	Oui	
Tier I: Impact clinique avéré	0	3	3
Tier II: Impact clinique potentiel	0	18	18
Tier III: Impact clinique indéterminé	0	2	2
Total	0	23	23

Commentaires

Le résultat attendu pour ce variant est la classification probablement pathogénique. Dans les guidelines belges: Une perte de fonction (LoF) de type frameshift dans un gène Tumeur Suppresseur (TS) est classée probablement pathogénique. La classification pathogénique n'est pas recommandée selon les guidelines belges mais est considérée comme acceptable. Dans ce rapport, la séquence ADNc de référence a été modifiée afin de correspondre à la description de la mutation WT1 c.1104dup p.(Arg369Alafs*16): remplacement de NM_024426.5 par NM_024426.4.

Informations types reprises dans la conclusion générale	Informations spécifiques au cas 6	N
Diagnostic	LAM avec mutation NPM1	14
	LAM	6
Pronostic	Favorable (lié à NPM1)	17
	Défavorable (lié aux autres mutations)	16
	Corrélation avec autres analyses nécessaire (caryotype et statut FLT3)	3
Traitement	Meilleure réponse à la thérapie d'induction, Dose élevée de thérapie d'induction	4

2.3.7. Taux de réussite des participants

Les 23 participants ont répondu 25 classifications biologiques et 25 classifications cliniques.

Les experts ont décidé de ne pas émettre d'avis concernant les classifications cliniques pour l'ensemble des cas théoriques et pour 2 classifications biologiques sur les 25 variants à analyser : EZH2 NM_004456.4, c.486del, p.(Glu162Aspfs*5), cas 1 et CEBPA NM_004364.3 c.878_880del, p.(Asn293del), cas 5 (cfr. Commentaires du cas 1 à cas 6).

Les recommandations concernant la classification clinique seront clarifiées dans la prochaine version des guidelines.

Les taux de réussite présentés dans les tableaux ci-dessous correspondent aux 23 classifications biologiques classées par les experts.

Taux de réussite total	
% de classifications biologiques attendues	87.15% (461/529)
% de classifications biologiques acceptables	1.70% (9/529)
% de classifications biologiques non recommandées mais acceptables	4.91% (26/529)
% de classifications biologiques non acceptables	6.24% (33/529)

Taux des classifications biologiques non acceptables par participant	Laboratoires
0% (0/23)	12
4,35% (1/23)	4
8,70% (2/23)	2
13,04% (3/23)	2
17,39% (4/23)	1
30,43% (7/23)	1
34,78% (8/23)	1
Total	23

2.4. **Aperçu des conclusions cliniques**

Les conclusions générales répondues par les participants sont reprises en annexe de ce rapport. Ces données ont été extraites à partir des réponses faites sur le site internet <https://qml.wiv-isp.be/NGS/20192/>. Afin de ne pas introduire d'erreurs de traduction, les conclusions ont été conservées dans la langue utilisée par les laboratoires.

Des recommandations sur le contenu des conclusions cliniques seront ajoutées aux guidelines belges afin de favoriser des conclusions plus concises et plus claires.

Pour rappel, dans les guidelines belges, il est recommandé de ne pas discuter les variants VUS dans la conclusion. En absence de données suffisantes pour émettre un avis clinique complet, il est recommandé que le laboratoire médical qui analyse les résultats NGS suggère au prescripteur de faire réaliser les tests additionnels nécessaires à cet avis.

3. ANNEXE

3.1. Conclusions cliniques

3.1.1. Cas 1

Er worden drie mutaties gedetecteerd die passen bij de diagnose van primaire myelofibrose, waarvan de mutatie in JAK2 als driver mutatie geïdentificeerd wordt. Patiënten met een JAK2 V617F mutatie als driver mutatie vertonen een intermediaire prognose (Tefferi et al., AJH 2018).

Mutaties in EZH2 en IDH1 komen sporadisch voor bij patiënten met PMF (5-10%) en zijn geassocieerd met een verhoogde kans op leukemische transformatie en een kortere overall survival (Vannucchi et al., Leukemia 2013).

Diagnostic:

La prévalence de la mutation c.1849G>T du gène JAK2 est de 60% dans les PMF. Il s'agit d'un critère majeur de diagnostic tel que proposé dans la classification de la WHO 2016. En coordination avec les données de la biopsie ostéo-médullaire ceci pourrait représenter un argument en faveur du diagnostic de PMF. La prévalence des mutations de l'exon 4 d'IDH1&2 est de 4% dans les PMF.

Pronostic:

Dans le cadre d'un diagnostic établi de PMF, la mutation c.395G>A d'IDH1 peut être considérée comme "High - Risk Mutation (HRM) avec un impact péjoratif sur la survie globale et la survie sans leucémie (Vannucchi et al., Leukemia 2013).

Dans le modèle pronostic MIPSS70 ce patient présente une mutation de haut risque (1 point) et pas de mutation de type 1 ou type 1 like de CALR (1 point), dans le MISSP70+, une mutation de haut risque (2 points) et pas de mutation de type 1 ou type 1 like de CALR (2 points), dans le GIPSS pas de mutation de type 1 ou type 1 like de CALR (1 point).

Aucune conclusion ne peut être tirée de l'identification du variant c.486del d'EZH2, de signification biologique et clinique indéterminée (VUS), non référencé dans les bases de données de variants somatiques (COSMIC).

De gevonden variant in JAK2 is een consensus pathogene variant met diagnostisch belang, met name 50-60% van de WHO-gedefinieerde PMF gevallen dragen deze variant. De gevonden variant in IDH1 is een consensus pathogene variant, dewelke eveneens beschreven is voor te komen bij PMF. Deze variant blijkt geassocieerd te zijn met een hoger risico op leukemische transformatie van de ziekte en een minder gunstige prognose.

Aanwezigheid van significant klinisch belangrijke IDH1 variant geassocieerd met myelofibrose en met verhoogd risico op transformatie naar AML.

Aanwezigheid van significant klinisch belangrijke JAK2 variant geassocieerd met myeloproliferatieve aandoeningen waaronder myelofibrose (40-50%), polycythemia vera (95-99%) en essentiële thrombocythemie (50-70%).

NGS analyse toont de aanwezigheid van twee varianten met significant klinisch belang (TIER I):

- JAK2 c.1849G>T (p(Val617Phe)) (allel frequency 29%)
- IDH1 c.395G>A (p(Arg132His)) (allel frequency 42%)

De JAK2 c.1849G>T mutatie is een gekende driver mutatie in myeloproliferatieve aandoeningen, passend bij de diagnose van primaire myelofibrositis (WHO revised 4th edition; Lyon 2017). De aanwezigheid van de IDH1 c.395G>A variant in primaire myelofibrositis is geassocieerd met een ongunstige prognose (PMID 29970342). Verder werd er een variant met onduidelijke klinische betekenis (VUS) in het EZH2 gen opgespoord.

JAK2 mutaties komen frequent voor bij PV (97%), ET (60%) en PMF (50%) en vormen hierbij een diagnostisch criterium (zie WHO 2016).

IDH mutaties in PMF impliceren een slechte prognose (zie ook MIPSS70 score), een kortere (ziektevrije) overleving en zijn een onafhankelijke predictor voor leukemische transformatie (Tefferi et al., 2018 PMID: 29708808 en 2019 PMID: 30683837)

Le variant V617F (c.1849G>T) du gène JAK2 constitue la mutation cardinale des syndromes myéloprolifératifs (SMP) et est retrouvée dans 60% des myélofibroses (PMF).

Le variant R132H (c. 395G>A) du gène IDH1 est rare dans les PMF (<5%). Ce variant serait associé à une péjoration du pronostic selon le score MIPSS70+ version 2.0*

Les variants entraînant une perte de fonction du gène EZH2 sont retrouvés dans 5-15% des PMF. Ceux-ci seraient également associés à une péjoration du pronostic selon le score MIPSS70+ version 2.0*

EN CONCLUSION ce patient présente un profil moléculaire compatible avec une PMF, ce profil est à intégrer aux scores pronostiques MIPSS70+ version 2.0* et DIPSS-plus**.

* MIPSS70+ Version 2.0: Mutation and Karyotype-Enhanced International Prognostic Scoring System for Primary Myelofibrosis, Tefferi & al. Journal of Clinical Oncology. 2018

** Driver mutations and prognosis in primary myelofibrosis: Mayo-Careggi MPN alliance study of 1,095 patients, Tefferi & al. American Journal of Hematology. 2018

Varianten in de genen JAK2 en IDH1 zijn recurrent in de context van een MPN, type myelofibrose.

In de context van myelofibrose wordt de aanwezigheid van een "driver" mutatie in JAK2 geassocieerd met een minder gunstige prognose dan CALR (Ref: Tefferi et al., Blood 2014. 124(16): 2507-2513; Shammo and Stein, 2016 ASH Educ. Program: 552-560).

Aanwezigheid van bijkomende varianten. Varianten in het IDH1 gen worden geassocieerd met hoog moleculair risico profiel.

De klinische/prognostische betekenis van de variant gedetecteerd in het EZH2 gen is niet gekend.

• Indien na verder onderzoek van additioneel materiaal (bv. orale swab) blijkt dat het hier zou gaan om een germline EZH2-variant betreft, dient de patiënt verder getest te worden op het Weaver Syndrome (WVS).

Het WVS wordt veroorzaakt door pathogene germline varianten van EZH2. Het betreft een heterozygote mutatie.

De rol van EZH2 bij hematologische maligniteiten is nog steeds onvoldoende duidelijk. Verscheidene puntmutaties, welke resulteren in gain-of-function of loss-of-function, zijn waargenomen bij lymfoma's en leukemia, hetgeen een rol suggereert als oncogen- of tumorsuppressorgen. EZH2 vormt de katalytische subeenheid van het complex PRC2 en katalyseert meer bepaald de methylering van histon H3K27. Histon-modificatie speelt een belangrijke rol bij de hermodellering van chromatine en genexpressie. Somatische mutaties van EZH2 wordt teruggevonden bij 6% van myelodysplastische Syndromes (MDS) en is een onafhankelijke ongunstige prognostische factor (PMID's: 20601954, 21714648). Anderzijds rapporteert Usemann et al. (2016) een EZH2-mutatie bij een adolescent met WVS met ontwikkeling van acute myeloïde leukemie en secundaire hemofagocytische lymfohistiocytose.

• Verder onderzoek van additioneel materieel (bv orale swab) is noodzakelijk om te bepalen of het een germline variant betreft van IDH1.

IDH1 codeert voor een dimerisch NADP-afhankelijk isocitraatdehydrogenase (EC 1.1.1.42) gelokaliseerd in het cytoplasma en peroxisomen en is betrokken bij het citraatmetabolisme. Mutaties op Arg132 van IDH1 zijn typisch heterozygote gain-of-function mutaties welke resulteren in een toename van 2-hydroxyglutaraat. Hiervan wordt aangenomen dat het de epigenetische regulatie (DNA-methylatie) in acute myeloïde leukemie (AML) veranderen. IDH1 R132-mutaties zijn waargenomen bij een aantal kankertypes en lijken zich in verschillende omgevingen heel anders te gedragen. Bij myelodysplastische syndromen en AML is aangetoond dat IDH1 R132-mutaties geassocieerd zijn met een slechtere prognose. Ze zijn ook gekoppeld aan cytogenetisch normale AML, een intermediair risicosubtype van de ziekte. Bij glioblastoma en astrocytoma hebben patiënten met IDH1-mutaties echter een betere prognose versus patiënten met wild-type IDH1. Ook in tegenstelling tot AML, in glioblastoma, zijn IDH1-mutaties geassocieerd met de specifieke cytogenetische abnormaliteiten, 1p en 19q deleties.

• JAK2 is een niet-receptor tyrosinekinase dat de signaaloverdracht via het JAK-STAT-pad bemiddelt. De somatische, activerende mutatie V617F in het pseudokinasedomein van JAK2 is gemeld bij meer dan 90% van de patiënten met polycytemie vera, 40-70% van de essentiële trombocytose, 40-60% van primaire myelofibrose en 50% van MDS / MPN met ring Sideroblasten en trombocytose. Hoewel het minder geassocieerd is met kanker, is het, wanneer het wordt gezien, waarschijnlijker in myeloïde leukemieën dan lymfoïde leukemieën. De V617F-mutatie is een activerende mutatie, resulterend in verhoogde kinaseactiviteit. De mutatie lijkt beperkt te zijn tot hematologische maligniteiten. Ruxolitinib is een JAK2-remmer die is goedgekeurd voor gebruik bij patiënten met intermediaire en risicovolle primaire myelofibrose en wordt bestudeerd in andere JAK2 + -MMP's. Andere JAK2-remmers (bijvoorbeeld Pacritinib) bevinden zich ook in verschillende stadia van onderzoek.

Dans cet échantillon médullaire caractérisé par une myélofibrose, présence de 3 variants pathogéniques d'impact clinique potentiel. Le variant AZH2 p.(E162Dfs*5) fréquemment retrouvé dans les MF est prédictif de résistance dans les MF précédée de thrombocytémie essentielle traitées par INF alpha. Le variant IDH1 p.(R132H) est prédictif de sensibilité aux anti-IDH1 dans les LMA et le variant JAK2 est prédictif de sensibilité aux anti-JAK2 dans les MF post SMP ou SMD. En conclusion, MF pouvant répondre à 2 traitements ciblés à corréler avec le caryotype et la cytologie.

Met Next Generation Sequencing werd een mutatie gedetecteerd in het JAK2 gen nl. Val617Phe passend bij de gekende diagnose PMF.

Bijomend werden eveneens een IDH1 en een EZH2 mutatie gedetecteerd. Prognostisch ongunstig mutatieprofiel.

Pour chaque variant, les informations et l'interprétation dans le cadre d'une myélofibrose primitive (MP) sont résumées dans le tableau ci-dessus.

-Présence d'un variant pathogénique dans le gène cible JAK2 (p.(Val617Phe) ; FA=29%) compatible avec le diagnostic de MP. En cas de myélofibrose, la présence de JAK2 V617F est la plus fréquente des mutations "driver" (55.8%) et est associée à un pronostic plus favorable que les patients triples négatifs mais moins favorable que les patients CALR ou MPL muté (TEFFERI;BLOOD 2015). Ce variant est associé à une thérapie connue (ruxolitinib).

-Présence d'un variant pathogénique dans le gène cible IDH1 (p.(Arg132His) ; FA=42%) compatible avec le diagnostic de NMP et dont l'impact clinique est également avéré. La littérature rapporte que les variants dans le gène IDH1 sont associés à une survie moins favorable surtout dans les myélofibroses primitives JAK2 V617F positive et peuvent faire l'objet d'une thérapie ciblée (Ivosidenib) (Yen-Chien Lee et al- J.CLML -2018 et Bose et al- J.CLML-2018). Rachel et al (BBMT 2018) rapportent que des patients avec des mutations dans le gène IDH1 présentent un risque plus élevé de transformation leucémique

-Présence d'un variant probablement pathogénique dans le gène cible EZH2 (p.(Glu162Aspfs*5) ; FA=43%) compatible avec le diagnostic de NMP. Une perte de fonction du gène EZH2 chez des patients MPN est associée à un pronostic défavorable (McClure, JMD-2018). Rachel et al (BBMT 2018) rapportent que les mutations ASXL1, EZH2 et SRSF2 peuvent être associées à une survie raccourcie.

† Une fraction allélique > 40% suggère que l'anomalie pourrait être d'origine héréditaire et pathogénique ou pathogénique probable. Un contrôle sur un prélèvement buccal est dès lors recommandé

Présence de mutations IDH1 et JAK2, critères diagnostiques majeurs d'une myélofibrose primitive (selon WHO). La mutation IDH1 est de mauvais pronostique dans les myélofibrose primaire.

VUS et mutation de signification clinique inconnue détecté au niveau du gène EZH2.

NGS toont aanwezigheid aan van varianten in de genen EZH2, IDH1 en JAK2:

- 1) een consensus pathogene variant p.(Val617Phe) (V617F) in het JAK2 gen (VAF 29%): aanwezigheid van deze variant is compatibel met aanwezigheid van een myeloproliferatieve neoplasie (PV, ET of PMF) maar kan ook passen bij MDS/MPN-RS-T. JAK2 varianten worden bij ongeveer 65% PMF patiënten teruggevonden (Tefferi et al., Am J Hematol 2018).
- 2) een consensus pathogene variant p.(Arg132His) in het IDH1 gen (VAF 42%): IDH1/2 varianten komen bij ongeveer 4% PMF patiënten voor en zijn geassocieerd met een slechte algemene en leukemie-vrije overleving (Tefferi, Am. J. Hematol. 2016).
- 3) een vermoedelijk pathogene, loss-of-function variant in het EZH2 gen (VAF 43%): EZH2 varianten komen

bij ongeveer 7% PMF patiënten voor (Tefferi et al., Am J Hematol 2018). In tegenstelling tot de oncogene gain-of-function varianten die teruggevonden worden in lymfoïde aandoeningen zijn de MPN-geassocieerde varianten geassocieerd met een 'tumor suppressor' functie van het EZH2 gen. EZH2 varianten zijn geassocieerd met een slechte algemene overleving in PMF (Guglielmelli et al., Blood 2011).

Besluit: NGS profiel is compatibel met een PMF. De varianten in IDH1 en EZH2 hebben een negatief effect op de algemene en mogelijk ook leukemie-vrije overleving bij PMF en werden recent opgenomen in nieuwe prognostische modellen voor PMF zoals MIPSS70 en MIPSS70+ version 2.0 (zie review Tefferi et al., Am J Hematol 2018). Volgens deze prognostische modellen behoort deze patiënt alleen al op basis van dit moleculair profiel (afwezigheid van CALR varianten en aanwezigheid van IDH1/EZH2 varianten) tot de intermediaire (MIPSS70) of hoog risico (MIPSS70+v2.0) groep.

De JAK2 mutatie is een majeur criterium in de diagnose van MPN (PMF/Pre-PMF) (WHO 2017). IDH1/2 mutaties zijn beschreven in PMF en zijn geassocieerd met slechtere prognose en hogere kans voor leukemische transformatie (Tefferi et al., Leukemia 2010; Yonal-Hindilerden et al., J Clin Res Med 2016). EZH2 mutaties zijn beschreven in PMF en zijn geassocieerd met slechtere prognose (Guglielmelli et al., Blood 2011; Vannucchi et al., Leukemia 2013).

Er werd een pathogene mutatie in het JAK2 gen en een pathogene mutatie in het IDH1 gen geïdentificeerd, respectievelijk JAK2 c.1849G>T (p.(Val617Phe)) en IDH1 c.395G>A (p.(Arg132His)). Beide mutaties hebben een significant klinisch belang (Tier I). De JAK2 c.1849G>T (p.(Val617Phe)) mutatie wordt aangetroffen in 50-60 % van de patiënten met primaire myelofibrose (PMF) [1,2]. De aanwezigheid van een JAK2 mutatie vormt een majeur WHO-criterium voor diagnose van PMF [1]. De JAK2 c.1849G>T (p.(Val617Phe)) mutatie is in PMF geassocieerd met een intermediaire prognose en een hoger risico op thrombose in vergelijking met patiënten met een CALR mutatie [2,3]. Mutatie van IDH1 p.Arg132 komt voor in 2-5 % van de patiënten met PMF en is onafhankelijk geassocieerd met slechtere leukemievrije overleving [2,4-7]. Beide mutaties kunnen ook in andere hematologische aandoeningen dan PMF voorkomen.

Daarnaast werd een variant van onduidelijke betekenis (VUS) gedetecteerd, EZH2 c.486del (p.(A Glu162Aspfs*5)), waaraan actueel geen klinische implicaties gekoppeld kunnen worden (Tier III: ongekende klinische betekenis).

Referenties:

1. Swerdlow SH et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues (revised 4th edition). IARC: Lyon 2017.
2. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: myeloproliferative neoplasms, version 2.2019.
3. PMID 24986690.
4. PMID 21912393.
5. PMID 23619563.
6. PMID 26668680.
7. PMID 30683837.

De JAK2 Val617Phe is een gekende mutatie in patiënten met PMF en is geassocieerd met een progressie naar splenomegalie en leukemische transformatie. (doi: 10.1182/blood-2007-07-099184)
De IDH1 Arg132His mutatie is een gekende pathogenische variant die in PMF eerder zeldzaam is, waardoor de prognostische impact in deze klinische setting niet duidelijk is. Tefferi et al. (2010) suggereren dat een IDH1 mutatie in PMF kan wijzen op leukemische transformatie. (doi: 10.1038/leu.2010.113).
Tenslotte werd er ook een mutatie vastgesteld in het EZH2 oncogen. Het is onduidelijk wat de impact van deze variant of unknown significance (VUS) is.

Er werd een pathogene JAK2 (NM_004972.3): c.1849G>T (p.(Val617Phe)) missense variant geïdentificeerd. De aanwezigheid van dit type variant heeft significant klinisch belang (tier I) en stemt overeen met de diagnose van primaire myelofibrose.

Daarnaast werd er een pathogene IDH1 (NM_005896.3): c.395G>A (p.(Arg132His)) missense variant geïdentificeerd waarvan de aanwezigheid in primaire myelofibrose mogelijk meer risico geeft op fibrose en progressie naar AML (tier II) .

Bijkomend werd er een EZH2 (NM_004456.4): c.486del (p.(Glu162Aspfs*5)) out of frame deletie variant van ongekende biologische betekenis (VUS) geïdentificeerd met een ongekende klinische betekenis (tier III).

Conclusie: PMF met IDH1 variant, mogelijk slechte prognose.

Referentie: Pubmed ID 15781101 en 20884716

Compatible avec un syndrome myéloprolifératif

Tier 1 (significant klinisch belang):

De aanwezigheid van een mutatie in JAK2 en IDH1 past bij de diagnose van primaire myelofibrose (PMF). Bij PMF zijn JAK2 en IDH1 mutaties geassocieerd met een ONGUNSTIGE prognose. Aanwezigheid van 2 of meer prognostisch ongunstige mutaties wordt bovendien geassocieerd met een 'high-molecular risk' (HMR) categorie.

Tier 3 (ongekende klinische betekenis):

EZH mutaties worden geassocieerd met kortere overleving bij patiënten met PMF. De klinische betekenis van de gevonden mutatie in EZH2 is niet gekend.

(Swerdlow et al WHO IARC 2017, Guglielmelli et al 2011 Blood, Tefferi et al 2016 Blood Advances, Guglielmelli et al 2014 Leukemia, Vannucchi et al 2013 Leukemia)

Disclaimer:

Deze test kan geen onderscheid maken tussen een verworven en een germline variant, en kan CHIP (clonal hematopoiesis of indeterminate potential) en pathogene mutaties niet van mekaar onderscheiden.

Tier 1 (significant klinisch belang):

De aanwezigheid van een mutatie in JAK2 en IDH1 past bij de diagnose van primaire myelofibrose (PMF). Bij PMF zijn JAK2 en IDH1 mutaties geassocieerd met een ONGUNSTIGE prognose. Aanwezigheid van 2 of meer

prognostisch ongunstige mutaties wordt bovendien geassocieerd met een 'high-molecular risk' (HMR) categorie. Tier 3 (ongekende klinische betekenis): EZH mutaties worden geassocieerd met kortere overleving bij patiënten met PMF. De klinische betekenis van de gevonden mutatie in EZH2 is niet gekend. (Swerdlow et al WHO IARC 2017, Guglielmelli et al 2011 Blood, Tefferi et al 2016 Blood Advances, Guglielmelli et al 2014 Leukemia, Vannucchi et al 2013 Leukemia)
Disclaimer:
Deze test kan geen onderscheid maken tussen een verworven en een germline variant, en kan CHIP (clonal hematopoiesis of indeterminate potential) en pathogene mutaties niet van mekaar onderscheiden.

5. Besluit

- Diagnose: Mutatieprofiel passend bij primaire myelofibrose.
- Therapie: Indicatief voor gebruik van JAK2 inhibitoren doch klinisch voordeel niet eenduidig. IDH inhibitie goedgekeurd bij IDH-gemuteerde AML (bvb ivosidenib).
- Prognose: JAK2 mutatie eerder geassocieerd met gunstig klinisch verloop in geval van hoge variant frequentie (>25%). Bijkomende EZH2/IDH1 mutaties indicatief voor ongunstig klinisch verloop.

Referenties:

- Guglielmelli P et al. Blood 2011 118:5227-5234
- Ernst T et al. Nature Genet 2010 42(8):722-6
- Masarova L et al. Blood 2016 128:877-880
- Tefferi A et al. Leukemia 2012 26(3): 475-480
- Bose et al. Blood 2017
- Stahl et al. Expert Rev Hematol 2017

Medische informatie: primaire myelofibrose
Staaltype: beenmerg

Tier 1 (significant klinisch belang):

De aanwezigheid van een mutatie in JAK2 en IDH1 past bij de diagnose van primaire myelofibrose (PMF). Bij PMF zijn JAK2 en IDH1 mutaties geassocieerd met een ONGUNSTIGE prognose. Aanwezigheid van 2 of meer prognostisch ongunstige mutaties wordt bovendien geassocieerd met een 'high-molecular risk' (HMR) categorie.

Tier 3 (ongekende klinische betekenis):

EZH mutaties worden geassocieerd met kortere overleving bij patiënten met PMF. De klinische betekenis van de gevonden mutatie in EZH2 is niet gekend.

(Swerdlow et al WHO IARC 2017, Guglielmelli et al 2011 Blood, Tefferi et al 2016 Blood Advances, Guglielmelli et al 2014 Leukemia, Vannucchi et al 2013 Leukemia)

Disclaimer:

Deze test kan geen onderscheid maken tussen een verworven en een germline variant, en kan CHIP (clonal hematopoiesis of indeterminate potential) en pathogene mutaties niet van mekaar onderscheiden.

3.1.2. Cas 2

De variant in het CSF3R gen is recurrent in de context van CNL.

Varianten in de genen ASXL1, RUNX1 en U2AF1 zijn recurrent in de context van verschillende myeloïde neoplasmen o.a. MDS.

In de context van een secundaire MDS wordt de aanwezigheid van varianten in de genen ASXL1 en RUNX1 gen geassocieerd met een ongunstige prognose (Ref: Kennedy and Ebert, J Clin Onc 2017. 35(9):968-974).

Aanwezigheid van een bijkomende variant in het TET2 gen waarvan de klinische/prognostische betekenis momenteel niet gekend is.

NGS analyse toont de aanwezigheid van volgende vier varianten met significant (TIER I) of mogelijk significant (TIER II) klinisch belang:

- CSF3R c.1853C>T (p(Thr618Ile) (allel frequency 37%) (TIER I)
- RUNX1 c.601C>T (p(Arg201*) (allel frequency 37%) (TIER I)
- U2AF1 c.470A>C (p(Gln157Pro) (allel frequency 31%) (TIER I)
- ASXL1 c.1934dup (p(Gly646Trpfs*12)) (allel frequency 32%) (TIER II)

De aanwezigheid van de CSFR3 c.1853C>T activerende mutatie ondersteund de gekende diagnose van chronische neutrofiele leukemie (WHO revised 4th edition; Lyon 2017). De varianten gedetecteerd in het ASXL1, RUNX1 en U2AF1 gen kunnen passen bij een evolutie naar een MDS en zijn geassocieerd met een ongunstig MDS profiel (WHO revised 4th edition; Lyon 2017). Resultaten zijn te correleren met cytomorfologisch onderzoek.

Verder werd er een variant met onduidelijke klinische betekenis (VUS) in het TET2 gen opgespoord.

Mutation dans le gène ASXL1 de mauvais pronostic dans les SMD.

Mutation dans le gène CSF3R, critère diagnostique pour les LCN.

Mutation dans le gène RUNX1 de mauvais pronostic dans les SMD.

Mutation dans le gène U2AF1 de mauvais pronostic dans les SMD.

VUS et mutation de signification clinique inconnue détecté au niveau du gène TET2.

VUS au niveau du gène

Diagnostic:

Quatre variants pathogéniques ou probablement pathogéniques ont été détectés.

La mutation c.1853C>T du gène CSF3R est suggestive du diagnostic de leucémie chronique à neutrophiles (LCN), bien que non 100% spécifique de ce diagnostic. La prévalence de la mutation p.(Thr618Ile) a été rapportée à 83% des cas de LCN diagnostiqués selon les critères 2016. A confronter aux données du médullogramme et aux autres examens requis pour collecter les critères OMS du diagnostic de LCN.

Prédiction: dans ce contexte diagnostique le variant c.1853C>T est prédictif d'une réponse au Ruxolitinib (Maxson, NEJM 2013).

En outre, une mutation pathogénique d'U2AF1, et deux mutations probablement pathogéniques d'ASXL1 et de RUNX1 ont été mise en évidence. Les mutations d'U2AF1 ont été rapportées avec une prévalence comprise entre 5-17% des SMD, 13% des LMC atypiques. La prévalence des mutations d'ASXL1 est comprise entre 5-46% des SMD; 22 et 66% des LMC atypiques, celle de RUNX1 entre 8-20% des SMD et 6% des LMC atypiques (McClure et al, JMD 2018).

Ces données peuvent être évocatrices d'un processus myéloïde clonal, dont la nature doit être précisée par l'analyse du médullogramme, de la biopsie ostéo-médullaire et de l'établissement des scores d'Ogata et de Kern par analyse immunophénotypique de cytométrie en flux.

Un certain nombre de ces mutations (dont celles d'ASXL1, TET2 et RUNX1) ont en effet été décrites dans le contexte du processus d'hématopoïèse clonale de pronostic indéterminé ou liée à l'âge (CHIP/ARCH) Jaiswal, NEJM 2014).

Une fois le contexte diagnostique précisément établi à l'aide des examens complémentaires requis cités supra, des informations pronostiques peuvent être obtenue via la publication de McClure et al., JMD, Vol 20, November 2018.

Les mutations de RUNX1, ASXL1 et U2AF1 ont en particuliers été associées à un caractère pronostic péjoratif indépendants dans le cadre du diagnostic de SMD (Patel et al., Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia July 2017).

Er werd een pathogene CSF3R (NM_156039.3): c.1853C>T (p.(Thr618Ile)) missense variant geïdentificeerd. De aanwezigheid van dit type variant heeft significant klinisch belang (tier I) en is sterk geassocieerd met de diagnose van chronische neutrofiele leukemie.

Daarnaast werden twee extra varianten geïdentificeerd: een pathogene ASXL1 (NM_015338.5): c.1934dup (p.(Gly646Trpfs*12)) out of frame duplicatie variant met een mogelijks klinische betekenis (tier II) en een pathogene RUNX1 (NM_001754.4) c.601C>T (p.(Arg201*)) nonsense variant met een mogelijks klinische betekenis (tier II).

De aanwezigheid van deze twee varianten in CNL met een zeer gelijkaardige variant allel frequentie als de CSF3R variant, geeft een slechte prognose.

Bijkomend werden nog twee varianten geïdentificeerd: een pathogene U2AF1 (NM_006758.2): c.470A>C (p.(Gln157Pro)) missense variant met mogelijks significant klinisch belang (tier II) en een pathogene TET2 (NM_001127208.2): c.4175_4177dup (p.(Ser1392dup)) in frame duplicatie variant met mogelijks significant klinisch belang (tier II).

Conclusie: CNL met ASXL1 en RUNX1 varianten, mogelijks slechte prognose.

Referentie: Pubmed ID 27069254 en 30222780

Er worden 5 mutaties gedetecteerd aan een vergelijkbare frequentie.

Mutaties in CSF3R zijn kenmerkend voor chronische neutrofiele leukemie (CNL) en worden in >80% van patiënten terug gevonden. In de meerderheid van de gevallen betreft het de driver mutation T618I, zoals bij deze patiënt. De impact op prognose (transformatie naar AML) is alsnog onduidelijk maar mutatie in hotspot T618I biedt wel mogelijkheid tot targeted therapy.

Bovendien hebben de meeste patiënten (>50%) een additionele ASXL1 mutatie zoals deze patiënt, wat gecorreleerd is met een kortere overall survival en grotere kans op transformatie naar een CMML. Daarnaast wordt ook een U2AF1 mutatie gedetecteerd bij deze patiënt die zeldzaam geassocieerd is met CSF3R T618I-positieve CNL.

(Elliott et al., Am J Hematol 2015, Maxson et al, NEJM 2013 en Szuber and Tefferi, Blood Canc J 2018)

Mutaties in RUNX1 en U2AF1 zijn zeldzaam bij CNL en kunnen bij deze patiënt wijzen op ziekteprogressie. Zowel ASXL1, RUNX1 en U2AF1 mutaties worden namelijk ook terug gevonden bij myelodysplasie (MDS). Deze mutaties kunnen dus het histologisch vermoeden van progressie naar een MDS ondersteunen. Bij MDS zijn RUNX1 mutaties minder frequent (10-15%), maar wel geassocieerd met een slechte prognose (MDS NCCN guidelines 2.2018). MDS patiënten met een ASXL1 mutatie vertonen een verminderde respons op behandeling met hypometylerende agentia (HMA) of lenalidomide (Idossa et al., Am J Hematol 2018). Het is voornamelijk de combinatie van mutaties in RUNX1 en ASXL1 die een negatieve impact heeft op de prognose, ongeacht de IPSS-R klasse (Greenberg et al., NCCN MDS 2017; Bejar et al., Haematologica 2014).

U2AF1 mutaties in MDS patiënten zijn gecorreleerd met een verhoogde kans op evolutie naar AML. Recente studies tonen wel een onderscheid in de impact van mutaties in de S34 hotspot vs de Q157 hotspot, waarbij mutaties in de S34 hotspot van U2AF1 geen impact hebben op de prognose in tegenstelling tot mutaties in de Q157 hotspot (Tefferi et al., Am J Hematol 2018, Li et al., GCC 2018).

CSF3R mutaties komen voor bij >80% van de CNL en de CSF3R T618I mutatie is een van de diagnostische criteria voor CNL (WHO2016). Frequent voorkomen van bijkomende mutaties wijzen op complexiteit van de ziekte. ASXL1 mutaties zijn geassocieerd met een slechte prognose.

Gezien de zeldzaamheid dient het klinisch belang van RUNX1 en UAF1 nog verder aangetoond te worden. Tyner et al. Blood 2017 PMID: 28028025

5. Besluit

- Diagnostisch: Complex mutatie profiel passend bij CNL en eventueel progressie naar MDS-EB1. Doch deze diagnose dient gesteld te worden op basis van bloedbeeld, klinische -, en morfologische parameters. CSF3R mutatie als gekende driver voor CNL (en aCML). U2AF1 mutatie is een gekende (dysplastische) driver bij MDS.

- Therapeutisch: Geen eenduidige therapeutische implicaties o.b.v. het moleculair profiel.

- Prognostisch: U2AF1, RUNX1, en ASXL1 mutatie indicatief voor ongunstig klinisch verloop.

Referenties:

Elliott et al., Am J Hematol 2018

Referenties:

- Bejar R & Abdel-Wahab O. Blood 2013 122(22): 3550-1

- Elliott MA et al. Am J hematol. 2015 90(7):653-6

- Chen CY et al. Br J Hematol 2007 139(3): 405-14

Tier 1 (significant klinisch belang):

De aanwezigheid van een CSF3R mutatie is een majeur criterium in de diagnose van chronische neutrofiele leukemie (CNL). CSF3R p.(Thr618Ile) gemuteerde CNL patiënten zouden in aanmerking komen voor gerichte therapie ('molecularly targeted therapy'). Onderzoek omtrent de plaats van ruxolitinib als therapie bij deze patiënten is lopende, oa. in een multicenter clinical trial (clinical-trials.gov-study ID 5 02092324)).

Aanwezigheid van ASXL1 mutaties zijn recurrent in CNL en worden geassocieerd met een ONGUNSTIGE prognose.

Mutaties in ASXL1, RUNX1 en U2AF1 zijn ook recurrent in MDS. Mutaties in ASXL1, RUNX1 en U2AF1 worden geassocieerd met een ONGUNSTIGE prognose en een verhoogd risico op leukemische evolutie.

Tier 3 (ongekende klinische betekenis):

Mutaties in TET2 zijn recurrent in MDS. De klinische betekenis van de gevonden mutatie in TET2 is niet gekend. (Swerdlow et al, WHO IARC 2017, Elliott et al 2018 Am J Hematol, Sood et al 2017 Blood, Maxson et al 2013 NEJM, Bejar et al 2014 Haematologica, Cazzola et al 2013 Blood)

Disclaimer:

Deze test kan geen onderscheid maken tussen een verworven en een germline variant, en kan CHIP (clonal hematopoiesis of indeterminate potential) en pathogene mutaties niet van mekaar onderscheiden.

Tier 1 (significant klinisch belang):

De aanwezigheid van een CSF3R mutatie is een majeur criterium in de diagnose van chronische neutrofiele leukemie (CNL). CSF3R p.(Thr618Ile) gemuteerde CNL patiënten zouden in aanmerking komen voor gerichte therapie ('molecularly targeted therapy'). Onderzoek omtrent de plaats van ruxolitinib als therapie bij deze patiënten is lopende, oa. in een multicenter clinical trial (clinical-trials.gov-study ID 5 02092324)).

Aanwezigheid van ASXL1 mutaties zijn recurrent in CNL en worden geassocieerd met een ONGUNSTIGE prognose.

Mutaties in ASXL1, RUNX1 en U2AF1 zijn ook recurrent in MDS. Mutaties in ASXL1, RUNX1 en U2AF1 worden geassocieerd met een ONGUNSTIGE prognose en een verhoogd risico op leukemische evolutie.

Tier 3 (ongekende klinische betekenis):

Mutaties in TET2 zijn recurrent in MDS. De klinische betekenis van de gevonden mutatie in TET2 is niet gekend. (Swerdlow et al, WHO IARC 2017, Elliott et al 2018 Am J Hematol, Sood et al 2017 Blood, Maxson et al 2013 NEJM, Bejar et al 2014 Haematologica, Cazzola et al 2013 Blood)

Disclaimer:

Deze test kan geen onderscheid maken tussen een verworven en een germline variant, en kan CHIP (clonal hematopoiesis of indeterminate potential) en pathogene mutaties niet van mekaar onderscheiden.

Chronische neutrofile leukemie is geassocieerd met het voorkomen van de in deze casus beschreven consensus pathogene variant in CSF3R, waarbij het een diagnostisch criterium vormt volgens de WHO richtlijnen 2016. De associatie met een ASXL1 variant is beschreven bij CNL, waarbij ze gelinkt wordt aan een mindere prognose. Ook varianten in het gen U2AF1 worden in de literatuur beschreven bij CNL, waarbij hun betekenis nog onduidelijk is. RUNX1 varianten zijn minder beschreven bij CNL, maar kunnen passen bij de progressie naar MDS bij deze patiënt. Bij MDS komt een RUNX1 variant voor bij ongeveer 10% van de patiënten, waarbij ze geassocieerd wordt met een ongunstige prognose. Ook ASXL1 en U2AF1 varianten worden geassocieerd met een slechtere outcome bij MDS.

Aanwezigheid van significant klinisch belangrijke CSF3R variant sterk geassocieerd met CNL (43%). Het betreft een membraan proximale mutatie in exon 14 die in vitro gevoelig is aan JAK inhibitoren (Meggendorfer M. et al., Hematologica, 2014; 99:e246).

Aanwezigheid van mogelijk klinisch belangrijke ASXL1 variant, een dysplastische driver mutatie in MDS (11-15%) en in CNL (57%), geassocieerd met snellere transformatie naar AML en slechtere prognose.

Aanwezigheid van mogelijk klinisch belangrijke RUNX1 variant, geassocieerd met slechtere prognose in MDS en hoger risico op transformatie naar AML.

Aanwezigheid van significant klinisch belangrijke U2AF1 variant, een dysplastische driver mutatie in MDS (5%).

In totaal zijn 4 mutaties aanwezig: hoe hoger het aantal mutaties in MDS hoe slechter de prognose en hoe hoger het risico op transformatie naar AML (Bejar R. et al., Blood, 2013,122:3550-51)

Pour chaque variant, les informations et l'interprétation dans le cadre d'une Leucémie chronique à neutrophiles (CNL) à évolution vers syndrome myélodysplasique (SMD)-RAEB1 ? sont résumées dans le tableau ci-dessus.

-Présence d'un variant pathogénique dans le gène cible CSF3R (p.(Thr618Ile) ; FA=37%) qui est fortement associé au diagnostic de CNL et dont l'impact clinique est avéré (Elliot et al. AMJ-2017). Cette mutation juxta-membranaire conférerait selon des études cliniques une sensibilité aux inhibiteurs de kinase JAK (ruxolitinib).

-Présence d'un variant pathogénique dans le gène cible ASXL1 (p.(Gly646Trpfs*12) ; FA=32%) compatible avec le diagnostic de CNL/SMD et dont l'impact clinique est avéré. Dans les CNL, la coexistence de mutations dans CSF3R et ASXL1 est associée à un pronostic défavorable (Elliot et al. AMJ-2015).

-Présence d'un variant pathogénique dans le gène cible U2AF1 (p.(Gln157pro) ; FA=31%) compatible avec le diagnostic de SMD et dont l'impact clinique est avéré. La survie globale des SMD avec variant dans U2AF1 est moins bonne selon McClure et al (Jmd 2018 ; NCCN).

-Présence d'un variant pathogénique dans le gène cible RUNX1 (p.(Arg201*) ; FA=37%) compatible avec le diagnostic de SMD et dont l'impact clinique est avéré. Les variants dans RUNX1 sont associés à un moins bon pronostic dans les MDS (NCCN).

-Présence d'un variant dans le gène cible TET2 (p.(Ser1392dup) ; FA=32%) compatible avec le diagnostic de CNL/SMD mais dont l'impact biologique/clinique est indéterminé.

† Une fraction allélique > 40% suggère que l'anomalie pourrait être d'origine héréditaire et pathogénique ou pathogénique probable. Un contrôle sur un prélèvement buccal est dès lors recommandé.

Met NGS werd een CSF3R Thr618Ile mutatie gedetecteerd wat past bij de gekende CNL diagnose.

Bijkomend werden ook 4 andere mutaties gedetecteerd die recurrent voorkomen in myeloïde neoplasieën namelijk in ASXL1, RUNX1 en U2AF1.

Dit mutatieprofiel zou kunnen passen bij een CNL transformatie en is prognostisch ongunstig.

Aan te vullen met karyotypering.

Le variant T618I (c.1853C>T) du gène CSF3R est le variant cardinal des leucémies chroniques à neutrophiles (LCN) et doit faire suspecter cette pathologie en fonction des résultats cytologiques.*

Les variants du gène ASXL1 sont fréquents dans les syndromes myélodysplasiques (SMD) (15-25%). Ces variants sont indépendamment associés à une péjoration du pronostic dans les toutes les pathologies myéloïdes et, dans les SMD, seraient associés à une diminution de la réponse aux traitements par Decitabine et 5-azacytidine ainsi qu'à un risque de rechute post-greffe et à une diminution de la survie globale post-greffe similaires au passage d'un groupe IPSS-R au suivant. **

Les variants du gène RUNX1 sont retrouvés dans 5-10% des SMD, ils seraient indépendamment associés à une péjoration du pronostic avec risque de rechute post-greffe et diminution de la survie globale post-greffe (effet similaire et cumulable à celui des variants ASXL1).

Les variants du gène U2AF1 sont retrouvés dans 5-10% des SMD, ils seraient également associés à une péjoration du pronostic et une augmentation de risque de transformation en leucémie aiguë.

Les variants du gène TET2 sont retrouvés dans 20-25% des syndromes myélodysplasiques (SMD). L'impact pronostic de ces variants est mal défini, ils seraient néanmoins associées à une réponse améliorée aux traitements par agent hypométhylants (cet effet est néanmoins limité ici par la présence concomitante d'un variant du gène ASXL1).

En conclusion ce patient présente un profil moléculaire compatible avec une LCN en transformation vers un SMD. Ce profil est associé à un pronostic défavorable avec un risque majoré de transformation en leucémie aiguë. En cas de transformation, la sévérité de ce pronostic serait étendu à la pathologie aiguë.

* CSF3R T618I is a highly prevalent and specific mutation in chronic neutrophilic leukemia. A Pardanani & al.

Leukemia 2014.

** Clinical Effects of Driver Somatic Mutations on the Outcomes of Patients With Myelodysplastic Syndromes Treated With Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. Matteo G. Della Porta & al. Journal of clinical oncology 2016

Mutaties in CSF3R, U2AF1 en ASXL1 zijn beschreven in CNL. De CSF3R p.(Thr618Ile) mutatie is een criterium in de diagnose van CNL (WHO 2017).

Mutaties in ASXL1 zijn geassocieerd met een slechte prognose in CNL en MDS (Maxson et al., Blood 2017 ; WHO 2017).

ASXL1, U2AF1 en RUNX1 zijn ook beschreven als gemuteerd in MDS en heeft een ongunstige prognostische impact (WHO 2017, Dohner et al., Blood 2017).

Tevens wordt in WHO2017 een genetisch consult aangeraden bij patiënten met RUNX1 mutaties in het kader van een familiaal syndroom.

NGS toont aanwezigheid aan van varianten in ASXL1, CSF3R, RUNX1, TET2 en U2AF1:

1) een consensus pathogene variant p.(Thr618Ile) in het CSF3R gen (VAF 37%): CSF3R varianten worden in meer dan 80% van de CNL teruggevonden (zie review Maxson and Tyner, Blood 2017) en zijn een WHO diagnostisch criterium voor CNL. Behandeling met ruxolitinib (een JAK-STAT pathway inhibitor) is momenteel nog niet FDA-approved voor CSF3R positieve CNL, maar er werden wel al verschillende kleine studies en/of cases gepubliceerd (zie review Elliott and Tefferi, Am J Hematol. 2017).

2) een vermoedelijk pathogene, frame-shift, variant in het ASXL1 gen (VAF 32%): ASXL1 varianten worden bij 30-81% van de CNL patiënten teruggevonden (zie review Szuber and Tefferi, Blood Cancer J 2018). ASXL1 varianten zijn bij verschillende myeloïde aandoeningen geassocieerd met een slechte prognose en lijken volgens 1 studie ook in CNL een negatieve impact te hebben op algemene overleving (Elliott et al., Am J Hematol 2015).

3) een vermoedelijk pathogene, nonsense variant in het RUNX1 gen (VAF 37%): RUNX1 varianten zijn in CNL bijna niet beschreven. RUNX1 werd teruggevonden in 1 case van CSF3R-negatieve CNL en in een sub-kloon van een CSF3R/SETBP1 positieve patiënt (zie review Szuber and Tefferi, Blood Cancer J 2018). Het effect op prognose is dan ook niet gekend.

4) een consensus pathogene variant p.(Gln175Pro) in het U2AF1 gen (VAF 31%): U2AF1 varianten zijn in CNL bijna niet beschreven en de klinische impact van deze varianten in CNL is dus niet duidelijk. In CNL/aCML is er mogelijk een aanrijking van de in andere myeloïde aandoeningen minder voorkomende Gln157 varianten (zie review Maxson and Tyner, Blood 2017) die ook in deze patiënt wordt teruggevonden.

5) een in-frame variant-met-onbekende-betekenis in het TET2 gen (VAF 32%): het effect van deze variant op de eiwit-functie is niet duidelijk. TET2 varianten worden wel vaak teruggevonden in CNL (ongeveer 30%), maar de klinische impact van deze varianten is niet gekend (zie review Szuber and Tefferi, Blood Cancer J 2018).

Besluit: NGS profiel is in overeenstemming met aanwezigheid van een MDS/MPN gerelateerde CSF3R-positieve CNL. Varianten in ASXL1 en U2AF1 komen veelvuldig voor bij MDS/MPN overlap syndromen (Deininger W. et al. Nature Rev. Cancer 2017) en hebben, net als de RUNX1 variant, een negatief effect op de prognose inzake progressie naar MDS-RAEB1.

Er werd een pathogene mutatie in het CSF3R gen geïdentificeerd, CSF3R c.1853C>T (p.(Thr618Ile)). Deze mutatie heeft een significant klinisch belang (Tier I). De CSF3R c.1853C>T (p.(Thr618Ile)) mutatie wordt aangetroffen in chronische neutrofielen leukemie (CNL) en atypische chronische myeloïde leukemie (aCML) met een frequentie van respectievelijk 80-90 % en < 10 % [1-4]. De aanwezigheid van deze mutatie vormt een WHO-criterium voor diagnose van CNL [1] en is geassocieerd met gevoeligheid voor de JAK1/2 inhibitor ruxolitinib [3,4].

Ook werden een pathogene mutatie in het U2AF1 gen, een vermoedelijk pathogene mutatie in het ASXL1 gen en een vermoedelijk pathogene mutatie in het RUNX1 gen geïdentificeerd, respectievelijk U2AF1 c.470A>C (p.(Gln157Pro)), ASXL1 c.1934dup (p.(Gly646Trpfs*12)) en RUNX1 c.601C>T (p.(Arg201*)). Deze drie mutaties zijn in deze context te beschouwen als mutaties met een mogelijk klinisch belang (Tier II). ASXL1 mutaties worden aangetroffen in 30-60 % van de patiënten met CNL en zijn prognostisch ongunstig [4-6]. U2AF1 mutaties t.h.v. codon Gln157 hebben een verhoogde frequentie in CNL, zonder duidelijke prognostische betekenis [7]. RUNX1 mutaties werden al occasioneel beschreven in CNL, maar zijn frequenter in aCML [8]. ASXL1, U2AF1 en RUNX1 mutaties hebben bovendien een verhoogde frequentie in myelodysplastisch syndroom (MDS) en myelodysplastische/myeloproliferatieve overlapsyndromen (MDS/MPN) [8,9]. Het moleculair profiel in deze casus kan passen bij een CNL met vermoedelijk progressie naar MDS, maar ook bij een ab initio MDS/MPN overlapsyndroom, zijnde hetzij aCML, hetzij eventueel de recent voorgestelde nieuwe diagnostische entiteit van CNL met dysplasie [8]: te correleren met cytomorfologie, anatomopathologie en – indien beschikbaar – resultaten van eerder moleculair en morfologisch onderzoek bij deze patiënt.

Daarnaast werd een variant van onduidelijke betekenis (VUS) gedetecteerd, TET2 c.4175_4177dup (p.(Ser1392dup)), waaraan actueel geen klinische implicaties gekoppeld kunnen worden (Tier III: ongekende klinische betekenis).

Referenties:

1. Swerdlow SH et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues (revised 4th edition). IARC: Lyon 2017.
2. PMID 23604229.
3. PMID 23656643.
4. PMID 30581159.
5. PMID 25850813.
6. PMID 29449543.
7. PMID 26637732.
8. PMID 28983816.

9. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: myelodysplastic syndromes, version 2.2019.

Het samen voorkomen van 5 genmutaties (2 pathogene, 2 vermoedelijk pathogene, en 1 VUS) is prognostisch zeer ongunstig.

De CSF3R Thr618Ile mutatie is een gekende hotspot, specifiek voor CNL (doi: 10.1038/leu.2013.122). Een CSF3R mutatie in combinatie met een ASXL1 mutatie wordt geassocieerd met een korte overleving. (doi: 10.1002/ajh.24983)

Mutaties in het U2AF1 gen zijn vooral beschreven voor MDS en AML. De Gln157Pro mutatie is een gekende U2AF1 variant. Er is geen duidelijke consensus over de prognostische betekenis van U2AF1 mutatie in MDS. (doi: 10.1371/journal.pone.0045760; doi: 10.1002/ajh.23541)

RUNX1 mutaties in MDS zijn ook in verband gebracht met een kortere overleving. (doi: 10.1182/blood-2016-10-687830)

Tenslotte werd er ook een mutatie in het TET2 tumor suppressor gen vastgesteld. Het is onduidelijk wat de impact van deze variant of unknown significance (VUS) is.

Dans ce prélèvement médullaire évoquant une LCN en évolution vers un SMD (AREB-1), présence d'un variant pathogénique d'impact clinique avéré CSF3R p.(T618I) prépondérant dans les LCN et prédictif de sensibilité aux anti-GCSFR associé à un variant pathogénique d'impact clinique avéré RUNX1 p.(R201*) de mauvais pronostic dans les SMD, LMA et LMMC. A signaler également la présence d'un variant pathogénique d'impact clinique potentiel U2AF1 p.(Q157P) fréquemment observé dans les SMD mais dont l'impact pronostic (défavorable) est moins bien établi que son équivalent p.(Q157R) ainsi que la présence d'un variant ASXL1 p.(G646W) dont l'impact pronostic s'il est bien connu et défavorable dans les LMA et LMMC n'est pas significativement démontré dans les SMD et LCN. LCN évolutive vraisemblablement en (SMD)- AREB1 vu le variant RUNX1 de mauvais pronostic associé à corrélérer avec les données cytologiques, cytogénétiques et moléculaires (RTqPCR correspondantes). Cas à discuter en COM.

Le variant TET2 p. (S1392dup) (VUS) d'impact clinique indéterminé est rapporté à titre informatif.

On retrouve à la fois des marqueurs de LCN et de SMD

- De variant p.(Gly646Trpfs*12) is de meest voorkomende kanker-geassocieerde ASXL1 variant bij myelodysplastische aandoeningen. Ook is deze geassocieerd met een acute transformatie voor chronische myelomonocytair leukemie. ASXL1 mutaties worden het vaakst waargenomen bij de afwezigheid van FLT3-ITD en NPM1 mutaties die voorkomt bij acute myeloïde leukemie patiënten. Deze mutaties zijn geassocieerd met een slechte prognose met betrekking tot zowel overleving als complete remissiekansen. Bij patiënten met de novo AML na intensieve chemotherapie kregen, waren ASXL1-mutaties (N=51) geassocieerd met kortere algehele (P<0.001) en complicatie-vrije overleving (P=0.012) in vergelijking met ASXL1 wildtype (N=430). Multivariate analyse identificeerde ASXL1-mutaties als een onafhankelijke factor voor de algehele nadelige overleving (P=0.032, relatief risico: 1.70)(PMID: 23018865). In een meta-analyse van zes studies van in totaal 3311 patiënten met niet-M3 acute myeloïde leukemie, hadden die met mutaties in ASXL1 een slechtere algehele overleving dan wild-type patiënten (gevaar ratio 1, 86, 95% CI 1, 49-2,33)(PMID:25308295).

- De activerende missense membraan-proximale mutatie in CSF3R (p.T618I) komt voor bij ongeveer 83% van de gevallen van chronische neutrofiële leukemie; sommige rapporten geven aan dat deze mutatie ook aanwezig kan zijn in gevallen van atypische chronische myeloïde leukemie. De CSF3R T618I-mutatie is geassocieerd met een respons op JAK2-remmers maar niet op dasatinib. Een kiemlijn activerende CSF3R-mutatie (p.T617N) is beschreven in autosomale dominante erfelijke neutrofilie geassocieerd met splenomegalie en verhoogde circulerende CD34-positieve myeloïde voorlopers. Nonsens en/of frameshift somatische mutaties die het cytoplasmatische domein van CSF3R afbreken zijn beschreven bij ongeveer 40% van de patiënten met ernstige congenitale neutropenie en in de context van mutaties in andere genen kan dit gepaard gaan met progressie naar myeloïde leukemie. Deze activerende afknotkende mutaties zijn ook gevonden bij patiënten met chronische neutrofiële leukemie of atypische chronische myeloïde leukemie. Sommige van deze cytoplasmatische afknotkende mutaties zijn in verband gebracht met reacties op dasatinib maar niet op JAK2-remmers.

- RUNX1-mutaties zijn geassocieerd met een slechte prognose bij patiënten met acute myeloïde leukemie of t-cell acute lymfatische leukemie bij volwassenen. Bij jongere (<60 jaar) AML-patiënten leidde allogene stamceltransplantatie bij volledige remissie tot een veel betere terugvalvrije overleving dan herhaalde cycli van hoog-gedoseerde cytarabine.

- TET2 mutaties worden vaak aangetroffen bij acute myeloïde leukemie die voorkomt in 9-23% van de gevallen, waarbij deze veel voorkomt bij ouderen. Over het algemeen zijn deze mutaties verlies van functie die bij muismodellen zijn aangetoond om hemtopoietische stamceldifferentiatie te verminderen en afwijkende hematopoese te veroorzaken. Deze mutaties bleken wederzijds exclusief te zijn met MLL- en IDH1/2-mutaties en zijn in verband gebracht met verkorte ziektevrije overlevingsduur en ziektevrije overleving bij co-voorkomen met NPM1+/FLT3- genotypes. Over het algemeen is gevonden dat de overleving korter is wanneer het voorkomend met NPM1+/FLT3+ genotypes. Studies over "CN AML" en "de novo AML" waren echter niet in staat om de klinische impact op te helderen.

- U2AF1 codeert voor de kleine subeenheid van de U2-hulpfactor, een niet klein nucleair ribonucleoproteïne (non-snRNP) dat nodig is voor de binding van U2 snRNP aan de pre-mRNA-vertakingsplaats en een cruciale rol speelt bij RNA-splitsing. U2AF1 is een van de vele spliceosoomcomplexen die vaak gemuteerd zijn in verschillende hematologische maligniteiten. Twee hotspot-mutaties (S34 in exon 2 en Q157 in exon 6) treden op binnen de twee zinkvingerdomeinen van het U2AF1-eiwit. Deze mutaties zijn gemeld bij ongeveer 4-9% van de chronische myelomonocytische leukemie, 8-11% van de gevallen met myelodysplastische aandoening (meestal zonder sideroblasten van de ring), 16% van de primaire myelofibrose, 12% van het blastische plasmacytoïde dendritische celneoplasma, 4% van de acute myeloïde leukemie en 1% essentiële trombocytose. U2AF1-mutaties zijn geassocieerd met een ongunstige prognose bij myelodysplastische aandoeningen (NCCN richtlijnen voor myelodysplastische aandoeningen) een essentiële trombocytose en verminderde respons op lenalidomide bij myeloïde neoplasme met of zonder del (5q). U2AF1-mutaties zijn ook naar verluidt zeer specifiek voor secundaire acute myeloïde leukemie, en kunnen ook nuttig zijn bij het identificeren van een subset van therapiegerelateerde

AML of ouderen de novo AML met slechtere klinische resultaten. U2AF-mutatie is in vitro en in vivo in verband gebracht met gewijzigde splicingpatronen en ze kunnen een belangrijke rol spelen bij de pathogenese van myeloïde maligniteiten als gevolg van selectieve mis-splitsing van tumor-geassocieerde genen.

Medische informatie: CNL met progressie naar MDS-RAEB1?

Staaltype: beenmerg

Tier 1 (significant klinisch belang):

De aanwezigheid van een CSF3R mutatie is een majeur criterium in de diagnose van chronische neutrofiële leukemie (CNL). CSF3R p.(Thr618Ile) gemuteerde CNL patiënten zouden in aanmerking komen voor gerichte therapie ('molecularly targeted therapy'). Onderzoek omtrent de plaats van ruxolitinib als therapie bij deze patiënten is lopende, oa. in een multicenter clinical trial (clinical-trials.gov-study ID 5 02092324).

Aanwezigheid van ASXL1 mutaties zijn recurrent in CNL en worden geassocieerd met een ONGUNSTIGE prognose.

Mutaties in ASXL1, RUNX1 en U2AF1 zijn ook recurrent in MDS. Mutaties in ASXL1, RUNX1 en U2AF1 worden geassocieerd met een ONGUNSTIGE prognose en een verhoogd risico op leukemische evolutie.

Tier 3 (ongekende klinische betekenis):

Mutaties in TET2 zijn recurrent in MDS. De klinische betekenis van de gevonden mutatie in TET2 is niet gekend. (Swerdlow et al, WHO IARC 2017, Elliott et al 2018 Am J Hematol, Sood et al 2017 Blood, Maxson et al 2013 NEJM, Bejar et al 2014 Haematologica, Cazzola et al 2013 Blood)

Disclaimer:

Deze test kan geen onderscheid maken tussen een verworven en een germline variant, en kan CHIP (clonal hematopoiesis of indeterminate potential) en pathogene mutaties niet van mekaar onderscheiden.

3.1.3. Cas 3

Er worden 5 mutaties gedetecteerd, waarvan 3 pathogene of vermoedelijk pathogene mutaties en 2 mutaties met een ongekennde biologische impact (VUS).

NPM1 mutaties zijn volgens de ELN guidelines geassocieerd met een gunstige prognose. Echter, volgens een recente studie hebben patiënten > 60 jaar sowieso een slechtere overlevingskans, ook indien een NPM1 mutatie aanwezig is en ongeacht de aan- of afwezigheid van een FLT3-ITD mutatie. Oudere patiënten met een NPM1 mutatie mogen volgens deze studie niet als favorable risk aanzien worden (Straube et al., Blood 2018). Een additionele DNMT3A mutatie heeft bij deze patiënten geen impact op de prognose. Echter, de combinatie van TET2 en NPM1 mutaties, in de afwezigheid van een FLT3-ITD, is gecorreleerd met een slechtere EFS en OS, vergeleken met patiënten met wild-type TET2 (Arber et al. Blood, 2016).

Finaal is dit mutatieprofiel gecorreleerd met een intermediair risico.

Het voorkomen van de DNMT3A mutatie heeft een negatieve impact op de prognose van AML, ook voor gevallen met gecombineerde NPM1 mutatie (die als enkelvoudige mutatie prognostisch eerder gunstig is).

Het voorkomen van de DNMT3A mutatie zou predictief zijn voor een goede respons op hypo-methylerende medicatie (doi: 10.1038/leu.2014.124).

Daarnaast werden ook twee TET2 mutaties vastgesteld. In het algemeen zijn TET2 mutaties negatief prognostisch. Het is onduidelijk wat de precieze impact is op de prognose bij AML in de aanwezigheid van DNMT3A en NPM1 mutaties (doi: 10.1182/blood-2011-02-339747).

Les variants du gène NPM1 constituent les atteintes ponctuelles les plus fréquentes dans les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) et en l'absence d'anomalie cytogénétique et de variants des gènes FLT3 et TP53, définissent une pathologie de risque moléculaire faible, de bon pronostic. *

Ces variants sont très fréquemment associées à des variants des gènes impliqués dans les mécanismes de méthylation/hydroxyméthylation de l'ADN (DNMT3A, IDH1, IDH2, TET2). De tels variants sont retrouvés chez ce patient en la présence d'atteintes des gènes DNMT3A et TET2. L'effet de ces variants sur le pronostic n'est pas clairement défini. *

EN CONCLUSION ce patient présente une pathologie de profil mutationnel associé à un pronostic favorable.

* Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia, Elli Papaemmanui & al. NEJM 2016

NGS analyse toont de aanwezigheid van volgende drie varianten met significant klinisch belang (TIER I):

- NPM1 c.860dup_863dup (p(Trp288Cysfs*12)) (allel frequency 31%)
- DNMT3A c.2645G>A (p(Val592Gly)) (allel frequency 42%) :
- TET2 c.5298C>G (p(Tyr1766*)p(Y1766*)) (allel frequency 45%)

De variant gedetecteerd in het NPM1 gen is een recurrente variant in AML en is geassocieerd met een gunstige prognose (WHO revised 4th edition; Lyon 2017) ; ELN risico stratificatie versie 3.2019 : favorable risk.

De varianten gedetecteerd in het DNMT3 en TET2 gen zijn beiden onafhankelijk geassocieerd met een ongunstige prognose in AML, echter bij hogere leeftijd (>65 jaar), is hun prognostisch effect in aanwezigheid van een NPM1 variant minder duidelijk (WHO revised 4th edition; Lyon 2017, PMID 31023266)

Verder werden er twee varianten met onduidelijke klinische betekenis (VUS) aangetoond in het TET2 en FLT3 gen.

Er werd een pathogene NPM1 (NM_002520.6): c.860_863dupTCTG (p.(Trp288Cysfs*12)) out of frame duplicatie variant geïdentificeerd. De aanwezigheid van dit type variant is geassocieerd met AML en heeft een goede prognose (tier I).

Er werd een pathogene DNMT3A (NM_175629.2): c.2645G>A (p.(Arg882His)) missense variant geïdentificeerd. De aanwezigheid van dit type variant in AML heeft mogelijks klinische betekenis (tier II) en is eerder geassocieerd met een ongunstige prognose.

Bijkomend werd er een FLT3 missense variant aan 2% VAF geïdentificeerd. Deze lage VAF doet een artefact vermoeden met een ongekennde biologische (VUS) en klinische betekenis (tier III).

Bovendien werden nog twee pathogene TET2 varianten (een missense en een nonsense) geïdentificeerd met een mogelijks klinisch belang (tier II), namelijk:

- 1) TET2 (NM_001127208.2): c.4115C>T (p.(Thr1372Ile))
- 2) TET2 (NM_001127208.2): c.5298C>G (p.(Tyr1766*))

Conclusie: AML met NPM1 mutatie (WHO 2017), goede prognose volgens de ELN 2017 guidelines.

Referentie: Pubmed ID 27895058 en 30245403

Pour chaque variant, les informations et l'interprétation dans le cadre d'une leucémie myéloïde aiguë (LMA) sont résumées dans le tableau ci-dessus.

-Présence dans le gène cible NPM1 du variant pathogénique (p.(Trp288Cysfs*12 ; FA = 31%), mutation de type A (variant NPM1 le plus fréquent dans les LMA : +/- 72%) compatible avec le diagnostic de LMA. Dans les LMA, les variants dans le gène NPM1 confèrent un pronostic favorable (Döhner- Blood ,2017)) pour autant qu'il ne soit pas associé à un FLT3 ITD qui doit être recherché par une technique autre que le NGS.

-Présence dans le gène cible DNMT3A ((p.Arg882His) ; FA = 42%) d'un variant pathogénique compatible avec le diagnostic de LMA et dont l'impact clinique est avéré. Ce variant est associé à un pronostic défavorable et conférerait une sensibilité à la décitabine.

-Présence dans le gène cible TET2 de 2 variants, l'un pathogénique (p.(Tyr 1766*) ; FA = 45%) et l'autre probablement pathogénique (p.(Thr 1372Ile) ; FA = 51%) compatibles avec le diagnostic de LMA. Des variants dans TET2 sont retrouvés dans 15% des LMA avec NPM1 muté.

† Une fraction allélique > 40% suggère que l'anomalie pourrait être d'origine héréditaire et pathogénique ou

pathogénique probable. Un contrôle sur un prélèvement buccal est dès lors recommandé.

Rem : nous n'avons pas rapporté le variant FLT3 car celui-ci a une FA à 2%. Nous ne rapportons en routine dans nos rapports que des variants = ou > 5%.

Aanwezigheid van significant klinisch belangrijke NPM1 type A variant, geassocieerd met AML (22-29%). prognostisch gunstig indien niet geassocieerd met FLT3 ITD variant, slechtere prognose dan niet-type A varianten (Alpermann T. et al., Hematologica, 2016;101:e57).

Aanwezigheid van significant klinisch belangrijke DNMT3A variant, geassocieerd met AML (15-26%) en met slechtere prognose bij type A en D NPM1 mutaties (Alpermann T. et al., Hematologica, 2016;101:e57).

Aanwezigheid van mogelijk klinisch belangrijke TET2 variant, geassocieerd met AML (8-14%) en met slechtere respons op chemotherapie.

Varianten in de genen DNMT3A, NPM1 (type A) en TET2 (c.5298C>G) zijn recurrent in de context van AML. De aanwezigheid van een variant in het NPM1 gen wordt geassocieerd met een gunstige prognose zonder bijkomende FLT3-ITD (high)-mutatie (Ref: Döhner et al., Blood 2017. 129:1136-1152).

Aanwezigheid van een bijkomende variant in het TET2 gen (c.4115C>T) waarvan de klinische/prognostische betekenis momenteel niet gekend is, maar de aanwezigheid van ~50% gemuteerde allelen zou ook bij een (niet eerder beschreven) polymorfisme/variant kunnen passen.

Présence d'une mutation au niveau du gène DNMT3A, de mauvais pronostic dans certains sous-groupes de LMA. Présence d'une duplication au niveau du gène NPM1 de pronostic favorable dans le LMA (en absence de FLT3-ITD).

Présence d'une mutation au niveau du gène TET2 (c.5298C>G) de pronostic défavorable dans les LMA.

VUS et mutation de signification clinique inconnue détecté au niveau du gène TET2.

Remarque: mutation FLT3 de fréquence allélique inférieure au seuil significatif en vigueur au laboratoire : mutation ignorée. Classée Benin et Thier IV par défaut (car on est obligé de remplir tous les champs)

5. Besluit

- Diagnostisch: Mutatieprofiel indicatief voor de novo AML.
- Therapie: DNMT3A mutatie indicatief voor hoge dosis inductie chemotherapie.
- Prognostisch: Mutatieprofiel eerder indicatief voor een ongunstig klinisch verloop ondanks de aanwezigheid van een NPM1 mutatie.

Referenties:

Sehgal et al., Clin Cancer Res 2015.

Luskin et al., Blood 2016.

Ley TJ et al. NEJM 2010 363:2424-2433

Fröhling S et al. Cancer Cell 2007

Liu MY et al. Nat Chem Biol 2017

Gezien de gevonden NPM1 consensus pathogene variant in exon 12, kan de diagnose "acute myeloïde leukemie met gemuteerd NPM1" weerhouden worden. Deze variant komt voor bij 25-35% van de AML patiënten en wordt gerelateerd aan een goede therapie respons bij AML patiënten met normaal karyotype. Secundaire varianten zijn frequent voorkomend bij deze entiteit, waaronder varianten in genen DNMT3A en TET2 zoals in deze casus. Vermoedelijk zijn deze laatste varianten de eerst ontstane in het proces van de leukemogenese, waarna de NPM1 consensus pathogene variant in een later stadium volgt als klasse-bepalende variant (ook hier in deze casus lagere VAF voor NPM1 dan voor DNMT3A en TET2). Het voorkomen van de consensus pathogene variant in DNMT3A naast de NPM1 variant lijkt bovendien geassocieerd te zijn met een verminderde prognose.

Diagnostic:

Deux mutations pathogéniques de NPM1 et DNMT3A ont été mise en évidence ainsi qu'une mutation probablement pathogénique de TET2. L'ensemble de ces mutations témoignent d'un processus myéloïde clonal, vraisemblablement de type myéloblastique. A confronter au médullogramme et au typage lymphocytaire réalisé par cytométrie en flux. La prévalence des mutations de DNMT3A est de 18-22% des AML. Les mutations les plus fréquentes affectent le résidu 882. La prévalence des mutations du gène NPM1 de type NPM1C+ est de 30-35%. La prévalence des mutations du gène TET2 est de 7-25% dans les AML (Patel et al., Clin Lymphoma, Myeloma & Leukemia July 2017).

Pronostic:

Selon l'échelle de risque proposée par l'ELN en 2017: risque favorable (NPM1c+/FLT3-ITD absent ou "low"). Dans la version 2017 de cette échelle, les mutations somatiques de DNMT3A et TET2 n'ont PAS été intégrées. Toutefois, DFS et OS inférieurs ont été rapporté chez les patients de >60 ans avec AML de caryotype normal et mutation concomitante de DNMT3A de type p.Arg882 (Arber et al., Blood May 2016 Vol 127, nbr 20). L'impact pronostic des mutations somatiques de DNMT3A demeure toutefois sujet à controverse et n'a donc pas été inclus dans l'échelle d'évaluation du risque telle que proposée par l'ELN en 2017. L'impact pronostic des mutations de TET2 dans les AML est actuellement discuté). Un impact défavorable sur CR, DFS, RR, EFS et OS pourrait être limité au groupe "ELN favorable" et caryotype normal. Arber et al., Blood May 2016 Vol 127, n° 20).

Met NGS werd een NPM1 mutatie gedetecteerd passend bij de diagnose van AML met gemuteerde NPM1 (WHO 2016).

Aan te vullen met karyotypering.

Bijkomend werd een DNMT3A mutatie gedetecteerd die in geval van normaal karyotype een eerder negatieve

impact zou hebben op de prognose.

Alsook werd een TET2 mutatie gedetecteerd, prognostisch eerder neutraal.

Volgens de WHO 2017 kan deze AML geklasseerd worden als AML met gemuteerd NPM1.

Er is een FLT3 mutatie gevonden. Deze mutatie ligt in de juxtamembrane domein van het protein (niet een TKD of ITD mutatie). De impact van deze mutatie voor het sensitiviteit op FLT3-TKI inhibitor is niet gekende.

De aanwezigheid van DNMT3A en TET2 mutaties is beschreven in AML. De prognostische betekenis van DNMT3A mutatie bij patiënten > 60 jaar is controversieel in de literatuur (Metzeler et al., Blood 2016, WHO2017).

De prognostische betekenis van de TET2 mutatie in AML is onduidelijk (WHO 2017).

NGS toont aanwezigheid aan van varianten in DNMT3A, FLT3, NPM1 en TET2:

- 1) een consensus pathogene variant p.(Arg882His) in het DNMT3A gen (VAF 42%): DNMT3A varianten worden teruggevonden bij 14-37 % van de AML patiënten. Er zijn op dit ogenblik geen conclusieve data wat betreft het effect op algemene overleving (zie review Yang et al., Haematological malignancies 2015) maar in de recente meta-analyse van Yuan et al., Medecine 2016) worden R882 varianten toch als een slechte prognostische merker gezien. Hotspot Arg882 varianten (in casu) worden in AML geassocieerd met een resistentie aan anthracycline chemotherapie door gewijzigde chromatine remodeling (Guryanova O et al. Nat Med 2016) en met een hogere response op hypomethylerende farmaca zoals decitabine (Metzeler et al., Leukemia 2014).
- 2) een consensus pathogene variant p.(Trp288Cysfs*12) in het NPM1 gen (VAF 31%): de variant is een subtype A 4bp insertie variant. AML met gemuteerde NPM1 is een afzonderlijke WHO entiteit. 27% tot 35% van de AML patiënten zijn NPM1 positief en meer dan 70% van deze patiënten bevatten ook varianten in DNA methylering of hydroxymethylering genen (cf. in casu DNMT3A en TET2).
- 3) een vermoedelijk pathogene nonsense variant (VAF 45%) en een missense variant-met-onbekende-betekenis (VAF 51%) in het TET2 gen: TET2 varianten komen voor bij verschillende myeloproliferatieve aandoeningen inclusief MDS/AML. In AML is het effect op prognose niet eenduidig. Afhankelijk van de studie en/of AML sub-groep wordt geen effect gezien of toch een negatieve impact op o.a. de algemene overleving (zie Swerdlow et al., WHO Classification, IARC Lyon 2017 voor overzicht), vooral in bv. ELN gunstige genetische risico groepen zoals 'NPM1 zonder FLT3-ITD'.
- 4) Een missense variant-met-onbekende-betekenis p.(Val592Gly) in het FLT3 gen (VAF 2%): het betreft een FLT3 variant die verschillend is van de consensus pathogene varianten (FLT3-ITD en D835 varianten). In de studie van Fröhling et al. (Cancer Cell 2007) werd deze variant in één AML patiënt teruggevonden en werd in vitro aangetoond dat deze variant ook een gain-of-function variant is met een hoge gevoeligheid voor de tyrosine kinase inhibitor PKC412. Gezien de VAF van 2% betreft het hier een sub-kloon.

Besluit: NGS profiel is in overeenstemming met de aanwezigheid van AML. Gezien aanwezigheid van een NPM1 variant behoort deze patiënt tot de subgroep 'AML met gemuteerd NPM1'. NPM1 positieve/FLT3-ITD negatieve (in casu) AML behoren tot de prognostisch gunstige groep in de ELN en NCCN guidelines (Döhner et al., Leukemia 2017, NCCN guideline version 1.2018, AML). De aanwezigheid van de DNMT3A en TET2 varianten heeft mogelijks een negatieve impact op o.a. de algemene overleving.

Er werd een pathogene mutatie in het DNMT3A gen, een pathogene mutatie in het NPM1 gen en een vermoedelijk pathogene mutatie in het TET2 gen geïdentificeerd, respectievelijk DNMT3A c.2645G>A (p.(Arg882His)), NPM1 c.860_863dup (p.(Trp288Cysfs*12)) en TET2 c.5298C>G (p.(Tyr1766*)). De NPM1 c.860_863dup (p.(Trp288Cysfs*12)) mutatie heeft een significant klinisch belang (Tier I). De DNMT3A c.2645G>A (p.(Arg882His)) en TET2 c.5298C>G (p.(Tyr1766*)) mutatie hebben beide een mogelijk klinisch belang (Tier II). Mutaties in DNMT3A, NPM1 en TET2 worden in acute myeloïde leukemie (AML) aangetroffen met een frequentie van respectievelijk 18-22 %, 28-35 % en 6-27 % [1,2]. De aanwezigheid van een NPM1 mutatie definieert een aparte diagnostische entiteit in de WHO-classificatie van AML en is geassocieerd met een betere prognose [1,3]. Over de prognostische betekenis van DNMT3A mutaties in AML bestaan er tegenstrijdige data [1], maar specifiek voor de DNMT3A p.Arg882 mutatie is er evidentie van associatie met een slechtere prognose [4]. Binnen AML met gemuteerd NPM1 is er een slechtere overleving wanneer er simultaan een DNMT3A p.Arg882 mutatie aanwezig is [5,6]. Ook TET2 mutaties zouden mogelijk in AML met een minder goede prognose gepaard gaan [1,2]. Binnen de subgroep van AML met gemuteerd NPM1 zonder FLT3 interne tandem duplicatie is er evidentie dat de overleving minder goed wanneer er een TET2 mutatie aanwezig is [7-9], al wordt deze associatie niet in elke studie vastgesteld [10].

Daarnaast werden twee varianten van onduidelijke betekenis (VUS) gedetecteerd, FLT3 c.1775T>G (p.(Val592Gly)) en TET2 c.4115C>T (p.(Thr1372Ile)), waaraan actueel geen klinische implicaties gekoppeld kunnen worden (Tier III: ongekende klinische betekenis).

BESLUIT: Hoewel deze casus tot de WHO-subgroep van AML met gemuteerd NPM1 behoort en deze entiteit in het algemeen geassocieerd is met een gunstige prognose, zouden de aanwezigheid van een pathogene DNMT3A mutatie en een vermoedelijk pathogene TET2 mutatie erop kunnen wijzen dat deze patiënt een minder goede prognose heeft.

[REMARK: We would only include the FLT3 c.1775T>G (p.(Val592Gly)) mutation in the report if the VAF (2 %) exceeds the detection limit (reporting limit) of the NGS platform.]

Referenties:

1. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: acute myeloid leukemia, version 2.2019.
2. PMID 31023266.
3. Swerdlow SH et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues (revised 4th edition). IARC: Lyon 2017.
4. PMID 27149454.

5. PMID 25281355.
6. PMID 29079128.
7. PMID 21343549.
8. PMID 22116554.
9. PMID 24859829.
10. PMID 24487413.

DNMT3A-variant kan een kiemlijnvariant zijn; moet nog bevestigd/uitgesloten worden door extra weefsel te testen (bijv. buccale wisser).

DNMT3A is een DNA-methyltransferase. Frequentie, somatische, heterozygote mutaties in DNMT3A zijn gemiddeld bij ongeveer 18-25% van de gevallen van acute myeloïde leukemie (tot 34% van het normale karyotype AML), 12-18% van de gevallen van myelodysplastisch syndroom, tot 15% van myeloproliferatief neoplasmata, minder dan 5% van de gevallen van chronische myelomonocytische leukemie en 15% van de gevallen van volwassen, vroege T-cel precursor acute lymfoblastische leukemie. DNMT3A is ook een van de meest frequent gemuteerde genen in clonale hematopoëse van onbepaald potentieel ("clonal hematopoiesis of indeterminate potential" – CHIP) en "Clonal Cytopenia of Undetermined Significance" (CCUS). Codon R882 is een hotspot voor mutaties in DNMT3A. DNMT3A-mutaties kunnen in sommige, maar niet in alle onderzoeken, worden geassocieerd met een slechte prognose in specifieke subtypes van AML; de prognostische significantie van DNMT3A bij AML kan afhankelijk zijn van de leeftijd van de patiënt, het type DNMT3A-mutatie (R882 of niet-R882-mutatie) en de co-existentie (of afwezigheid) van specifieke mutaties in andere genen. DNMT3A-mutaties kunnen volgens sommige onderzoeken ook in verband worden gebracht met een slechte prognose bij MDS. De R882H-variant in het DNMT3A-gen is gerapporteerd als een kiemlijnvariant bij patiënten met Tatton-Brown-Rahman-overgroeiingssyndroom (TBRS) (PMID's: 27991732, 28432085).

FLT3 variant dient bevestigd te worden gezien de lage allel fractie.

FLT3 is een receptortyrosinekinase dat belangrijk is bij de proliferatie en differentiatie van hematopoëtische cellen.

In frame, interne tandem duplicaties (ITD) van FLT3, die een breed bereik van het aantal nucleotiden

dupliceren/toevoegen (bijv. 18-204 bp), beïnvloeden exons 14 en 15 in het FLT3 juxtamembraan / tyrosinekinas domein en hebben gemiddeld bij 20-30% van de patiënten met acute myeloïde leukemie.

FLT3 ITD's treden meestal op in gevallen van AML met een normaal karyotype en kunnen ook voorkomen in gevallen met chromosoomabnormaliteiten waaronder t (15; 17) of andere cytogenetische groepen. Personen met FLT3-mutaties hebben meer kans op AML dan MDS en FLT3-mutaties in MDS zijn geassocieerd met een slechte prognose. Aan de andere kant lijkt de prognostische betekenis van de FLT3-mutaties D835 en TKD minder duidelijk. Meer recentelijk is therapeutische targeting van FLT3 in combinatie met andere chemotherapie beschikbaar in bepaalde settings voor acute myeloïde leukemie met FLT3 ITD- of TKD-mutaties. Tenslotte is in T-cel acute lymfoblastische leukemie gemiddeld dat tot 20% van de gevallen een FLT3-mutatie (TKD of ITD) vertoont en vaak geassocieerd zijn met een ETP-fenotype (vroege T-cel-precursor). Midostaurin is door de FDA goedgekeurd voor de behandeling van recent gediagnosticeerde patiënten met acute myeloïde leukemie die FLT3-mutaties herbergen (PMID: 28546144).

• Mutaties van NPM1 zijn gemiddeld bij ongeveer 25-35% van de gevallen van acute myeloïde leukemie (AML).

De mutaties van NPM1 zijn raamwerkverschuivingsmutaties in het C-uiteinde van het eiwit die de C-terminale aminozuursequentie veranderen en zijn geassocieerd met afwijkende cytoplasmatische lokalisatie van het eiwit.

NPM1-mutaties in AML zijn typisch geassocieerd met een normaal karyotype en kunnen naast FLT3-mutaties bestaan. Gewoonlijk geassocieerd met een gunstige prognose bij AML, tenzij een bijkomende FLT3-ITD-mutatie ook aanwezig is (SCV000258461.2). NPM1 W288fs (ook bekend als NPM1-A) bevindt zich in exon 12 van NPM1 en is de meest voorkomende NPM1-mutatie die wordt geïdentificeerd bij acute myeloïde leukemie. Deze mutatie resulteert in cytoplasmatische lokalisatie van NPM1 (NPM1c) die geassocieerd is met een goede respons op inductietherapie. Hoewel het de meest uitgebreid bestudeerde NPM1 exon 12-mutatie is, wordt het over het algemeen gegroepeerd met andere exon 12-mutaties voor patiëntanalyse (zie NPM1 Exon 12-varianten voor meer informatie).

• TET2-varianten kunnen kiemlijnvarianten zijn; moet worden bevestigd / uitgesloten door extra weefsel te testen (bijvoorbeeld mondzwabber).

TET2-mutaties worden vaak aangetroffen bij acute myeloïde leukemie die voorkomt in 9-23% van de gevallen waarbij veel voorkomt bij ouderen. Over het algemeen zijn deze mutaties verlies van functie waarvan is aangetoond in muismodellen dat deze de hematopoïetische stamceldifferentiatie verminderen en een afwijkende hematopoëse veroorzaken. Deze mutaties bleken mutueel exclusief te zijn met MLL- en IDH1 / 2-mutaties en zijn in verband gebracht met verkorte ziektevrije overleving en ziektevrije overleving bij co-voorkoming met NPM1 + / FLT3- genotypen. Over het algemeen is gevonden dat Survival korter is wanneer het voorkomt met NPM1 + / FLT3 + genotypen. Studies met "CN AML" en "de novo AML" waren echter niet in staat om een klinische impact op te helderen.

L'association de NPM1 et DNMT3A est de pronostic défavorable dans les LAMs

Medische informatie: AML

Staaltype: beenmerg

Tier 1 (significant klinisch belang):

De aanwezigheid van mutaties in het NPM1 gen is één van de meest voorkomende genetische afwijkingen in acute myeloïde leukemie (AML), en relatief specifiek voor AML. De aanwezigheid van een NPM1 mutatie wordt geassocieerd met een GUNSTIGE prognose bij patiënten zonder bijkomende FLT3 ITD mutatie. AML met gemuteerde NPM1 geeft een betere respons op inductietherapie.

Mutaties in DNMT3A en TET2 zijn recurrent bij acute myeloïde leukemie en worden geassocieerd met een ONGUNSTIGE prognose.

Tier 3 (ongekende klinische betekenis):

Eén van de mutaties in het TET2 gen is een 'variant of unknown significance' (VUS), de klinische betekenis van deze mutatie is niet gekend.

Enkel de pathogene en vermoedelijk pathogene varianten, met een allel-frequentie van > 5% worden gerapporteerd. De mutatie in het FLT3 gen wordt bijgevolg niet vermeld in het klinisch rapport. Prevalentie van FLT3 mutaties bij AML is ongeveer 30% bij AML. De FLT3-ITD mutatie impliceert een slechte prognose, terwijl de prognostische betekenis van de FLT3 kinase domein mutatie onduidelijk is. De aanwezigheid van een FLT3-ITD mutatie wordt minder gevoelig opgepikt met NGS analyse en wordt best aangevuld met PCR fragmentanalyse.

(Bejar et al 2014 Haematologica, Ley et al 2010 NEJM, Swerdlow et al WHO IARC 2017, Metzeler et al 2011 J Clin Oncol, Liu et al 2014 Leuk Lymphoma, Döhner et al Blood 2017)

Disclaimer:

Deze test kan geen onderscheid maken tussen een verworven en een germline variant, en kan CHIP (clonal hematopoiesis of indeterminate potential) en pathogene mutaties niet van mekaar onderscheiden.

Dans ce prélèvement médullaire envahi par une LMA, présence d'un variant pathogénique d'impact clinique avéré DNMT3 p.(R882H) de mauvais pronostic(diminution de 5 ans de survie) quand bien même associé au variants de bon pronostic NPM1 p. (W288C). Le variant FLT3 p. (V592G) n'a pas de valeur pronostique connue ni d'impact prédictif de sensibilité aux anti-tyrosine kinases ciblant FLT3 encore vérifié à ce jour. Les 2 variants TET2 sont des variants "passenger" prédictifs de sensibilité au 5-AZA et décitabine (si la LMA a été précédée d'un SMD), le variant TET2 p.(T1766*) est en outre de pronostic défavorable dans les LMA (ref Metzeler KH 2011). En conclusion LMA caractérisée par un variant NPM1 p.(T288Cfs*12) dont le pronostic est moins favorable vu les mutations DNMT3 p.(R882H) et TET2 p.(T1766*) associées. Résultat à discuter en COM et à corrélérer à la cytogénétique, à la biologie moléculaire (RTqPCR) et à la cytologie correspondante.

Tier 1 (significant klinisch belang):

De aanwezigheid van mutaties in het NPM1 gen is één van de meest voorkomende genetische afwijking in acute myeloïde leukemie (AML), en relatief specifiek voor AML. De aanwezigheid van een NPM1 mutatie wordt geassocieerd met een GUNSTIGE prognose bij patiënten zonder bijkomend FLT3 ITD mutatie. AML met gemuteerde NPM1 geeft een betere respons op inductietherapie.

Mutaties in DNMT3A en TET2 zijn recurrent bij acute myeloïde leukemie en worden geassocieerd met een ONGUNSTIGE prognose.

Tier 3 (ongekende klinische betekenis):

Eén van de mutaties in het TET2 gen is een 'variant of unknown significance' (VUS), de klinische betekenis van deze mutatie is niet gekend.

Enkel de pathogene en vermoedelijk pathogene varianten, met een allel-frequentie van > 5% worden gerapporteerd. De mutatie in het FLT3 gen wordt bijgevolg niet vermeld in het klinisch rapport. Prevalentie van FLT3 mutaties bij AML is ongeveer 30% bij AML. De FLT3-ITD mutatie impliceert een slechte prognose, terwijl de prognostische betekenis van de FLT3 kinase domein mutatie onduidelijk is. De aanwezigheid van een FLT3-ITD mutatie wordt minder gevoelig opgepikt met NGS analyse en wordt best aangevuld met PCR fragmentanalyse.

(Bejar et al 2014 Haematologica, Ley et al 2010 NEJM, Swerdlow et al WHO IARC 2017, Metzeler et al 2011 J Clin Oncol, Liu et al 2014 Leuk Lymphoma, Döhner et al Blood 2017)

Disclaimer:

Deze test kan geen onderscheid maken tussen een verworven en een germline variant, en kan CHIP (clonal hematopoiesis of indeterminate potential) en pathogene mutaties niet van mekaar onderscheiden.

Tier 1 (significant klinisch belang):

De aanwezigheid van mutaties in het NPM1 gen is één van de meest voorkomende genetische afwijking in acute myeloïde leukemie (AML), en relatief specifiek voor AML. De aanwezigheid van een NPM1 mutatie wordt geassocieerd met een GUNSTIGE prognose bij patiënten zonder bijkomend FLT3 ITD mutatie. AML met gemuteerde NPM1 geeft een betere respons op inductietherapie.

Mutaties in DNMT3A en TET2 zijn recurrent bij acute myeloïde leukemie en worden geassocieerd met een ONGUNSTIGE prognose.

Tier 3 (ongekende klinische betekenis):

Eén van de mutaties in het TET2 gen is een 'variant of unknown significance' (VUS), de klinische betekenis van deze mutatie is niet gekend.

Enkel de pathogene en vermoedelijk pathogene varianten, met een allel-frequentie van > 5% worden gerapporteerd. De mutatie in het FLT3 gen wordt bijgevolg niet vermeld in het klinisch rapport. Prevalentie van FLT3 mutaties bij AML is ongeveer 30% bij AML. De FLT3-ITD mutatie impliceert een slechte prognose, terwijl de prognostische betekenis van de FLT3 kinase domein mutatie onduidelijk is. De aanwezigheid van een FLT3-ITD mutatie wordt minder gevoelig opgepikt met NGS analyse en wordt best aangevuld met PCR fragmentanalyse.

(Bejar et al 2014 Haematologica, Ley et al 2010 NEJM, Swerdlow et al WHO IARC 2017, Metzeler et al 2011 J Clin Oncol, Liu et al 2014 Leuk Lymphoma, Döhner et al Blood 2017)

Disclaimer:

Deze test kan geen onderscheid maken tussen een verworven en een germline variant, en kan CHIP (clonal hematopoiesis of indeterminate potential) en pathogene mutaties niet van mekaar onderscheiden.

NPM1 mutaties komen frequent voor bij AML (30%) en zijn geassocieerd met een normaal karyotype en gunstige prognose (HR 0,7). Comutatie met DNMT3A impliceert een slechtere prognose (HR 1,0) (Papaemmanuil et al. 2016, PMID: 27276561; ELN guidelines)

3.1.4. Cas 4

NGS analyse toont de aanwezigheid van volgende vier varianten met significant klinisch belang (TIER I) :

- ASXL1 c.1934dup (p(Gly646Trpfs*12) (allel frequency 44%) :
- SETBP1 c.2612T>C (p(Ile871Thr)) (allel frequency 49%)
- SRSF2 c.284C>A (p(Pro95His)) (allel frequency 49%)
- TET2 c.826del (p(Ser276Profs*17)) (allel frequency 52%)

Mutaties in ASXL1, SETBP1, SRSF2 en TET2 kunnen passen bij een MDS en zijn geassocieerd met een ongunstige prognose (WHO revised 4th edition; Lyon 2017). Echter, mutaties in deze genen worden ook aangetroffen in myelodysplastische/myeloproliferatieve (MDS/MPN) aandoeningen (frequentie tot 40%). SETBP1 mutaties komen laagfrequent voor in MDS (<5%) en worden specifiek geassocieerd met MDS/MPN overlap syndromen (PMID 29225884). Verder te correleren met kliniek en cytomorfolologisch onderzoek.

Mutaties in ASXL1, SETBP1, SRSF2 en TET2 werden onder andere beschreven in MDS en in MDS/MPN (zoals aCML, CMML) (Arber et al Blood 2016, Meggendorfer et al leukemia 2013). Echter de resultaten moeten multidisciplinair geïnterpreteerd worden voor de definitieve diagnose.

ASXL1, SETBP1 en SRSF2 mutatie zijn geassocieerd met een minder gunstige prognose bij beide pathologie (WHO2017; Itzykson, J Clin Oncol 2013; Lasho et al., Blood Cancer J 2015; Thol F et al., Blood 2012; Greeberg et al., JNCCN 2013).

5. Besluit

- Diagnose: Mutatieprofiel passend bij MDS/MPN mengvorm (aCML, CMML) doch te correleren met bloedbeeld, klinische en morfologische bevindingen. Kiemcel mutatie (Schinzel-Giedion syndroom) niet uit te sluiten.
- Therapie: Geen eenduidige therapeutische implicaties.
- Prognose: ASXL1 en SETBP1 mutatie eerder geassocieerd met ongunstig klinisch verloop in tegenstelling tot SRSF2 mutatie die bij MDS/MPN optreedt als een eerder gunstige prognostische merker.

Referenties:

- Linder K et al. Biomarker Res 2017 5:33
- Gelsi-Boyer et al. JHO 2012 5:12
- Meggendorfer et al. Haematologica 2014 99
- Todisco G et al. Blood 2016 128:4337

Aanwezigheid van mogelijk klinisch belangrijke ASXL1 variant, een dysplastische driver mutatie in MDS (11-15%) en in CNL (57%), geassocieerd met snellere transformatie naar AML en slechtere prognose.

Aanwezigheid van significant klinisch belangrijke SRSF2 variant, een dysplastische driver mutatie in MDS (11-14%), frequent voorkomend bij CMML (51%) en aCML (40%), geassocieerd met slechtere prognose.

Aanwezigheid van een mogelijk klinisch belangrijke TET2 variant, geassocieerd met MDS (22%) en MPN (11-19%). Aanwezigheid van een mogelijk klinisch belangrijke SETBP1 variant, typisch voorkomend bij aCML (33%) en minder frequent bij CMML (5-10%).

Er zijn 2 high molecular risk mutaties voor MPN aanwezig (TET2 en SRSF2), geassocieerd met slechtere prognose en overleving.

Varianten in de genen ASXL1, SRSF2 en TET2 zijn recurrent in de context van verschillende myeloïde neoplasmen waaronder MDS en MPN.

Een variant in het SETBP1 gen is recurrent bij zowel aCML, CNL als CMML. Deze variant pleit dus eerder voor een MDS/MPN overlap syndroom.

Varianten in de genen ASXL1 en SRSF2 worden vaak geassocieerd met een minder gunstige prognose (Ref: Swerdlow et al., WHO 2017; Kennedy and Ebert, J Clin Onc 2017. 35(9):968-974; Shammo and Stein, 2016 ASH Educ. Program: 552-560).

Er werd een vermoedelijk pathogene mutatie in het ASXL1 gen, een vermoedelijk pathogene mutatie in het SETBP1 gen, een pathogene mutatie in het SRSF2 gen en een vermoedelijk pathogene mutatie in het TET2 gen geïdentificeerd, respectievelijk ASXL1 c.1934dup (p.(Gly646Trpfs*12)), SETBP1 c.2612T>C (p.(Ile871Thr)), SRSF2 c.284C>A (p.(Pro95His)) en TET2 c.826del (p.(Ser276Profs*17)). Deze vier mutaties hebben elk een mogelijk klinisch belang (Tier II). Mutaties van ASXL1, SETBP1, SRSF2 en TET2 worden in myelodysplastisch syndroom (MDS) aangetroffen met een frequentie van respectievelijk 15-25 %, < 5 %, 10-15 % en 20-25 % [1]. Terwijl SETBP1 mutaties een laagfrequente recurrenente afwijking zijn in MDS, worden mutaties in dit gen substantieel vaker gedetecteerd in myelodysplastische/myeloproliferatieve overlapsyndromen (MDS/MPN), zoals chronische myelomonocytaire leukemie (CMML), atypische chronische myeloïde leukemie (aCML), niet-classificeerbaar MDS/MPN (MDS/MPN-U) en chronische neutrofielen leukemie (CNL), met een frequentie van respectievelijk 5-19 %, 24-33 %, 9-10 % en 10-56 % [1-4]. In het geval van CNL met gemuteerd SETBP1 is er evenwel meestal een begeleidende CSF3R mutatie aanwezig [2], wat hier niet het geval is. Ook voor ASXL1, SRSF2 en TET2 worden mutaties frequenter aangetroffen in MDS/MPN overlapsyndromen dan in MDS: zo bedraagt bv. in CMML de frequentie van ASXL1, SRSF2 en TET2 mutaties respectievelijk 40-50 %, 40 % en 40-60 % [1]. Daarnaast kunnen mutaties in SETBP1 en de drie andere genen voorkomen in secundaire vormen van AML [2,3]. Wanneer we de klassieke vormen van MPN beschouwen, dan worden mutaties van SETBP1 in lage frequentie aangetroffen in primaire myelofibrose (2-3 %) [5] en als zeer zeldzaam beschouwd in BCR-ABL1 positieve chronische myeloïde leukemie, polycythemia vera en essentiële thrombocythemie [2,6,7].

Hoewel uit deze bespreking blijkt dat de constellatie van ASXL1, SETBP1, SRSF2 en TET2 mutaties in de eerste plaats doet denken aan een MDS/MPN overlapsyndroom, zoals CMML of eventueel aCML, kan een alternatieve diagnose zoals MDS niet zomaar uitgesloten worden. De NGS resultaten dienen gecorreleerd te worden met de bevindingen van andere investigaties (celtelling, cytomorfolgie en integratie met resultaten van vroegere bloedonderzoeken indien beschikbaar; op geleide hiervan al dan niet aanvullend beenmergonderzoek met

cytomorfologie, anatomopathologie, immunofenotypering, genetisch en moleculair onderzoek) om tot een precieze diagnose te komen.

Mede afhankelijk van de finale diagnose kunnen bovenstaande mutaties eventueel een prognostisch belang hebben. Zo zijn in CMML mutaties van ASXL1 en SETBP1 geassocieerd met een ongunstige prognose [2-4,8-11], terwijl SRSF2 mutaties geen prognostische impact zouden hebben [10,12] en er over de prognostische betekenis van TET2 mutaties bij CMML met gemuteerd ASXL1 tegenstrijdige data bestaan [13,14]. In aCML is de prognostische betekenis van mutaties in deze genen momenteel minder uitgebreid bestudeerd, maar alvast voor SETBP1 mutaties werd er een associatie met ongunstige prognose aangetoond [2-4,15]. Voor het (minder waarschijnlijke) geval dat het in deze casus toch om MDS gaat, vermelden we nog dat in MDS SETBP1 mutaties met progressieve ziekte en ASXL1 en SRSF2 mutaties met ongunstige prognose geassocieerd zijn [1].

Referenties:

1. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: myelodysplastic syndromes, version 2.2019.
2. PMID 28447248.
3. PMID 28881700.
4. PMID 29225884.
5. PMID 23558523.
6. PMID 23222956.
7. PMID 23628959.
8. PMID 27385790.
9. PMID 28158286.
10. PMID 29878489.
11. PMID 31093889.
12. PMID 29757120.
13. PMID 26771811.
14. PMID 27777939.
15. PMID 30078497.

Diagnostic :

Le diagnostic différentiel évoqué SMD versus NMP ne peut s'appuyer sur les seules analyses moléculaires dans le cadre de la démarche diagnostique proposée par l'OMS en 2016.

Le diagnostic de syndrome myélodysplasique requiert la réalisation d'une ponction médullaire suivie de l'évaluation et de la quantification des signes de dysplasies dans les diverses lignées hématopoïétiques médullaires.

L'établissement du diagnostic de NMP requiert la réalisation d'une biopsie ostéo-médullaire avec objectivation des signes morphologiques et immuno-histochimiques témoignant d'un processus prolifératifs (chronique) affectant les lignées myéloïdes.

Les diverses mutations pathogéniques ou probablement pathogéniques identifiées chez votre patient peuvent se rencontrer dans le cadre du processus d'hématopoïèse clonale de pronostic indéterminé (CHIP) ou liée à l'âge (ARCH) et ne peuvent donc se suffire par elles-mêmes pour poser le diagnostic différentiel entre SMD ou de NMP. Il faut toutefois noter ici que la fréquence allélique des variants est élevée et assez similaire entre chacun des variants identifiés ce qui rend peu probable cette hypothèse.

La mutation c.2612T>C de SETBP1 a par ailleurs été rapportée dans les cas de pathologies myéloïdes aussi diverses que NMP, LMC atypique, SMD, LCE, LMMC, AML-II sur MDS et LMA, elle n'est donc spécifique d'aucune des deux entités suggérées dans le diagnostic différentiel évoqué.

Dans le contexte diagnostique de SMD, les mutations des résidus 858 à 874 de SETBP1 sont fréquemment associées à une leucocytose, une monosomie 7, la présence d'un isochromosome 17q et des mutations concomitantes d'ASXL1, EZH2 et SRSF2. Dans ce contexte de SMD, on note un risque accru de progression ainsi qu'une survie globale réduite (Patel et al., 2017).

Le tableau évoque un processus myéloïde clonal dont la nature précise ne peut être déterminée sans la réalisation des tests mentionnés supra.

Met NGS werden 4 mutaties gedetecteerd in genen die recurrent gemuteerd zijn in myeloïde neoplasieën, in deze combinatie in het bijzonder in MDS/MPN mengsyndromen. DD: CMML, aCML, MDS/MPN-unclassifiable ... Te correleren met beenmergmorfologie, hematologische bevindingen en de kliniek voor conclusieve subklassificatie. Eventueel BCR-ABL1 en PDGFR-fusies uit te sluiten.

De gevonden varianten in genen ASXL1, SETBP1, SRSF2 en TET2 zijn zowel beschreven bij myeloproliferatieve neoplasieën (MPN), bij myelodysplastisch syndroom (MDS) als bij de overlap entiteiten MDS/MPN. Onder meer bij chronische myelomonocytaire leukemie (CMML) werden varianten in deze genen beschreven en blijken ze gerelateerd te zijn aan de prognose. Geen enkele van deze varianten is diagnostisch voor een bepaalde entiteit. Varianten in ASXL1 en SRSF2 worden gerelateerd aan een eerder mindere prognose, zowel bij MPN, MDS als MPN/MDS.

Présence d'une mutation pathogénique au niveau du gène SRSF2, de mauvais pronostic dans le cadre d'un éventuel SMD et critère diagnostic majeur d'une néoplasie myéloproliférative de type myélofibrose primitive.

Présence d'une mutation au niveau du gène ASXL1, de mauvais pronostic dans le cadre d'un éventuel SMD et critère diagnostic majeur d'une néoplasie myéloproliférative de type myélofibrose primitive.

Présence d'une mutation au niveau du gène TET2, sans impact clinique pour les SMD, mais critère diagnostic majeur d'une néoplasie myéloproliférative de type myélofibrose primitive.

VUS et mutation de signification clinique inconnue détecté au niveau du gène TET2.

Les variants du gène TET2 sont retrouvés dans 20-25% des syndromes myélodysplasiques (SMD), 10-15% des syndromes myéloprolifératifs (SMP) et 40-60% des leucémies myélomonocytaires chroniques (LMMC). L'impact pronostic de ces variants est mal défini, y compris dans les LMMC.

Les variants du gène ASXL1 sont retrouvés dans 15-25% des SMD, 40-50% des LMMC et dans une fraction variable des SMP (35% des myélofibroses primaires (PMF)).

Dans les SMD, les LMMC et les PMF, ces variants sont associés à une péjoration du pronostic avec un risque augmenté de transformation en leucémie aiguë. Pour ces raisons les variants du gène ASXL1 sont inclus dans les modèles pronostiques pour les LMMC : Molecular Mayo Model et Groupe Français des Myelodysplasies Model et CPPS-mol.* Dans les SMD, des études récentes démontrent un effet hautement délétère des variants du gène ASXL1 chez les patients traités par allogreffe avec une augmentation du risque de rechute et une diminution de la survie globale similaire à celles observées par le passage d'un groupe IPPS-R au suivant (p.e. intermediate risk -> high risk). ** Dans les PMF, ces variants sont également associés à une péjoration du pronostic (score DIPSS-plus et MIPSS70+ Version 2.0).

Les variants du gène SRSF2 sont retrouvés dans 10-15% des SMD et des SMP et dans 40% des LMMC. Ces variants sont associés à une péjoration du pronostic dans les SMD et les myélofibroses (score DIPSS-plus et MIPSS70+ Version 2.0).***,****

L'absence de variants des gènes JAK2, CALR et MPL est rare dans les syndromes myéloprolifératifs (5% des TE, 10% des PMF).

EN CONCLUSION cette pathologie présente un profil mutationnel aspécifique, une LMMC, un SMD ou une PMF "triple-négative" sont les pathologies les plus probables. Quel que soit le diagnostic final, ce profil est associé à un mauvais pronostic. Ces résultats doivent être associés à ceux de la cytogénétique et des cytologies médullaires et sanguines et intégrés dans les scores cliniques adéquats.

* Diagnosis and Treatment of Chronic Myelomonocytic Leukemias in Adults (Recommendations From the European Hematology Association at the European LeukemiaNet), Raphael Itzykson, Hemasphere 2018

** Clinical Effects of Driver Somatic Mutations on the Outcomes of Patients With Myelodysplastic Syndromes Treated With Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. Matteo G. Della Porta & al. Journal of clinical oncology 2016

*** MIPSS70+ Version 2.0: Mutation and Karyotype-Enhanced International Prognostic Scoring System for Primary Myelofibrosis, Tefferi & al. Journal of Clinical Oncology. 2018

**** Driver mutations and prognosis in primary myelofibrosis: Mayo-Careggi MPN alliance study of 1,095 patients, Tefferi & al. American Journal of Hematology. 2018

Het mutatieprofiel is prognostisch eerder ongunstig (4 genmutaties, waaronder een SRSF2 mutatie).

De SRSF2 mutatie (type Pro95His) is een gekende pathogene variant. SRSF2 mutaties zijn in MDS geassocieerd met een kortere overleving. (doi: 10.1007/s13277-015-4305-2)

Een SETBP1 mutatie wordt in MDS ook geassocieerd met een slechte prognose en komt vaak voor in combinatie met andere genmutaties, waaronder ASXL1, SRSF2, en TET2 mutaties. (doi: 10.1038/ng.2696)

NGS toont aanwezigheid aan van varianten in ASXL1, SETBP1, SRSF2 en TET2:

1) een vermoedelijk pathogene, frame-shift, variant in het ASXL1 gen (VAF 44%): Bij CMML hebben ASXL1 varianten een negatieve impact op algemene overleving, zeker in aanwezigheid van TET2 varianten (Itzykson et al., J. Clin. Oncol., 2013, Patnaik et al., Leukemia, 2014; Patnaik et al., Blood Cancer Journal, 2016) en zijn tevens geassocieerd met verhoogd risico op leukemische transformatie (Geisi-Boyer et al., BJH 2010). Bij MDS is de aanwezigheid van ASXL1 varianten geassocieerd met een negatief effect op de algemene overleving (zie review Kennedy and Ebert, JCO, 2017), maar vooral wanneer <5% blasten aanwezig zijn (Nazha and Bejar, Curr Hematol Malig Rep, 2017).

2) Een vermoedelijk pathogene, missense p.(Ile871Thr), variant in het SETBP1 gen (VAF 49%): de teruggevonden variant is verschillend van de consensus pathogene varianten (Asp868Ans of Gly970Ser), maar werd al veelvuldig teruggevonden in verschillende myeloïde aandoeningen en wordt in de literatuur ook beschreven als een hotspot variant. SETBP1 varianten worden gezien als een biomarker voor de aanwezigheid van een MDS/MPN overlap syndrome (Linder et al., Biomarker Research 2017). Bij MDS/MPN zijn SETBP1 varianten geassocieerd met kortere algemene overleving, onafhankelijk van het type myeloïde aandoening (Deining et al., Nature reviews Cancer, 2017). Bij MDS is SETBP1 vaak geassocieerd met monosomy 7/7q-, hogere leeftijd, verhoogd risico op leukemische transformatie en een slechte prognose (Makishima, Nature Genetics 2013 en Meta-analyse Shou et al. PLOS, 2017 voor prognose).

3) een consensus pathogene variant p.(Pro95His) in het SRSF2 gen (VAF 49%): SRSF2 varianten komen voor bij verschillende myeloïde aandoeningen zoals MDS en MDS/MPN. Co-mutatie met TET2 (in casu) is echter sterk geassocieerd met een myeloïde aandoening met myelodysplasie en monocytose, inclusief, maar niet gelimiteerd tot CMML (Malcovati et al. Blood 2014). In CMML is er geen onafhankelijke prognostische impact op overleving en leukemia-vrije overleving (Patnaik and Tefferi, AJH, 2016). Bij MDS is er een associatie met kortere algemene overleving en verhoogd risico voor progressie naar AML (Thol et al., Blood 2012).

4) een vermoedelijk pathogene, frame-shift, variant in het TET2 gen (VAF 52%): TET2 varianten komen voor bij verschillende myeloïde aandoeningen zoals MDS en MDS/MPN. Bij CMML lijken TET2 varianten een gunstige impact te hebben op de algemene overleving, maar niet wanneer ASXL1 varianten (in casu) worden teruggevonden (Patnaik et al., Blood Cancer Journal, 2016). Bij MDS is er geen impact op de algemene overleving, maar TET2 varianten kunnen mogelijks de respons op hypomethylerende agentia voorspellen (Cazzola et al., Blood 2013 en Bejar et al., Blood, 2014). TET2 varianten komen ook iets meer voor (odds ratio 1,53) bij hoog-risico MDS in vergelijking met laag-risico MDS (Malcovati et al., Blood 2014; Makishima et al., Nature Genetics, 2017).

Besluit: Gezien aanwezigheid van varianten in SETBP1, SRSF2 en TET2 past het NGS profiel het best bij MDS/MPN overlap syndroom type CMML met prognostisch ongunstige merkers zoals ASXL1 en SETBP1.

Er werd een pathogene ASXL1 (NM_015338.5): c.1934dup (p.(Gly646Trpfs*12)) out of frame duplicatie variant geïdentificeerd.

Er werd een vermoedelijk pathogene SETBP1 (NM_015559.3): c.2612T>C (p.(Ile871Thr)) missense variant

geïdentificeerd.

Er werd een pathogene SRSF2 (NM_003016.4): c.284C>A (p.(Pro95His)) missense variant geïdentificeerd.

Er werd een pathogene TET2 (NM_001127208.2): c.826del (p.(Ser276Profs*17)) out of frame deletie variant geïdentificeerd.

De aanwezigheid van deze vier varianten heeft mogelijks klinisch belang (tier II) en de associatie van SRSF2/ASXL1/SETBP1 en TET2 is een profiel dat past bij MDS/MPN overlap.

De afwezigheid van relevante varianten in JAK2/CALR/MLP is eerder een indicatie voor de afwezigheid van MPN. De aanwezigheid van ASXL1 en SETBP1 is geassocieerd met slechte prognose in MDS en de meeste MDS/MPN overlap syndromen.

Conclusie: Eerder MDS/MPN met SRSF2/ASXL1/SETBP1 en TET2 varianten in afwezigheid van JAK2/CALR/MLP varianten (WHO 2017). Diagnose moet gebeuren op beenmerg in plaats van op bloed en in correlatie met cytologie/histologie. Slechte prognose volgens de NCCN guidelines.

Referentie: Pubmed ID 27029036, 30275952, 28158286 en 27069254

Er worden vier mutaties gedetecteerd die wijzen op de aanwezigheid van een myeloïde aandoening, maar die allen niet ziektespecifiek zijn, daar ze worden terug gevonden bij myelodysplastisch syndroom (MDS), chronische myeloïde leukemie of CMML, atypische CML (aCML) of andere MPN/MDS overlap aandoeningen en bij patiënten met primaire myelofibrose (PMF).

Te correleren met klinische en histologische bevindingen voor differentiaaldiagnose.

Zowel TET2 mutaties, als SRSF2 en ASXL1 mutaties worden frequent teruggevonden bij MDS patiënten (respectievelijk 22%, 14% en ~10%); mutaties in SETBP1 daarentegen zeldzaam (Papaemmanuil et al., Blood 2016). Zowel mutaties in ASXL1 en SRSF2 zijn geassocieerd met een slechtere prognose en een hogere kans op transformatie naar AML (Damm et al., Blood 2012; Thol et al., Blood 2012 en Greenberg et al., NCCN MDS 2017, Passamonti et al, Curr Opin Hematol. 2016). Mutaties in TET2 hebben bij MDS geen impact op de prognose (Greenberg et al., NCCN MDS 2017). Gezien de zeldzaamheid van SETBP1 mutaties in MDS is de impact op prognose nog niet duidelijk.

ASXL1 mutaties komen aan een hoge frequentie voor bij patiënten met CMML (40-50%) en zijn daar geassocieerd met een slechte prognose (Elena et al., Blood 2016 - Patnaik et al, Am J Hematol 2016). Daarnaast zijn ook frequent mutaties in TET2 aanwezig (~60%) maar die hebben geen onafhankelijke impact op de overall survival of leukemia-free survival (LFS) (Patnaik et al, Am J Hematol 2016 - Itzykson et al, JCO 2013). SRSF2 mutaties komen vaak samen voor met TET2 mutaties in CMML patiënten (50-60%) en hebben (in de afwezigheid van een RUNX1 mutatie) geen invloed op de prognose (Meggendorfer et al., Blood 2012). Mutaties in SETBP1 komen zeldzaam voor (5%) maar zijn wel geassocieerd met een ongunstige prognose (Elena et al., Blood 2016).

Daarnaast kunnen mutaties in SETBP1 een diagnose van een atypische CML bevestigen (~25% van de gevallen) en zijn deze hierbij geassocieerd met een slechtere prognose (Piazza et al., Nat Genet 2013). Mutaties in ASXL1 en SRSF2 komen vaak voor in combinatie met SETBP1 mutaties en ook mutaties in TET2 zijn frequent in aCML, maar deze komen normaal niet voor samen met ASXL1 mutaties (Meggendorfer et al., Leukemia 2013). De impact van deze mutaties op de prognose in aCML is nog niet duidelijk

Mutaties in ASXL1, SRSF2 en TET2 komen eveneens voor bij patiënten met PMF (22%, 8% en 10% respectievelijk). Er worden geen mutaties gevonden in JAK2, CALR of MPL (klassieke MPN), wat kan passen bij een triple-negative PMF. Deze patiënten hebben de slechtste overall survival en leukemia free survival (Tefferi et al., Leukemia 2014). Mutaties in ASXL1, zeker in afwezigheid van een CALR mutatie, zijn gecorreleerd met een zeer slechte prognose (Tefferi et al., Blood Adv 2017 en Leukemia 2014). De impact van TET2 mutaties is momenteel nog onduidelijk maar mutaties in SRSF2 zijn geassocieerd met een slechte overall survival en leukemia-free survival (Lasho et al., Blood 2012).

Tier 1 (significant klinisch belang):

De aanwezigheid van mutaties in ASXL1, SETBP1 en SRSF2 past bij de diagnose van een myeloïde aandoening, maar is niet specifiek. Een mutatie in SETBP1 wordt typisch geassocieerd met aCML.

Mutaties in de genen ASXL1, SETBP1 en SRSF2 zijn geassocieerd met ONGUNSTIGE prognose en een verhoogd risico op leukemische evolutie.

SRSF2 mutaties komen frequenter voor bij een secundaire AML uit MPN, dan bij secundaire AML uit MDS of bij de novo AML.

Tier 3 (ongekende klinische betekenis):

Mutaties in TET2 zijn recurrent bij MDS en MPN. De klinische betekenis hiervan is onduidelijk.

(Gelsi Boyer et al 2012 J Hem & Onco, Bejar et al 2014 Haematologica, Arber et al 2016 Blood, Zhang et al 2012 Blood, Todisco et al Blood 2016)

Disclaimer:

Deze test kan geen onderscheid maken tussen een verworven en een germline variant, en kan CHIP (clonal hematopoiesis of indeterminate potential) en pathogene mutaties niet van mekaar onderscheiden.

Pour chaque variant, les informations et l'interprétation dans le cadre d'une myélofibrose (SMP) et d'une myélodysplasie (MDS) sont résumées dans le tableau ci-dessus.

Pas de mutation « driver » type SMP mise en évidence (absence de variants dans les gènes JAK2, MPL et Calr). Un SMP triple négatif ne peut cependant être exclu. Dans ce contexte, les mutations observées dans l'échantillon du patient devraient être interprétées comme suit : présence de 2 variants pathogéniques dans le gène cible ASXL1 (p.(Gly646trpfs*12) ; FA= 44%) et dans le gène cible SRSF2 (p.(Pro95His), FA=49%) compatibles avec le diagnostic de SMP. Les variants dans ASXL1 et dans SRSF2 sont associés à une moins bonne survie globale ou sans processus leucémique (NCCN 2018).

Cependant, la classification WHO souligne que la présence conjointe de variants dans les gènes ASXL1, SRSF2, Tet2 et SETBP1 sont souvent associés à des néoplasies mixtes SMP/MDS de type CMML (leucémie myélomonocytaire chronique). Mais comme ces mutations peuvent être présentes dans d'autres néoplasies, il faut dès lors rester prudent quant à leur interprétation finale.

Dans un contexte de SMP/MDS, les 2 variants pathogéniques dans le gène cible ASXL1 (p.(Gly646Trpfs*12) ; FA=44%) et dans le gène cible SRSF2 (p.(Pro95His), FA=49%) sont compatibles avec le diagnostic et sont associés à un pronostic plus défavorable.

Le variant probablement pathogénique dans le gène cible TET2 (p.(Ser276Profs*17), FA=52%) est compatible avec le diagnostic de MDS ou SMP/MDS type CMML. A noter que de manière générale, les pertes de fonction de TET2 sont de mauvais pronostic.

Le variant pathogénique dans le gène non cible SETBP1 (p.(Ile871Thr), FA=49%) est compatible avec le diagnostic de MDS ou SMP/MDS type CMML. Dans ces contextes, les variants dans SETBP1 sont décrits comme associés à des maladies plus progressives.

† Une fraction allélique > 40% suggère que l'anomalie pourrait être d'origine héréditaire et pathogénique ou pathogénique probable. Un contrôle sur un prélèvement buccal est dès lors recommandé

- ASXL1 variant kan een kiemlijnvariant zijn; moet nog bevestigd/uitgesloten worden door extra weefsel te testen (bijv. buccale wisser).

De variant p.(Gly646Trpfs*12) is de meest voorkomende kanker-geassocieerde ASXL1 variant bij myelodysplastische aandoeningen en nog meer aanwezig in verder gevorderde en high-risk MDS's (>40% in RAEB2) (PMID: 28229513). Ook is deze geassocieerd met een acute transformatie voor chronische myelomonocytaire leukemie. ASXL1 mutaties worden het vaakst waargenomen bij de afwezigheid van FLT3-ITD en NPM1 mutaties die voorkomt bij acute myeloïde leukemie patiënten. Deze mutaties zijn geassocieerd met een slechte prognose met betrekking tot zowel overleving als complete remissie kansen. Bij patiënten met de novo AML die intensieve chemotherapie kregen, waren ASXL1-mutaties (N=51) geassocieerd met kortere algehele (P<0.001) en complicatie-vrije overleving (P=0.012) in vergelijking met ASXL1 wildtype (N=430). Multivariate analyse identificeerde ASXL1-mutaties als een onafhankelijke factor voor de algehele nadelige overleving (P=0.032, relatief risico: 1.70)(PMID: 23018865). In een meta-analyse van zes studies van in totaal 3311 patiënten met niet-M3 acute myeloïde leukemie, hadden die met mutaties in ASXL1 een slechtere algehele overleving dan wild-type patiënten (gevaar ratio 1, 86, 95% CI 1, 49-2,33)(PMID:25308295).

- SETBP1 variant kan een kiemlijnvariant zijn; moet nog bevestigd/uitgesloten worden door extra weefsel te testen (bijv. buccale wisser).

Pathogene kiemlijnvarianten veroorzaken autosomale dominante mentale retardatie 29 (OMIM: 616078) en Schinzel-Giedon midface retractionsyndroom (OMIM: 269150). Hoischen et al. (2010) gerapporteerde p.(Ile871Thr) variant als de novo voor de patiënt getroffen met het Schinzel-Giedon-syndroom (PMID: 20436468). Acuna-Hidalgo et al. (2017) rapporteerde ook p.(Ile871Thr)-variant bij patiënten die overlappen met het Schinzel-Giedonsyndroom en hematologische maligniteiten (PMID: 28346496). Atypische chronische myeloïde leukemie heeft dezelfde symptomen als CML, maar mist BCR-ABL1-fusie. Gerichte sequencing van 70 aCML-patiënten identificeerde SETBP1-mutaties tussen codons 858 en 871 bij 24,3% van de patiënten. Patiënten met deze mutatie hadden een mediane overlevingstijd van 22 maanden in vergelijking met 77 maanden bij patiënten met HCl zonder mutatie (P=.01)(PMID:23222956).

- SRSF2 variant kan een kiemlijnvariant zijn; moet nog worden bevestigd/uitgesloten door extra weefsel te testen (bijvoorbeeld buccale wisser).

SRSF2 is een lid van de serine/arginine-rijke familie van pre-mRNA-splitingsfactoren, die een deel van het spliceosoom vormen. Het interageert met andere spliceosomale componenten gebonden aan zowel 5-als 3-spliceplaatsen tijdens spliceosome-assemblage. SRSF2-mutaties komen meestal voor als missense mutaties bij Pro95. SRSF2-mutaties zijn gemeld in ongeveer 40% van de gevallen van chronische myelomonocytaire leukemie, maar ze hebben mogelijk geen prognostische betekenis in die entiteit. Co-mutatie van TET2 en SRSF2 was predictief voor een myeloïde neoplasma gekenmerkt door myelodysplasie en monocytose, inclusief maar niet beperkt tot chronische myelomonocytaire leukemie. Bovendien zijn SRSF2-mutaties gemeld bij ongeveer 15-20% van de gevallen van myelodysplastisch syndroom. SRSF2-mutaties zijn ook beschreven bij 5-20% van de patiënten met acute myeloïde leukemie en lijken te zijn verrijkt bij AML-patiënten met een verminderd aantal blasten. SRSF2 is gemuteerd in ongeveer 10% van de gevallen van primaire myelofibrose, waar mutaties kunnen voorkomen samen met mutaties in JAK2, MPL, TET2, CBL, ASXL1, EZH2, IDH1 / 2. SRSF2-mutaties zijn ook aanwezig in 8% blastisch plasmacytoïde dendritische celneoplasma en 3% polythemia vera. SRSF2-mutaties zijn meestal (hoewel niet volledig) exclusief mutaties in andere componenten van de splicing-factor. SRSF2-mutaties zijn geassocieerd met een slechte prognose van myelodysplastisch syndroom (NCCN-richtlijnen voor myelodysplastische syndromen), primaire myelofibrose, polycythaemia vera en KIT D816V-gemuteerde gevanceerde systemische mastocytose.

TET2-variant kan een kiemlijnvariant zijn; moet worden bevestigd / uitgesloten door extra weefsel te testen (bijvoorbeeld buccale wisser).

TET2-mutaties worden vaak aangetroffen bij acute myeloïde leukemie die voorkomt in 9-23% van de gevallen waarbij veel voorkomt bij ouderen. Over het algemeen zijn deze mutaties verlies van functie waarvan is aangetoond in muismodellen dat deze de hematopoïetische stamceldifferentiatie verminderen en een afwijkende hematopoëse veroorzaken. Deze mutaties bleken wederzijds exclusief te zijn met MLL- en IDH1 / 2-mutaties en zijn in verband gebracht met verkorte ziektevrije overleving. Over het algemeen is gevonden dat Survival korter is wanneer het voorkomt met NPM1 + / FLT3 + genotypes. Studies met "CN AML" en "de novo AML" waren echter niet in staat om een klinische impact op te helderen.

Présence de mutations retrouvées dans les MDS et NMP

Tier 1 (significant klinisch belang):

De aanwezigheid van mutaties in ASXL1, SETBP1 en SRSF2 past bij de diagnose van een myeloïde aandoening, maar is niet specifiek. Een mutatie in SETBP1 wordt typisch geassocieerd met aCML. Mutaties in de genen ASXL1, SETBP1 en SRSF2 zijn geassocieerd met ONGUNSTIGE prognose en een verhoogd risico op leukemische evolutie. SRSF2 mutaties komen frequenter voor bij een secundaire AML uit MPN, dan bij secundaire AML uit MDS of bij de novo AML.

Tier 3 (ongekende klinische betekenis):

Mutaties in TET2 zijn recurrent bij MDS en MPN. De klinische betekenis hiervan is onduidelijk. (Gelsi Boyer et al 2012 J Hem & Onco, Bejar et al 2014 Haematologica, Arber et al 2016 Blood, Zhang et al 2012 Blood, Todisco et al Blood 2016)

Disclaimer:

Deze test kan geen onderscheid maken tussen een verworven en een germline variant, en kan CHIP (clonal hematopoiesis of indeterminate potential) en pathogene mutaties niet van mekaar onderscheiden.

Medische informatie: DD MDS en MPN

Staaltype: bloed

Tier 1 (significant klinisch belang):

De aanwezigheid van mutaties in ASXL1, SETBP1 en SRSF2 past bij de diagnose van een myeloïde aandoening, maar is niet specifiek. Een mutatie in SETBP1 wordt typisch geassocieerd met aCML. Mutaties in de genen ASXL1, SETBP1 en SRSF2 zijn geassocieerd met ONGUNSTIGE prognose en een verhoogd risico op leukemische evolutie. SRSF2 mutaties komen frequenter voor bij een secundaire AML uit MPN, dan bij secundaire AML uit MDS of bij de novo AML.

Tier 3 (ongekende klinische betekenis):

Mutaties in TET2 zijn recurrent bij MDS en MPN. De klinische betekenis hiervan is onduidelijk. (Gelsi Boyer et al 2012 J Hem & Onco, Bejar et al 2014 Haematologica, Arber et al 2016 Blood, Zhang et al 2012 Blood, Todisco et al Blood 2016)

Disclaimer:

Deze test kan geen onderscheid maken tussen een verworven en een germline variant, en kan CHIP (clonal hematopoiesis of indeterminate potential) en pathogene mutaties niet van mekaar onderscheiden.

Dans ce prélèvement sanguin, détection du variant pathogénique SETBP1 p.(I871T) retrouvé dans les affections myéloprolifératives non BCR-ABL (identique aux mutations constitutionnelles du Syndrome de Schinzel- Giedion non considéré dans le cas présent vu l'âge du patient)(ref Acuna-Hidalgo R. et al . Plos Genet 2017). Ce variant est associé à un variant ASXL1 p.(G646Wfs12*) de mauvais pronostic connu dans les LMA et LMMC mais non significatif dans les SMD et LCN ainsi qu'à un variant pathogénique SRSF2 p.(P95H) constituant une cible potentielle pour des études de phase I/II faisant usage d'inhibiteurs d'épissage (splicing - Pla-B). A noter également la présence d'un variant TET2 (S276Pfs*17)"passenger" d'impact clinique à réévaluer en fonction du diagnostic cytologique(CHIP) . En conclusion, NMP probable dont le diagnostic et le pronostic sont à réévaluer en fonction des données cytologiques à obtenir sur un échantillon médullaire ainsi qu'avec les résultats du caryotype et des analyses moléculaires complémentaires.Cas à discuter en COM.

ASXL1, TET2 en SRSF2 mutaties worden waargenomen bij zowel MDS, AML en MDS-MPN overlap aandoeningen. Geen van hen is diagnostisch discriminerend. SETBP1 mutaties zijn sterk geassocieerd met MDS-MPN overlap aandoeningen (Liu et Al. 2017 PMID: 29225884), ASXL1, SETBP1 en SRSF2 mutaties impliceren een slechte prognose.

3.1.5. Cas 5

Er worden 4 mutaties gedetecteerd die passen bij de diagnose van AML.

Er worden twee mutaties in CEBPA gedetecteerd, die voldoen aan de definitie van klassieke biallelische CEBPA mutatie (frameshift variant in de N-term, in-frame deletie in de C-term regio). Deze zijn in het algemeen gecorreleerd met een zeer goede prognose en vormen een afzonderlijke entiteit in de WHO classificatie (Arber et al., 2016, El-Sharkawi et al. Haematologica 2018).

Een recente studie toont wel aan dat bij patiënten met biallelische CEBPA een additionele TET2 mutatie gecorreleerd is met een slechtere prognose (Konstandin et al. Blood Adv 2018).

Mutaties in CEBPA kunnen aanwezig zijn in de germline en zijn gecorreleerd met een familiale aandoening. Deze analyse maakt geen onderscheid tussen verworven of aangeboren mutaties en de frequentie waaraan de mutaties gevonden worden geeft ook geen uitsluitsel.

NGS analyse toont de aanwezigheid van volgende vier varianten met significant klinisch belang (TIER I) :

- CEPBA c.166dup (p(Cys56Leufs*52)) (allel frequency 42%) (TIER I)
- TET2 c.3247C>T (p(Gln1083*)) (allel frequency 45%) (TIER I)
- TET2 c.3571C>T (p(Gln1191*)) (allel frequency 47%) (TIER I)
- CEPBA c.878_880del (p(Asn293del)) (allel frequency 44%) (VUS)

Bijkomend werd er één variant met onduidelijke klinische betekenis (VUS) aangetoond in het CEBPA gen.

Bi-allelische varianten in het CEBPA gen, zoals in deze casus, zijn een recurrente afwijking in AML (aparte WHO entiteit : 'AML met biallelische mutatie van CEBPA'). Deze AML entiteit is geassocieerd met een gunstige prognose (WHO revised 4th edition; Lyon 2017); ELN risico stratificatie versie 3.2019 : favorable risk). Studies geven aan dat de co-aanwezigheid van TET 2 genmutaties in AML met favorable ELN risk ongunstig wordt beïnvloed (WHO revised 4th edition; Lyon 2017, PMID 31023266).

Tier 1 (significant klinisch belang):

Mutaties in CEBPA zijn recurrent bij acute myeloïde leukemie (AML). In de WHO 2016 classificatie van AML worden enkel geïsoleerde biallelische mutaties in het CEBPA gen geassocieerd met een GUNSTIGE prognose. Om de eventuele aanwezigheid van een biallelische mutatie na te gaan, kan opvolging met Sanger sequencing gebeuren. Mutaties in TET2 zijn recurrent bij AML. TET2 mutaties bij AML met een normaal karyotype (CN-AML) worden geassocieerd met een ONGUNSTIGE prognose.

Tier 3 (ongekende klinische betekenis):

In het CEBPA en het TET2 gen wordt ook een 'variant of unknown significance' (VUS) gevonden, de klinische betekenis van deze mutaties is niet gekend.

(Swerdlow et al WHO IARC 2017, Preudhomme et al. 2002 Blood, NCCN guidelines version 3.2019 AML, Liu et al Leuk Lymphoma 2014, Metzeler et al J Clin Oncol 2011, Döhner et al Blood 2017)

Disclaimer:

Deze test kan geen onderscheid maken tussen een verworven en een germline variant, en kan CHIP (clonal hematopoiesis of indeterminate potential) en pathogene mutaties niet van mekaar onderscheiden.

Volgen de WHO 2017 kan deze AML geklasseerd worden als AML met biallelische CEBPA mutaties. Deze klasse is geassocieerd met een gunstige prognose.

TET2 mutatie zijn beschreven in AML, maar de prognostische betekenis in dit type AML is onduidelijk (WHO 2017). Tevens wordt in WHO2017 een genetisch consult aangeraden bij patiënten met biallelische CEBPA mutaties in het kader van een familiaal syndroom (Arber 2016; Papaemmanuil 2016).

5. Besluit

- Diagnose: CEBPA p.(Cys56Leufs*52) betreft een N-terminale frameshift mutatie . CEBPA p.(Asn293del) betreft een C-terminale (bZIP domein) inframe indel mutatie. De combinatie van twee (N- én C-terminaal) mutaties (CEBPa dubbele mutatie) is een aparte WHO entiteit.

- Therapie: Geen eenduidige klinische implicaties.

- Prognose: Biallelische CEBPa AML is indicatief voor een gunstig klinisch verloop, in het bijzonder bij cytogenetisch normale AML. Doch, de TET2 mutatie is in biCEBPa-AML beschreven als zijnde een prognostisch ongunstige factor.

Referenties:

- Manelli F et al. Haematologica 2017 102(3)
- Wouters BJ et al. Blood 2009 113(13)
- Grossmann et al. BJH 2013
- Konstandin NP et al. Blood 2018

Pour chaque variant, les informations et l'interprétation dans le cadre d'une leucémie myéloïde aigüe (LMA) sont résumées dans le tableau ci-dessus.

-Présence de deux variants pathogéniques du gène CEBPA compatibles avec le diagnostic de LMA et dont l'impact clinique est avéré. Le variant (p.(Cys56Leufs*52) ; FA= 42%) est une mutation N-terminal (frameshift) et le variant (p.(Asn293del) ; FA = 44%) est une mutation dans une zone hotspot C- terminal (délétion in-frame). Les résultats NGS ne permettent cependant pas de préciser si ces deux variants sont situées sur des allèles différents (biallélique). La mutation de CEBPA n'est associée à un pronostic favorable que lorsqu'elle est biallélique et lorsque le caryotype est normal (Réf: Döhner et al., Blood 2017).

A noter que des doubles mutations CEBPA ont été rapportées dans des LMA familiales (une mutation étant d'origine germinale et l'autre d'origine somatique) (TAWANA-Blood 2015). Comme ces mutations sont présentes chez le patient à une fréquence allélique respectivement de 42% et 44%, elles pourraient donc être germinales

(intérêt frottis buccal?)

-Présence de 3 variants dans le gène TET2, 2 pathogéniques (p.(Gln1083*) ; FA = 45%) et (p.(Gln1191*) ; FA = 47%) et 1 de signification indéterminée (VUS) (p.(Met1701Ile) ; FA = 46%), compatibles avec le diagnostic de LMA. Les mutations dans TET2 sont associées à un pronostic plus défavorable dans les LMA des patients à un risque cytogénétique intermédiaire.

† Une fraction allélique > 40% suggère que l'anomalie pourrait être d'origine héréditaire et pathogénique ou pathogénique probable. Un contrôle sur un prélèvement buccal est dès lors recommandé.

Varianten in de genen CEBPA en TET2 zijn recurrent in de context van AML. De CEBPA varianten zijn biallelisch. Biallelische varianten in CEBPA zijn geassocieerd met een gunstige prognose (Ref: Döhner et al., Blood 2017. 129(4):424-447).

Ondanks de leeftijd van de patiënt kan door de aanwezigheid van varianten in het CEBPA gen in ~50% van de allelen, een constitutionele origine (d.w.z. aanwezig in de kiemlijn (germline)) niet worden uitgesloten. Op basis van deze test kan men geen onderscheid maken tussen een verworven en germline variant. In geval van een familiale myeloïde kankergeschiedenis is een kiembaanonderzoek op niet-geïnvadeerd weefsel (nagels, haar) aangewezen.

Aanwezigheid van 2 mogelijk klinisch belangrijke CEBPA varianten, geassocieerd met AML (6-14%); dubbele mutatie is prognostisch gunstig.

Aanwezigheid van 2 mogelijk klinisch belangrijke TET2 varianten, geassocieerd met AML (8-14%) en met slechtere respons op chemotherapie.

Onder voorbehoud van het ontbreken van de ruwe data, kan er worden vanuit gegaan dat er een biallelische variant in het CEBPA gen aanwezig is. Hierdoor kan de diagnose "acute myeloïde leukemie met biallelische mutatie van CEBPA" gesteld worden. Deze entiteit wordt geassocieerd met een gunstige prognose. Dit gunstig effect op outcome geldt niet indien de varianten in het CEBPA gen niet-biallelisch voorkomen. Daarnaast worden varianten in TET2 eveneens beschreven bij biallelisch gemuteerde CEBPA AML patiënten, waarbij ze gepaard gaan met een slechtere prognose in vergelijking met de TET2 wild type varianten.

Diagnostic:

Un variant pathogénique de CEBPA et deux variants probablement pathogéniques de TET2 ont été détectés.

La prévalence des mutations de CEBPA est de 6-15% dans les AML.

La prévalence des mutations de TET2 dans les AML est de 7-25%.

Pronostic:

Dans l'échelle de stratification du risque 2017 de l'ELN, seuls les patients présentant une mutation bi-allélique de CEBPA peuvent être considéré comme de risque "favorable". Chez votre patient seul l'un des deux variants identifiés est probablement pathogénique et d'impact clinique avéré alors que le second représente un variant de signification clinique indéterminée (VUS) et par conséquent d'impact clinique indéterminé (Tier III). Chez les patients a mutation mono-allélique, CRR, DFS et OS semblent significativement réduit par comparaison aux patients porteurs d'une AML avec mutation bi-allélique ("Arbet et al., The WHO classification of myeloid neoplasms and acute leukemia », Blood 2016).

La prévalence des mutations de TET2 est de 7-25% dans les AML. On note une association préférentielle avec caryotype normal et l'absence de mutation des IDH&2 (Patel et al., 2017).

L'impact pronostic des mutations de TET2 dans les AML est actuellement discuté. Nous avons en conséquence considéré l'impact clinique des mutations probablement pathogéniques détectées comme, indéterminés.

L'impact défavorable sur CR, DFS, RR, EFS et OS pourrait être limité au groupe "ELN favorable" et caryotype normal (Arber et al., Blood 2016).

Beeld van AML met bi-allelische CEBPA mutatie, impliceert een goede prognose. In een minderheid van de gevallen is één van de beide mutaties aangeboren. Genetisch consult is aangewezen. (ELN,WHO)

Met NGS werden twee CEBPA mutaties gedetecteerd wat suggestief is voor de diagnose van AML met biallelische mutatie van CEBPA (WHO 2016).

Nog aan te vullen met karyotypering ikv prognosebepaling.

Er werden eveneens twee TET2 mutaties gedetecteerd; de impact hiervan op de prognose is eerder onduidelijk.

Dans le cadre des leucémies aiguës myéloïdes, La présence de deux mutations de longueur du gène CEBPA en l'absence d'anomalies cytogénétiques et de mutations des gènes FLT3 et TP53 définit une pathologie de bas risque moléculaire (c'est-à-dire de pronostic favorable).*

Au sein des LAM CEBPA double mutée, les variants du gène TET2 n'ont pas d'effet clairement défini.*

EN CONCLUSION ce patient présente une pathologie de profil mutationnel compatible avec une leucémie aiguë myeloïde de bon pronostic.

* Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia, Elli Papaemmanui & al. NEJM 2016

Présence d'une mutation CEBPA (c.166dup) et TE2 (c.3247C>T et c.3571C>T) probablement pathogéniques. Mutations TET2 de pronostic défavorable dans les LMA.

VUS et mutation de signification clinique inconnue détecté au niveau du gène CEBPA (c.878-880del) et TET2 (c.5103G>A).

Er werden twee pathogene CEBPA (NM_004364.3) varianten geïdentificeerd: een out of frame duplicatie c.166dup (p.(Cys56Leufs*52)) en een in frame deletie c.878_880del (p.(Asn293del)).

De aanwezigheid van beide varianten in CEBPA heeft significant klinisch belang (tier I) namelijk een sterke associatie van AML en een goede prognose.

Daarnaast werden twee pathogene TET2 (NM_001127208.2) nonsense varianten geïdentificeerd: c.3247C>T (p.(Gln1083*)) en c.3571C>T (p.(Gln1191*)) die mogelijks klinisch belang hebben (tier II).

Conclusie: AML met een dubbele mutatie in CEBPA (WHO 2017), goede prognose volgens de ELN 2017

guidelines.

Referentie: Pubmed ID 27895058 en 27069254

NGS toont aanwezigheid aan van varianten in CEBPA en TET2:

- 1) een vermoedelijk pathogene loss-of-function variant (VAF 42%) en in-frame deletie variant (VAF 44%) in het CEBPA gen: dit is een typisch bi-allelic mutatie profiel met een N-terminaal ingekort eiwit en een C-terminale in-frame insertie in het bZIP domein van CEBPA die in ongeveer 4-9% AML patiënten worden teruggevonden. AML met bi-alleliche varianten in CEBPA is een afzonderlijke WHO entiteit.
- 2) twee vermoedelijk pathogene nonsense varianten in het TET2 gen (VAF 45% en 47%): TET2 varianten komen voor bij verschillende myeloproliferatieve aandoeningen inclusief MDS/AML. In AML is het effect op prognose niet eenduidig. Afhankelijk van de studie en/of AML sub-groep wordt geen effect gezien of toch een negatieve impact op o.a. de algemene overleving (zie Swerdlow et al., WHO Classification, IARC Lyon 2017 voor overzicht), vooral in bv. ELN gunstige genetische risico groepen zoals 'mutated CEBPA'.

Besluit: NGS profiel is in overeenstemming met de aanwezigheid van AML. Gezien aanwezigheid van twee CEBPA varianten behoort deze patiënt tot de subgroep 'AML met bi-alleliche CEBPA' behorende tot de prognostisch gunstige groep in de ELN en NCCN guidelines (Döhner et al., Leukemia 2017, NCCN guideline version 3.2019, AML). De aanwezigheid van TET2 varianten heeft mogelijks een negatieve impact op o.a. de algemene overleving. Opmerking: gezien de VAF's van de CEBPA varianten rond 50% zijn kan de diagnose 'AML with germ line CEBPA mutation' niet uitgesloten worden (Döhner et al., Leukemia 2017).

Pronostic **Autôt favorable**

Bij AML is de aanwezigheid van bialleliche mutaties in CEBPA geassocieerd met een betere prognose (doi: 10.1182/blood-2008-09-179895; doi: 10.1038/sj.thj.6200216).

TET2 mutaties zijn geassocieerd met een negatieve prognose bij AML, vooral indien in combinatie met andere nadelige mutaties (zoals FLT3-ITD). Deze zijn hier afwezig, wat gunstiger is voor de overall survival. (doi: 10.1182/blood-2011-02-339747).

Tier 1 (significant klinisch belang):

Mutaties in CEBPA zijn recurrent bij acute myeloïde leukemie (AML). In de WHO 2016 classificatie van AML worden enkel geïsoleerde bialleliche mutaties in het CEBPA gen geassocieerd met een GUNSTIGE prognose. Om de eventuele aanwezigheid van een bialleliche mutatie na te gaan, kan opvolging met Sanger sequencing gebeuren. Mutaties in TET2 zijn recurrent bij AML. TET2 mutaties bij AML met een normaal karyotype (CN-AML) worden geassocieerd met een ONGUNSTIGE prognose.

Tier 3 (ongekende klinische betekenis):

In het CEBPA en het TET2 gen wordt ook een 'variant of unknown significance' (VUS) gevonden, de klinische betekenis van deze mutaties is niet gekend.

(Swerdlow et al WHO IARC 2017, Preudhomme et al. 2002 Blood, NCCN guidelines version 3.2019 AML, Liu et al Leuk Lymphoma 2014, Metzeler et al J Clin Oncol 2011, Döhner et al Blood 2017)

Disclaimer:

Deze test kan geen onderscheid maken tussen een verworven en een germline variant, en kan CHIP (clonal hematopoiesis of indeterminate potential) en pathogene mutaties niet van mekaar onderscheiden.

- CEBPA varianten kunnen kiemlijnvarianten zijn ; moet nog worden bevestigd/uitgesloten door extra weefsel te testen (bijvoorbeeld buccale wisser) en ook de trans/cis-configuratie moet worden opgehelderd. CEBPA-mutaties zijn geassocieerd met cytogenetische normale acute myeloïde leukemie (CN-AML) en een gunstige prognose. NPM1-en FLT3 mutaties dienen echter ook te worden beoordeeld bij CN-AML-patiënten omdat gelijktijdig optredende mutaties mogelijk prognostische implicaties hebben (PMIDs: 18450602, 19304957, 25014773, 19965647, 14726504). In een onderzoek bij 1540 patiënten met acute myeloïde leukemie hadden 66 patiënten (4%) een CEBPA mutatie. In afwezigheid van genfusieproducten vertoonden patiënten met bialleliche CEBPA-mutaties de hoogste overlevingsgraad (ong 78%) in vergelijking met IDH2 (R172)-mutaties, NPM1 (W288fs)-mutaties, chromatine-spliceosome-mutaties en TP53-aneuploidie (PMID: 27.276.561).

- TET2 varianten kunnen een kiemlijnvariant zijn; deze moet worden bevestigd/uitgesloten door extra weefsel te testen (bv buccale wisser).

TET2-mutaties worden vaak aangetroffen bij acute myeloïde leukemie die voorkomt in 9-23% van de gevallen met casussen met oudere personen. Over het algemeen zijn deze mutaties een verlies van functie die bij muismodellen zijn aangetoond om hematopoïetische stamceldifferentiatie te verminderen en afwijkende hematopoese te veroorzaken. Deze mutaties bleken wederzijds exclusief te zijn met MLL- en IDH1/2 mutaties en zijn in verband gebracht met verkorte ziektevrije overleving bij co-voorkoming met NPM1+/FLT3 genotypen. Over het algemeen is gevonden dat overleving korter is wanneer het voorkomt met NPM1+/FLT3+ genotypes. Studies met "CN AML" en "de novo AML" waren echter niet in staat om een klinische impact op te helderen.

Les mutations bialléliques CEBPA sont considérées comme étant de pronostic favorable et les 2 variants TET2 sont prédictifs de réponse au traitement par 5-AZA et décitabine dans les LMA précédée de SMD. A noter que les mutations TET2 sont de pronostic défavorable dans les LMA des patients de < de 65ans (Wang R. et al. BMC 2019), ce qui n'est pas le cas ici . En conclusion, LMA de pronostic favorable caractérisée par des variants bialléliques CEBPA associés à 2 variants "passengers" TET2.

Ce résultat NGS est à intégrer au caryotype et aux données moléculaires complémentaires (RTqPCR) et à discuter en COM.

Remarque :Le variant TET2 p.(M1701I) (VUS) d'impact clinique indéterminé est rapporté à titre informatif.

Medische informatie: AML

Staaltype: beenmerg

Tier 1 (significant klinisch belang):

Mutaties in CEBPA zijn recurrent bij acute myeloïde leukemie (AML). In de WHO 2016 classificatie van AML worden enkel geïsoleerde bialleliche mutaties in het CEBPA gen geassocieerd met een GUNSTIGE prognose. Om de

eventuele aanwezigheid van een biallelische mutatie na te gaan, kan opvolging met Sanger sequencing gebeuren. Mutaties in TET2 zijn recurrent bij AML. TET2 mutaties bij AML met een normaal karyotype (CN-AML) worden geassocieerd met een ONGUNSTIGE prognose.

Tier 3 (ongekende klinische betekenis):

In het CEBPA en het TET2 gen wordt ook een 'variant of unknown significance' (VUS) gevonden, de klinische betekenis van deze mutaties is niet gekend.

(Swerdlow et al WHO IARC 2017, Preudhomme et al. 2002 Blood, NCCN guidelines version 3.2019 AML, Liu et al Leuk Lymphoma 2014, Metzeler et al J Clin Oncol 2011, Döhner et al Blood 2017)

Disclaimer:

Deze test kan geen onderscheid maken tussen een verworven en een germline variant, en kan CHIP (clonal hematopoiesis of indeterminate potential) en pathogene mutaties niet van mekaar onderscheiden.

Er werden een vermoedelijk pathogene mutatie in het CEBPA gen en twee vermoedelijk pathogene mutaties in het TET2 gen geïdentificeerd, respectievelijk CEBPA c.166dup (p.(Cys56Leufs*52)), TET2 c.3247C>T (p.(Gln1083*)) en TET2 c.3571C>T (p.(Gln1191*)). Deze drie mutaties hebben elk een mogelijk klinisch belang (Tier II). Mutaties in CEBPA en TET2 worden in acute myeloïde leukemie (AML) aangetroffen met een frequentie van respectievelijk 7-11 % en 6-27 % [1,2]. Biallelische mutaties van CEBPA definiëren een aparte diagnostische entiteit in de WHO-classificatie van AML en gaan gepaard met een betere prognose, maar in het geval van een monoallelische CEBPA mutatie, zoals in deze casus gezien het ontbreken van een tweede (vermoedelijk) pathogene mutatie, is er géén associatie met een gunstiger prognose [1,3,4]. Mutaties van TET2 zouden mogelijk in AML met een minder goede prognose gepaard gaan [1,2].

Daarnaast werd een variant van onduidelijke betekenis (VUS) gedetecteerd, CEBPA c.878_880del (p.(Asn293del)), waaraan actueel geen klinische implicaties gekoppeld kunnen worden (Tier III: ongekende klinische betekenis).

Referenties:

1. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: acute myeloid leukemia, version 2.2019.
2. PMID 31023266.
3. Swerdlow SH et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues (revised 4th edition). IARC: Lyon 2017.
4. PMID 25227715.

3.1.6. Cas 6

Diagnostic/pronostic : LAM avec mutation NPM1c+, de pronostic favorable selon l'ELN 2017 (NPM1c+/FLT3-ITD absent).

L'impact pronostic des mutations des gènes TET2 et WT1 n'est pas pris en compte dans cette échelle de risque.

La prévalence des mutations de TET2 est de 7-25% dans les AML. On note une association préférentielle avec caryotype normal et l'absence de mutation des IDH&2 (Patel et al., 2017).

L'impact pronostic des mutations de TET2 dans les AML est actuellement discuté.

L'impact défavorable sur CR, DFS, RR, EFS et OS pourrait être limité au groupe "ELN favorable" et caryotype normal (Arber et al., Blood 2016).

Dans le cadre du groupe des AML adultes avec caryotype normal, les mutations somatiques de WT1 pourraient être considérées comme de mauvais pronostic : taux de rémission complétete (RC), fréquence des résistances, taux de rechute, CIR sont rapportés comme plus élevé; DFS, RFS, EFS et OS plus courts (Arber et al., Blood 2016).

De aanwezigheid van een NPM1 mutatie in combinatie met een TET2 mutatie is geassocieerd met een verhoogde overall survival en lagere kans op relapse na inductie therapie (doi: 10.1002/ajh.25018; doi: 10.3892/mco.2013.222). De prognostische impact van de WT1 mutatie in combinatie met de NPM1 en TET2 mutaties is echter niet duidelijk (doi: 10.1182/blood-2008-10-183392)

NPM1 mutaties komen voor bij AML (30%) en zijn geassocieerd met een gunstige prognose (indien afwezigheid van FLT3-ITD of DNMT3A mutaties).

Prognostisch belang van bijkomende WT1 en TET2 mutatie is niet volledig duidelijk.

NGS analyse toont de aanwezigheid van volgende drie varianten met significant (TIER I) of mogelijk significant (TIER II) klinisch belang:

- NPM1 c.860_863dup (p(Trp288Cysfs*12)) (allel frequency 35%) (TIER I)
- TET2 c.4879C>T (p(Gln1627*)) (allel frequency 8%) (TIER I)
- WT1 c.1104dup (p(Arg369Alafs*16)) (allel frequency 35%) (TIER II)

De variant in het NPM1 gen is recurrente variant in AML (aparte WHO entiteit : 'AML met NPM1 mutatie') en is geassocieerd met een gunstige prognose (WHO revised 4th edition; Lyon 2017) ; ELN risico stratificatie versie 3.2019 : favorable risk.

Studies geven aan dat de co-aanwezigheid van TET 2 genmutaties in AML met favorable ELN risk ongunstig wordt beïnvloed (WHO revised 4th edition; Lyon 2017, PMID 31023266). Een WT1 genmutatie heeft een mogelijk bijkomend ongunstig effect op de prognose (PMID 25110071)

Er worden drie mutaties gedetecteerd, waarvan twee aan een hoge frequentie en één aan een lage frequentie.

NPM1 mutaties zijn volgens de ELN guidelines geassocieerd met een gunstige prognose. Recente studies van Metzeler et al. (Blood 2016) en Papaemmanuil et al, (NEJM 2016) bevestigen deze gunstigere prognose in afwezigheid van DNMT3A en FLT3-ITD mutaties (zowel bij jongere patiënten als patiënten >60j). Echter, volgens een recente studie hebben patiënten >60 jaar sowieso een slechtere overlevingskans, ook indien een NPM1 mutatie aanwezig is en ongeacht de aan- of afwezigheid van een FLT3-ITD mutatie. Oudere patiënten met een NPM1 mutatie mogen volgens deze studie niet als favorable risk aanzien worden (Straube et al., Blood 2018). Gezien de leeftijd van deze patiënt (60 jaar) is voorgaande studie onder voorbehoud te gebruiken.

De impact van WT1 mutaties bij volwassenen is nog niet duidelijk. De meeste studies tonen echter een negatieve impact op overall survival en relapse free survival (Rampal et al., Haematologica 2016).

Additioneel wordt een mutatie in TET2 gedetecteerd aan een lagere frequentie. Dit kan wijzen op de aanwezigheid van een subkloon van de AML maar kan ook verklaard worden door de aanwezigheid van een onafhankelijke CHIP (clonal hematopoiesis of indeterminate potential). In het geval van een AML subkloon is de combinatie van een TET2 en NPM1 mutatie, in de afwezigheid van een FLT3-ITD, gecorreleerd met een slechtere event free survival en overall survival, in vergelijking met patiënten met wild-type TET2 (Arber et al. Blood, 2016).

Finaal is dit mutatieprofiel gecorreleerd met een intermediaire prognose.

Les variants du gène NPM1 constituent les atteintes ponctuelles les plus fréquentes dans les leucémies aiguës myéloïdes(LAM) et en l'absence d'anomalie cytogénétique et de variants des gènes FLT3 et TP53, définissent une pathologie de risque moléculaire faible, de bon pronostic. *

Ces variants sont très fréquemment associées à des variants des gènes impliqués dans les mécanismes de méthylation/hydroxyméthylation de l'ADN (DNMT3A, IDH1, IDH2, TET2). Un tel variant est retrouvé chez ce patient en la présence d'une mutation du gène TET2. L'effet de cette mutation sur le pronostic n'est pas clairement défini. *

Les variants du gène WT1 sont retrouvées dans <15% des LAM NPM1mut, leur effet sur le pronostic n'est pas clairement défini, certaines études établissent néanmoins un effet péjoratif sur le pronostic. **

EN CONCLUSION ce patient présente une pathologie de profil mutationnel associé à un pronostic favorable.

* Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia, Elli Papaemmanui & al. NEJM 2016

** Prognostic impact of Wilms tumor gene mutations in Egyptian patients with acute myeloid leukemia with normal karyotype. Zidan MA & al. Hematology. 2014

Varianten in de genen NPM1 (type A), TET2 en WT1 zijn recurrent in de context van AML. De aanwezigheid van een variant in het NPM1 gen wordt geassocieerd met een gunstige prognose zonder bijkomende FLT3-ITD (high)-mutatie (Ref: Döhner et al., Blood 2017. 129:1136-1152).

<p>Présence d'une duplication au niveau du gène NPM1 de pronostic favorable dans le LMA (en absence de FLT3-ITD).</p> <p>Présence d'une mutation au niveau du gène TET2 de pronostic défavorable dans les LMA.</p> <p>Présence d'une mutation au niveau du gène WT1 de pronostic défavorable dans les LMA.</p>
<p>Aanwezigheid van significant klinisch belangrijke NPM1 type A variant, geassocieerd met AML (22-29%). prognostisch gunstig indien niet geassocieerd met FLT3 ITD variant, slechtere prognose dan niet-type A varianten (Alpermann T. et al., Hematologica, 2016;101:e57).</p> <p>Aanwezigheid van mogelijk klinisch belangrijke TET2 variant, geassocieerd met AML (8-14%) en met slechtere respons op chemotherapie.</p> <p>Aanwezigheid van mogelijk klinisch belangrijke WT1 variant, geassocieerd met AML (6-8%). geeft aanleiding tot kortere overlevingsduur vooral bij normaal karyotype AML (Krauth M. et al., Leukemia, 2016 (3) : 680-7).</p>
<p>Pour chaque variant, les informations et l'interprétation dans le cadre d'une leucémie myéloïde aiguë (LMA) sont résumées dans le tableau ci-dessus.</p> <p>-Présence dans le gène cible NPM1 du variant pathogénique (p.(Trp288Cysfs*12) ; FA = 35%), mutation de type A (variant NPM1 le plus fréquent dans les LMA : +/- 72%) compatible avec le diagnostic de LMA. Dans les LMA, les variants dans le gène NPM1 confèrent un pronostic favorable (Döhner- Blood ,2017)) pour autant qu'il ne soit pas associé à un FLT3 ITD qui doit être recherché par une technique autre que le NGS.</p> <p>-Présence dans le gène cible TET2 d'un variant pathogénique (p.(Gln1627*) ; FA = 8%) compatible avec le diagnostic de LMA. Des variants dans TET2 sont retrouvés dans 15% des LMA avec NPM1 muté.</p> <p>-Présence dans le gène cible WT1 d'un variant probablement pathogénique (p.(Arg369Alafs*16) ; FA = 35%) compatible avec le diagnostic de LMA. Les LMA avec des variants dans WT1 sont associées à des pronostics moins favorables</p> <p>† Une fraction allélique > 40% suggère que l'anomalie pourrait être d'origine héréditaire et pathogénique ou pathogénique probable. Un contrôle sur un prélèvement buccal est dès lors recommandé.</p>
<p>Met NGS werd een NPM1 mutatie gedetecteerd wat past bij de diagnose van een AML met gemuteerde NPM1 (WHO 2016).</p> <p>Nog aan te vullen met karyotypering.</p> <p>NGS toont ook een WT1 mutatie wat een negatieve impact heeft op de prognose.</p> <p>Daarnaast werd ook een TET2 mutatie gedetecteerd met onduidelijke klinische betekenis.</p>
<p>Gezien de gevonden NPM1 consensus pathogene variant in exon 12, kan de diagnose "acute myeloïde leukemie met gemuteerd NPM1" weerhouden worden. Deze variant komt voor bij 25-35% van de AML patiënten en wordt gerelateerd aan een goede therapie respons bij AML patiënten met normaal karyotype. Secundaire varianten zijn frequent voorkomend bij deze entiteit, waaronder varianten in het TET2 gen zoals in deze casus. In ongeveer 8% van de AML patiënten wordt een WT1 variant teruggevonden. Bij patiënten met een normaal karyotype zijn WT1 varianten gecorreleerd met een kortere event-free survival.</p>
<p>Volgens de WHO 2017 kan deze AML geklasseerd worden als AML met gemuteerd NPM1.</p> <p>Mutaties in WT1 zijn beschreven in AML en zijn geassocieerd met een ongunstige prognose (WHO 2017).</p> <p>TET2 mutatie zijn beschreven in AML, maar de prognostische betekenis is onduidelijk (WHO 2017).</p>
<p>NGS toont aanwezigheid aan van varianten in NPM1, TET2 en WT1:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) een consensus pathogene variant p.(Trp288Cysfs*12) in het NPM1 gen (VAF 31%): de variant is een subtype A 4bp insertie variant. AML met gemuteerde NPM1 is een afzonderlijke WHO entiteit. 27% tot 35% van de AML patiënten zijn NPM1 positief en meer dan 70% van deze patiënten bevatten ook varianten in DNA methylatie of hydroxymethylatie genen (cf. mogelijks in casu TET2 sub-kloon). 2) een vermoedelijk pathogene loss-of-function variant in het WT1 gen (VAF 35%): WT1 varianten worden teruggevonden in ongeveer 5% van alle AML patiënten, maar komen meer voor (10% tot 13%) in jonge AML patiënten (16-60 jaar) met CN-AML (Gaidzik et al., Blood 2009). De meeste studies zien een negatieve impact op de CR snelheid, de ziekte-vrije overleving en/of de algemene overleving (zie Swerdlow et al., WHO Classification, IARC Lyon 2017 voor overzicht). 3) een vermoedelijk pathogene nonsense varianten in het TET2 gen (VAF 8%): TET2 varianten komen voor bij verschillende myeloproliferatieve aandoeningen inclusief MDS/AML. In AML is het effect op prognose niet eenduidig. Afhankelijk van de studie en/of AML sub-groep wordt geen effect gezien of toch een negatieve impact op o.a. de algemene overleving (zie Swerdlow et al., WHO Classification, IARC Lyon 2017 voor overzicht), vooral in bv. ELN gunstige genetische risico groepen zoals 'NPM1 zonder FLT3-ITD'. De lage VAF wijst op een sub-kloon. Besluit: NGS profiel is in overeenstemming met de aanwezigheid van AML. Gezien aanwezigheid van een NPM1 variant behoort deze patiënt tot de subgroep 'AML met gemuteerd NPM1'. NPM1 positieve/FLT3-ITD negatieve (in casu) AML behoren tot de prognostisch gunstige groep in de ELN en NCCN guidelines (Döhner et al., Leukemia 2017, NCCN guideline version 1.2018, AML). De aanwezigheid van de WT1 en TET2 varianten heeft mogelijks een negatieve impact op o.a. de algemene overleving.
<p>La surexpression de WT1 est liée à un pronostic péjoratif</p>
<p>Er werd een pathogene NPM1 (NM_002520.6): c.860_863dupTCTG (p.(Trp288Cysfs*12)) out of frame duplicatie variant geïdentificeerd. De aanwezigheid van dit type variant is geassocieerd met AML en heeft een goede prognose (tier I).</p> <p>Er werd een pathogene TET2 (NM_001127208.2): c.4879C>T (p.(Gln1627*)) nonsense variant geïdentificeerd. De aanwezigheid van dit type variant in AML heeft vermoedelijk klinisch belang (tier II).</p> <p>Er werd een pathogene WT1 (NM_024426.5): c.1104dup (p.(Arg369Alafs*16)) out of frame duplicatie variant</p>

geïdentificeerd. De aanwezigheid van dit type variant in AML heeft vermoedelijk klinisch belang (tier II).
Conclusie: AML met NPM1 mutatie (WHO 2017), goede prognose volgens de ELN 2017 guidelines.
Referentie: 27895058

Tier 1 (significant klinisch belang):

Mutaties in de genen TET2 en NPM1 zijn recurrent bij acute myeloïde leukemie.

De aanwezigheid van mutaties in het NPM1 gen is één van de meest voorkomende genetische afwijking in AML en relatief specifiek voor AML. De aanwezigheid van een NPM1 mutatie wordt geassocieerd met een GUNSTIGE prognose bij patiënten zonder bijkomend FLT3 ITD mutatie. AML met gemuteerde NPM1 geeft een betere respons op inductietherapie.

Mutaties in TET2 zijn recurrent bij AML. TET2 mutaties bij AML met een normaal karyotype (CN-AML) worden geassocieerd met een ONGUNSTIGE prognose. De gevonden mutatie in het TET2 gen is aanwezig in slechts een laag % van de cellen. De klinische betekenis hiervan is onduidelijk.

Tier 2 (mogelijk klinisch belang):

Mutaties in WT1 zijn recurrent bij acute myeloïde leukemie. De rol (therapeutisch en prognostisch) van WT1 in AML is nog niet helemaal opgehelderd.

(Gu et al Biomarker Research 2018, NCCN guidelines version 3.2019 AML, Papaemmanuil et al NEJM 2016, Rampal et al Haematologica 2016, Döhner et al Blood 2017)

Disclaimer:

Deze test kan geen onderscheid maken tussen een verworven en een germline variant, en kan CHIP (clonal hematopoiesis of indeterminate potential) en pathogene mutaties niet van mekaar onderscheiden.

5. Besluit

- Diagnose: Mutatieprofiel indicatief voor de novo AML. NPM1 gemuteerde AML betreft een aparte WHO entiteit.
- Therapie: Klinisch voordeel bij gebruik van hoge dosis inductie chemotherapie bij NPM1 gemuteerde AML.
- Prognose: NPM1 mutatie geassocieerd met een gunstig klinisch verloop. Bijkomende TET2 en WT1 mutatie eerder geassocieerd met ongunstige prognose.

Referenties:

- Ho PA et al. Blood 2010 116(5)
- Chou W-C et al. Blood 2011 118(14)
- Patel J. et al. NEJM 2012

- Mutaties van NPM1 zijn gemeld bij ongeveer 25-35% van de gevallen van acute myeloïde leukemie (AML). De mutaties van NPM1 zijn raamwerkverschuivingsmutaties in het C-uiteinde van het eiwit die de C-terminale aminozuursequentie veranderen en zijn geassocieerd met afwijkende cytoplasmatische lokalisatie van het eiwit. NPM1-mutaties in AML zijn typisch geassocieerd met een normaal karyotype en kunnen naast FLT3-mutaties bestaan. Gewoonlijk geassocieerd met een gunstige prognose bij AML, tenzij een bijkomende FLT3-ITD-mutatie ook aanwezig is (SCV000258461.2). De aanwezigheid van NPM1-mutaties is in multivariate analyse geassocieerd met verbeterde complete remissiesnelheden, maar niet noodzakelijk totale overleving, inclusief beoordeling van de variëteit van meer recent ontdekte mutaties die mogelijk aanwezig zijn in AML. Daarnaast is cytogenetisch normale AML met gemuteerd NPM1, zonder FLT3 ITD of gemuteerd DNMT3A, volgens sommige onderzoeken als een gunstige genetische risicogroep beschouwd, hoewel andere onderzoeken suggereren dat coëxistente mutaties in IDH1 of IDH2 nodig kunnen zijn voor het gunstige risico. effect van NPM1. NPM1 W288fs (ook bekend als NPM1-A) bevindt zich in exon 12 van NPM1 en is de meest voorkomende NPM1-mutatie die wordt geïdentificeerd bij acute myeloïde leukemie. Deze mutatie resulteert in cytoplasmatische lokalisatie van NPM1 (NPM1c) die geassocieerd is met een goede respons op inductietherapie. Hoewel het de meest uitgebreid bestudeerde NPM1 exon 12-mutatie is, wordt het over het algemeen gegroepeerd met andere exon 12-mutaties voor patiëntanalyse (zie NPM1 Exon 12-varianten voor meer informatie).

- TET2-mutaties worden vaak aangetroffen bij acute myeloïde leukemie die voorkomt in 9-23% van de gevallen, waarbij veel voorkomt bij ouderen. Over het algemeen zijn deze mutaties verlies van functie waarvan is aangetoond in muismodellen dat deze de hematopoietische stamceldifferentiatie verminderen en een afwijkende hematopoëse veroorzaken. Deze mutaties bleken wederzijds exclusief te zijn met MLL- en IDH1 / 2-mutaties en zijn in verband gebracht met verkorte ziektevrije overleving en ziektevrije overleving bij co-voorkoming met NPM1 + / FLT3-genotypen. Over het algemeen is gevonden dat Survival korter is wanneer het voorkomt met NPM1 + / FLT3 + genotypes. Studies met "CN AML" en "de novo AML" waren echter niet in staat om een klinische impact op te helderen.

- WT1 is een tumor suppressor gen geassocieerd met de ontwikkeling van Wilms 'Tumor, waarvan het de naam kreeg. Mutaties in exon 7 en 9 van WT1 zijn herhaaldelijk geïdentificeerd bij acute myeloïde leukemie en geassocieerd met een slechtere prognose en resistentie tegen chemotherapie. De percentages van complete remissie en refractaire ziekte zijn niet verschillend bij patiënten met WT1-mutaties (69% exon 7, 15% exon 9) dan die zonder bij jonge (16-60) patiënten met cytogenetisch normale AML (PMID: 19221039). WT1-mutaties werden geassocieerd met kortere totale en ziektevrije overleving in een cohort van cytogenetisch normale, jonge (<60) AML-patiënten (PMID: 18559874). WT1-mutaties waren een negatieve prognostische factor voor de totale overleving bij jonge (15-60 +, mediaan 45) patiënten met cytogenetisch normale AML (PMID: 18591546). Rampal et al. (2014) verschaftte de gegevens die een rol spelen voor WT1 bij het reguleren van DNA-hydroxymethylatie en suggereert dat TET2 IDH1 / IDH2- en WT1-mutaties een AML-subtype definiëren gedefinieerd door gedegreguleerde DNA-hydroxymethylatie (PMID: 25482556).

Tier 1 (significant klinisch belang):

Mutaties in de genen TET2 en NPM1 zijn recurrent bij acute myeloïde leukemie.

De aanwezigheid van mutaties in het NPM1 gen is één van de meest voorkomende genetische afwijking in AML en

relatief specifiek voor AML. De aanwezigheid van een NPM1 mutatie wordt geassocieerd met een GUNSTIGE prognose bij patiënten zonder bijkomend FLT3 ITD mutatie. AML met gemuteerde NPM1 geeft een betere respons op inductietherapie.

Mutaties in TET2 zijn recurrent bij AML. TET2 mutaties bij AML met een normaal karyotype (CN-AML) worden geassocieerd met een ONGUNSTIGE prognose. De gevonden mutatie in het TET2 gen is aanwezig in slechts een laag % van de cellen. De klinische betekenis hiervan is onduidelijk.

Tier 2 (mogelijk klinisch belang):

Mutaties in WT1 zijn recurrent bij acute myeloïde leukemie. De rol (therapeutisch en prognostisch) van WT1 in AML is nog niet helemaal opgehelderd.

(Gu et al Biomarker Research 2018, NCCN guidelines version 3.2019 AML, Papaemmanuil et al NEJM 2016, Rampal et al Haematologica 2016, Döhner et al Blood 2017)

Disclaimer:

Deze test kan geen onderscheid maken tussen een verworven en een germline variant, en kan CHIP (clonal hematopoiesis of indeterminate potential) en pathogene mutaties niet van mekaar onderscheiden

Dans cet échantillon médullaire envahi par une LMA, présence d'un variant probablement pathogénique NPM1 p.(W288Cfs*12) de pronostic favorable si dépourvu de mutation FLT3 associée.

Cependant, il est à noter la détection d'un faible variant TET2 p.(Q1627*) qui, même s'il est prédictif de réponse au traitement par 5-AZA et décitabine (si la LMA est précédée de SMD), ce dernier est considéré comme étant de pronostic défavorable si le patient a moins de 65 ans (Wang R. et al; 2019).

De plus, on observe également, la présence d'un variant WT1 p.(R369Afs*16) décrit une seule fois comme prédictif d'évolution défavorable dans les LMA post-chimiothérapie (Cho et al. 2010).

En conclusion, LMA NPM1 de pronostic favorable diminué par la présence de deux variants TET2 et WT1 de pronostic inférieur à discuter en COM. Ce résultat NGS est à intégrer aux données cytologiques, cytogénétiques et moléculaires correspondantes.

Medische informatie: AML

Staaltype: beenmerg

Tier 1 (significant klinisch belang):

Mutaties in de genen TET2 en NPM1 zijn recurrent bij acute myeloïde leukemie.

De aanwezigheid van mutaties in het NPM1 gen is één van de meest voorkomende genetische afwijking in AML en relatief specifiek voor AML. De aanwezigheid van een NPM1 mutatie wordt geassocieerd met een GUNSTIGE prognose bij patiënten zonder bijkomend FLT3 ITD mutatie. AML met gemuteerde NPM1 geeft een betere respons op inductietherapie.

Mutaties in TET2 zijn recurrent bij AML. TET2 mutaties bij AML met een normaal karyotype (CN-AML) worden geassocieerd met een ONGUNSTIGE prognose. De gevonden mutatie in het TET2 gen is aanwezig in slechts een laag % van de cellen. De klinische betekenis hiervan is onduidelijk.

Tier 2 (mogelijk klinisch belang):

Mutaties in WT1 zijn recurrent bij acute myeloïde leukemie. De rol (therapeutisch en prognostisch) van WT1 in AML is nog niet helemaal opgehelderd.

(Gu et al Biomarker Research 2018, NCCN guidelines version 3.2019 AML, Papaemmanuil et al NEJM 2016, Rampal et al Haematologica 2016, Döhner et al Blood 2017)

Disclaimer:

Deze test kan geen onderscheid maken tussen een verworven en een germline variant, en kan CHIP (clonal hematopoiesis of indeterminate potential) en pathogene mutaties niet van mekaar onderscheiden.

Er werd een pathogene mutatie in het NPM1 gen, een vermoedelijk pathogene mutatie in het TET2 gen en een vermoedelijk pathogene mutatie in het WT1 gen geïdentificeerd, respectievelijk NPM1 c.860_863dup (p.(Trp288Cysfs*12)), TET2 c. 4879C>T (p.(Gln1627*)) en WT1 c.1104dup (p.(Gly369Argfs*21)). De NPM1 c.860_863dup (p.(Trp288Cysfs*12)) mutatie heeft een significant klinisch belang (Tier I). De TET2 c. 4879C>T (p.(Gln1627*)) en WT1 c.1104dup (p.(Gly369Argfs*21)) mutatie hebben beide een mogelijk klinisch belang (Tier II). Mutaties in NPM1, TET2 en WT1 worden in acute myeloïde leukemie (AML) aangetroffen met een frequentie van respectievelijk 28-35 %, 6-27 % en 6-15 % [1-3]. De aanwezigheid van een NPM1 mutatie definieert een aparte diagnostische entiteit in de WHO-classificatie van AML en is geassocieerd met een betere prognose [1,4]. Mutaties van TET2 zouden mogelijk in AML met een minder goede prognose gepaard gaan [1,2]. Binnen de subgroep van AML met gemuteerd NPM1 zonder FLT3 interne tandem duplicatie is er evidentie dat de overleving minder goed wanneer er een TET2 mutatie aanwezig is [5-7], al wordt deze associatie niet in elke studie vastgesteld [8]. Mutaties van WT1 zouden in AML geassocieerd kunnen zijn met een minder goede prognose [3], al zijn er ook op dit vlak onderzoeksresultaten die deze associatie niet vinden [9].

BESLUIT: Hoewel deze casus tot de WHO-subgroep van AML met gemuteerd NPM1 behoort en deze entiteit in het algemeen geassocieerd is met een gunstige prognose, zouden de aanwezigheid van een vermoedelijk pathogene TET2 mutatie en een vermoedelijk pathogene WT1 mutatie erop kunnen wijzen dat deze patiënt een minder goede prognose heeft.

[REMARK: There is an error in the nomenclature of the variant in the WT1 gene proposed by Sciensano. The so-called variant "NM_024426.5: c.1104dup (p.(Arg369Alafs*16))" does not exist: the transcript version NM_024426.5 has been mixed up with the amino acid numbering system of the predicted protein from transcript NM_024426.4. Depending on the sequencing results, the variant under consideration could be either NM_024426.5: c.1104dup (p.(Gly369Argfs*21)) or NM_024426.4: c.1104dup (p.(Arg369Alafs*16)) – but not the non-existing variant "NM_024426.5: c.1104dup (p.(Arg369Alafs*16))". We have chosen to construct a report using the variant

NM_024426.5: c.1104dup (p.(Gly369Argfs*21)), but a diagnostic work-up using the variant NM_024426.4: c.1104dup (p.(Arg369Alafs*16)) would lead to exactly the same conclusions (probably pathogenic variant; biological classification to be included in the report; potential clinical significance; clinical classification to be included in the report). We strongly recommend to use the Locus Reference Genomic (LRG) nomenclature for designating variants in a clinical diagnostic context, as the LRG system prevents this type of errors from occurring by providing a stable, version-independent language for annotating variants and has been specifically designed for the reporting of diagnostically relevant variants (see PMID 24285302.)

Referenties:

1. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) clinical practice guidelines in oncology: acute myeloid leukemia, version 2.2019.
2. PMID 31023266.
3. PMID 27252512.
4. Swerdlow SH et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues (revised 4th edition). IARC: Lyon 2017.
5. PMID 21343549.
6. PMID 22116554.
7. PMID 24859829.
8. PMID 24487413.
9. PMID 19221039.

FIN

© Sciensano, Bruxelles 2019.

Ce rapport ne peut pas être reproduit, publié ou distribué sans l'accord de Sciensano. Les résultats individuels des laboratoires sont confidentiels. Ils ne sont transmis par Sciensano ni à des tiers, ni aux membres de la Commission, des comités d'experts ou du groupe de travail EEQ.