

# **Richtlijnen voor de diagnostiek en behandeling van AML**

Opgesteld namens de Leukemie Werkgroep HOVON

G.J. Ossenkoppele, E. Vellenga, G. Huls, B.J. Biemond, S.K. Klein, J.J. Cornelissen, M. Jongen-Lavrencic, J. Kuball, H.C. Schouten, A.A. van de Loosdrecht, B. Lowenberg

## **Diagnostiek**

De WHO classificatie 2008 is gebaseerd op morfologie, immunofenotypering, cytogenetica en moleculaire biologische afwijkingen (table 1).

Om tot een juiste classificatie en risicostratificatie te komen ten einde een optimaal behandelplan vast te stellen dient de volgende work up gevolgd te worden

## **Work up van de patiënt met AML**

### **Medische historie en lichamelijk onderzoek**

Voor de evaluatie van patiënten met een AML is het nodig de complete medische voorgeschiedenis vast te leggen, inclusief medicatie gebruik, expositie aan toxische stoffen en familie anamnese.

Bij het lichamelijk onderzoek dient aandacht te worden besteed aan lymfekliervergroting, lever- en miltvergroting, testes, gingiva hypertrofie, gebitstatus, KNO gebied, huidafwijkingen, slijmvliesafwijkingen en periaanaal gebied, met name om hemorragische diathese en mogelijke infecties vast te leggen.

Neurologisch onderzoek en fundusonderzoek zijn op indicatie uit te voeren. Men dient met name alert te zijn op CNS betrokkenheid, dat op zich zeldzaam is bij AML (2-5%), bij hyperleucocytose, , hoog LDH en monocyttaire leukemie.

### **Laboratoriumonderzoek**

Volledig bloedbeeld inclusief indices en leukocytendifferentiatie, serum kreatinine, leverenzymen, LDH, urinezuur, K, Na, Ca, P, totaal eiwit, albumine, PT, APTT en fibrinogeen

### **Morfologisch onderzoek**

Bloeduitstrijk en een beenmerg aspiraatspreidkleuren volgens May Grünwald Giemsa, met Sudan B black, ongekleurde preparaten indien patiënt in een HOVON studie wordt geïncorporeerd opsturen naar het Hematologie Review Committee (HRC).

Een botbiopt is optioneel maar noodzakelijk bij een dry tap.

De diagnose AML wordt gesteld bij een blasten percentage > 20%. Een uitzondering hierop vormen t(15;17), t(8;21), inv(16) or t(16;16) waarbij ook bij een geringer percentage van blasten de diagnose AML wordt gesteld.

Bij AML met monocyttaire of myelomonocyttaire differentiatie, worden promonocyten naast monoblasten (maar niet de abnormale monocytten) als blasten geteld.

Erythroblasten worden niet als blasten geteld, behalve bij de zeldzame pure erythroïde leukemie. Bij meer dan 50% erythroblasten dient het % myeloblasten te worden gecorrigeerd. Histologisch onderzoek ter bevestiging van extramedullaire verdachte lokalisaties is zeer wenselijk.

### **Immunocytologisch onderzoek**

Bij de immunofenotypering van een AML dient het laboratorium uit te gaan van de door SIHON geadviseerde panels van cellijn definiërende merkers en merkers welke gedetailleerde typering binnen de cellijnen mogelijk maken.

Flow cytometrische (FCM) determinatie van het blasten percentage dient niet gebruikt te worden ter vervanging van het morfologisch bepaalde % blasten.

Immunophenotypering is absoluut noodzakelijk voor de diagnose van AML met minimale differentiatie, acute megakaryoblastaire leukemie en mixed phenotype acute leukemie. Tevens is FCM te gebruiken voor het bepalen van minimale restziekte (MRD).

### **Cytogenetisch onderzoek.**

Cytogenetische analyse is essentieel bij de classificatie van AML en heeft grote prognostische waarde. Dit dient dan ook in beginsel bij elke patiënt te gebeuren.

Cytogenetische afwijkingen worden bij 50-60% van de AML patiënten gevonden. Er zijn inmiddels 7 gebalanceerde translocaties en inversies opgenomen in de categorie "AML met terugkerende genetische afwijkingen" (tabel 1). Ook worden in de WHO-classificatie 2008 verschillende chromosomale afwijkingen onderscheiden, die bij aanwezigheid AML classificeren in de categorie "AML met MDS gerelateerde afwijkingen" (tabel 2).

### **Moleculair-biologisch onderzoek**

Naast het cytogenetisch onderzoek zijn moleculaire aberraties als mutaties in CEBPA, NPM1, p53, ASXL1, RUNX1 en Flt3-ITD en overexpressie van EVI-1 van groot prognostisch belang. Het aantal prognostisch belangrijke afwijkingen neemt nog steeds toe. Deze bepalingen dienen uitgevoerd te worden in laboratoria, die "up-to-date" diagnostiek kunnen bedrijven en actief participeren in kwaliteitscontrole (MODHEM). Alleen AML met mutaties in NPM1 of CEBPA zijn momenteel geïncorporeerd in de WHO classificatie als "provisional entities". Alhoewel uitgebreid testen van de vele moleculaire aberraties nog niet nodig is in de huidige WHO 2008 classificatie, wordt bepaling van een toenemend aantal afwijkingen toch noodzakelijk geacht, zeker in het licht van het prognostisch belang van deze afwijkingen. De nieuwe versie van de WHO classificatie die in 2014 wordt verwacht, zal op dit gebied diverse aanpassingen bevatten. De risico classificatie van HOVON (zie tabel 6) heeft al een aantal van deze markers geïncorporeerd, die in HOVON studies leidend zijn behandelingskeuze.. Ook kunnen moleculaire aberraties voor MRD bepaling gebruikt worden (vooral nog vooral NPM1).

### **MRD (minimal residual disease)**

Minimale residuale ziekte kan op een aantal manieren bepaald worden en heeft belangrijke prognostische betekenis.

Binnen HOVON zijn MRD data verkregen via immunofenotypering gevalideerd en worden nu gebruikt voor een risico indeling.

De waarde van moleculair bepaalde MRD (NPM1) wordt thans binnen de HOVON studies onderzocht. Gezien de overtuigende gegevens uit internationale studies zullen uitkomsten van MRD-bepalingen in HOVON studies in de risico classificatie geïmplementeerd worden.

### **Overig aanvullend onderzoek**

- HLA typering voor patiënten, die in aanmerking komen voor een allogene stamcel transplantatie
- X-thorax
- ECG
- Lumbaal punctie op indicatie
- Ejectie fractie en longfunctie op indicatie

### **Prognostische factoren**

#### *Patiënt gerelateerd*

Oplopende leeftijd is een ongunstige prognostische factor voor wat betreft de uitkomst van behandeling. Zelfs na inachtneming van risicofactoren zoals cytogenetica, moleculaire markers, type AML (b.v. secundaire of therapie gerelateerde) en performance status hebben oudere patiënten een slechtere prognose dan jongere patiënten.

Desalniettemin mag kalenderleeftijd op zich zelf geen reden zijn, patiënten adequate diagnostiek en therapie te onthouden.

Beoordeling van co-morbiditeit door middel van bv de HCT-CI kan leiden tot een betere inschatting of patiënten fit genoeg zijn voor intensieve therapie. In een MRC studie werd een vroege mortaliteit (eerste 28 dagen) van 29% gezien bij patiënten met een HCR-CI van  $\geq 3$  (ter vergelijking: HCT-CI = 0: 3% vroege mortaliteit; HCT-CI= 1 of 2: 11% vroege mortaliteit).

#### *Ziekte gerelateerd*

Cytogenetische afwijkingen (in ca 55% van de AML aanwezig) en moleculaire aberraties zijn, naast hyperleucocytose, de belangrijkste ziekte gerelateerde prognostische factoren bij diagnose. Het spectrum varieert van een gunstig profiel zoals bv de core binding factor leukemieën (inv 16 en t(8;21)) met een 5-jaars overleving van ca 60% tot het monosomale karyotype met een uitermate ongunstige prognose (5-jaarsoverleving minder dan 10%). Daarnaast markeren CEBPA bi-allelische mutaties en de genotypische combinatie NPM1+/FLT3-ITD-neg een verhoudingsgewijs gunstige prognose. Patiënten met hoge EVI-1 gen expressie of mutaties in de genen ASXL1, RUNX1, p53, en hoge “allelic burden” FLT3-ITD’s (i.e. bi-allelische FLT3-ITD of verlies van wt FLT3) hebben daarentegen relatief verminderde overlevingskans na behandeling (minder dan 25%).

Belangrijke prognostische factoren toe te passen tijdens het beloop van de behandeling zijn het cytomorfologisch (en eventueel cytogenetisch) in complete remissie geraken na de eerste kuur en MRD status. Recentelijk is door HOVON/SAKK aangetoond dat flowcytometrisch bepaalde MRD een belangrijke voorspellende waarde heeft ten aanzien van recidief en overleving.

#### **Response criteria**

Zie tabel 5.

#### **Therapie**

De belangrijkste aanbeveling voor de behandeling van patiënten met AML is dat zij in principe in studie verband behandeld dienen te worden. Binnen HOVON is per definitie altijd een studie voor de jongere en de oudere patiënt met AML open. Gewerkt wordt aan een studie voor de patiënt, die niet fit genoeg is voor intensieve chemotherapie.

Hieronder zijn overwegingen samengevat, die geleid hebben tot het behandel-flow-diagram (Figuur 1)

#### **Supportive care**

Volgens de lokale richtlijnen. Er wordt door de werkgroep supportieve care aan een richtlijn intensieve zorg voor de hematologische patiënt gewerkt. Belangrijkste complicaties van AML behandeling met intensieve chemotherapie zijn: tumor lysis syndroom, koorts en neutropene enterocolitis (typhlitis).

Voor patiënten met hyperleucocytose bestaat geen standaard advies. Hyperleucocytose kan gepaard gaan met symptomatische leucostase (visus stoornissen, dyspneu, hoofdpijn) In principe kan binnen de context van HOVON studies direct worden gestart met intensieve chemotherapie. Vergelijkende onderzoeken van deze benadering versus starten met leukafereze of voorbehandeling met Hydrea om het leukocyten aantal naar beneden te brengen voor start van intensieve chemotherapie zijn niet voorhanden. Voor craniale radiatie, ter preventie van leucostase in het cerebrum, is ook geen bewijs. Wel dient men heel voorzichtig te zijn met het geven van transfusies aan patiënten met hyperleucocytose.

## **In studieverband**

### **Patiënten 18-65 jaar**

#### **Remissie inductie**

In de H132 wordt de additie van lenalidomide aan een standaard regime onderzocht. Tevens wordt onderzocht of lenalidomide in de maintenance fase een verbetering van overleving geeft.

De standaard behandeling bestaat uit een drie daagse toediening van een anthracycline (, idarubicine 12mg/m<sup>2</sup>) gecombineerd met cytosine-arabinoside (ARA-C) 200mg/m<sup>2</sup> continu i.v. gedurende 7 dagen. Complete remissie wordt in 70-80% bereikt met dit regime.

Daunorubicine in equivalente doseringen gegeven als de andere anthracyclines is even effectief. Hogere doseringen ARA-C (HiDAC) in de eerste inductiekuren of de toevoeging van andere middelen aan het 3+7 regime zoals etoposide, fludarabine, topotecan, MDR modulatoren hebben evenmin een verbetering van de uitkomst van behandeling gegeven. Bij HiDAC dient men alert te zijn op cerebellaire toxiciteit.

Recentelijk is een studie gepubliceerd waarbij de additie van cladribine aan een standaard behandelregime een hogere complete remissie percentage en een verbeterde overleving liet zien maar deze studie wacht nog op bevestiging. Ook zijn er inmiddels een drietal studies gepubliceerd waarbij Gemtuzumab-Ozogamicin (Mylotarg®), een anti-CD33 monoclonaal een overlevingsvoordeel bij bepaalde gunstiger prognostische subgroepen geeft. Helaas is Mylotarg® in Europa niet geregistreerd en is onduidelijk of het nog weer in productie wordt genomen.

De tweede inductie kuur bestaat uit de combinatie Daunorubicine (60mg/m<sup>2</sup> dag 1,3,5) en intermediaire dosis ARA-C (1000 mg/m<sup>2</sup> in 3 uur iv twee x daags /dag 1-6). Deze kuur start na herstel van de eerste kuur of eerder indien blijkt dat het BM aspiraatsel op dag 17-21 nog teveel blasten bevat.

#### **Postremissie naar risicoclassificatie**

Patiënten met een AML met een *goed risicoprofiel* worden over het algemeen niet beschouwd als kandidaten voor allogene stamceltransplantatie. In veel landen worden deze patiënten met postremissie HiDAC chemotherapie geconsolideerd. Binnen HOVON was het gebruikelijk deze patiënten te consolideren middels Mitoxantrone/Etoposide. Recentelijk heeft HOVON aangetoond dat autologe perifere stamceltransplantatie (SCT) in vergelijking met chemotherapie een 10% ziektevrij overlevingsvoordeel geeft, bij patiënten die een gunstig prognostisch profiel hebben inclusief patiënten met CEBPA dubbel mutatie. Deze resultaten zijn beter dan die behaald worden met aanvullende consolidatiechemotherapie. In deze situatie worden de autologe stamcellen verzameld na de 2<sup>de</sup> inductie chemotherapiekuur. In de actuele jongeren studie (H132) zullen deze patiënten dan ook geconsolideerd worden met een autologe SCT, mits voldoende stamcellen kunnen worden verzameld. In het algemeen wordt een allogene SCT bij dit risico profiel het best worden gereserveerd voor een eventueel recidief en hoeft dus niet in eerste complete remissie te worden ingezet voor deze patiënten categorie.

Bij patiënten met een *intermediair en slecht risico profiel* geeft allogene SCT een lagere recidiefkans. Voor individuele afweging moet het risicoprofiel van de AML van relapse afgezet worden tegen de kans op mortaliteit geassocieerd met een allogene SCT. Om die reden is bij de intermediaire risico groep een allogene SCT een aantrekkelijke optie met name als het een HLA-identieke 'sibling' donor is of een HLA-passende onverwante donor. In de lopende H132 studie worden patiënten met intermediair risico die na 2 kuren MRD negatief zijn geconsolideerd met een autologe SCT; patiënten die MRD positief zijn worden geconsolideerd met een allogene SCT. Bij de zogenaamde 'poor risk' en 'very poor risk' AML patiënten komt een allogene SCT ook in aanmerking met gebruik van andere donoren en andere stamcelbronnen (zoals bijv navelstrengbloed).

Zeker bij de ‘poor risk’ en ‘very poor risk’ AML zijn de resultaten ook van de klassieke allogene SCT niettemin zeer onbevredigend zodat gezocht moet worden naar verdere verbeteringen en nieuwe strategieën. Voor deze patiënten wordt een studie verricht waarbij zo snel mogelijk na het bereiken van remissie wordt getransplanteerd en door middel van post remissie epigenetische modulatie de relapse kans verkleind (H116). Bij patiënten boven de 40 jaar gaat de voorkeur sterk uit naar een transplantatieschema gebaseerd op zgn ‘reduced intensity’ conditionering. Globaal gesproken verschillen de uiteindelijke uitkomsten niet van de resultaten van een myeloablatief schema zoals uit een recente nog niet gepubliceerde analyse van de HOVON blijkt.

Als een autologe of allogene SCT om medische redenen niet wenselijk of om praktische redenen mogelijk is, vormt de optie van chemotherapie-consolidatie in eerste complete remissie een alternatief. In HOVON verband bestaat deze kuur uit Mitoxantrone en Etoposide. Er is geen plaats voor onderhoudstherapie. Maintenance studies bieden over het algemeen geen overlevingsvoordeel.

### **Patiënten ouder dan 65 jaar**

De resultaten op oudere leeftijd met intensieve chemotherapie zijn nog steeds erg matig met een overlevingskans die in veel studies tussen 15-20% ligt. Toch is in studies aangetoond dat intensieve therapie voor de oudere patiënt een verbetering van de kwaliteit van leven en van de overlevingsduur oplevert in vergelijking met louter ondersteunende maatregelen (supportive care). Leeftijd als zodanig is geen reden om patiënten van oudere leeftijd adequate diagnostiek en intensieve therapie te onthouden. De standaard therapie is het 3+7 regime (daunorubicine 45-90 mg/m<sup>2</sup>) waarbij aangetekend moet worden dat HOVON recentelijk heeft aangetoond dat een hogere dosering daunorubicine van 90 mg/m<sup>2</sup> bij AML in de leeftijd tussen 60-65 jaar tot een overlevingsvoordeel van 9% leidt. In de HOVON 103 studie wordt in Fase II setting onderzocht of toevoeging van nieuwe middelen aan het standaard “3+7” schema een verbetering van de behandelresultaten oplevert. Onderhoudstherapie biedt geen overlevingsvoordeel. De waarde van epigenetische therapie in de onderhoudsfase wordt onderzocht in een gerandomiseerd onderzoek(H97). Ook is er mogelijk plaats voor een reduced intensity allogene stamcel transplantatie zoals in een aantal niet gerandomiseerde studies is vastgesteld. De waarde van allogene transplanteren wordt momenteel in een internationaal samenwerkings verband prospectief in een gerandomiseerde studie onderzocht(H93). Wel dient worden opgemerkt dat het aantal patiënten boven de 65 jaar daadwerkelijk aan transplanteren toekomt uitermate gering is zoals uit een aantal internationale studies blijkt.

### **Buiten studie verband**

Als patient niet geïncludeerd kan worden in een studie dan is de standaardbehandeling de controle arm van de desbetreffende HOVON studie

### **Patiënten niet geschikt (‘unfit’) voor intensieve therapie**

De definitie voor een ontoereikende lichamelijke conditie (‘unfit’) voor intensieve therapie patiënt is niet overtuigend gevalideerd en gestandaardiseerd en is dus niet eenduidig te geven. Uit de Swedish Population Based Registry blijkt in ieder geval dat tot op hoge leeftijd nog succesvol intensieve chemotherapie kan worden toegediend. Leeftijd als zodanig is een onvoldoende criterium om patiënten intensieve therapie te onthouden. Desalniettemin zijn er patiënten die vanwege hun gezondheidstoestand niet kwalificeren voor intensieve therapie. Ook voor deze patiënten lijkt behandeling (bv lage dosis ARA-C of hypomethylerende behandeling (azacitidine of decitabine) gunstig voor overleving en kwaliteit van leven dan alleen ondersteunende behandeling middels transfusies en antibiotica.

Het regime van lage dosis ARA-C (20mg BID/10 dagen) wordt vaak als standaard behandeling voor deze patiënten groep beschouwd. In een gerandomiseerde MRC trial (lage dosis ARA-C vs best supportive care) werd een complete remissie percentage van 17% bereikt met een beperkt overlevingsvoordeel voor de gunstige en intermediaire risico groep. Voor patiënten met AML en een laag blasten percentage (20-30%) is azacytidine (75mg/m<sup>2</sup> 1dd sc/7dg/28dg) in een post-hoc analyse superieur vergeleken met een controle groep die het lage dosis schema ARA-C, dan wel zogenaamd best supportive care of het 3+7 regime kreeg. Azacytidine is geregistreerd voor de behandeling van AML met een blasten % tussen 20-30. Preliminair data tonen bij AML met een hoger blasten % dat azacytidine effectieve therapie lijkt te zijn bij niet proliferatieve AML (WBC < 15).

In een recente studie bij oudere patiënten met de novo AML verbeterde Decitabine (20mg/m<sup>2</sup> i.v./5dg/28dg) de overleving in vergelijking tot standaard therapie, met name low dose Ara-C (maar gegeven 1 dd 20 mg voor 10 dagen). Decitabine is op basis van deze studie geregistreerd voor de behandeling van AML bij patiënten die niet fit zijn voor intensieve chemotherapie. Recente fase II studies met een 10 daags decitabine schema tonen opvallend goede resultaten (i.e. een CR % van ongeveer 45% bij de novo oudere niet fitte AML patiënten; een percentage vergelijkbaar met intensieve chemotherapie). Het 10 daags schema is niet een geregistreerde indicatie voor decitabine; maar wordt momenteel wel in studieverband onderzocht (in vergelijking met het 5 daags schema en in vergelijking met intensieve chemotherapie).

De mogelijkheden voor deze patiënten groep zijn dus :

1. Studie met experimenteel middel
2. Decitabine 20mg/m<sup>2</sup> i.v./5dg/28dg
3. Azacytidine SC 75mg/m<sup>2</sup> 1dd sc/7dg/28dg bij blasten% 20-30%
4. Lage dosis ARA-C 20mg/m<sup>2</sup> 2dd sc/10 dg/28dg
5. Supportive Care(+ Hydroxyurea, 6-thioguanine of 6-mercaptopurine)

Waarbij de keus op zeer individuele gronden gemaakt dient te worden.

### **Recidief**

Voor recidief AML is er geen standaard chemotherapeutisch regime. Het internationaal meest gebruikte schema is FLAG-Ida. In Nederland zijn verschillende recidief schema's in gebruik meestal gebaseerd op hoge dosis ARA-C waarbij er geen aangetoonde voorkeur voor het ene of andere schema is. Indien in de eerstelijns behandeling geen alloSCT is gegeven wordt naar een alloSCT in CR toegewerkt. Indien het een recidief betreft na een alloSCT kan een tweede alloSCT of DLI overwogen worden waarbij veel factoren een rol spelen (tijd tussen recidief en eerste behandeling, WHO, aanwezigheid van actieve GvHD etc). In een aantal academische centra zijn meestal industrie-geïnitieerde studies met nieuwe geneesmiddelen open voor de behandeling van een recidief. Op deze manier kan men eventueel beschikken over meer de nieuwste targeted medicatie gericht op specifieke subgroepen (bv FLT3-ITD, MLL etc.).

**Tabel 1.**

**Acute myeloid leukemie en gerelateerde precursor neoplasmata, en acute leukemieën van ambiguous lineage (WHO 2008)**

**Categorieën**

***Acute myeloid leukemia with recurrent genetic abnormalities***

AML with t(8;21)(q22;q22); RUNX1-RUNX1T1

AML with inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); CBFβ-MYH11

APL with t(15;17)(q22;q12); PML-RARA\*

AML with t(9;11)(p22;q23); MLLT3-MLL†

AML with t(6;9)(p23;q34); DEK-NUP214

AML with inv(3)(q21q26.2) or t(3;3)(q21;q26.2); RPN1-EVI1

AML (megakaryoblastic) with t(1;22)(p13;q13); RBM15-MKL1

Provisional entity: AML with mutated NPM1

Provisional entity: AML with mutated CEBPA

***Acute myeloid leukemia with myelodysplasia-related changes‡***

***Therapy-related myeloid neoplasms§***

***Acute myeloid leukemia, not otherwise specified (NOS)***

Acute myeloid leukemia with minimal differentiation

Acute myeloid leukemia without maturation

Acute myeloid leukemia with maturation

Acute myelomonocytic leukemia

Acute monoblastic/monocytic leukemia

Acute erythroid leukemia

Pure erythroid leukemia

Erythroleukemia, erythroid/myeloid

Acute megakaryoblastic leukemia

Acute basophilic leukemia

Acute panmyelosis with myelofibrosis (syn.: acute myelofibrosis; acute myelosclerosis)

***Myeloid sarcoma (syn.: extramedullary myeloid tumor; granulocytic sarcoma; chloroma)***

***Myeloid proliferations related to Down syndrome***

Transient abnormal myelopoiesis (syn.: transient myeloproliferative disorder)

Myeloid leukemia associated with Down syndrome

***Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm***

***Acute leukemias of ambiguous lineage***

Acute undifferentiated leukemia

Mixed phenotype acute leukemia with t(9;22)(q34;q11.2); BCR-ABL1

Mixed phenotype acute leukemia with t(v;11q23); MLL rearranged

Mixed phenotype acute leukemia, B/myeloid, NOS

Mixed phenotype acute leukemia, T/myeloid, NOS

Provisional entity: Natural killer (NK)-cell lymphoblastic leukemia/lymphoma

**Tabel 2.**

**Cytogenetische afwijkingen op grond waarvan een acute myeloïde leukemie (AML) in de categorie van AML met myelodysplasie-gerelateerde veranderingen wordt geplaatst.**

**Numerieke afwijkingen**

-7 / del(7q)

-5 / del(5q)

inv(17q) / t(17p)

-13 / del(13q)

del(11q)

del(12p) / t(12p)

del(9q)

idic(X)(q13)

complex karyotype

**Gebalanceerde afwijkingen**

t(11;16)

t(3;21)

t(1;3)

t(2;11)

t(5;12)

t(5;7)

t(5;17)

t(5;10)

t(3;5)



**Tabel 3. Acute myeloïde leukemie (AML) niet nader te classificeren (“not otherwise specified”: NOS) met de belangrijkste kenmerken van de verschillende subgroepen**

WHO2008	FAB	Kenmerken
AML met minimale differentiatie	M0	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ MPO/SBB &lt;3% positief • immuunfenotype: positief voor ≥1 myeloïde merkers (CD13, CD33, CD117, MPO) en negatief voor B- (CD22, CD79a) of T- (CD3) kenmerken</li> </ul>
AML zonder uitrijping	M1	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ in het beenmerg is &gt;90% van de myeloïde cellen blastair</li> </ul>
AML met uitrijping	M2	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ in het beenmerg is &gt;10% myeloïde uitrijping (pro- myelo-cyt tot granulocyt), maar &lt;20% monocytair • dysplasie in de myeloïde reeks kan voorkomen</li> </ul>
Acute myelomonocytenleukemie	M4	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ in het beenmerg komen &gt;20% blasten, &gt;20% myeloïde uitrijping en &gt;20% monocytair uitrijping voor • in het bloed is het aantal monocyten meestal &gt;5 x 10<sup>9</sup>/l</li> </ul>
Acute monoblastenleukemie	M5	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ in het beenmerg behoort 80% of meer tot de monocytair reeks • het onderscheid tussen monoblasten en promonocyten is vaak subjectief, waardoor het niet goed te begrijpen is waarom de WHO onderscheid maakt tussen acute mono-blastenleukemie (&gt;80% monoblasten) en acute promonocytenleukemie (&gt;20% promonocyten)</li> </ul>
Acute erytroïde leukemie	M6	<ul style="list-style-type: none"> <li>➢ erytroïde leukemie (erytroïde/myeloïde): &gt;50% van de beenmergcellen behoort tot de erytroïde reeks, berekend over alle kernhoudende cellen, en &gt;20% is myeloïde blast, berekend over de niet-erytroïde populaties</li> <li>➢ pure erytroïde leukemie: &gt;80% van de beenmergcellen behoort tot de rode reeks, vaak in min of meer hetzelfde rijpingsstadium</li> </ul>
Acute megakaryocytaire leukemie	M7	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ &gt;50% van de blasten zijn van de megakaryocytaire reeks (CD41+, CD61+).</li> <li>▪ de blasten zijn MPO neg</li> <li>▪ vaak is er beenmergfibrose en een dry tap</li> </ul>
Acute basofiele leukemie	-	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ gekenmerkt door blasten waarin een wisselend aantal basofiele korrels aanwezig zijn</li> <li>▪ differentiaal diagnose: chronische myeloïde leukemie blastencrise</li> </ul>
Acute panmyelose met myelofibrose	-	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ een, vanwege de fibrose, vooral histologische diagnose</li> <li>▪ in het bloed pancytopenie, geen traandruppelcellen</li> </ul>

**Tabel 4. WHO 2008: eisen voor de classificatie van 'mixed phenotype acute leukemia'.**

<b>Lymfatische B-celijn<sup>1</sup></b>	<b>Lymfatische T-celijn<sup>1</sup></b>	<b>Myeloïde celijn<sup>1</sup></b>
sterke expressie <sup>2</sup> van CD19 met sterke expressie <sup>2</sup> van: cytoplasmatisch CD22, CD10 óf cytoplasmatisch CD79a	sterke expressie <sup>2</sup> van CD3 (cytoplasmatisch of membraanexpressie)	expressie van (cytoplasmatisch) MPO óf
zwakke expressie <sup>3</sup> van CD19 met sterke expressie <sup>2</sup> van ten minste 2 van de volgende merkers: cytoplasmatisch CD22, CD10 óf cytoplasmatisch CD79a		aanwezigheid van monocyttaire differentiatie gedefinieerd als expressie van ten minste 2 monocyttaire merkers: CD11c, CD14, CD64, lysozym, niet-specifieke esterase

<sup>1</sup>Een 'mixed phenotype acute leukemia' wordt gedefinieerd indien er aan de eisen voor meer dan 2 lijnen wordt voldaan.

<sup>2</sup>Sterke expressie wordt gedefinieerd als de expressie van de merker gelijk is aan of hoger dan respectievelijk de normale T- of B-cellen van de patiënt.

<sup>3</sup>Zwakke expressie wordt gedefinieerd als de expressie van de merker lager is dan de normale B-cellen van de patiënt

## Tabel 5. Response criteria for AML

### HOVON-AML Response criteria (Modified from the International Working Group Criteria)

#### 1. Disease status and response criteria

Note that the kind of cells considered equivalent to blasts and included in the calculation of last percentages depends on the WHO classification of diagnosis.

##### 1.1. Morphologic leukemia-free state ('marrow remission'):

Bone marrow with spicules and a count of at least 200 nucleated cells, <5% blasts, and no Auer rods. Also no extramedullary disease.

In case of biopsy, when spicules are absent in the aspirate, no clusters of blasts should be present.

##### 1.1. a Complete hematological remission (CR):

Morphological leukemia-free state **and** ANC  $\geq 1.0 \times 10^9/L$ , platelet count  $\geq 100 \times 10^9/L$  (i.e. 72h after last transfusion)

(The presence of blasts in the peripheral blood does not argue against and is compatible with a complete remission).

##### 1.1. b Morphological complete remission with incomplete blood count recovery (CRi)

**CRi** implies the presence of a morphological leukemia-free state **but** incomplete recovery of the ANC  $< 1.0 \times 10^9/L$  and/or platelet count  $< 100 \times 10^9/L$  (i.e. 72 h after last transfusion)

##### 1.1. c Cytogenetic remission

This criterion will be assessed only in case of pre-existent cytogenetic abnormalities (at diagnosis): disappearance of all cytogenetic abnormalities in a marrow karyotypic analysis of at least 16 metaphases

##### 1.2. Partial remission (PR)

ANC  $\geq 1.0 \times 10^9/L$  and/or, platelet count  $\geq 100 \times 10^9/L$  (i.e. 72 h after last transfusion). Blasts in the bone marrow should decrease 50% **and** reach a value between 5 and 25%. If blasts  $\leq 5\%$  but Auer Rods are present this should be considered PR

#### 2. Treatment failure

Subjects who do not enter CR (phase III) or PR (phase I-II) following induction will be classified according to the type of failure (document on CRF) as described below:

##### 2.1. Resistant disease

Subject has persistent leukemia in the blood or bone marrow and/or persistent extramedullary disease. Persistent disease can only be assessed in patients surviving  $\geq 7$  days after completion of the final dose of cycle I

## **2.2. Aplastic death**

Death with cytopenia and marrow aplasia in patients with no evidence of active leukemia surviving  $\geq 7$  days after completion of the final dose of cycle I.

## **2.3. Indeterminate cause:**

- patient dies  $<7$  days after the last day of induction chemotherapy
- patient dies  $\geq 7$  days after the last day of induction chemotherapy. No signs of leukemia in the most recent blood smear. No bone marrow evaluation available
- patient dies without completion of the first course of therapy

## **3. Relapse Criteria**

Relapse after complete remission is defined as:

- recurrence of blasts in the marrow of  $\geq 5\%$  (excluding increased blasts in the context of regenerating marrow)
- recurrence of leukemic blasts in the peripheral blood
- recurrence of leukemia at an extramedullary site
- recurrence of pre-treatment characteristic signs of morphological dysplasia
- recurrence of Auer rods

### **Note:**

After recent treatment and no circulating blasts: if the bone marrow contains 5-15% blasts bone marrows should be repeated after an interval of at least one week to exclude the possibility of an increase of blasts due to early myeloid regeneration. The repeat evaluation should provide information to distinguish persistent leukemia or relapse versus myeloid regeneration. This applies to situations after cycle I or cycle II when a complete remission has not previously been established and has to be determined for the first time.

**Tabel 6. Risk Group Classification Based upon Combined Baseline determinants, time to CR (early/late) and MRD evaluation after cycle II**

<b>Risk Group</b>	<b>Criteria at diagnosis</b>	<b>Plus criteria after cycle II based on MRD</b>
Good (autoHSCT consolidation*)	t(8;21) or <i>AML1-ETO</i> , WBC≤20 inv16/t(16;16) or <i>CBFB-MYH11</i> MK-, CEBPA-biallelic mutant+ MK-, FLT3ITD-/NMP1+,	irrespective of MRD- or MRD+ irrespective of MRD- or MRD+ irrespective of MRD- or MRD+ irrespective of MRD- or MRD+
Intermediate (autoHSCT* & **)	CN -X -Y, WBC≤100, CRe t(8;21) or <i>AML1-ETO</i> , WBC>20, mutant KIT	<i>Intermediate risk features at baseline (see category in left section) and also MRD-:</i> also MRD- also MRD- (if no MRD information available, see legend below)
Poor (alloHSCT***)	CN -X -Y, WBC≤100, CRe t(8;21) or <i>AML1-ETO</i> , WBC>20  CN -X -Y, WBC≤100, not CRe  CN -X -Y, WBC>100, CA, but non-CBF, MK-, no abn3q26, EVI1-neg bi-allelic FLT3-ITD with FLT3-ITD/FLT3wt ratio of >0.6	<i>Intermediate risk features as above but MRD pos:</i> but MRD+ but MRD+  irrespective of MRD- or MRD+  also MRD- also MRD-
Very Poor (alloHSCT***)	CN -X -Y, WBC>100 CA, but non CBF, MK-, no abn3q26, EVI1-neg  MK+ abn3q26 Non CBF, EVI1+ Non CBF, mutant p53, mutant RUNX1, mutant ASXL1	<i>Poor risk features as above but MRD pos:</i> but MRD+ but MRD+  <i>Very poor risk features at diagnosis, irrespective of MRD- or MRD+:</i> MRD-/MRD+ MRD-/MRD+ MRD-/MRD+ MRD-/MRD+ MRD-/MRD+

MRD + = MRD positive after cycle II either by flow cytometry or molecular(NPM1)

CBF, core binding factor; MK, monosomal karyotype

CR<sub>e</sub> – early CR (ie CR after cycle I)

High EVI1 expression is defined as EVI1 expression above 0.1x EVI1 expression in the cell line SKOV3 (reference gene normalized (Groschel et al., JCO 2010, 12 (28) p. 2101-07))

MRD is considered positive whenever residual disease is demonstrated by any assay, whether it is by flow cytometry or molecular analysis (ie NPM1 mutant)

**\* Patients met goed risico AML en Intermediair risico AML (gebaseerd op MRD negativiteit) krijgen post-remission behandeling met autoHSCT**

**\*\* Patients with Intermediate Risk disease bij wie geen MRD data zijn verkregen of bekend zijn wordt een HLA identieke alloHSCT of fenotypische 10/10 HLA-matched unrelated donor alloHSCT aanbevolen.**

**\*\*\* Slecht en erg slecht risico komen in aanmerking voor een experimenteel alloSCT protocol(H116)**

For further explanation please see below.

- If cytogenetics unknown, consider as CN
- MK refers to AML with two or more autosomal monosomies or a single autosomal monosomy in the presence of one or more structural cytogenetic abnormalities
- CBF refers to the core-binding factor leukemia's which include AML's with cytogenetic abnormality t(8;21)(q22;q22) or the *AML1-ETO* fusion gene and the cytogenetic abnormalities inv(16)(p13q22) or t(16;16)(p13;q22) or the related fusion gene *CBFB-MYH11*.
- CR<sub>e</sub>: attainment of early CR, ie after cycle I
- EVI1+ refers to high EVI1 mRNA expression
- FLT3-ITD-/NMP1+: Fms-like tyrosine kinase receptor internal tandem duplications (FLT3-ITD) and nucleophosmin-1 (NPM1) mutations often go together as dual genetic anomalies in the same AML. AMLs being FLT3-ITD mutant negative (FLT3ITD-)but NPM1-mutant positive (NPM1+) are considered good risk (GR).