



Neue WHO-Klassifikation

5th Edition

Maligne Lymphome und lymphatische Leukämien

Markus Tiemann

Darlegung potentieller Interessenkonflikte

Honorar für Vortrags- und / oder Beratertätigkeit

BMS
EUSA Pharma
Novartis
Roche
Takeda

Kein Aktienbesitz
Keine Forschungsförderung

Ewige Wahrheiten...

1. Eines Tages wirst Du sterben
2. Die nächste Steuererhöhung kommt bestimmt ☹️
(meistens nach der Wahl)
3. Die nächste Lymphomklassifikation kommt bestimmt
(...und zwar dann, wenn Du die letzte gerade verstanden hast 😊)

Noch mehr ewige Wahrheiten (seit mindestens 35 Jahren)

Klassifikationen bestehen aus:

1. Kategorien umbenennen
2. Entitäten umtopfen
3. Neue Entitäten einführen, die zufällig in eigenen Publikationen auftauchen
4. Integration von neuen Erkenntnissen mit Hilfe neuer Techniken
5. Erbittertem Streit zahlreicher Experten (meist wegen Kleinigkeiten)
6. Hornberger Schiessen oder Pyrrhus-Siegen wegen Punkt 5.
7. Meist kommt es zum Schisma zweier größerer Expertengruppen

Vorteile der WHO Klassifikationen 5. Auflage:

Weltweit einheitliche Nomenklatur

Studienergebnisse können besser verglichen werden, insbesondere wegen Einschlusskriterien

Seltene Entitäten werden inkludiert (z.B. Rosai Dorfman)

Zum ersten Mal werden klinische Syndrome eingeschlossen (POEMS, TEMPI, AESOP)

Neue molekulargenetische Erkenntnisse können dynamisch bei der Klassifikation angewendet werden

Mit Molekulargenetik können neue Entitäten definiert werden

Zytogenetik wird häufig durch Molekulargenetik ersetzt bzw. ergänzt

REVIEW ARTICLE OPEN



The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms

Joseph D. Khoury^{1,2,5}, Eric Solary^{3,2,5}, Oussama Abla³, Yasmine Akkari⁴, Rita Alaggio⁵, Jane F. Apperley⁶, Rafael Bejar⁷, Emilio Berti⁸, Lambert Busque⁹, John K. C. Chan¹⁰, Weina Chen¹¹, Xueyan Chen¹², Wee-Joo Chng¹³, John K. Choi¹⁴, Isabel Colmenero¹⁵, Sarah E. Coupland¹⁶, Nicholas C. P. Cross¹⁷, Daphne De Jong¹⁸, M. Tarek Elghetany¹⁹, Emiko Takahashi²⁰, Jean-Francois Emile²¹, Judith Ferry²², Linda Fogelstrand²³, Michaela Fontenay²⁴, Ulrich Germing²⁵, Sumeet Gujral²⁶, Torsten Haferlach²⁷, Claire Harrison²⁸, Jennelle C. Hodge²⁹, Shimin Hu¹, Joop H. Jansen³⁰, Rashmi Kanagal-Shamanna¹, Hagop M. Kantarjian³¹, Christian P. Kratz³², Xiao-Qiu Li³³, Megan S. Lim³⁴, Keith Loeb³⁵, Sanam Loghavi¹, Andrea Marcogliese¹⁹, Soheil Meshinchi³⁶, Phillip Michaels³⁷, Kikkeri N. Naresh³⁸, Yasodha Natkunam³⁸, Reza Nejati³⁹, German Ott⁴⁰, Eric Padron⁴¹, Keyur P. Patel¹, Nikhil Patkar⁴², Jennifer Picarsic⁴³, Uwe Platzbecker⁴⁴, Irene Roberts⁴⁵, Anna Schuh⁴⁶, William Sewell⁴⁷, Reiner Siebert⁴⁸, Prashant Tembhare⁴², Jeffrey Tyner⁴⁹, Srdan Verstovsek³¹, Wei Wang¹, Brent Wood⁵⁰, Wenbin Xiao⁵¹, Cecilia Yeung³⁵ and Andreas Hochhaus^{52,53}

J.D. Khoury et al., *Leukemia*, 2022

REVIEW ARTICLE OPEN



LYMPHOMA

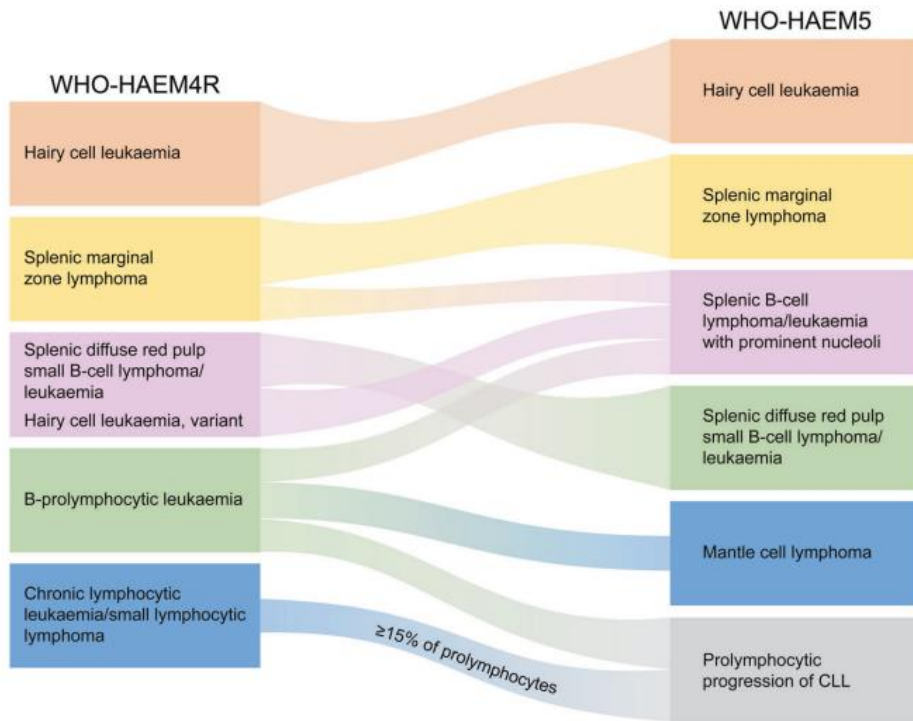
The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms

Rita Alaggio¹, Catalina Amador², Ioannis Anagnostopoulos³, Ayoma D. Attygalle⁴, Iguaracyra Barreto de Oliveira Araujo⁵, Emilio Berti⁶, Govind Bhagat⁷, Anita Maria Borges⁸, Daniel Boyer⁹, Mariarita Calaminici¹⁰, Amy Chadburn¹¹, John K. C. Chan¹², Wah Cheuk¹², Wee-Joo Chng¹³, John K. Choi¹⁴, Shih-Sung Chuang¹⁵, Sarah E. Coupland¹⁶, Magdalena Czader¹⁷, Sandeep S. Dave¹⁸, Daphne de Jong¹⁹, Ming-Qing Du^{20,21}, Kojo S. Elenitoba-Johnson²¹, Judith Ferry^{22,23}, Julia Geyer¹¹, Dita Gratzinger²³, Joan Guitart²⁴, Sumeet Gujral²⁵, Marian Harris²⁶, Christine J. Harrison²⁷, Sylvia Hartmann²⁸, Andreas Hochhaus²⁹, Patty M. Jansen³⁰, Kenosuke Karube³¹, Werner Kempf³², Joseph Khoury³³, Hiroshi Kimura³⁴, Wolfram Klapper³⁵, Alexandra E. Kovach³⁶, Shaji Kumar³⁷, Alexander J. Lazar³⁸, Stefano Lazzi³⁹, Lorenzo Leoncini³⁹, Nelson Leung⁴⁰, Vasiliki Leventaki⁴¹, Xiao-Qiu Li⁴², Megan S. Lim⁴², Wei-Ping Liu⁴³, Abner Louissaint Jr.⁴⁴, Andrea Marcogliese⁴⁴, L. Jeffrey Medeiros⁴⁵, Michael Michal⁴⁵, Roberto N. Miranda⁴⁶, Christina Mitteldorf⁴⁶, Santiago Montes-Moreno⁴⁷, William Morice⁴⁸, Valentina Nardi⁴⁹, Kikkeri N. Naresh⁴⁹, Yasodha Natkunam⁴⁹, Siok-Bian Ng⁵⁰, Ilse Oschlies⁵¹, German Ott^{51,52}, Marie Parrens⁵², Melissa Pulitzer⁵³, S. Vincent Rajkumar⁵⁴, Andrew C. Rawstron⁵⁵, Karen Rech⁵⁶, Andreas Rosenwald³, Jonathan Said⁵⁶, Clémentine Sarkozy⁵⁷, Shahin Sayed⁵⁸, Caner Saygin⁵⁹, Anna Schuh⁶⁰, William Sewell⁶¹, Reiner Siebert^{62,63}, Aliyah R. Sohani⁶², Reuben Tooze⁶³, Alexandra Traverse-Glehen⁶⁴, Francisco Vega³³, Beatrice Vergier⁶⁵, Ashutosh D. Wechalekar⁶⁶, Brent Wood⁶⁰, Luc Xerri⁶⁷ and Wenbin Xiao⁶³

R. Alaggio et al., *Leukemia*, 2022

CLL

Anpassungen in der WHO 5th edition



- B-PLL als eigene Entität entfällt
- Haarzell-Leukämie-Variante (HCL-V) entfällt

aus: Alaggio et al., *Leukemia*, 2022

Genetische Testung in der CLL

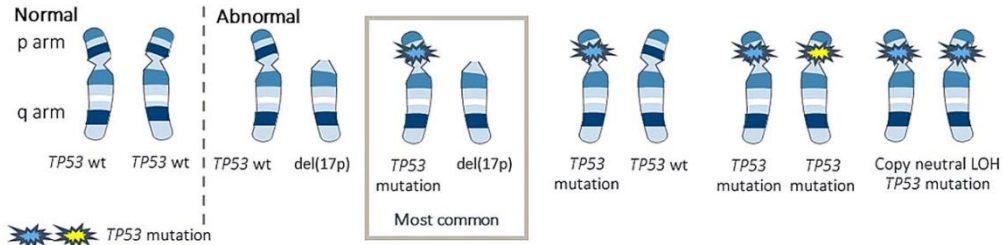
Genetik gemäß Leitlinie

- del(17p13) (FISH)
- TP53-Mutationsanalyse (Sanger Sequenzierung oder NGS)
- IGHV-Mutationsstatus (nur einmalig zu bestimmen)
- komplexer Karyotyp (≥ 3 Aberrationen), evtl. hochkomplexer Karyotyp (≥ 5 Aberrationen) (Metaphasen-Zytogenetik)
- weitere genetische Untersuchungen bei atypischem Phänotyp zur Abgrenzung gegenüber anderen indolenten Lymphomen

*Bei der Frage von
Resistenzmutationen
müssen weitere genetische
Fragen gestellt werden: u.a.
**Untersuchung der Gene
BTK, PLCG2 und BCL2!***

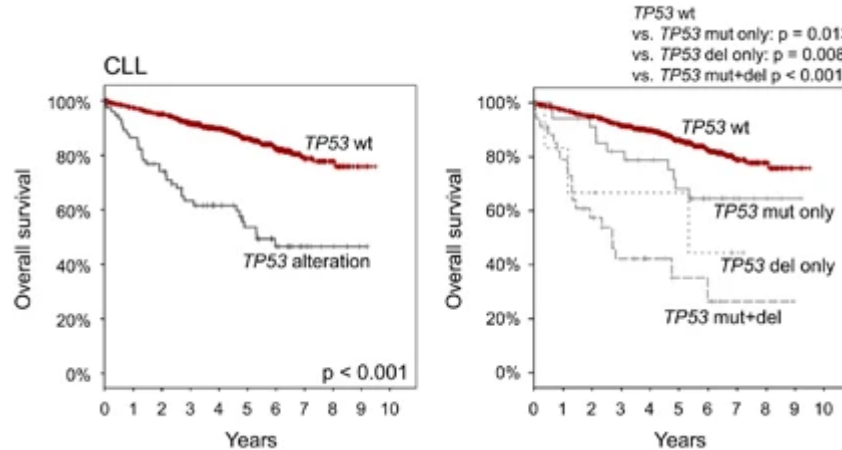
Genetische Testung in der CLL

TP53 Mutationsstatus



Proportion of all TP53 aberrations (%)	~10%	~60%	~30%
--	------	------	------

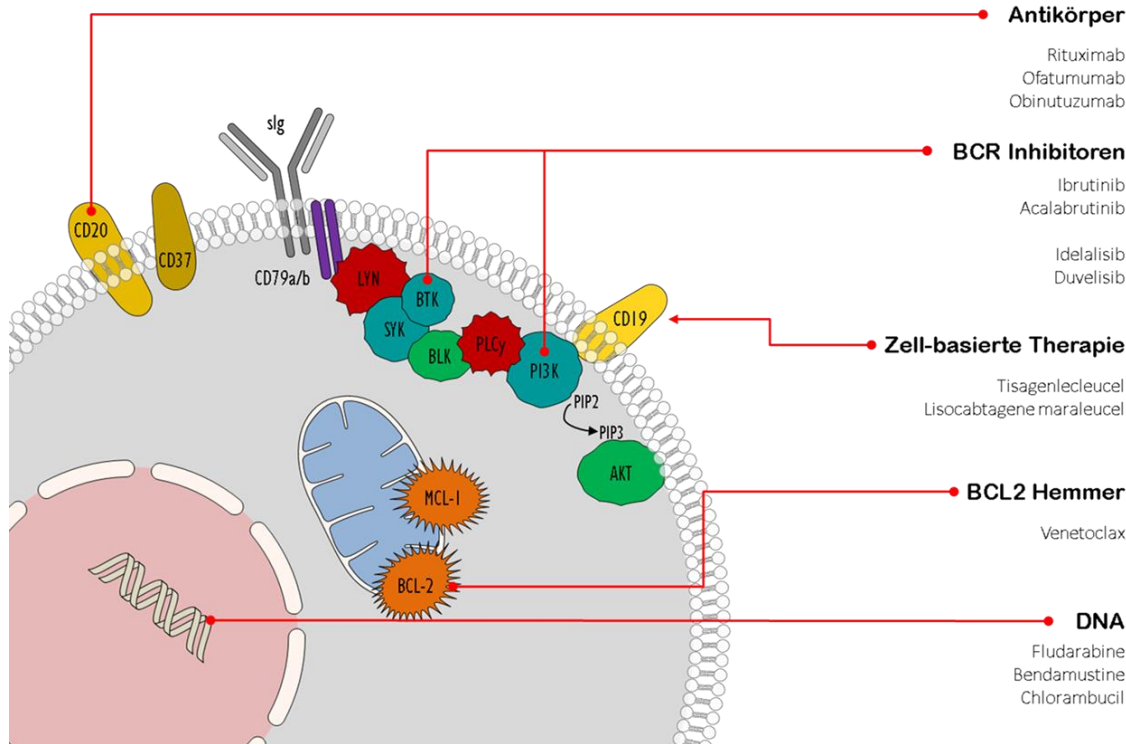
Campo et al., Haematologica, 2018



Stengel et al., Leukemia, 2016

Genetische Testung in der CLL

Angriffspunkte neuer & alt-bewährter Therapien



Resistenzmutationen können bereits bei der **Erstdiagnose** vorliegen oder **unter Therapie erworben** werden:

→ NOTCH1-Mutationen: Resistenz gegen Rituximab in FCR

→ BTK- und PLCG2-Mutationen: Resistenz gegen BTK-Inhibitoren (kovalent)

→ MAP2K1-Mutationen: Resistenz gegen PI3K-Inhibitoren

→ BCL2-Mutationen: Resistenz gegen BCL2-Inhibitoren

→ TP53-Mutationen: Resistenz gegen klassische Chemotherapeutika, reduzierteres Ansprechen auf Venetoclax

Genetische Testung in der CLL

Resistenzmutationen gegen BTKi oder BCL2i

Gen	Therapierelevanz	Häufigkeit
BTK	Ibrutinib / BTK-Resistenz (C481X, L528W, weitere)	> 55 % der Patienten, die unter Ibrutinib progredient sind ¹
PLCG2	Ibrutinib-Resistenz (R665W, L845F, weitere)	> 8% der Patienten, die unter Ibrutinib progredient sind ²
BCL2	Venetoclax-Resistenz (G101V, weitere)	ca. 45 % der Patienten, die unter Venetoclax progredient sind ³
MAP2K1	Resistenz gegenüber PI3K-Inhibitoren (z.B. Idelalisib; Duvelisib)	ca. 2 % der Patienten (Gesamtkohorte, möglicherweise unter PI3K-Inhib. häufiger?) ⁴

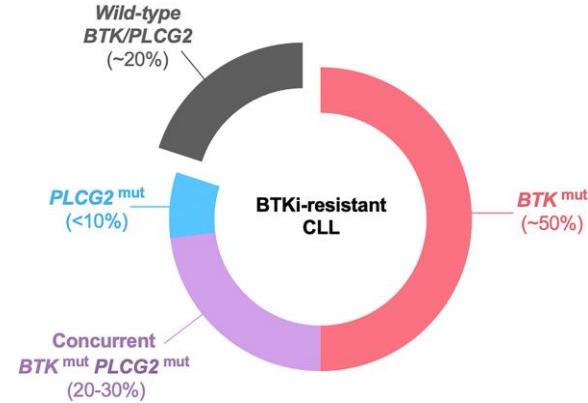
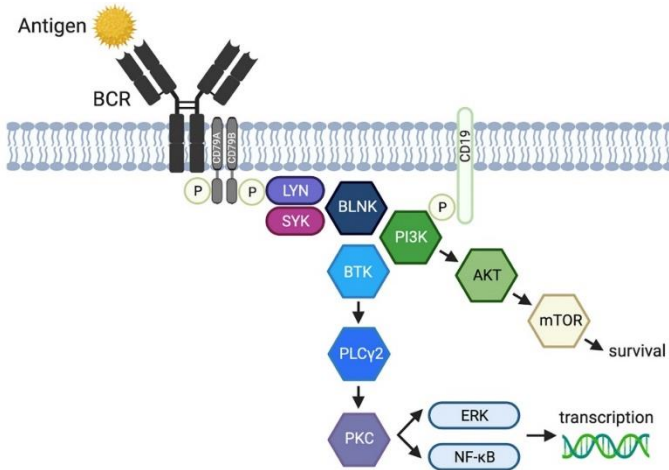
¹Furmann RR, *N Engl J Med.* 2014, Zhang et al., *Br J Haematol.* 2015, Lampson & Burger, *Expert Rev Hematol.* 2018

²Zhang et al., *Br J Haematol.* 2015, Lampson & Burger, *Expert Rev Hematol.* 2018, ³Blombery P, *Cancer Discov.* 2018

⁴Landau et al, *Nature* 2015, Murali et al, *ASH* 2018

Diagnostik in der CLL

Resistenzmutationen gegen BTKi



Ahn & Brown, *Front. Immunol.*, 2021

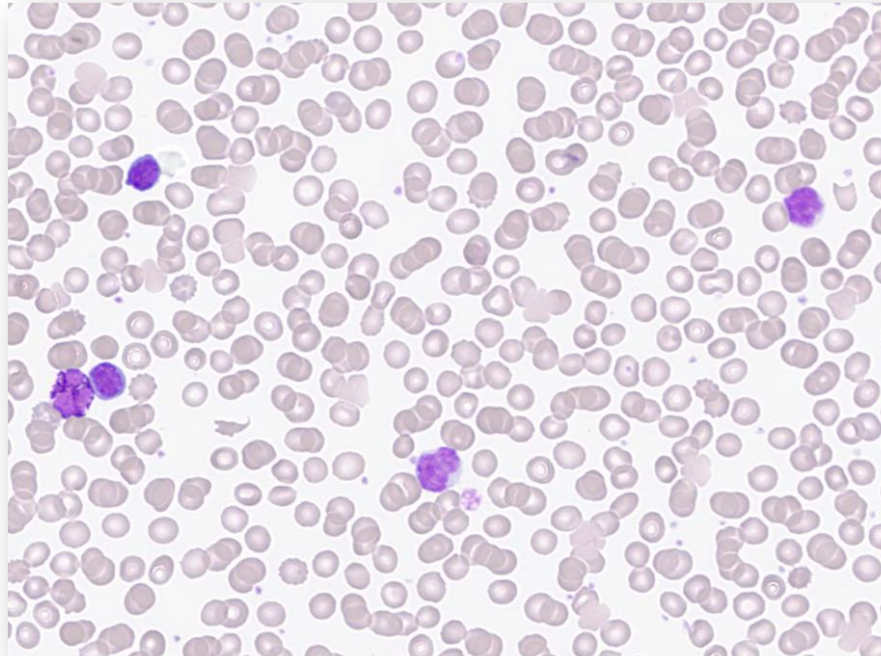
- Neben Mutationen in der BTK können auch Mutationen in der PLCG2 Resistenzen gegen BTKi verursachen
- Diese können allein oder vergesellschaftet mit BTK-Mutationen auftreten

Fallbeispiel 1

Patient	männlich, 81 Jahre
---------	--------------------

Fragestellung	V.a. Resistenz gegenüber Ibrutinib
---------------	------------------------------------

Ausstrich – peripheres Blut



Fallbeispiel 1

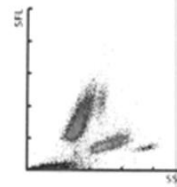
Patient männlich, 81 Jahre

Fragestellung V.a. Resistenz gegenüber Ibrutinib

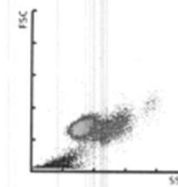
Positive
Diff. Morph.

WBC	16.80 +	[$10^3/uL$]	
RBC	4.39	[$10^6/uL$]	
HGB	13.3	[g/dL]	
HCT	39.7	[%]	
MCV	90.4	[fL]	
MCH	30.3	[pg]	
MCHC	33.5	[g/dL]	
PLT	252	[$10^3/uL$]	
RDW-SD	44.1	[fL]	
RDW-CV	13.0	[%]	
PDW	13.9	[fL]	
MPV	11.2	[fL]	
P-LCR	34.0	[%]	
PCT	0.28	[%]	
NEUT	4.15 *	[$10^3/uL$]	24.8 * [%]
LYMPH	11.49 *	[$10^3/uL$]	68.4 * [%]
MONO	0.54 *	[$10^3/uL$]	3.2 * [%]
EO	0.26	[$10^3/uL$]	1.5 * [%]
BASO	0.36 *	[$10^3/uL$]	2.1 * [%]
IG	0.06 *	[$10^3/uL$]	0.4 * [%]

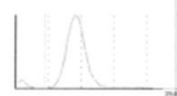
WDF



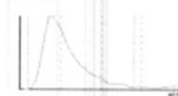
WDF - CBC



RBC



PLT



Fallbeispiel 1

Patient

männlich, 81 Jahre

Fragestellung

V.a. Resistenz gegenüber Ibrutinib

Molekularpathologische Begutachtung

Makroskopie:

Peripheres Venenblut

Mikroskopie:

(Pap) Im peripheren Blut geringe Poikilo- und Anisozytose der Erythrozyten. Unauffällige Thrombozyten. (mtrn/eka)

Im Differentialblutbild 25% neutrophile Granulozyten, 68% Lymphozyten, 3% Monozyten, 2% eosinophile Granulozyten und 2% basophile Granulozyten.

Molekulargenetische Untersuchung:

(mtrn/hjs,eka)

Wir haben aus dem eingesandten peripheren Venenblut die DNA isoliert. Mittels NGS-basierter hybrid-capture Technologie wurden die im Anhang aufgeführten Gene auf Mutationen untersucht.

Ergebnis:

Gen	Exon	Mutation		Mutationsrate	Coverage
BTK	15	p.C481S	c.1442G>C	40 %	3.400
ATM	63	p.R3008C	c.9022C>T	30 %	2.500
CARD11	23	p.A1047T	c.3139G>A	47 %	6.800

Diagnostische Beurteilung:

Aus der Vordiagnostik bekannte CLL mit **Nachweis von Mutationen im BTK-, ATM- und CARD11-Gen.**

Im Exon 15 des BTK-Gens, welches für die Bruton Tyrosinkinase kodiert, wurde die Hotspot-Mutation p.C481S nachgewiesen. Als Folge der nachgewiesenen Mutation verliert die entsprechende Kinase die Fähigkeit, Inhibitoren wie z.B. Ibrutinib kovalent zu binden. In der Folge ergibt sich somit eine

Therapieresistenz gegenüber BTK-Inhibitoren. BTK-Mutationen werden bei > 55 % der Patienten, die unter Ibrutinib progredient sind, nachgewiesen (Furmann RR, *N Engl J Med.* 2014, Zhang et al., *Br J Haematol.* 2015, Lampson & Burger, *Expert Rev Hematol.* 2018).

Darüber hinaus trägt das ATM-Gen, welches für ein Protein mit zentraler Rolle im DNA-Reparatursystem kodiert, im Exon 63 eine Missense-Mutation. Die nachgewiesene Mutation befindet sich in unmittelbarer Nähe zu der funktionell relevanten FATC-Domäne und führt sehr wahrscheinlich zu einem Funktionsverlust des entstehenden Proteins. ATM-Mutationen treten bei der B-CLL mit einer Häufigkeit von 10 bis 25 % auf (Rossi und Gaidano, *Haematologica* 2012).

Außerdem wurde im CARD11-Gen, welches für ein an der Regulation der adaptiven Immunantwort und B-Zelldifferenzierung beteiligtes Protein kodiert, im Exon 23 eine Missense-Mutation detektiert. Die Mutation liegt in der funktionell relevanten *Guanylate Kinase-like*-Domäne, wurde aber bisher in der Literatur nicht näher funktionell charakterisiert. Die gefundene Variante wird außerdem als Polymorphismus (SNP) diskutiert, dies könnte ebenfalls zur nachgewiesenen Allelfrequenz von 47 % passen. Über die klinische Bedeutung der nachgewiesenen Variante kann zum jetzigen Zeitpunkt keine Aussage getroffen werden. CARD11-Mutationen treten bei ca. 1 % der CLL-Patienten auf (Landau et al, *Nature* 2015).

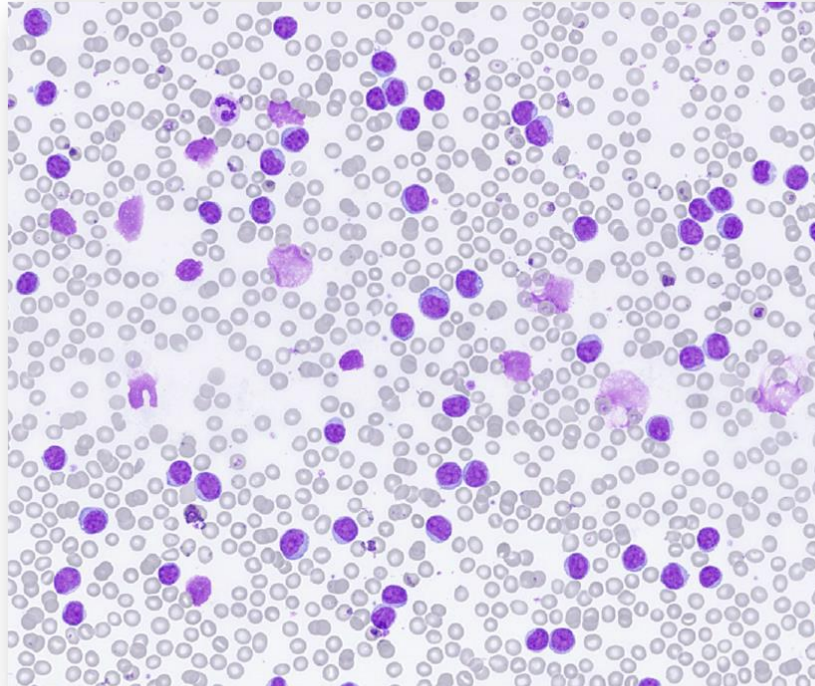
➔ Resistenzmutation in BTK bestätigt!

Fallbeispiel 2

Patient	männlich, 71 Jahre
---------	--------------------

Fragestellung	V.a. Resistenz gegenüber Ibrutinib
---------------	------------------------------------

Ausstrich – peripheres Blut



Fallbeispiel 2

Patient	männlich, 71 Jahre
Fragestellung	V.a. Resistenz gegenüber Ibrutinib

Probennr.: KH22.2550
 Patien.-ID:
 Name:
 Probenkomment.:

2-Q

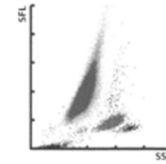
XN-L 0

Pos.: 14/04/2022 12:59:06 WB
 Arzt:
 Geburtsdat.: w/m:
 Nickname: XN-L

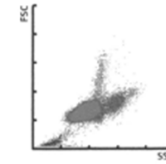
Positive
 Diff. Morph. Count

WBC	239.65 +	[10 ³ /uL]	
RBC	3.33	[10 ⁶ /uL]	
HGB	10.2	[g/dL]	
HCT	29.7	[%]	
MCV	89.2	[fL]	
MCH	30.6	[pg]	
MCHC	34.3	[g/dL]	
PLT	43 -	[10 ³ /uL]	
RDW-SD	49.6	[fL]	
RDW-CV	14.9	[%]	
PDW	11.9	[fL]	
MPV	10.4	[fL]	
P-LCR	29.0	[%]	
PCT	0.05 -	[%]	
NEUT	4.03 *	[10 ³ /uL]	1.7 * [%]
LYMPH	167.01 *	[10 ³ /uL]	69.7 * [%]
MONO	68.10 *	[10 ³ /uL]	28.4 * [%]
EO	0.40	[10 ³ /uL]	0.2 [%]
BASO	0.11 +	[10 ³ /uL]	0.0 [%]
IG	0.26 *	[10 ³ /uL]	0.1 * [%]

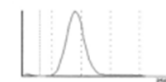
WDF



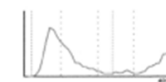
WDF-CBC



RBC



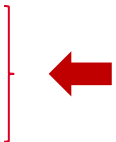
PLT



Fallbeispiel 2

Patient	männlich, 71 Jahre
Fragestellung	V.a. Resistenz gegenüber Ibrutinib

Gen	Exon	Mutation		Mutationsrate	Coverage
ATM	37	p.?	c.5674+1G>T	42 %	1.700
ATM	60	p.V2926F	c.8776G>T	48 %	2.500
<u>BTK</u>	15	p.C481R	c.1441T>C	11 %	2.400
<u>BTK</u>	15	p.C481S	c.1442G>C	3 %	2.500
<u>BTK</u>	16	p.L528W	c.1583T>G	49 %	1.400
<u>PLCG2</u>	19	p.R665W	c.1993C>T	6 %	5.500
SF3B1	15	p.K700E	c.2098A>G	44 %	2.700
TP53	5	p.H178P	c.533A>C	30 %	5.300



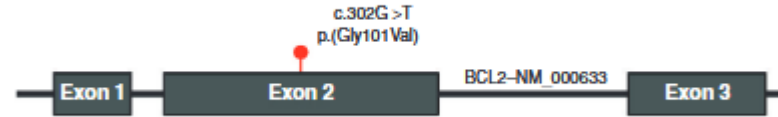
→ Resistenzmutation bestätigt

- BTK-Mutationen in C481 verursachen Resistenzen gegenüber Ibrutinib und Acalabrutinib
- BTK p.L528W auch bei Resistenzen gegenüber Pirtobrutinib beschrieben
- Mutationen in PLCG2 häufig mit Resistenzmutationen in BTK vergesellschaftet

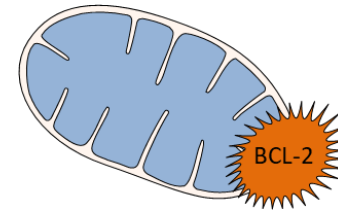
Diagnostik in der CLL

Resistenzmutationen gegen BCL2i

- Venetoclax ist der erste Vertreter der Substanzklasse der BCL2-Inhibitoren
- Bei der CLL sind für Venetoclax Resistenzmutationen in BCL2 beschrieben, die prominenteste ist p.G101V
- Auch auf diese Mutationen sollte bei V.a. Resistenz mittels NGS untersucht werden



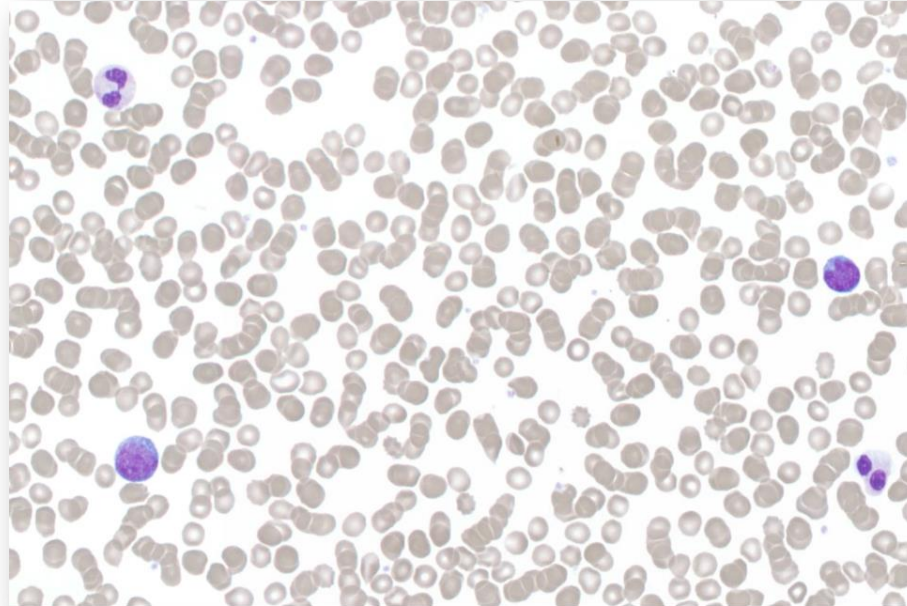
Blombery et al., Cancer Discov., 2019



Fallbeispiel 3

Patient	männlich, 59 Jahre
Fragestellung	V.a. Resistenz gegenüber Venetoclax (Ibrutinib-Therapie vorangegangen gefolgt von aktuell Venetoclax)

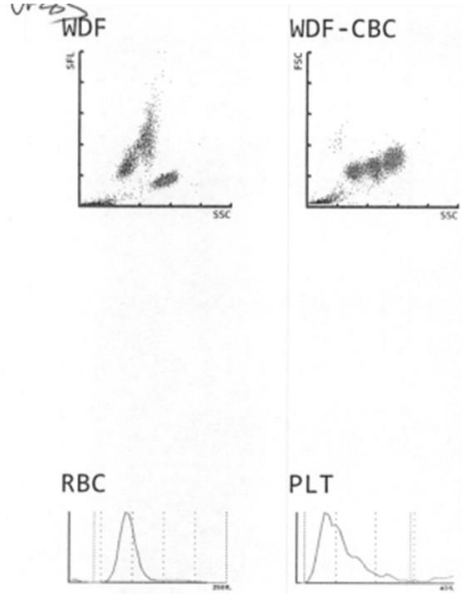
Ausstrich – peripheres Blut



Fallbeispiel 3

Patient	männlich, 59 Jahre
Fragestellung	V.a. Resistenz gegenüber Venetoclax (Ibrutinib-Therapie vorangegangen gefolgt von aktuell Venetoclax)

Positive Diff. Morph.			
WBC	3.93	[10 ³ /uL]	
RBC	4.22	[10 ⁶ /uL]	
HGB	13.8	[g/dL]	
HCT	38.6	[%]	
MCV	91.5	[fL]	
MCH	32.7	[pg]	
MCHC	35.8	[g/dL]	
PLT	85	[10 ³ /uL]	
RDW-SD	40.8	[fL]	
RDW-CV	12.2	[%]	
PDW	13.9	[fL]	
MPV	11.3	[fL]	
P-LCR	34.9	[%]	
PCT	0.10	-%]	
NEUT	1.69 *	[10 ³ /uL]	43.0 * [%]
LYMPH	1.12 *	[10 ³ /uL]	28.5 * [%]
MONO	1.12 *	[10 ³ /uL]	28.5 * [%]
EO	0.00	[10 ³ /uL]	0.0 [%]
BASO	0.00	[10 ³ /uL]	0.0 [%]
IG	0.00 *	[10 ³ /uL]	0.0 * [%]



Fallbeispiel 3

Patient	männlich, 59 Jahre
Fragestellung	V.a. Resistenz gegenüber Venetoclax (Ibrutinib-Therapie vorangegangen gefolgt von aktuell Venetoclax)

Molekularpathologische Begutachtung

2. Nachbericht:

J-Nr. (A-Nr.):	HH23.18152 (A23.18975)
Test:	Agilent HS2-CLL
Mean Coverage:	3525
DNA Frag (ng):	200
DNA Hyb (ng):	1000

Makroskopie:

Peripheres Venenblut

Molekulargenetische Untersuchung: (hhr//kat/abr)

Wir haben mit der DNA aus dem eingesandten Material eine Mutationsanalyse mittels NGS-basierter hybrid-capture Technologie durchgeführt (SureSelect XT HS2 DNA System von Agilent). Detektiert werden Punktmutationen sowie kleine Insertionen und Deletionen (InDels). Die analysierten Gene und genomischen Regionen sind in Anhang 1 und 2 aufgeführt.

Punktmutationen und InDels

Gen	Veränderung im Gen	Veränderung im Protein	Exon	Allelfrequenz
BCL2	c.302G>T	p.G101V	2	5 %
BTK	c.1442G>C	p.C481S	15	13 %
PLCG2	c.2535A>C	p.L845F	24	< 5 %*
KRAS	c.38G>A	p.G13D	2	9 %
ATM	c.5558A>T	p.D1853V	37	47 %
EGR2	c.192G>C	p.M64I	2	47 %

* unterhalb der Nachweisgrenze

Diagnostische Beurteilung:

Aus der Vordiagnostik bekannte CLL mit unmutiertem Immunglobulin-Schwerkettengen-Rearrangement (siehe 1. Nachbericht) und mit zusätzlichem **Nachweis von Mutationen im BCL2-, BTK-, PLCG2- und KRAS-Gen** sowie weiterer Varianten unbekannter funktioneller Signifikanz in ATM und EGR2.

Im BCL2-Gen, welches für ein Protein mit Beteiligung an der Regulation der Apoptose kodiert, konnte im Exon 2 eine Missense-Mutation detektiert werden. Diese befindet sich in der BH3-Bindedomäne und wurde als mögliche **Resistenzmutation** bereits häufig beschrieben. BCL2-Mutation sind bei CLL-Patienten im Progress unter Venetoclax in bis zu 50 % der Fälle beschrieben (Blombery et al., *Cancer Discov.*, 2019, ; Kotmayer et al., *Int J Mol Sci.*, 2023).

Des Weiteren wurde im Exon 15 des BTK-Gens, das für die Bruton-Tyrosinkinase kodiert, die Hotspot-Mutation p.C481S nachgewiesen. Als Folge der nachgewiesenen Mutation verliert die entsprechende Kinase die Fähigkeit, Inhibitoren wie z.B. Ibrutinib kovalent zu binden. Daraus resultiert eine **Therapieresistenz** gegenüber kovalent-bindenden BTK-Inhibitoren. Mutationen im BTK-Gen werden bei über 55 % der CLL-Patienten, die unter Ibrutinib progredient sind, nachgewiesen (Quinquenel et al., *Blood*, 2019).

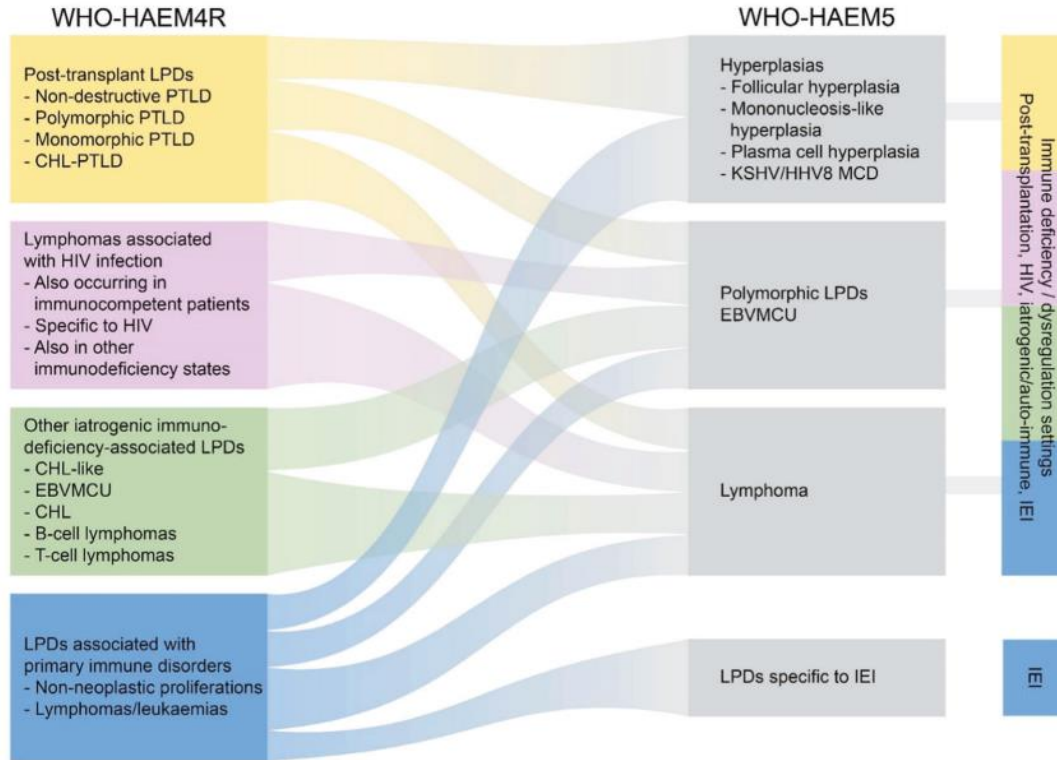
Außerdem wurde mit sehr niedriger Allelfrequenz im Exon 24 des PLCG2-Gens eine Missense-Mutation nachgewiesen. Die Mutation fungiert als *gain-of-function*-Mutation in der BCR-Signalweiterleitung unabhängig von BTK (Wang et al., *Hematol Oncol*, 2021). Es handelt sich dabei um einen möglichen BTK-unabhängigen **Resistenzmechanismus**, weshalb in der Folge eine mögliche Resistenz gegenüber nonkovalent-bindende BTK-Inhibitoren in diesem Fall nicht mit letzter Sicherheit ausgeschlossen werden kann.

Darüber hinaus konnte für das KRAS-Gen eine Hotspot-Mutation im Exon 2 nachgewiesen werden. Die gefundene p.G13D-Mutation führt zu einer konstitutiven Aktivierung des MAPK-Signalweges und hat damit sehr wahrscheinlich eine erhöhte Proliferationsrate der mutierten Zellen zur Folge. Mutationen im RAS-MAPK-Signalweg werden bei ca. 10 % der CLL-Patienten nachgewiesen (Vendramini et al., *Leukemia*, 2019).

Zusätzlich konnten Missense-Varianten im Exon 37 des ATM-Gens und im Exon 2 des EGR2-Gens nachgewiesen werden. Diese betreffen keine relevanten Domänen und wurden bisher in der Literatur nicht ausreichend funktionell charakterisiert. Somit ist derzeit die biologische und klinische Bedeutung der Varianten unklar.

immunodeficiency-associated lymphoid proliferations

Anpassungen in der WHO 5th edition



aus: Alaggio et al., *Leukemia*, 2022

Plasmazellneoplasien

Anpassungen in der WHO 5th edition

WHO Classification, 5 th edition	WHO Classification, revised 4 th edition
Plasma cell neoplasms and other diseases with paraproteins	
Monoclonal gammopathies	
Cold agglutinin disease	<i>Not previously included</i>
IgM monoclonal gammopathy of undetermined significance	(Same)
Non-IgM monoclonal gammopathy of undetermined significance	(Same)
Monoclonal gammopathy of renal significance	<i>Not previously included</i>
Diseases with monoclonal immunoglobulin deposition	
Immunoglobulin-related (AL) amyloidosis	Primary amyloidosis
Monoclonal immunoglobulin deposition disease	Light chain and heavy chain deposition disease
Heavy chain diseases	
Mu heavy chain disease	(Same)
Gamma heavy chain disease	(Same)
Alpha heavy chain disease	(Same)
Plasma cell neoplasms	
Plasmacytoma	(Same)
Plasma cell myeloma	(Same)
Plasma cell neoplasms with associated paraneoplastic syndrome -POEMS syndrome -TEMPI syndrome -AESOP syndrome	(Same) Except AESOP syndrome <i>not previously included</i>

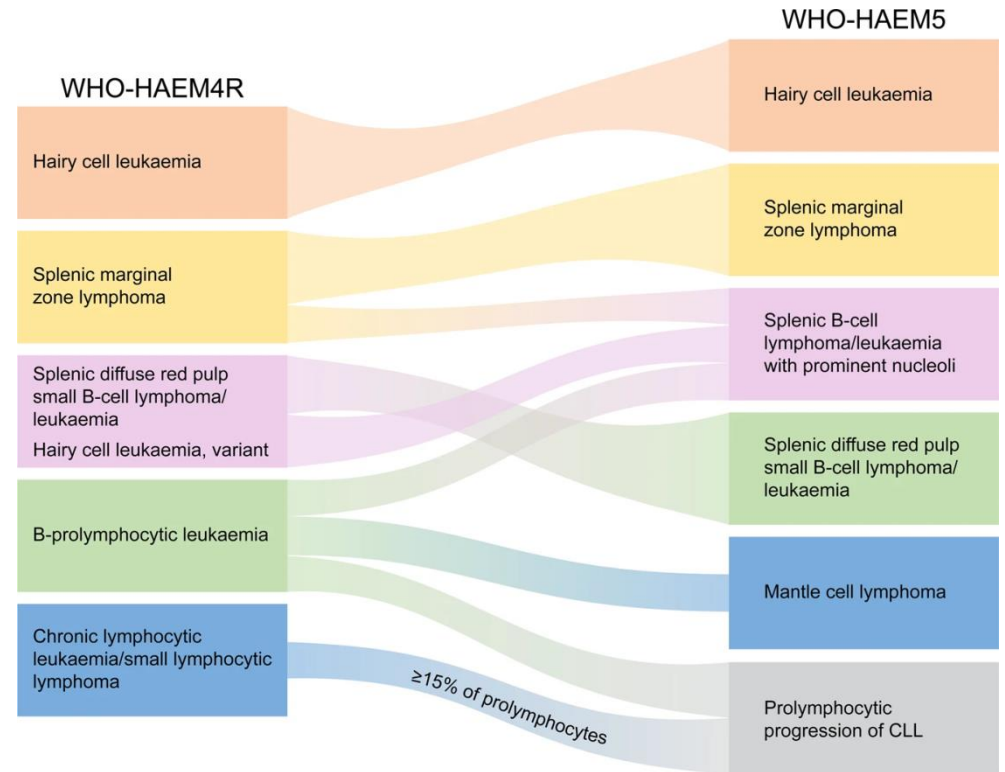
aus: Alaggio et al., *Leukemia*, 2022

B-Zell Lymphome der Milz

Splenomegalie durch:

- Myeloproliferative Erkrankungen
- Chronisch lymphatische Leukämie
- M. Hodgkin
- Mantelzelllymphom, etc.

...sowie splenische Lymphome – neue WHO Klassifikation Ende 2022



Alagio et al, Leukemia (2022) 36:1720–1748;
<https://doi.org/10.1038/s41375-022-01620-2>

Splenische B-Zelllymphome

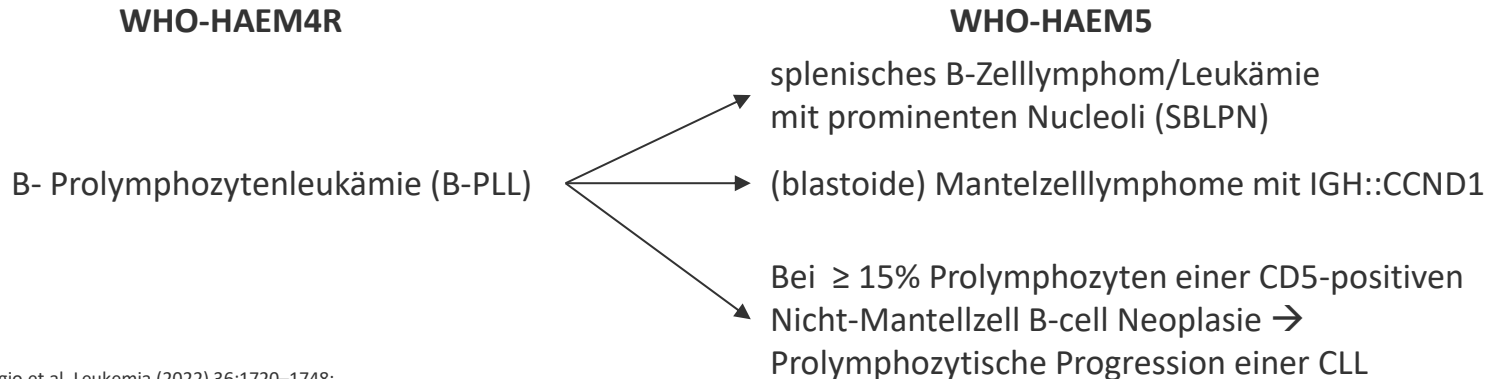
Splenische B-Zelllymphome und –Leukämien nach WHO HAEM5 (teilweise abweichend von ICC/CAC):

beinhalten

- **Haarzelleukämie (HCL)**
- **Splenisches Marginalzonenlymphom (SMZL)**
- **Splenisches B-Zelllymphom/Leukämie mit prominenten Nucleoli (SBLPN) – NEU!**
*ersetzt die Haarzelleukämie Variante und
subsumiert alle Fälle der CD5 negativen B-prolymphozytischen Leukämie (B-PLL)*
- **Splenisches diffuses kleinzelliges B-Zell-Lymphom der roten Pulpa (SDRPL)**

Nicht mehr in WHO HEAM5:

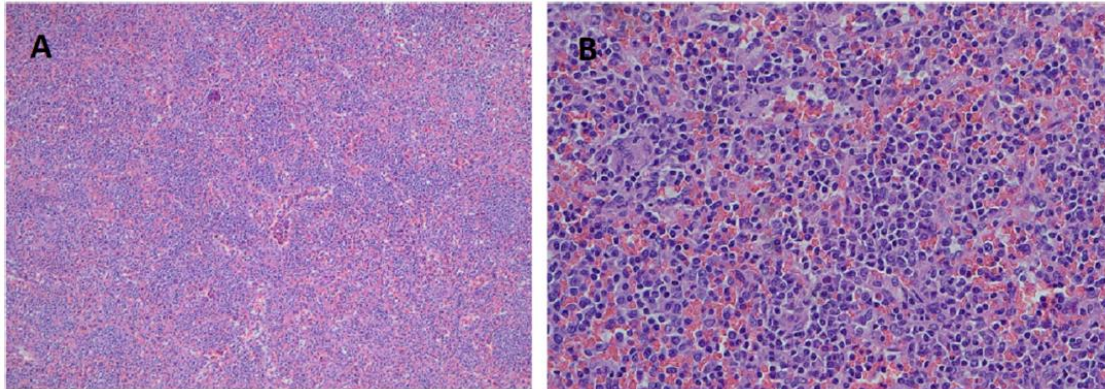
- Haarzelleukämie Variante
- B- Prolymphozytenleukämie (B-PLL)



Splenische B-Zell-Lymphome: SDRPL

Splenisches diffuses kleinzelliges B-Zell-Lymphom der roten Pulpa (SDRPL)

- < 10 % der splenischen Lymphome
- Männer/Frauen 1,5-2,5:1
- Meist Alter > 60 Jahre, Median ca. 65 Jahre
- Die Diagnostik herausfordernd, da es klinische, morphologische und immunphänotypische Überlappungen mit den übrigen splenischen B-Zell-Lymphomen/-Leukämien
- Involviert Milz, Knochenmark und peripheres Blut (Panzytopenie selten) – teilweise Diagnose erst im Rahmen Splenektomie/Milzbiopsie:



- Infiltration des roten Pulpa mit kleinen (bis mittelgroßen) Lymphozyten mit Betonung der weißen Pulpa

Alagio et al, Leukemia (2022) 36:1720–1748; <https://doi.org/10.1038/s41375-022-01620-2>
Anagenostopulous, Zamò: Pathologie <https://doi.org/10.1007/s00292-023-01186-5>
Yilmaz et al, Curr. Oncol. 2021, 28, 5148–5154. <https://doi.org/10.3390/curroncol28060431>
Maitre et al. Front. Oncol. 12:1068981.doi: 10.3389/fonc.2022.1068981

Splenische B-Zelllymphome: SDRPL

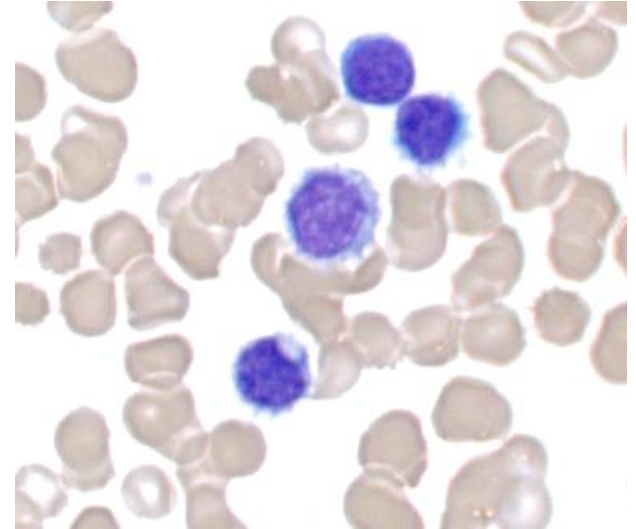
Splenisches diffuses kleinzelliges B-Zell-Lymphom der roten Pulpa (SDRPL)

- In der Immunhistochemie:
 - Pos. für CD19, CD20 und Bcl-2,
 - CD72 (DBA.44) in 20–90%, **Cyclin D3** in ca 70%, CD 103 in ca. 30%
 - Neg. für CD5, CD10, CD23, CD43, Bcl-6, MUM1, Cyclin D1, CD11c, CD25, CD123, und Annexin A1
- In der Zytogenetik:
 - Typisch Nachweis von Del7q und Trisomie 18 und
 - Trisomie 3q in ca. 30 %
 - Komplexe Karyotypen in ca. 10% und TP53 selten (in 5-15%)
- Molekulargenetik (Whole-exome sequencing):
 - Teilweise (ca. 25%) mit Mutationen in CCND3 und BCOR (keine Exklusivität), keine BRAF Mutation
- Therapie: *kein Standard – analog splenisches Marginalzonenlymphom*:
 - w&w,
 - Splenektomie (nicht kurativ)
 - Rituximab mono

Splenische B-Zelllymphome: Haarzell-Leukämie

Haarzell-Leukämie

- 0,28 – 0,3 Fälle/100.000 Menschen/Jahr in Europa und den USA
- Männer/Frauen 4:1
- Bei Asiaten, Schwarzafrikanern und Arabern deutlich seltener
- Meist Alter > 60 Jahre
- Involviert Milz, Knochenmark und peripheres Blut
- Häufig: Panzytopenie ohne Lymphozytose mit **typ. Haarzellen im peripheren Blut**
- In der Immunhistochemie:
 - Pos. für CD19, CD20, CD22, **CD11c, CD103, CD123, CD25**, Cylin D1, **Annexin A1, CD200**
 - Neg. für CD5, CD10, CD23, Cyclin D3
- In der Zytogenetik:
 - Typisch Nachweis von Trisomie 5, del 5q
- In der Molekulargenetik: BRAF V600E Mutation (!)

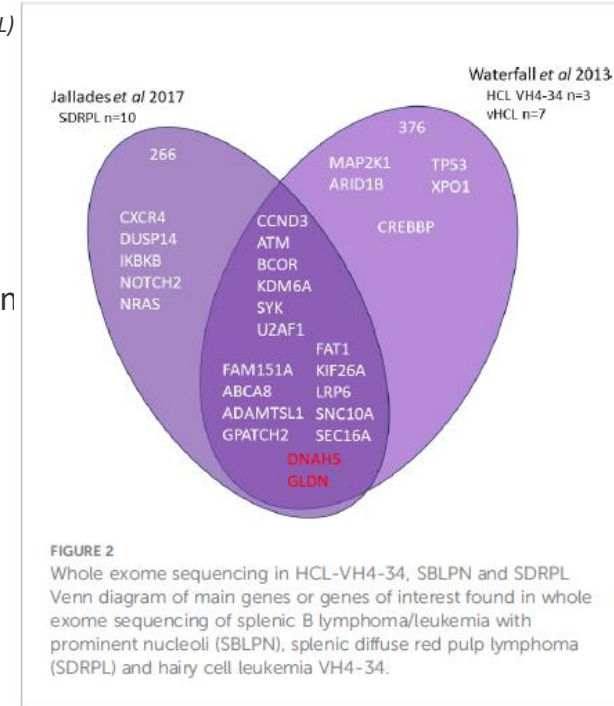


Splenische B-Zelllymphome: B-Zelllymphom/Leukämie mit prominenten Nucleoli (SBLPN) – NEU!

Splenisches B-Zelllymphom/Leukämie mit prominenten Nucleoli (SBLPN) – NEU!

ersetzt die Haarzelleukämie Variante und subsumiert alle Fälle der CD5 negativen B-prolymphozytischen Leukämie (B-PLL)

- 0,03 auf 100.000 Menschen/Jahr
- Männer/Frauen 1,6 : 1
- Medianes Alter 71 Jahre
- Involviert Milz, Knochenmark und peripheres Blut
- Häufig: meist keine Panzytopenie, Lymphozytose, große Zellen mit prominenten Nucleoli und Haar-artigen Ausläufern
- In der Immunhistochemie:
 - Pos. für CD19, CD20, CD22, CD72 (DBA.44), Cyclin D1, weniger pos. (als Haarzellkeukämie) CD11c, CD103
 - Neg. für CD5, CD10, CD23, **CD25, Annexin A1, CD200**
- In der Zytogenetik:
 - Typisch Nachweis von Del17p, Trisomie 12, Del7q
- In der Molekulargenetik: **BRAF wt (100%)**, MAP2K1 (9-48%)



Anagenostopolous, Zamò: Pathologie <https://doi.org/10.1007/s00292-023-01186-5>
Yilmaz et al, Curr. Oncol. 2021, 28, 5148–5154. <https://doi.org/10.3390/curroncol28060431>
Paillassa, Ther Adv Hematol 2022, Vol. 13: 1–14 DOI: 10.1177/20406207221090886

Splenische B-Zelllymphome: Splenisches Marginalzonenlymphom

Splenisches Marginalzonenlymphom

- Marginalzonenlymphome machen 5-17% aller B-NHL aus ca. 20 % sind splenische Marginalzonenlymphome (SMZL)
- Männer/Frauen 1:2
- Meist Alter um 60 Jahre
- Assoziation mit Hepatitis C Infektion
- Involviert Milz, Knochenmark und peripheres Blut
- Häufig: Panzytopenie mit Lymphozytose
- In der Immunhistochemie:
 - Pos. für CD19, CD20, CD22, CD79a/b, PAX5, CD27 und CD38 (dim)
 - Neg. für CD5, CD10, Cyclin D1, CD25, CD123, CD200, Annexin I
- In der Zytogenetik:
 - Typisch Nachweis von Del7q und Trisomie 3
- In der Molekulargenetik: oft NOTCH2, KLF2
Aber neue genetisch basierte Klassifikation



LYMPHOID NEOPLASIA

Genetic and phenotypic attributes of splenic marginal zone lymphoma

Ferdinando Bonfiglio,^{1*} Alessio Brusca,^{1*} Francesca Guidetti,^{1*} Lodovico Terzi di Bergamo,¹ Martin Faderl,¹ Valeria Spina,¹ Adalgisa Condoluci,^{1,2} Luisella Bonomini,³ Gabriela Forestieri,¹ Ricardo Koch,¹ Deborah Piffaretti,¹ Katia Pini,¹ Maria Cristina Piroso,² Micol Giulia Cittoni,^{1,2} Alberto Arribas,⁴ Marco Lucioni,⁵ Guido Ghilardi,² Wei Wu,¹ Luca Arcaini,⁶ Maria Joao Baptista,⁷ Gabriela Bastidas,⁸ Silvia Bea,⁹⁻¹¹ Renzo Boldorini,¹² Alessandro Broccoli,¹³ Marco Matteo Buehler,¹⁴ Vincenzo Canzonieri,^{15,16} Luciano Cascione,⁴ Luca Ceriani,¹⁷ Sergio Cogliatti,¹⁸ Paolo Corradini,¹⁹ Enrico Derenzini,²⁰ Liliana Devizzi,¹⁹ Sascha Dietrich,²¹ Angela Rita Eia,²² Fabio Facchetti,²³ Gianluca Gaidano,²⁴ Juan Fernando Garcia,²⁵ Bernhard Garber,^{2,24} Paolo Ghia,²⁷ Maria Gomes da Silva,²⁸ Giuseppe Grizzi,²⁹ Anna Guidetti,¹⁹ Felicitas Hitz,³⁰ Giorgio Inghirami,³¹ Marco Ladetto,^{32,33} Armando Lopez-Guillermo,³⁴ Elisa Lucchini,³⁵ Antonino Maiorana,³⁶ Roberto Marasca,³⁷ Estella Matutes,³⁸ Veronique Meignin,³⁹ Michele Merli,⁴⁰ Alden Moccia,⁴¹ Manuela Mollejo,^{10,42} Carlos Montalban,⁴³ Urban Novak,⁴⁴ David Graham Oscier,⁴⁵ Francesco Passamonti,⁴⁶ Francesco Piazza,⁴⁷ Stefano Pizzolitto,⁴⁸ Alessandro Rambaldi,²⁹ Elena Sabatini,⁴⁹ Gilles Salles,⁵⁰ Elisa Santambrogio,⁵¹ Lydia Scarfo,²⁷ Anastasios Stathis,⁴¹ Georg Stüssi,^{2,52} Julia T. Geyer,⁵³ Gustavo Tapia,⁵⁴ Corrado Tarella,⁵⁰ Catherine Thieblemont,⁵⁵ Thomas Tousseyn,⁵⁶ Alessandra Tuco,⁵⁷ Giorgio Vanini,⁴⁴ Carlo Visco,⁵⁸ Umberto Vitolo,⁵¹ Renata Walevska,⁴⁹ Francesco Zaja,³⁵ Thorsten Zenz,¹⁴ Pier Luigi Zinzani,^{13,59} Hossein Khabanian,⁶⁰ Arianna Calcinotto,²² Francesco Bertoni,^{4,41,52} Govind Bhagat,⁶¹ Elias Campo,^{9,11} Laurence De Leval,⁶² Stefan Dirnhofer,⁶³ Stefano A. Pileri,⁶⁴ Miguel A. Piris,^{10,65} Alexandra Traverse-Glehen,⁶⁶ Alexander Tzankov,⁶³ Marco Paulli,⁵ Maurizio Ponzoni,⁶⁷ Luca Mazzucchelli,⁶⁸ Franco Cavalli,⁶⁹ Emanuele Zucca,^{3,41,52,70,*} and Davide Rossi,^{1,2,52,*}

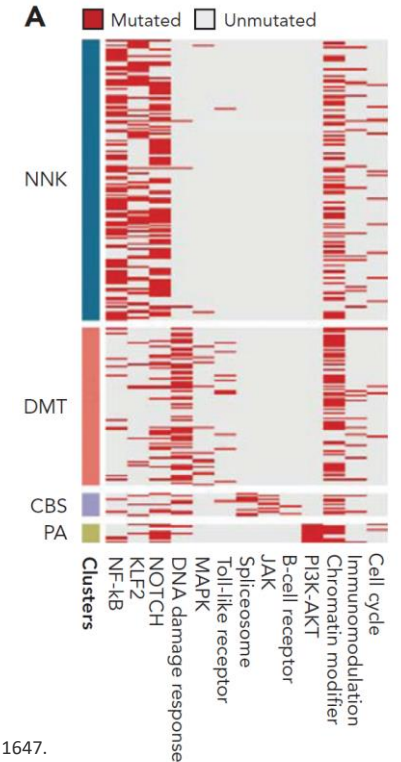
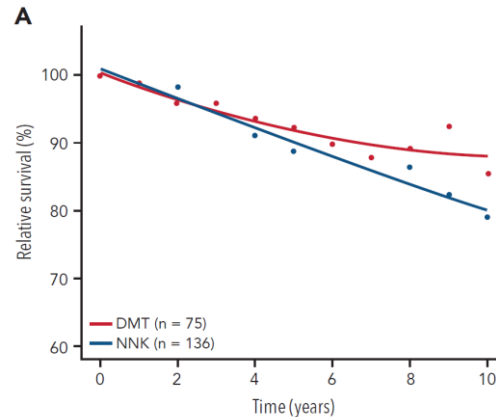
Anagenostopulous, Zamò: Pathologie <https://doi.org/10.1007/s00292-023-01186-5>
Yilmaz et al, Curr. Oncol. **2021**, 28, 5148–5154. <https://doi.org/10.3390/curroncol28060431>
Bonfiglio et al., *Blood* (2023) 141 (13): 1647. <https://doi.org/10.1182/blood.2023019847>

Splenische B-Zelllymphome: Splenisches Marginalzonenlymphom

Splenisches Marginalzonenlymphom – neue molekulare Klassifikation (anhand von 303 Milzproben – IELSG46)

- 4 distinkte gen-kB, NOTCH, und KLF2 modules),
 - DMT** (32.8%, DNA-damage response, MAPK, and TLR modules)
 - CBS** (4.8% Cytokine, B-cell receptor signaling, und Spliceosome modules)
 - PA** (4.2%, PI3K/AKT module)
 - NNK** (58 % NF-kappaB, NOTCH, and KLF2 modules)

→ minimal Set zur Differenzierung NNK and DMT clusters anhand von 14 Genen (TP53, ATM, KLF2, TNFAIP3, NOTCH2, BRAF, MYD88, SPEN, CARD11, NOTCH1,PTPN11, CHD2, SAMHD1, NFKBIE)



Bonfiglio et al., *Blood* (2023) 141 (13): 1647.
<https://doi.org/10.1182/blood.2023019847>

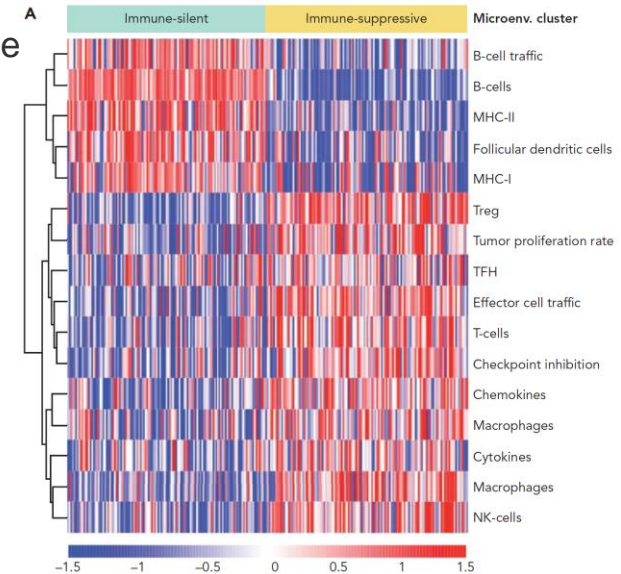
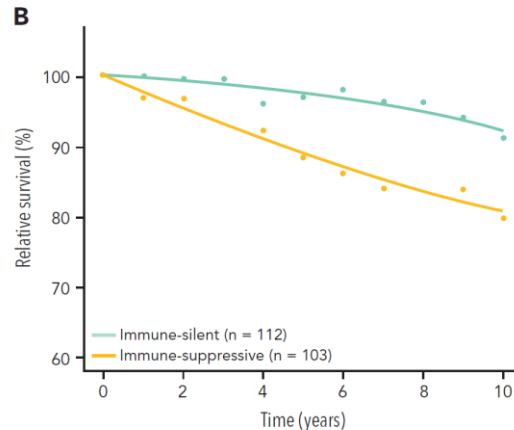
Splenische B-Zelllymphome: Splenisches Marginalzonenlymphom

Splenisches Marginalzonenlymphom – neue molekulare Klassifikation (anhand von 303 Milzproben – IELSG46)

- 2 unterschiedliche „immune microenviroments“
(anhand 1402 Genen/16 Signaturen im Kontext Tumor/immune Interaktionen)

Immun-suppressive Typ (50%):
assoziiert mit Entzündungszellen und immune checkpoint Aktive

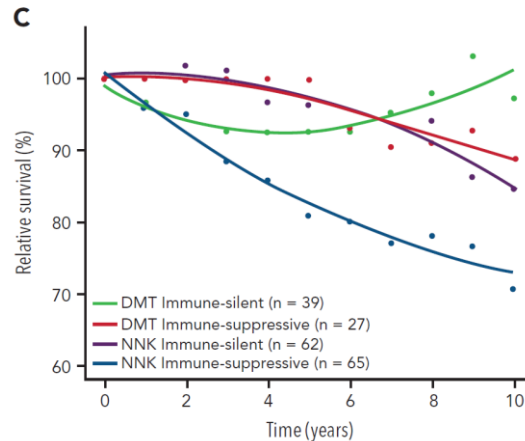
Immun-silent Typ (50%):
B-Zell-dominierte Signaturen



Bonfiglio et al., *Blood* (2023) 141 (13): 1647. <https://doi.org/10.1182/blood.2023019847>

Splenische B-Zelllymphome: Splenisches Marginalzonenlymphom

Splenisches Marginalzonenlymphom – neue molekulare Klassifikation (anhand von 303 Milzproben – IELSG46)



Klinische Signifikanz noch unklar

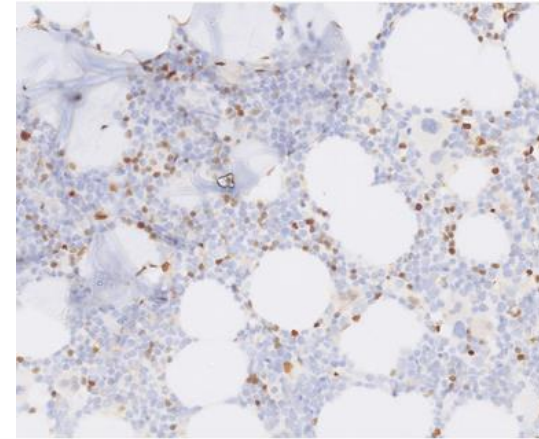
Leukämisches nicht-nodales Mantelzell-Lymphom

Klinik: Von Anfang an Knochenmarksbefall
Splenomegalie
Leukämische Ausschwemmung
KEIN Lymphknotenbefall (mit Ausnahme im Milzhilus)

Immunphänotyp: Wie Mantelzell-Lymphom

Zytogenetik: $t(11;14)(q13;q32)$; CyclinD1 Überexpression

Immunhistochemie : SOX11 negativ
DBA.44 häufig positiv
Ki67 sehr niedrig (2 – 5 %)



CyclinD1

Diagnostik: Am Besten FACS + Zytogenetik, BKT-Immunhistochemie und Milz Ultraschall

Plasmazellneoplasien mit assoziierten klinischen Syndromen

P	Polyneuropathie	T	Teleangiektasien
O	Organomegalie	E	Erythrozytose mit erhöhtem Erythropoietin
E	Endokrinopathie	M	Monoklonale Gammopathie
M	M-Gradient	P	perinephritische Flüssigkeitsansammlungen
S	Skin effusion	I	Intrapulmonale Shunts

AESOP - Adenopathy and Extensive Skin Patch Overlying a Plasmacytoma

Zum ersten Mal Syndrome statt morphologischer oder molekulargenetischer Entitäten!

Follikuläres Lymphom vom Duodenal-Typ

Entspricht einer Frühphase eines FL im Duodenum

Zeigt meistens KEINEN Lymphknotenbefall

Relativ gutartiger klinischer Verlauf

Zytogenetik: $t(14;18)(q32;q21)$; (IGH:: BCL-2) Rearrangements

Molekulargenetik: ähnlich wie FL G1, aber weniger AID und weniger KMT2D

Histologie: wie FL, nur in der Mucosa, nur wenige oder keine Zentroblasten

Pädiatrisches folliculäres Lymphom

Essentielle diagnostische Kriterien: Kinder oder junge Erwachsene,
meist zwischen 2 und 25 Jahren

Meist lokalisierter Lymphknotenbefall

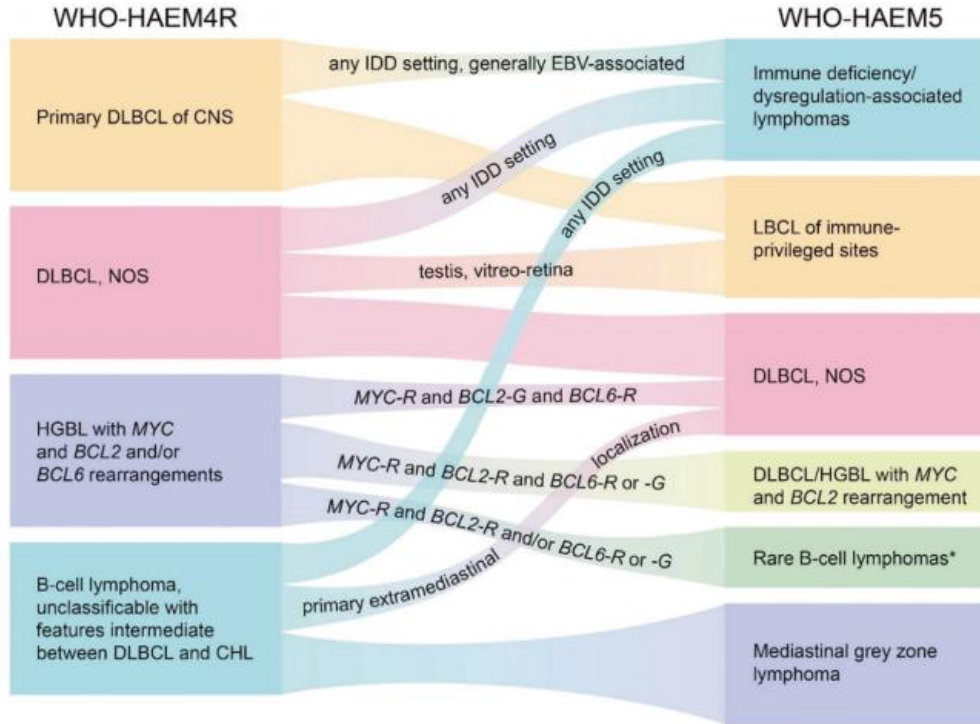
Histologie: große, teils konfluierende Keimzentren mit monotonem Bild,
Follikelmantel meistens zerstört

Immunhistochemie: Keimzentrumsphänotyp mit Expression von CD10
und evtl. schwach Bcl-2, hohe Proliferation (Ki67 > 30)

Molekulargenetik: Kein Nachweis von Bcl-2-, Bcl-6- und Myc-Rearrangements
Kein Nachweis von IRF-4 Rearrangements
Monoklonales Immunglobulin-Rearrangements

high grade B-Zell Lymphome

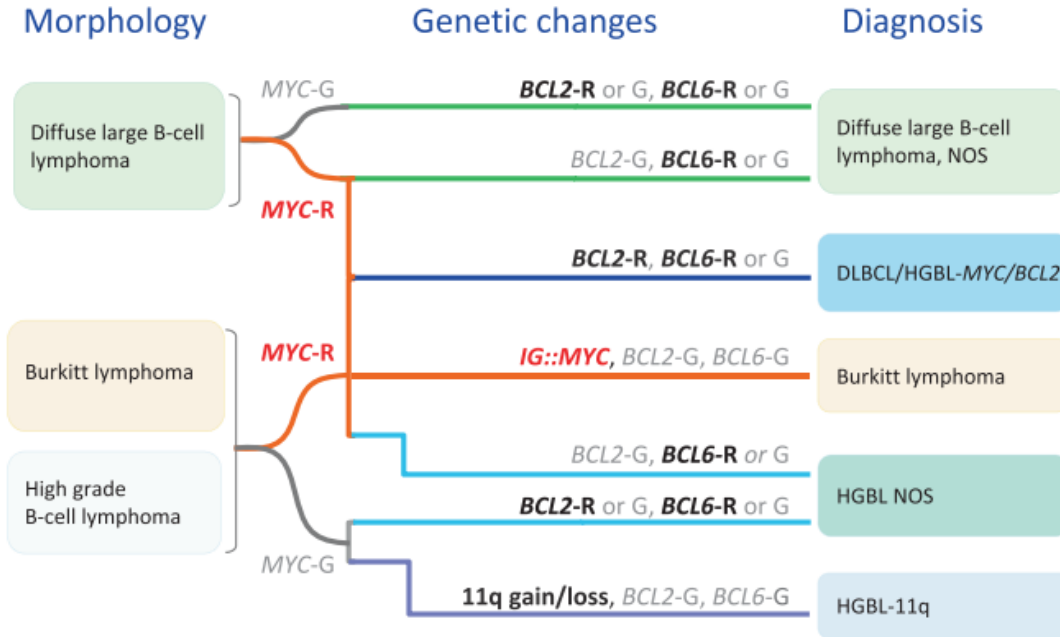
Anpassungen in der WHO 5th edition



aus: Alaggio et al., *Leukemia*, 2022

high grade B-Zell Lymphome

Anpassungen in der WHO 5th edition



aus: Alaggio et al., *Leukemia*, 2022

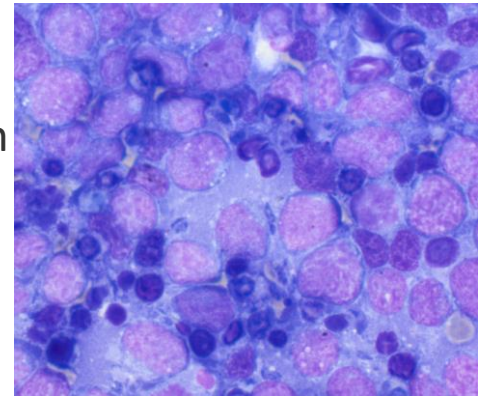
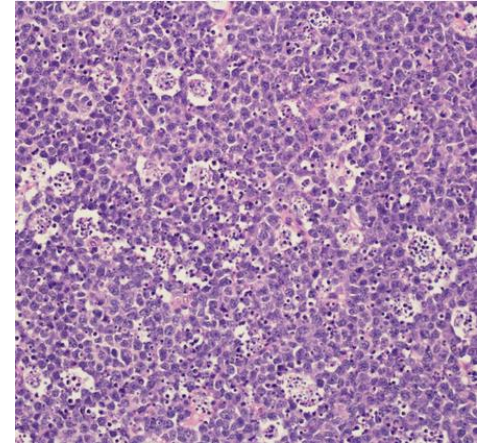
High grade B-cell lymphoma with 11q aberrations

Definition: HGBL mit 11q Aberrationen ist ein aggressives, reifzelliges B-Zell Lymphom, morphologisch ähnlich einem Burkitt Lymphom oder einem intermediärem Erscheinungsbild mit einem charakterischen Chromosom 11 gain/loss pattern Fälle mit zusätzlichem Myc-Rearrangements werden ausgeschlossen.

Morphologie: Kohäsives Blasteninfiltrat, ähnlich wie Burkitt Lymphom aber mit ausgeprägterem zellulären Pleomorphismus.

Sternhimmelbild ähnlich wie bei BL ist meist vorhanden.

Immunphänotyp: CD19+, CD20+, CD79+, CD10+, BCL-6 +, BCL-2 -



Giemsa

Mediastinal grey zone lymphoma

MGZL teilt genetische, epigenetische und phänotypische Merkmale mit seinen beiden verwandten Entitäten:

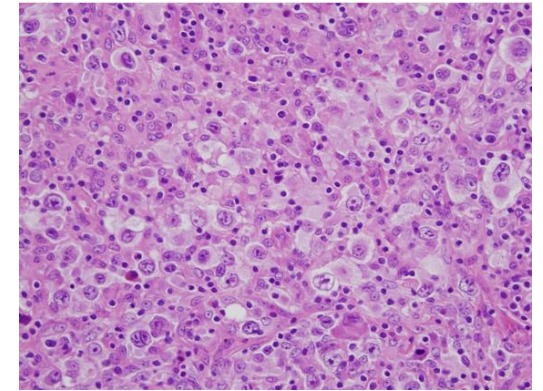
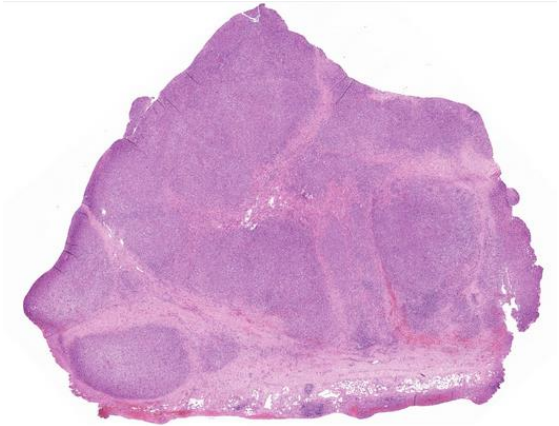
1. primär mediastinales klassisches Hodgkin Lymphom vom nodulär sklerosierten Subtyp
2. Primär mediastinales (thymisches) B-Zell Lymphom

Alle drei Lymphome leiten sich von primär thymischen B-Blasten ab.

Zytogenetik: strukturelle chromosomale Aberrationen auf
Genlocus 9p24.1 und 16p13.3

Molekulargenetik: JAK-STAT Signalweg Alterationen
NFκB Alterationen
RET Amplifikation

Histologie: Alle drei Lymphome sind PD-L1 stark positiv



Mediastinal grey zone lymphoma

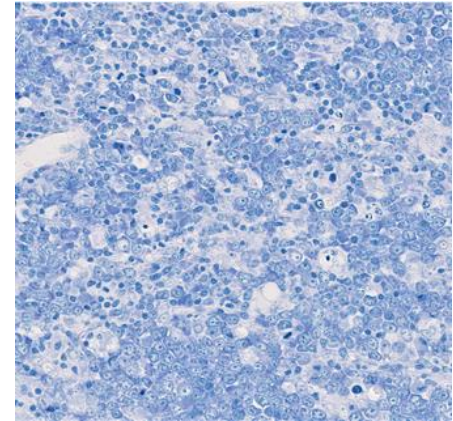
Kriterien	Hodgkin	Grauzonen Lymphom	Mediastinales B-Zell Lymphom
CD30	+++	z.T. + in HRS Zellen	z.T. +
CD15	++	überwiegend neg.	negativ
B-Zell Marker	CD19-, CD20-, CD79a- PAX5+	CD19+, CD20+, CD79a+, PAX5+	CD20 +, PAX5+

High-grade B-cell lymphoma, NOS

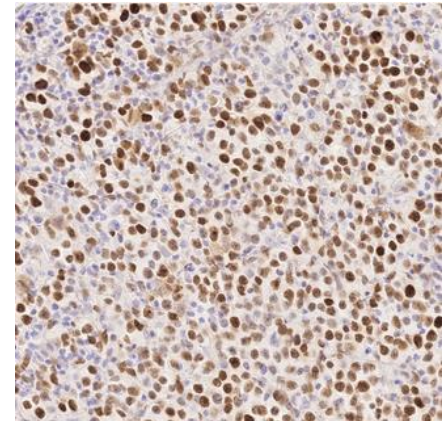
Definition: Hg-B-Zell Lymphom, NOS, repräsentiert eine heterogene Kategorie von aggressiven reifzelligem B-Zell Lymphomen mit mittelgroßen Blasten, die in keine andere Kategorie der aggressiven B-Zell Lymphome passen

Molekulargenetik: Myc Amplifikation in 32 %
BCL-2 Translokationen in 10 – 18 %
BCL-6 Translokationen in 12 – 18 %

Molekulare Klassifikation:	unklassifizierbar	72 %
	EZB	13 %
	MZB	9 %
	ST2	2 %
	BN2	4 %



Giemsa



Myc

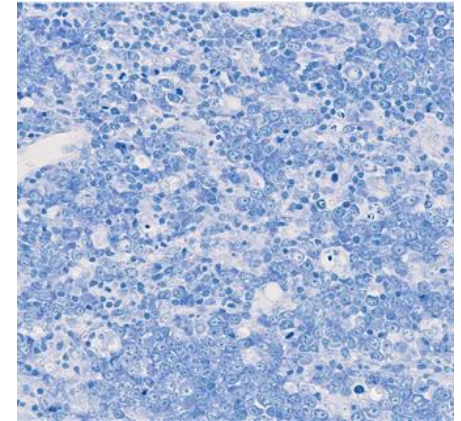
High-grade B-cell lymphoma, NOS

Histologie: Sternhimmelmuster mit Apoptosen, ähnlich BL

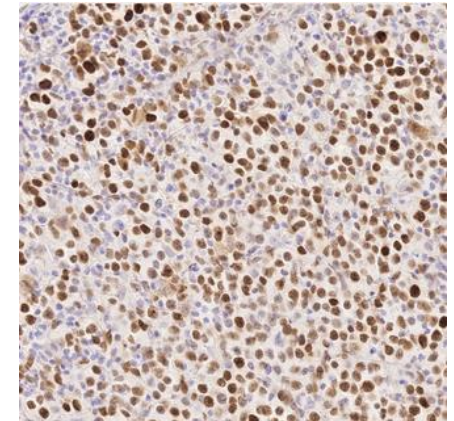
Mittelgroße Blasten gemischt mit wenigen kleinen Lymphozyten
KEIN kohäsives Wachstum

Immunhistochemie: CD19+, CD20+, CD22+, CD34-, TdT-,
Bcl-2+, Bcl-6+, CD30-, Ki67 40 – 90%,
Myc-Expression variabel,
MUM1-Expression variabel,

50 % der Fälle sind BCL-2 und MYC Doppel-Expriemerer



Giemsa



Myc

Burkitt Lymphom (nur zum Vergleich)

Kein Bcl-2 Rearrangement

Kein Bcl-6 Rearrangement

NUR Myc-Translokation

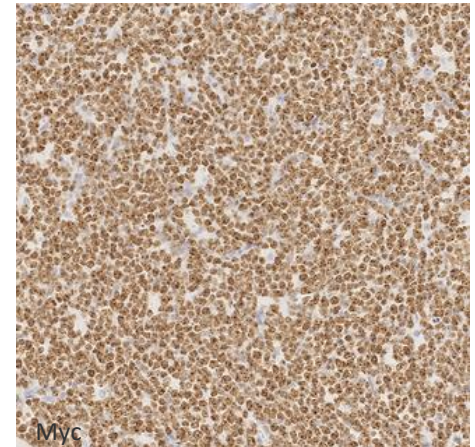
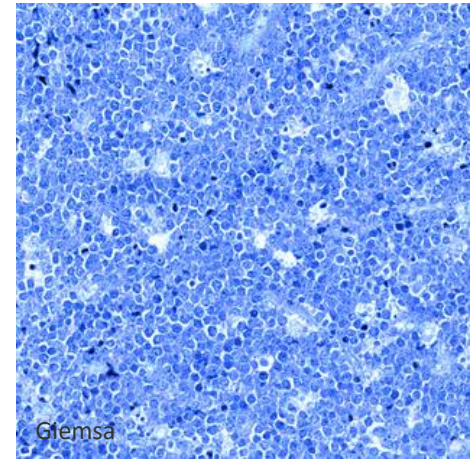
CD20 +

CD10 +

Bcl-2 -

Ki67 > 95%

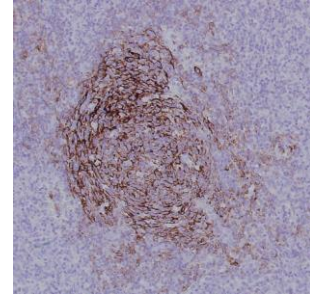
Molekulargenetik: Myc Translokation immer
BCL-2 Translokation NIE!



AITL geteilt in drei Kategorien

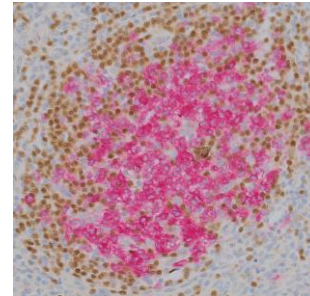
Nodal TFH cell lymphoma,
angioimmunoblastic type

70% RHOA mutiert



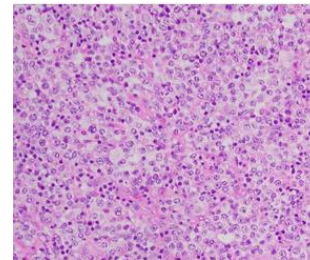
Nodal TFH cell lymphoma,
follicular-type

70% RHOA mutiert



Nodal TFH cell lymphoma, NOS

60% RHOA mutiert



New kids on the block oder alte Bekannte?

Morbus Rosai Dorfman

Keine gesicherte Malignität
keine klare Pathogenese

ABER reichlich Hämophagozytose

