

Aus der Klinik für Hämatologie, Onkologie und klinische Immunologie

Direktor: Prof. Dr. med. R. Haas

Neue Aspekte zu Diagnostik, Prognostizierung und Therapie von Patienten  
mit myelodysplastischen Syndromen (MDS)

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität

Düsseldorf

vorgelegt von

Jennifer Kaivers

(2016)

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen  
Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf  
gez.:

Dekan: Herr Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker  
Erstgutachter: Herr Prof. Dr. med. Ulrich Germing  
Zweitgutachter: Herr Prof. Dr. med. Thomas Meissner

## Auflistung der Publikationen

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Gyan E, Andrieu V, Sanna A, Caille A, **Schemenau J**, Sudaka I, Siguret V, Malet M, Park S, Bordessoule D, Mairesse J, Gelsi-Boyer V, Cheze S, Beyne-Rauzy O, Sébert M, Sapena R, Zerazhi H, Legros L, Guerci-Bresler A, Amé SN, Germing U, Santini V, Salvi F, Gioia D, Lunghi M, Dreyfus F, Fenaux P; Groupe Francophone des Myélodysplasies, Fondazione Italiana per le Sindromi Mielodisplastiche (FISMonlus), and Düsseldorf MDS Registry. Myelodysplastic syndromes with single neutropenia or thrombocytopenia are rarely refractory cytopenias with unilineage dysplasia by World Health Organization 2008 criteria and have favourable prognosis. *Br J Haematol.* 2016 Jan 15.

Xicoy B, Germing U, Jimenez MJ, Garcia O, Garcia R, **Schemenau J**, Pedro C, Luño E, Bernal T, González B, Strupp C, Ardanaz M, Kuendgen A, Cedena MT, Neukirchen J, Calabuig M, Brunet S, Medina A, Amigo ML, Ramos F, Callejas M, Díez-Campelo M, Bailén A, Collado R, Vicente A, Arnan M, Valcarcel D, Arilla MJ, Zamora L, Benlloch L, Sanz G. Response to erythropoietic-stimulating agents in patients with chronic myelomonocytic leukemia. *Eur J Haematol.* 2015 Sep 5.

Lauseker M, **Schemenau J**, Strupp C, Kündgen A, Gattermann N, Hasford J, Germing U. In patients with myelodysplastic syndromes with del(5q), factors other than age and sex contribute to the prognostic advantage, which diminishes over time. *Br J Haematol.* 2015 Sep;170(5):687-93.

Neukirchen J, Nachtkamp K, **Schemenau J**, Aul C, Giagounidis A, Strupp C, Kuendgen A, Kobbe G, Haas R, Germing U. Change of prognosis of patients with myelodysplastic syndromes during the last 30 years. *Leuk Res.* 2015 Jul;39(7):679-83.

**Schemenau J**, Baldus S, Anlauf M, Reinecke P, Braunstein S, Blum S, Nachtkamp K, Neukirchen J, Strupp C, Aul C, Haas R, Gattermann N, Germing U. Cellularity, characteristics of hematopoietic parameters and prognosis in myelodysplastic syndromes. *Eur J Haematol.* 2015 Sep;95(3):181-9.

Zamora L, Germing U, Cabezón M, Schuler E, Arnan M, Marcé S, Coll R, Pomares H, Brings C, Palomo L, **Schemenau J**, Gallardo D, Millá F, Feliu E, Xicoy B. Calreticulin mutations are not present in patients with myeloproliferative chronic myelomonocytic leukemia. *Ann Hematol.* 2015 May;94(5):869-71.

Santini V, **Schemenau J**, Levis A, Balleari E, Sapena R, Adès L, Guerci A, Beyne-Rauzy O, Gourin MP, Cheze S, Stamatoullas A, Sanna A, Gioia D, Cametti G, Ferrero D, Raffoux E, Rose C, Poloni A, Prebet T, Legros L, Natarajan-Amé S, Fenaux P, Germing U, Dreyfus F, Park S. Can the revised IPSS predict response to erythropoietic-stimulating agents in patients with classical IPSS low or intermediate-1 MDS? *Blood*. 2013 Sep 26;122(13):2286-8.

## Zusammenfassung

Fragestellung und Ziele: Diagnostik und Therapie von Patienten mit myelodysplastischen Syndromen (MDS) sind trotz aller Versuche einer Standardisierung nach wie vor in vielen Fällen schwierig. Die meiner Dissertationsschrift als Grundlagen dienenden Publikationen beschäftigen sich mit

- einem Vergleich der zytomorphologischen und histopathologischen Beurteilung von MDS-Patienten mit hypozellulärem gegenüber normo- und hyperzellulärem Knochenmark sowie den Auswirkungen der Knochenmarkzellularität auf die Hämatopoese.

- mit der Prognoseabschätzung von Patienten mit MDS del(5q), insbesondere mit Hilfe der Scores IPSS, IPSS-R und WPSS.

- der Korrelation zwischen Mutationen auf dem ASXL1-Gen und Dysplasien im Knochenmark sowie der Korrelation mit zytogenetischen und molekulargenetischen Veränderungen.

- einem Überblick über die Therapien von Patienten mit MDS am Universitätsklinikum Düsseldorf von 2007-2013.

Methodik: Alle Publikationen beruhen auf retrospektiven Datenanalysen auf der Basis des MDS-Registers Düsseldorf (Ethikvotumnummer 3008). Statistische Analysen erfolgten überwiegend mit SPSS, seltener wurde SAS genutzt. Vor jeder Analyse wurden die noch lebenden Patienten nachbeobachtet, um die Aktualität der Daten zu gewährleisten.

Ergebnisse und Diskussion: Die hohe prognostische Bedeutung histopathologischer Untersuchungen konnte hinsichtlich der Knochenmarkzellularität nachgewiesen werden. Bezüglich der Prognose haben wir herausgefunden, dass bei MDS del(5q) das *Revised International Prognostic Scoring System* (IPSS-R) eine detailliertere Beschreibung verschiedener Risikogruppen zulässt. Es findet sich bei MDS eine Korrelation zwischen dem Nachweis einer ASXL1-Mutation und der Knochenmarkzellularität, verminderten Thrombozytenzahlen, dem gehäuften Auftreten von Trisomie 8 sowie ein Zusammenhang zwischen ASXL1-Mutationen und Mutationen der Gene RUNX1, MLL und EZH2. Therapien erfolgen bei MDS überwiegend supportiv.

Schlussfolgerung: Die nachfolgende Arbeit beinhaltet diagnostische, prognostische und therapeutische Aspekte und bildet die Komplexität der myelodysplastischen Syndrome aus den genannten Perspektiven ab.

## Abkürzungsverzeichnis

AML	Akute myeloische Leukämie
ASXL1	Addition of sex combs-like 1
BCR-ABL	breakpoint cluster region -Abelson Murine Leukemia Viral Oncogene Homolog 1
BCOR	Bcl-6 Co-Repressor
CMML	Chronische myelomonozytäre Leukämie
CPSS	CMML-specific Prognostic Scoring System
DNMT3A	DNA methyltransferase 3A
EPO	Erythropoetin
ETV6	E-26 transforming specific ETS variant 6
EZH2	Enhancer of zeste homolog 2
G-CSF	Granulozyten-stimulierender Faktor
IDH	Isocitrate dehydrogenase
IPSS	International Prognostic Scoring System
IPSS-R	Revised International Prognostic Scoring System
JAK2	Janus Kinase 2
KRAS	V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog
LDH	Laktatdehydrogenase
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
MDS-CI	MDS-Comorbidity Index
MLL	Myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia
NRAS	Neuroblastoma RAS viral oncogene
RAEB	Refraktäre Anämie mit Blastenexzess
RARS	Refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten
RARS-T	Refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten und Thrombozytose
RCMD	Refraktäre Anämie mit multilineärer Dysplasie
RCUD	Refraktäre Anämie mit unilineärer Dysplasie
RUNX1	Runt-related transcription factor 1
SETBP1	SET binding protein 1
SF3B1	Splicing factor 3B1
SRSF2	Serine/arginine-rich splicing factor 2
TET2	Ten-eleven translocation 2
TP53	Tumor protein p53
U2AF1	U2 snRNP auxiliary factor 1
WPSS	WHO-adapted Prognostic Scoring System
ZRSR2	U2 small nuclear ribonucleoprotein auxiliary factor 35 kDa subunit-related protein 2

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b>	
1.1 Epidemiologie & Pathophysiologie der myelodysplastischen Syndrome	1
1.2 Diagnostik	2
1.3 Klassifikation	4
1.4 Prognose	5
1.5 Therapie	9
<b>2. Ziele der Arbeit</b>	12
<b>3. Publierte Originalarbeiten</b>	
3.1 Cellularity, characteristics of hematopoietic parameters and prognosis in myelodysplastic syndromes. Schemenau J, Baldus S, Anlauf M, Reinecke P, Braunstein S, Blum S, Nachtkamp K, Neukirchen J, Strup C, Aul C, Haas R, Gattermann N, Germing U. Eur J Haematol., 95(3):181-9, (2015)	13
3.2 The IPSS-R has prognostic impact in untreated patients with MDS del(5q). Schemenau J, Lauseker M, Hildebrandt B, Fenaux P, Pfeilstöcker M, Valent P, Platzbecker U, Kündgen A, Bug G, Haas R, Germing U. Leuk Res (Abstracts of the 13th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes (MDS)), 39 (Supplement 1):157, (2015)	22
3.3 ASXL1 mutation is associated to lower platelet counts and decreased bone marrow cellularity in MDS. Schemenau J, Betz B, Hildebrandt B, Baldus S, Kündgen A, Neukirchen J, Strupp C, Haas R, Germing U. Leuk Res (Abstracts of the 13th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes (MDS)), 39 (Supplement 1):157, (2015)	23

3.4 Survey of Treatment of 1021 Patients with Myelodysplastic Syndromes in a Tertiary Referral Center 2007-2013. Schemenau J, Nachtkamp K, Xicoy B, Kuendgen A, Strupp C, Schroeder T, Schuler E, Kobbe G, Gattermann N, Haas R, Germing U. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts), 124 (21): 4647, (2014)	24
<b>4. Diskussion</b>	25
<b>5. Schlussfolgerungen</b>	34
<b>6. Literaturverzeichnis</b>	36



## Einleitung

### Epidemiologie & Pathophysiologie der myelodysplastischen Syndrome

Myelodysplastische Syndrome (MDS) gehören zur Gruppe der klonalen Stammzellerkrankungen des Knochenmarks und treten überwiegend in höherem Lebensalter auf. Neukirchen et al. konnten zeigen, dass das mediane Erkrankungsalter bei Männern 71 Jahre und bei Frauen 75 Jahre beträgt [1]. Ebenfalls steigt die Inzidenz mit zunehmendem Alter stark an, sodass diese bei Menschen über 80 Jahren bei > 50/100.000 Einwohnern pro Jahr liegt [2].

Im Rahmen der Schädigung der Stammzellen durch verschiedene Noxen kommt es einerseits zu einer progredienten Knochenmarkinsuffizienz mit Ausbildung einer Anämie, seltener Bi- oder Panzytopenie im Blut, welche meist der erste Hinweis auf die Erkrankung darstellt. Zudem kommt es zu einer ungenügenden Ausreifung der hämatopoetischen Zellen mit Akkumulation von unreifen Vorläuferzellen (Blasten) im Blut und Knochenmark. Andererseits ist nicht nur die Quantität der Hämatopoese beeinträchtigt, sondern auch die Qualität der Blutzellen ist durch morphologisch darstellbare Zelldysplasien eingeschränkt. Oftmals kommt es gerade in Anfangsstadien der Erkrankung zu einem Befall von nur einer oder zwei Zellreihen, welcher sich jedoch im Verlauf der Erkrankung auf Erythropoese, Leukopoese und Megakaryopoese ausweiten kann.

Schließlich konnte in experimentellen Studien nachgewiesen werden, dass ebenfalls das *Microenvironment* der Stammzellen durch Fehlfunktionen der mesenchymalen Zellen unmittelbar an der Pathophysiologie der Erkrankung beteiligt ist [3].

Eine weitere Säule der Pathophysiologie bei MDS stellt der Eisenstoffwechsel dar, da es sowohl endogen durch eine gesteigerte enterale Eisenresorption als auch iatrogen durch notwendige Bluttransfusionen bei ausbleibender Eisenchelation zu einer Eisenüberladung kommt. Als Folge resultieren toxische Organschädigungen mit besonderer Einschränkung der kardialen und hepatischen Organfunktionen, sodass pathologische Veränderungen des Eisenmetabolismus zu einer erhöhten Mortalität bei MDS-Patienten beitragen.

Die mit der Erkrankung einhergehenden Symptome basieren meist auf einer Anämie, sodass die Patienten über Leistungsminderung und Abgeschlagenheit klagen. Im Rahmen der Leukopenie bemerken Patienten oft eine zunehmende Infektanfälligkeit.

Die Thrombopenie prädisponiert für vermehrte Blutungsanfälligkeit, für Patienten sind meist Petechien oder Nasen- oder Zahnfleischbluten eruierbar.

In Abhängigkeit vom MDS-Subtyp und dem biologischen Krankheitsverlauf kommt es bei ca. 20-30 % aller MDS-Patienten zu einem Übergang in eine akute myeloische Leukämie (AML), welche durch einen Anstieg der Knochenmarkblasten auf > 20 % definiert ist.

Eine weitere Einteilung der myelodysplastischen Syndrome kann anhand der Ätiologie erfolgen: Circa 90 % aller MDS entstehen als primäre Erkrankungen, d.h. in der überwiegenden Anzahl der Fälle handelt es sich um ein idiopathisches Auftreten der Erkrankung. Eine geringe Anzahl an Fallberichten beschreibt familiär gehäuftes Auftreten. In Einzelfällen tritt MDS bereits im Kindesalter auf. 10 % aller MDS-Fälle entstehen sekundär als Folge einer vorausgegangenen Knochenmarksschädigung, z.B. durch Chemotherapie oder Bestrahlung, nach einer Radiojodtherapie oder nach beruflicher Exposition mit Benzol oder ähnlichen toxischen Gefahrenstoffen.

Eine weitere Entität stellen sogenannte myelodysplastische-myeloproliferative Overlap-Syndrome dar, welche meist in Form einer chronischen myelomonozytären Leukämie (CMML) oder als refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten und Thrombozytose (RARS-T) auftreten.

## **Diagnostik**

Zur Diagnostik der myelodysplastischen Syndrome gehören die Anfertigung eines manuell ausgezählten Differenzialblutbildes zur Beurteilung von Dysplasiezeichen und die Durchführung einer Knochenmarkpunktion mit einer Biopsie zur zytomorphologischen und histologischen Untersuchung des Knochenmarks. In den letzten Jahren haben zusätzlich die zytogenetischen und molekularbiologischen Untersuchungen an Bedeutung gewonnen, da hierdurch einerseits in frühen Stadien oder bei unklaren Befunden diagnostische Aussagen getroffen werden können, andererseits auch die Prognose besser abgeschätzt werden kann.

In vielen Fällen handelt es sich bei MDS um einen Zufallsbefund, welcher über eine im Blutbild eruierbare Zytopenie bis Panzytopenie erhoben wird. Weitere aussagekräftige Parameter stellen die Laktatdehydrogenase (LDH), das Ferritin

sowie der Erythropoetinspiegel dar. Zum Ausschluss anderer Anämieformen empfiehlt sich die Analyse der Erythrozytenindices sowie die quantitative Bestimmung von Vitamin B12, Folsäure, Transferrin und dem löslichen Transferrinrezeptor sowie Hämolyseparametern.

Zellreihen	Dysplasiezeichen
Erythropoese	Megaloblastäre Transformation
	Mehrkernigkeit
	Kernabsprengungen
	Kernfaltungen
	Kernbrücken
	Sideroblastose
	Atypische Mitosen
	Zytoplasmatische Veränderungen
Granulopoese	Hyperplasie
	Linksverschiebung
	Auer-Stäbchen
	Hypogranulation
	Hypersegmentierung
	Pseudo-Pelger-Zellen
Megakaryopoese	Reifungsstörung Megakaryopoese
	Mikromegakaryozyten
	Mononukleäre Megakaryozyten
	Hypersegmentierte Megakaryozyten
	Abrundung und einzeln liegende Kernsegmente

Tabelle 1: Dysplasiezeichen des Knochenmarks bei MDS, wie im MDS Register Düsseldorf erfasst

Zur weiteren Diagnostik wird die bereits erwähnte Knochenmarkpunktion hinzu gezogen, um wie in Tabelle 1 dargestellt, Aussagen über Dysplasien und den Blastenanteil treffen zu können. In einer der hier dargestellten Veröffentlichungen konnte gezeigt werden, dass besonders für die Evaluation von Zellularität und Fibrose des Knochenmarks eine Beckenkammbiopsie mit nachfolgender histopathologischer Begutachtung unabdingbar ist, da durch eine alleinige zytomorphologische Untersuchung hierzu keine ausreichende Aussage möglich ist [4].

Zudem hat die Durchführung einer zytogenetischen Analyse in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen und erlaubt eine präzisere prognostische Einschätzung.

Weiterhin sind molekularbiologische Mutationsanalysen möglich, da bisher für einige Mutationen, beispielsweise TP53, ASXL1 und EZH2 deren prognostische Bedeutung nachgewiesen werden konnte. Zudem kann durch Mutationsanalysen eine Abgrenzung zu myeloproliferativen Syndromen, wie z.B. Polycythaemia vera, Essentielle Thrombozythämie, Osteomyelofibrose (JAK2) oder der chronischen myeloischen Leukämie (CML) (BCR-ABL) erleichtert werden.

## Klassifikation

Zunächst erfolgte die Einteilung der myelodysplastischen Syndrome 1982 gemäß der French-American-British-Klassifikation nach zytomorphologischen Kriterien in Abhängigkeit der Blastenzahlen, dem Vorhandensein von Ringsideroblasten sowie dem Anteil der Monozyten im Blut. Zur Abgrenzung zur AML wurde ein Blastenanteil von  $> 30\%$  Knochenmarkblasten definiert.

Diese in Tabelle 2 ersichtliche Einteilung wurde von einer Arbeitsgruppe der World-Health-Organisation (WHO) mehrfach überarbeitet und um Kriterien wie Anzahl der von Zytopenien betroffenen Zellreihen ergänzt [5]. Zudem wurde das MDS del(5q) als eigene Entität definiert und der Übergang in eine AML bereits bei  $> 20\%$  Knochenmarkblasten festgelegt.

MDS-Subtyp	Medulläre Blasten	Periphere Blasten	weitere Kriterien
Refraktäre Anämie - unilineär (RCUD) - multilineär (RCMD)	$< 5\%$ $< 5\%$	$\leq 1\%$ $\leq 1\%$	
Refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten (RARS)	$< 5\%$	$\leq 1\%$	$> 15\%$ Ringsideroblasten
Refraktäre Anämie mit Blastenexzess - RAEB I - RAEB II	5-10 % 11-19 %	$< 5\%$ $< 20\%$	Auerstäbchen
MDS del(5q)	$< 5\%$	$< 5\%$	isolierte Deletion 5q
Chronische myelomonozytäre Leukämie - CMML I - CMML II	$< 10\%$ 10-19 %	$< 5\%$ 5-19 %	Monozyten im peripheren Blut $> 1000/\mu\text{l}$
AML	$> 20\%$	$> 20\%$	

Tabelle 2: WHO-Klassifikation 2008 [5]

## Prognose

Tabelle 3 zeigt das *International Prognostic Scoring System* (IPSS), den führenden Prognosescore, welcher für myelodysplastische Syndrome entwickelt wurde und eine Einteilung in vier Risikokategorien ermöglicht. Berücksichtigt werden hierbei die Kriterien Blastenanteil, Karyotyp und Anzahl der Zytopenien. Das mediane Überleben liegt hierbei je nach Risikogruppe bei 5,7 Jahren (günstiges Risiko), 3,5 Jahren (intermediäres Risiko-1), 1,2 Jahren (intermediäres Risiko-2) und 0,4 Jahren (hohes Risiko) [6].

Punktwert	0	0,5	1	1,5	2
Blasten (medullär, in %)	< 5	5-10	-	11-20	21-30
Karyotyp <sup>1</sup>	günstig	intermediär	ungünstig		
Zytopenien <sup>2</sup>	0-1	2-3			
Karyotyp <sup>1</sup> :	günstig:	normal, -Y, del(5q), del(20q)			
	intermediär:	andere Anomalien			
	ungünstig:	komplex (> 3 Aberrationen), Veränderungen an Chromosom 7			
Zytopenien <sup>2</sup> :	Hämoglobin	< 10 g/dl			
	Granulozyten	< 1800 / $\mu$ l			
	Thrombozyten	< 100.000 / $\mu$ l			

Risikoscore	Punkte	Medianes Überleben (Jahre)	AML-Transformation bei 25 % aller Patienten (Jahre)
günstig	0	5,7	9,4
intermediär-1	0,5-1	3,5	3,3
intermediär-2	1,5-2	1,2	1,1
ungünstig	> 2,5	0,4	0,2

Tab. 3: *International Prognostic Scoring System* (IPSS) [6]

Im Jahre 2012 wurde wie in Tabelle 4 dargestellt ein fünfstufiges *Revised International Prognostic Scoring System* (IPSS-R) publiziert, welches den IPSS um feiner definierte Angaben hinsichtlich des Blastenanteils sowie dem Ausmaß der Zytopenien ergänzt und chromosomale Aberrationen mit mehr Gewicht und überarbeiteter Kategorisierung einbezieht. Das mediane Überleben liegt nach IPSS-R bei 8,8 Jahren (sehr günstiges Risiko), 5,3 Jahren (günstiges Risiko), 3,0 Jahren (intermediäres Risiko), 1,6 Jahren (hohes Risiko) bzw. 0,8 Jahren (sehr hohes Risiko) [7].

Punktwert	0	0,5	1	1,5	2	3	4
Zytogenetik	sehr günstig		günstig		intermediär	ungünstig	sehr ungünstig
Blasten (%)	≤ 2		>2 - <5		5-10	> 10	
Hämoglobin (g/dl)	≥10		8- < 10	< 8			
Thrombozyten (x 10 <sup>9</sup> /l)	≥100	50-<100	<50				
Neutrophile Granulozyten (/μl)	≥800	<800					

Zytogenetische Subgruppen	Zytogenetische Anomalien
sehr günstig	-Y, del(11q)
günstig	normal, del(5q), del(12p), del(20q), zweifach inkl. del(5q)
intermediär	del(7q), +8, +19, i(17q), weitere einfache-zweifache Klone
ungünstig	-7, inv(3)/t(3q)/del(3q), zweifach inkl. -7/del(7q), komplex: 3 Anomalien
sehr ungünstig	komplex: > 3 Anomalien

Risikoscore	Punkte	Medianes Überleben (Jahre)	AML-Transformation bei 25 % aller Patienten (Jahre)
sehr günstig	≤ 1,5	8,8	NR
günstig	> 1,5-3	5,3	10,8
intermediär	>3-4,5	3,0	3,2
ungünstig	>4,5-6	1,6	1,4
sehr ungünstig	>6	0,8	0,73

Tabelle 4: Revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R) [7]

Die Risikoparameter, welche in beiden Scores (IPSS und IPSS-R) berücksichtigt werden, sind neben dem Blastenanteil zunächst das Ausmaß der Zytopenien innerhalb der drei Zellreihen mit daraus resultierendem Transfusionsbedarf. Hinzu kommen chromosomale Aberrationen, wobei ein normaler Karyotyp, ein Verlust des Y-Chromosoms, eine Deletion 11q und eine Deletion 5q als prognostisch günstig angesehen werden. Als intermediäre zytogenetische Risikofaktoren gelten die Trisomie 8 sowie die Deletion 7q. Prognostisch ungünstig werden eine Monosomie 7 oder komplexe Karyotypen mit > 3 Aberrationen erachtet.

Trotz ihrer prognostischen Aussagekraft wirft die Bewertung einzelner Entitäten dennoch einige Fragen auf. Besonders das MDS del(5q), aber auch die chronische myelomonozytäre Leukämie (CMML) sowie sekundäre MDS stellen aufgrund einiger klinischer Besonderheiten prognostisch nur schwerlich beurteilbare Subtypen dar. Für die Prognoseabschätzung bei CMML wurde kürzlich das CMML-specific Prognostic Scoring System (CPSS) veröffentlicht, welches in Tabelle 5 gezeigt wird [8].

Punktwert	0	1	2
WHO Subtyp	CMML-1 (Blasten im PB <sup>1</sup> <5 %, im KM <sup>2</sup> < 10 %)	CMML-2 (Blasten im PB <sup>1</sup> 5-19 %, im KM <sup>2</sup> 10-19 %, oder bei Vorliegen von Auer-Stäbchen)	-
FAB Subtyp	CMML-MD (WBC <sup>3</sup> < 13x10 <sup>9</sup> /l)	CMML-MP (WBC <sup>3</sup> ≥ 13x10 <sup>9</sup> /l)	-
Zytogenetik	günstig	intermediär	ungünstig
RBC <sup>4</sup> Transfusionsabhängigkeit*	nein	ja	-

Zytogenetik: günstig: normal, isoliert -Y, intermediär: andere Anomalien, ungünstig: Trisomie 8, komplex (≥ 3 Anomalien), Veränderungen an Chromosom 7  
<sup>1</sup>PB = Peripheres Blut, <sup>2</sup>KM = Knochenmark, <sup>3</sup>WBC = Leukozyten, <sup>4</sup>RBC= Erythrozytenkonzentrate  
\* mindestens 1 Erythrozytenkonzentrat alle 8 Wochen über 4 Monate

Risikoscore	Punkte	Medianes Überleben (Monate)	AML-Transformation bei 25 % aller Patienten (Monate)
günstig	0	61	59
intermediär-1	1	31	24
intermediär-2	2-3	15	13
ungünstig	4-5	9	4

Tabelle. 5: CMML-specific Prognostic Scoring System (CPSS) [8]

Zusätzlich zu MDS-Subtyp und Transfusionsbedarf wirken sich das Alter sowie das Geschlecht ebenfalls auf die Prognose der Patienten aus.

Im Rahmen der Niedrigrisiko-MDS gewinnt das MDS del(5q) durch die Therapiemöglichkeit mit Lenalidomid und seinem meist milden klinischen Verlauf stark an Bedeutung. MDS del(5q) tritt überwiegend bei Frauen im medianen Alter von 67 Jahren auf und geht oftmals mit einer Thrombozytose und gutem Ansprechen auf Lenalidomid einher. Im Verlauf wird genauer auf die prognostische Einstufung des 5q- Syndroms nach IPSS-R eingegangen [9].

Ein für MDS del(5q) aussagekräftiger Score ist das in Tabelle 6 erläuterte WHO Classification-Based Prognostic Scoring System (WPSS), welches neben dem CPSS als einziges Prognosesystem den Transfusionsbedarf direkt berücksichtigt. Zusätzlich werden WHO-Subtypen sowie zytogenetische Aberrationen zur Prognoseabschätzung heran gezogen [10].

Punktwert	0	1	2	3
WHO Subtyp	RA/ RARS/ 5q-	RCMD/ RSCMD	RAEB-1	RAEB-2
Zytogenetik*	günstig	intermediär	ungünstig	-
Transfusionsabhängigkeit**	nein	ja		

\*Zytogenetik: günstig: normal, del(5q), del(20q), -Y; intermediär: andere Anomalien; ungünstig: komplex (≥ 3 Anomalien), Veränderungen an Chromosom 7  
\*\*Transfusionsabhängigkeit: 1 Transfusion alle 8 Wochen über 3 Monate

Risikoscore	Punkte	Medianes Überleben (Monate)	AML-Transformation nach 2 Jahren	AML-Transformation nach 5 Jahren
sehr günstig	0	141	0,03	0,03
günstig	1	66	0,06	0,14
intermediär	2	48	0,21	0,33
ungünstig	3-4	26	0,38	0,54
sehr ungünstig	5-6	9	0,8	0,84

Tabelle 6: WHO Classification-Based Prognostic Scoring System (WPSS) [10]

Zur Abschätzung der Prognose eines MDS Patienten sind maßgeblich der MDS Subtyp, der Transfusionsbedarf sowie der Allgemeinzustand des Patienten von Bedeutung. Zur Beurteilung des Allgemeinzustands werden sowohl der Karnofsky-Score, als auch der ECOG-Score angewendet. Tabelle 7 zeigt einen vor kurzem publizierten MDS-spezifischen Komorbiditätsscore mit Schwerpunkt auf kardialen, renalen, pulmonalen und hepatischen Erkrankungen sowie dem möglichen Vorliegen einer weiteren malignen Neoplasie [11].

Komorbidität	Punktwert
Kardiologische Erkrankung	2
Milde oder schwere hepatische Erkrankung	1
Schwere pulmonale Erkrankung	1
Nephrologische Erkrankung	1
Solider Tumor	1
<b>MDS-CI Risiko</b>	
günstig	0
intermediär	1-2
ungünstig	> 2

Tabelle 7: MDS Comorbidity Index (MDS-CI) [11]

Zuletzt wurden vermehrt molekulare Marker untersucht, um prognostische Aussagen treffen zu können. Vor allem für TP53, ASXL1, DNMT3A und EZH2 konnte eine negative prognostische Bedeutung nachgewiesen werden wie Tabelle 8 zeigt [12]. Bisher liegen jedoch noch keine Daten zu klinischen Zusammenhängen dieser



Mutationen mit der Hämatopoese oder Genotyp-Phänotyp-Korrelationen vor. Im Verlauf werden die Auswirkungen der Mutationen im ASXL1-Gen (*addition of sex combs-like 1-Gen*) auf die Hämatopoese und den klinischen Verlauf erläutert [13].

Funktion	Mutation	Prognose	Frequenz
Transkriptionsfaktoren	RUNX1	ungünstig	9 - 16 %
	TP53	ungünstig	2 - 21 %
	BCOR	ungünstig	4 %
	ETV6	ungünstig	1,3 - 3 %
DNA- Methylierung	DNMT3A	ungünstig	13 - 18 %
	TET2	neutral	12 - 23 %
Methylierung/ Histonmodifikation	IDH1 / IDH2	nicht eindeutig	2 - 9 %
Histonmodifikation	ASXL1	ungünstig	14 - 29 %
	EZH2	ungünstig	6 - 8 %
Splicingfaktoren	SF3B1	günstig	9 - 75 %
	SRSF2	ungünstig	12 - 15 %
	U2AF1	ungünstig	12 - 16 %
	ZRSR2	neutral	3 - 11 %
Signaltransduktion	NRAS/KRAS	ungünstig	3 - 4 %

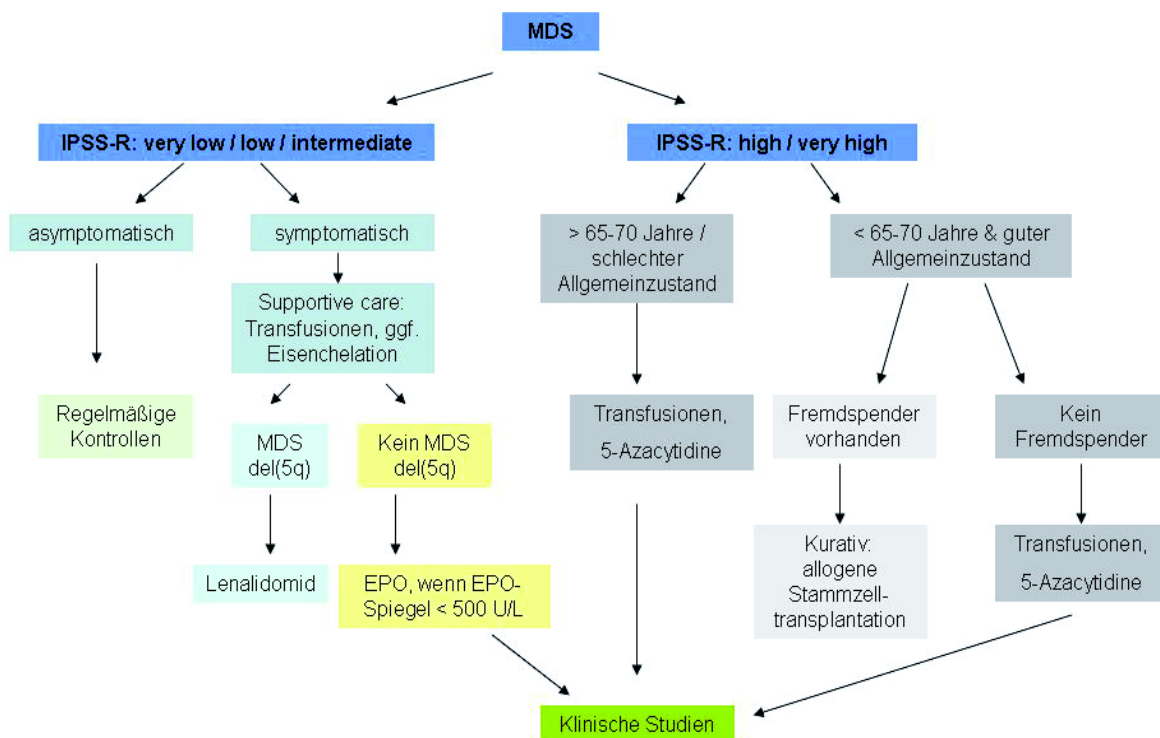
Tabelle 8: Übersicht relevanter molekularer Marker bei MDS [12]

## Therapie

Die Therapie der myelodysplastischen Syndrome basiert zumeist auf supportiven Maßnahmen, wie Transfusionen, Applikation von Eisenchelatoren und Antibiotikagabe sowie der Applikation von Wachstumsfaktoren wie Erythropoetin (EPO) und *Granulocyte-Colony Stimulating Factor* (G-CSF). Dies liegt zum einen an dem durchschnittlich hohen Erkrankungsalter der Patienten sowie dem gehäuften Auftreten von Komorbiditäten und dem daraus resultierenden verschlechterten Allgemeinzustand. Zum anderen sind bisher nur drei Medikamente für die Behandlung myelodysplastischer Syndrome in Deutschland und Europa zugelassen. Zudem gibt es aufgrund der meist erst kürzlich erfolgten Zulassungen nur wenige Daten zur Langzeittherapie mit den entsprechenden Präparaten.

Obwohl viele klinische Studien angeboten werden, verhindern die meist strengen Einschluss- und Ausschlusskriterien die konsequente Behandlung zahlreicher Patienten, sodass nur ein geringer Anteil eine Behandlung innerhalb einer klinischen Studie erhält.

Die meisten vorhandenen Therapien ermöglichen bisher nur eine palliative Behandlung. Die einzig kurative Behandlungsmöglichkeit stellt die allogene Stammzelltransplantation dar, welche jedoch meist in Abhängigkeit vom Allgemeinzustand des Patienten bis zu einem Alter von 65-70 Jahren durchgeführt werden kann und somit für einen Großteil der MDS-Patienten nicht verfügbar ist.



Grafik 1: Therapiealgorithmus bei MDS (adaptiert nach Germing et al. [2])

Klinisch erfolgt bei MDS-Patienten eine Stratifizierung in Niedrigrisiko- und Hochrisikopatienten, woraufhin weitere Therapieentscheidungen unter zusätzlicher Berücksichtigung von Alter, Begleiterkrankungen und dem Wunsch des Patienten getroffen werden. Grafik 1 zeigt die aktuell durchführbaren Therapieoptionen.

Bei Patienten mit einem geringen Progressionsrisiko und ohne Symptome kann eine abwartende Strategie mit regelmäßigen Blutbildkontrollen erwogen werden.

Patienten mit Anämiesymptomatik oder Blutungszeichen sollten regelmäßige Bluttransfusionen erhalten. Vor allem bei Transfusionen von Erythrozyten-

konzentraten sollten regelmäßige Ferritinkontrollen durchgeführt werden, um einer Eisenüberladung mit einem Ferritinwert  $> 1.000$  ng/ml frühzeitig mit Eisenchelatoren wie Deferoxamin oder Deferasirox zu begegnen. Zudem kann bei einem EPO-Spiegel  $< 500$  U/L die subkutane Applikation von rekombinantem Erythropoetin zu einem Anstieg des Hämoglobinwertes mit Transfusionsfreiheit oder Verminderung der benötigten Erythrozytenkonzentrate führen. Einer ausgeprägten Leukopenie kann durch regelmäßige Gaben von G-CSF begegnet werden.

Für Patienten mit 5q- Syndrom ist mittlerweile Lenalidomid, eine antiangiogenetische, immunmodulatorische Substanz zur Behandlung zugelassen, worunter viele Patienten Transfusionsfreiheit und zytogenetische Remissionen erreichen [14].

Bei Hochrisikopatienten in gutem Allgemeinzustand und jünger als 65-70 Jahre bietet sich als einzige kurative Möglichkeit die allogene Stammzelltransplantation an.

Sollte das Alter, der Allgemeinzustand des Patienten oder ein fehlender Fremdspender eine solche Therapie nicht erlauben, bleibt als palliative Therapie die Möglichkeit der Gabe von hypomethylierenden Substanzen wie 5-Azacytidine oder Decitabine.

In der folgenden Diskussion werden die Häufigkeiten und Problematiken bestimmter Therapien erläutert [15].

## **Ziele der Arbeit**

Die Ziele der meiner Dissertation zugrundeliegenden Arbeiten sowie der laufenden Forschungsprojekte bestehen darin, verschiedene Aspekte zur Diagnostik, Prognoseabschätzung sowie Therapien bei MDS zu beleuchten. Zentrales Thema dieser Arbeit stellt die Beurteilung der Knochenmarkzellularität und ihr Zusammenhang mit der Pathophysiologie der Erkrankung sowie ihre klinischen Auswirkungen dar. Diese Publikation wurde als eine der wenigen Arbeiten auf diesem Gebiet 2015 im European Journal of Hematology veröffentlicht. Wir konnten belegen, dass neben der prognostischen Bedeutung der Zellularität Knochenmarkausstriche zu einer ungenauen morphologischen Beurteilung der Zellularität besonders bei hypozellulärem Knochenmark führen und daher eine Knochenmarkbiopsie zur histologischen Untersuchung durchgeführt werden sollte. Da die Aussagekraft von prognostischen Scores bei MDS-Entitäten wie MDS del(5q) eingeschränkt ist, beschäftigten wir uns in einer internationalen Studie mit Kooperationspartnern aus Österreich, Frankreich, Deutschland und Italien mit der prognostischen Aussagekraft des IPSS-R bei Patienten mit MDS del(5q). Wir analysierten Daten von MDS-Patienten mit isoliertem MDS del(5q) oder MDS del(5q) mit weiteren zytogenetischen Aberrationen und verglichen die Risikostratifizierung nach IPSS und IPSS-R, welcher eine präzisere Einteilung für Patienten mit MDS del(5q) erlaubt. Zudem beschäftigten wir uns mit Mutationen des ASXL1-Gens, deren Auswirkungen auf die Hämatopoese und den klinischen Verlauf unserer Patienten. Die Arbeit umfasst 131 MDS Patienten, von denen 23,6 % eine ASXL1-Mutation aufweisen. In Bezug auf die Knochenmarkzellularität konnte gezeigt werden, dass hyperzelluläres Knochenmark seltener mit ASXL1-Mutationen vergesellschaftet ist, sondern häufiger bei hypo- und normozellulärem Knochenmark auftritt. Zudem wiesen Patienten mit ASXL1-Mutation signifikant geringere Thrombozytenwerte und eine verminderte Zellularität der Megakaryopoese auf. In einer Metaanalyse zu Therapien bei MDS wurden Daten von 1021 Patienten des Düsseldorfer MDS Registers retrospektiv auf verabreichte Therapien zwischen 2007-2013 untersucht. Unsere Arbeit konnte deutlich die Abhängigkeit zwischen Therapiearm und jeweiliger Risikogruppe sowie Änderungen der Therapien in Abhängigkeit von Progressionen der MDS-Erkrankung zeigen. Wir streben eine übersichtliche Darstellung der durchgeführten Therapien an, da es wenige aussagekräftige Studien mit großen Patientenkohorten auf dem Gebiet der myelodysplastischen Syndrome gibt.



REVIEW ARTICLE

## Cellularity, characteristics of hematopoietic parameters and prognosis in myelodysplastic syndromes

Jennifer Schemenau<sup>1</sup>, Stephan Baldus<sup>2</sup>, Martin Anlauf<sup>2</sup>, Petra Reinecke<sup>2</sup>, Stefan Braunstein<sup>2</sup>, Sabine Blum<sup>3</sup>, Kathrin Nachtkamp<sup>1</sup>, Judith Neukirchen<sup>1</sup>, Corinna Strup<sup>1</sup>, Carlo Aul<sup>4</sup>, Rainer Haas<sup>1</sup>, Norbert Gattermann<sup>1</sup>, Ulrich Germing<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Hematology, Oncology, and Clinical Immunology, University Hospital Düsseldorf, Düsseldorf; <sup>2</sup>Department of Pathology, University Hospital Düsseldorf, Düsseldorf, Germany; <sup>3</sup>Department of Hematology and Oncology, University of Lausanne, Lausanne, Switzerland; <sup>4</sup>St Johannes Hospital, Hematology, Oncology, and Clinical Immunology, Duisburg, Germany

### Abstract

**Background:** Myelodysplastic syndromes (MDS) present with a normo- or hyperplastic bone marrow in most cases. We aimed at a characterization of patients with different types of cellularity. **Methods:** We assessed marrow cellularity both by histology and cytology in 1270 patients and analyzed hematologic, cytogenetic, and prognostic parameters accordingly. **Results:** The concordance of the assessment of cellularity differed dramatically between histology and cytology as only 36.5% were described as hypocellular by both methods ( $P < 0.0005$ ) (hypocellular 16.4%, normocellular 23.3%, hypercellular 60.3%). There were no major differences with regard to hematopoietic insufficiency. The presence of fibrosis was associated to hypercellular bone marrow. Median survival differed from 38 months in hypocellular, 42 months in normocellular, and 25 months in hypercellular MDS ( $P < 0.0005$ ). AML progression rates were 33% for hypercellular MDS after 2 yr, whereas hypo- and normocellular had a progression rate of 19% after 2 yr ( $P = 0.018$ ). IPSS and IPSS-R were able to identify different risk groups within all three cellularity groups. **Conclusion:** Based on our data, hypocellular patients obviously do not present as a separate entity, as there were no striking differences with regard to cytogenetics and WHO types. Assessment of cellularity should be performed by histopathology.

**Key words** bone marrow cellularity; cytogenetics; myelodysplastic syndromes; prognosis

**Correspondence** Jennifer Schemenau, Department of Hematology, Oncology, and Clinical Immunology, University Hospital Düsseldorf, Moorenstraße 5, 40225 Düsseldorf, Germany. Tel.: 0049211/ 8117720; Fax: 0049211/ 8104940; e-mail: jennifer.schemenau@uni-duesseldorf.de

Accepted for publication 11 December 2014

doi:10.1111/ejh.12512

Myelodysplastic syndromes (MDS) comprise heterogeneous stem cell disorders characterized by hematopoietic insufficiency and increased risk of progression to acute myeloid leukemia (AML). The majority of patients present with a normo- or hypercellular bone marrow (1). In some cases, the cellularity of the marrow is reduced. Bone marrow cellularity in healthy individuals depends on the patients' age. Patients over 70 yr with a bone marrow cellularity less than 20% of the average are considered as hypocellular cases (2). Patients <70 yr of age presenting with a cellularity reduced to 30% are considered as having a hypocellular marrow as well. There is some evidence that patients with hypoplastic MDS can successfully be treated with immunosuppressive agents

such as ATG (3), CSA (4), and more recently anti-CD52 antibodies (5, 6). A predictive score for patients undergoing immunosuppressive treatment was proposed including cellularity of the marrow, indicating that hypocellular MDS potentially should be regarded as a separate entity (7).

However, cellularity has yet not been taken into account when classifications (WHO2008) and prognostic scoring systems (Düsseldorf Score (8); Bournemouth, IPSS (9), IPSS-R (10), WPSS (11), MDACC (12)) were developed. As a result, patients with a hypocellular marrow use to be treated together with patients with normo- or hypercellular marrow, also within clinical trials. Most studies and analyses even do not distinguish between hyper- and hypocellular bone marrow.

We therefore analyzed a large number of patients from the Düsseldorf MDS registry with special focus on bone marrow cellularity. We aimed at a better description of MDS types, hematological, and cytogenetic characteristics as well as risk of AML transformation and survival in patients with hypocellular MDS compared to patients with normo- or hypercellular bone marrow.

### Patients and methods

We used data of 1270 patients in the Düsseldorf MDS registry, of whom both standardized cytologic classification and assessment of cellularity by means of histopathology were available. The patients were divided into hypercellular, normocellular, and hypocellular cases by reviewing the bone marrow biopsy specimen. This review was performed at the Department of Pathology (P.R., M.A., S.B., S.Br.). Our pathologists performed age-adjusted cellularity assessment. Several studies (13, 14) defined cellularity cutoffs from <30% for hypocellular, 30–50% for normocellular, and >50% for hypercellular bone marrow, which is suitable for a population of patients aged about 70 yr. This is in accordance with our patient cohort.

In addition, cellularity in the smears as well as standardized cytologic classification following the WHO2008 proposals (Brunner *et al.*) was performed at the hematological laboratory of the Department of Hematology, Oncology and Clinical Immunology, following the standardized procedure of the Düsseldorf MDS registry (U.G., C.A.)

All patients were followed up until December 31, 2013. Hematological features such as hemoglobin, ANC, platelets, lactate dehydrogenase, cytogenetic findings, WHO types, medullary blasts counts, IPSS (9), IPSS-R (10), WPSS (11), MDACC (12), AML transformation rates, and overall survival were analyzed for hypocellular MDS compared to separate groups of normo- and hypercellular MDS using the chi-squared test and the Mann–Whitney U-test, respectively. Results were achieved by univariate and multivariate analyses. Survival and AML transformation were analyzed by use of the Kaplan–Meier method. *P* values were calculated using the log-rank test.

### Results

We identified 208 hypocellular (16.4%), 296 normocellular (23.3%), and 766 hypercellular cases (60.3%) based on histopathology.

### Comparing cytology and histology

First, we compared the assessment of cellularity by cytology and histology. Defining histopathology as a gold standard to assess marrow cellularity, cytologic assessment correctly identified both 60% of the normo- and hypercellular cases.

For hypocellular MDS, the results do not correspond in many cases. Only 36.5% of all hypocellular MDS assessed by histopathology are regarded as hypocellular in the cytology, whereas 43.2% were described as normocellular and even 20.3% are diagnosed as hypercellular bone marrow ( $P < 0.0005$ ).

### Patients' characteristics

Initially, both primary and secondary MDS were included in our study. Analyses showed that there is a significantly higher occurrence of hypocellular marrow in secondary MDS ( $P = 0.001$ ). Due to discrepancies concerning the application of prognostic scores and a differing distribution of cytogenetic anomalies, we excluded secondary MDS and will report on primary MDS only.

Tables 1 and 2 present hematological, morphological, and prognostic characteristics of the three groups. There were no differences with regard to age and general health status ( $P = \text{n.s.}$ ). Men appear to be concerned by hypercellular MDS slightly more often than women ( $P = 0.042$ ). Hemoglobin levels were not significantly different ( $P = \text{n.s.}$ ). Platelet counts were significantly lower in hypocellular cases; normocellular bone marrow is associated to the highest platelet counts ( $P = 0.001$ ). ANC levels were significantly lower in hypocellular MDS, when compared to normo- and hypercellular cases ( $P < 0.0005$ ). LDH values were significantly higher in cases with hypercellular marrow ( $P < 0.0005$ ), but there was no difference between normo- and hypocellular cases. Elevated LDH levels ( $>240$  U/L) are associated to hypercellular bone marrow and occur less often in hypo- and normocellular MDS ( $P < 0.0005$ ).

Regarding changes in the bone marrow, an increased number of granulopoietic precursor cells could be found for hypercellular MDS ( $P < 0.0005$ ). Increase of lymphoid cells in the bone marrow was detected in hypocellular cases more frequently than compared to normo- and hypercellular MDS ( $P < 0.0005$ ).

Medullary blast counts  $<5\%$  were seen in normocellular marrow (69.3%) more often compared to hypocellular (52.7%) and hypercellular marrow (51.6%). Apparently, hypocellular and normocellular patients with MDS present with lower percentages of increased blast counts compared to hypercellular MDS ( $P < 0.0005$ ).

Corresponding to lower blast counts, hypo- and normocellular MDS show a higher association to RCUD, RCMD, and RARS, when comparing all cellularity groups to the WHO classification (RCUD: hypocellular 9.2%, normocellular 11.8%, hypercellular 4.4%,  $P < 0.0005$ ). CMML-1 and CMML-2 are rare in hypocellular cases. (CMML-1: hypocellular 1.9%, normocellular 6.2%, hypercellular 14.0%). CMML-2 also is associated to hypercellular bone marrow (hypocellular 1.0%, normocellular 1.4%, hypercellular 4.1%).

**Table 1** Age and hematological parameters according to bone marrow cellularity

	Hypocellular 16.4% <i>n</i> = 208	Normocellular 23.3% <i>n</i> = 296	<i>P</i> -value (hypocellular vs. normocellular)	Hypercellular 60.3% <i>n</i> = 766	<i>P</i> -value (hypocellular vs. hypercellular)	Normo-/hypercellular 82.7% <i>n</i> = 1145	<i>P</i> -value (hypocellular vs. normo-/ hypercellular)
Age	<i>n</i> = 208	<i>n</i> = 296	n.s.	<i>n</i> = 766	n.s.	<i>n</i> = 1062	n.s.
Mean	67.3	69.0		67.2		67.7	
Median	69.4	70.8		68.8		69.3	
Range	15.9–94.9	19–90.5		13.6–95.7		13.64–95.73	
Hb (g/dL)							
<i>n</i> = 1357	<i>n</i> = 205	<i>n</i> = 288	n.s.	<i>n</i> = 751	n.s.	<i>n</i> = 1039	n.s.
Mean	9.56	9.9		9.6		9.7	
Median	9.7	9.7		9.5		9.5	
Range	4.2–14.3	4.0–16.9		3.9–17.5		3.9–17.5	
PLA							
<i>n</i> = 1346	<i>n</i> = 203	<i>n</i> = 283	0.001	<i>n</i> = 746	0.008	<i>n</i> = 1029	0.002
Mean	130.5	176.8		162.6		166.5	
Median	88.0	133.0		117.0		120.0	
Range	3–676	1–1190		0–1350		0–1350	
ANC							
<i>n</i> = 985	<i>n</i> = 189	<i>n</i> = 264	0.014	<i>n</i> = 681	<0.0005	<i>n</i> = 945	<0.0005
Mean	1877.8	2366.7		4169.9		3666.2	
Median	1350.0	1799.2		2214		2040	
Range	1–11076	28–20592		4–91636		4–91636	
LDH (U/L)							
<i>n</i> = 1230	<i>n</i> = 190	<i>n</i> = 257	n.s.	<i>n</i> = 682	<0.0005	<i>n</i> = 939	0.004
Mean	214.9	217.9		263.1		250.7	
Median	191.5	189.0		209.5		200	
Range	5–1650	75–1176		2–1848		2–1848	
WBC							
<i>n</i> = 1347	<i>n</i> = 205	<i>n</i> = 283	0.001	<i>n</i> = 746	<0.0005	<i>n</i> = 1029	<0.0005
Mean	3539.9	4392.2		8087.7		7071.4	
Median	3100	3700		4600		4300	
Range	300–14200	500–26400		4–147800		4–147800	

RAEB-1 and RAEB-2 are less frequent in normocellular MDS, as compared to hypo- and hypercellular MDS (RAEB-1: hypocellular 15.0%, normocellular 7.6%, hypercellular 12.4%; RAEB-2: hypocellular 18.0%, normocellular 12.1%, hypercellular 13.2%).

Fibrosis is associated with hypercellular marrow in most cases (21.0%). In hypocellular (14.1%) and normocellular (9.7%) MDS, fibrosis appears less often ( $P = 0.0005$ ).

Karyotypes at diagnosis were available in 704 patients. Chromosomes were analyzed following the risk categories identified in both IPSS and IPSS-R and the most common cytogenetic changes. There were differences with regard to cytogenetic risk groups as defined by the IPSS and IPSS-R between hypo-, normo-, and hypercellular cases (IPSS  $P = 0.002$ ; IPSS-R  $P = 0.007$ ). Analyses revealed that hypocellular and hypercellular MDS have higher rates of monosomy 7 (hypocellular 7.4%, normocellular 6.4%, hypercellular 9.8%). Furthermore 7q- have a somewhat higher association with hypocellularity than monosomy 7 (hypocellular 8.4%; normocellular 5.5%; hypercellular 4.4%;  $P = 0.009$ ).

When comparing the most influencing cytogenetic aberrations such as normal karyotypes, 5q-, 7q-, and monosomy 7, it is striking that a favorable deletion of 5q appears less often in hypercellular MDS (hypocellular: 17.9%, normocellular: 20.0%, hypercellular: 8.1%). Normal karyotypes appear less often in hypocellular and normocellular MDS (hypocellular: 66.3%; normocellular 68.2%, hypercellular: 77.8%;  $P = 0.009$ ).

### Survival and AML progression

Figure 1 presents survival rates that differ with regard to bone marrow cellularity from 38, 42, and 25 months for hypo-, normo-, and hypercellular cases ( $P < 0.0005$ ) (Table 3). Figure 2 provides additional data on survival for hypoplastic MDS according to IPSS-R ( $P = 0.003$ ).

Bone marrow cellularity has a significant impact on AML progression rates either after 2 yr (19.1%, 19.5%, 33.0%) or 5 yr (40.7%, 41.0%, 45.0%) after first diagnosis ( $P = 0.018$ ) (Table 3). Figure 3 represents the risk of AML transformation according to cellularity ( $P = 0.018$ ),

**Table 2** Distribution of disease-related parameters

	Hypocellular 16.4% <i>n</i> = 208	Normocellular 23.3% <i>n</i> = 296	Hypercellular 60.3% <i>n</i> = 766	<i>P</i> -value
Gender (%)				<i>P</i> = 0.042
Male	15.2, <i>n</i> = 113	21.6, <i>n</i> = 161	61.5, <i>n</i> = 471	<i>n</i> = 745
Female	18.1, <i>n</i> = 95	25.7, <i>n</i> = 135	56.2, <i>n</i> = 295	<i>n</i> = 525
General health condition (%)				<i>P</i> = n.s.
Good	25.2, <i>n</i> = 26	15.5, <i>n</i> = 16	59.2, <i>n</i> = 61	<i>n</i> = 103
Poor	19.0, <i>n</i> = 8	23.8, <i>n</i> = 10	57.1, <i>n</i> = 24	<i>n</i> = 42
Cytology (%)				<i>P</i> < 0.0005
Hypocellular	36.5, <i>n</i> = 70	11.4, <i>n</i> = 32	7.5, <i>n</i> = 53	<i>n</i> = 155
Normocellular	43.2, <i>n</i> = 83	60.7, <i>n</i> = 170	30.4, <i>n</i> = 214	<i>n</i> = 467
Hypercellular	20.3, <i>n</i> = 39	27.9, <i>n</i> = 78	62.1, <i>n</i> = 438	<i>n</i> = 555
Marrow blasts (%)				<i>P</i> < 0.0005
<5	52.7, <i>n</i> = 109	69.3, <i>n</i> = 205	51.6, <i>n</i> = 393	<i>n</i> = 707
≥ 5	47.3, <i>n</i> = 98	30.7, <i>n</i> = 91	48.4, <i>n</i> = 368	<i>n</i> = 557
Medullary blasts (%)				<i>P</i> < 0.0005
0–2	37.2, <i>n</i> = 77	47.3, <i>n</i> = 140	35.6, <i>n</i> = 271	<i>n</i> = 488
3–4	15.5, <i>n</i> = 32	22.0, <i>n</i> = 65	16.0, <i>n</i> = 122	<i>n</i> = 219
5–9	16.9, <i>n</i> = 35	12.5, <i>n</i> = 37	22.7, <i>n</i> = 173	<i>n</i> = 245
10–19	17.9, <i>n</i> = 37	11.1, <i>n</i> = 33	15.6, <i>n</i> = 119	<i>n</i> = 189
20–30	12.6, <i>n</i> = 26	7.1, <i>n</i> = 21	10.0, <i>n</i> = 76	<i>n</i> = 123
LDH (U/L) (%)				<i>P</i> < 0.0005
≤ 240	80.5, <i>n</i> = 153	73.9, <i>n</i> = 190	61.1, <i>n</i> = 417	<i>n</i> = 760
> 240	19.5, <i>n</i> = 37	26.1, <i>n</i> = 67	38.9, <i>n</i> = 265	<i>n</i> = 369
Fibrosis present (%)	14.1, <i>n</i> = 26	9.7, <i>n</i> = 26	21.0, <i>n</i> = 142	<i>P</i> = 0.0005
Increased granulopoietic precursor cells (%)				<i>P</i> < 0.0005
Yes	58.8	49.1	64.7	
No	41.2	50.9	35.3	
Increase of lymphoid cells (%)				<i>P</i> < 0.0005
Yes	24.4, <i>n</i> = 41	18.2, <i>n</i> = 50	12.3, <i>n</i> = 83	<i>n</i> = 174
No	75.6, <i>n</i> = 127	81.8, <i>n</i> = 225	87.7, <i>n</i> = 594	<i>n</i> = 946
WHO2008 (%)				<i>P</i> < 0.0005
RCUD	9.2, <i>n</i> = 19	11.8, <i>n</i> = 34	4.4, <i>n</i> = 33	<i>n</i> = 86
RARS	1.9, <i>n</i> = 4	6.9, <i>n</i> = 20	6.7, <i>n</i> = 50	<i>n</i> = 74
RCMD	33.5, <i>n</i> = 69	42.9, <i>n</i> = 124	32.0, <i>n</i> = 240	<i>n</i> = 433
MDS del(5q)	7.3, <i>n</i> = 15	4.5, <i>n</i> = 13	2.3, <i>n</i> = 17	<i>n</i> = 45
RAEB1	15.0, <i>n</i> = 31	7.6, <i>n</i> = 22	12.4, <i>n</i> = 93	<i>n</i> = 146
RAEB2	18.0, <i>n</i> = 37	12.1, <i>n</i> = 35	13.2, <i>n</i> = 99	<i>n</i> = 171
CMML1	1.9, <i>n</i> = 4	6.2, <i>n</i> = 18	14.0, <i>n</i> = 105	<i>n</i> = 127
CMML2	1.0, <i>n</i> = 2	1.4, <i>n</i> = 4	4.1, <i>n</i> = 31	<i>n</i> = 37
RAEB-T	11.7, <i>n</i> = 24	5.5, <i>n</i> = 16	9.1, <i>n</i> = 68	<i>n</i> = 108
RARS-T	0.5, <i>n</i> = 1	1.0, <i>n</i> = 3	2.0, <i>n</i> = 15	<i>n</i> = 19
Cytogenetics				<i>P</i> = n.s.
IPSS (%)				
Good	70.9, <i>n</i> = 90	64.2, <i>n</i> = 106	64.7, <i>n</i> = 273	<i>n</i> = 469
Intermediate	9.4, <i>n</i> = 12	19.4, <i>n</i> = 32	14.7, <i>n</i> = 62	<i>n</i> = 106
Poor	19.7, <i>n</i> = 25	16.4, <i>n</i> = 27	20.6, <i>n</i> = 87	<i>n</i> = 139
Cytogenetics (%) IPSSR				<i>P</i> = 0.06
Very good	3.1, <i>n</i> = 4	4.8, <i>n</i> = 8	1.9, <i>n</i> = 8	<i>n</i> = 20
Good	66.4, <i>n</i> = 85	60.6, <i>n</i> = 100	62.6, <i>n</i> = 264	<i>n</i> = 449
Intermediate	14.1, <i>n</i> = 18	19.4, <i>n</i> = 32	16.6, <i>n</i> = 70	<i>n</i> = 120
Poor	12.5, <i>n</i> = 16	6.7, <i>n</i> = 11	7.6, <i>n</i> = 32	<i>n</i> = 59
Very poor	3.9, <i>n</i> = 5	8.5, <i>n</i> = 14	11.4, <i>n</i> = 48	<i>n</i> = 67
Cytogenetics (%)				<i>P</i> = 0.009
Normal	66.3, <i>n</i> = 63	68.2, <i>n</i> = 75	77.8, <i>n</i> = 231	<i>n</i> = 369
5q-	17.9, <i>n</i> = 17	20.0, <i>n</i> = 22	8.1, <i>n</i> = 24	<i>n</i> = 63
7q-	8.4, <i>n</i> = 8	5.5, <i>n</i> = 6	4.4, <i>n</i> = 13	<i>n</i> = 27
Monosomy 7	7.4, <i>n</i> = 7	6.4, <i>n</i> = 7	9.8, <i>n</i> = 29	<i>n</i> = 43

(continued)



Table 2 (continued)

	Hypocellular 16.4% <i>n</i> = 208	Normocellular 23.3% <i>n</i> = 296	Hypercellular 60.3% <i>n</i> = 766	<i>P</i> -value
IPSS (%)				<i>P</i> = 0.002
Low	19.4, <i>n</i> = 25	37.6, <i>n</i> = 59	21.8, <i>n</i> = 91	<i>n</i> = 175
Intermediate-1	32.6, <i>n</i> = 42	31.2, <i>n</i> = 49	37.3, <i>n</i> = 156	<i>n</i> = 247
Intermediate-2	25.6, <i>n</i> = 33	16.6, <i>n</i> = 26	18.9, <i>n</i> = 79	<i>n</i> = 138
High	22.5, <i>n</i> = 29	14.6, <i>n</i> = 23	22.0, <i>n</i> = 92	<i>n</i> = 144
IPSS-R(%)				<i>P</i> = 0.007
Very low	11.1, <i>n</i> = 13	18.9, <i>n</i> = 28	9.7, <i>n</i> = 36	<i>n</i> = 77
Low	22.2, <i>n</i> = 26	33.1, <i>n</i> = 49	29.7, <i>n</i> = 110	<i>n</i> = 185
Intermediate	35.0, <i>n</i> = 41	19.6, <i>n</i> = 29	23.2, <i>n</i> = 86	<i>n</i> = 156
High	18.8, <i>n</i> = 22	13.5, <i>n</i> = 20	20.8, <i>n</i> = 77	<i>n</i> = 119
Very high	12.8, <i>n</i> = 15	14.9, <i>n</i> = 22	16.5, <i>n</i> = 61	<i>n</i> = 98
WPSS (%)				<i>P</i> = n.s.
Very low	3.4, <i>n</i> = 2	6.6, <i>n</i> = 5	2.1, <i>n</i> = 3	<i>n</i> = 10
Low	22.4, <i>n</i> = 13	26.3, <i>n</i> = 20	19.6, <i>n</i> = 28	<i>n</i> = 61
Intermediate	22.4, <i>n</i> = 13	26.3, <i>n</i> = 20	30.1, <i>n</i> = 43	<i>n</i> = 76
High	39.7, <i>n</i> = 23	27.6, <i>n</i> = 21	37.1, <i>n</i> = 53	<i>n</i> = 97
Very high	12.1, <i>n</i> = 7	13.2, <i>n</i> = 10	11.2, <i>n</i> = 16	<i>n</i> = 33
Düsseldorf score (%)				<i>P</i> < 0.0005
Low	10.2, <i>n</i> = 19	22.8, <i>n</i> = 58	15.3, <i>n</i> = 103	<i>n</i> = 180
Intermediate	62.6, <i>n</i> = 117	59.4, <i>n</i> = 151	55.1, <i>n</i> = 370	<i>n</i> = 638
High	27.3, <i>n</i> = 51	17.7, <i>n</i> = 45	29.6, <i>n</i> = 199	<i>n</i> = 295
MDACC (%)				<i>P</i> = n.s.
Low	52.4, <i>n</i> = 11	45.0, <i>n</i> = 9	25.0, <i>n</i> = 12	<i>n</i> = 32
Intermediate	19.0, <i>n</i> = 4	25.0, <i>n</i> = 5	37.5, <i>n</i> = 18	<i>n</i> = 27
High	28.6, <i>n</i> = 6	30.0, <i>n</i> = 6	37.5, <i>n</i> = 18	<i>n</i> = 30

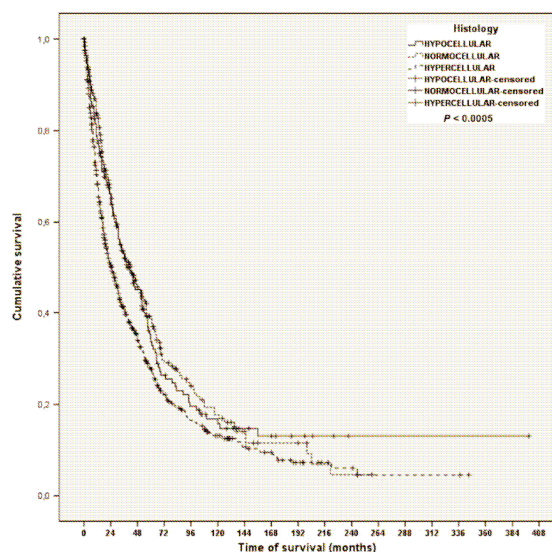


Figure 1 Survival according to cellularity.

whereas Fig. 4 focuses on the risk of AML transformation in hypoplastic MDS when taking into consideration all IPSS-R risk groups. The long-term probability of AML

transformation in hypocellular cases is not higher as in the other cases.

A comparison between survival times of patients with differing bone marrow cellularity suffering either from RCMD, RAEB-1, or RAEB-2 did not show significant results (*P* = n.s.).

### Prognostic scores

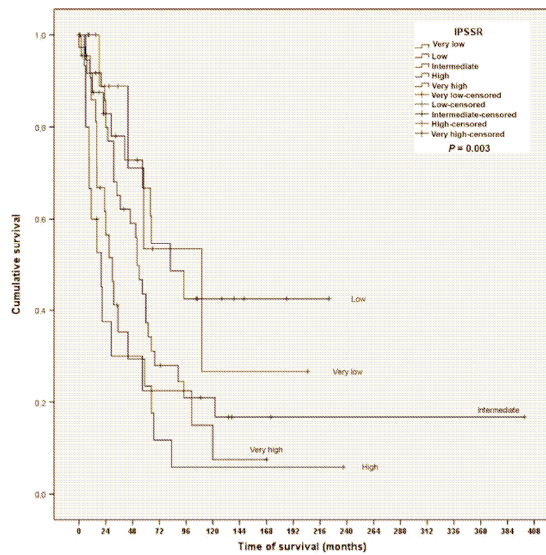
In our analyses, we used the IPSS, IPSS-R, WPSS, MDACC, and the Düsseldorf score, in order to detect their prognostic power according to bone marrow cellularity. The IPSS, IPSS-R, and the Düsseldorf score showed significant differences for all risk groups for hypo-, normo-, and hypercellular MDS with regard to survival (Table 4). The WPSS did not show a significant distribution for hypocellular MDS, but for both normo- and hypercellular cases. The MDACC failed to provide us with a significant distribution for hypo- and normocellular MDS. This fact might be explained by the small number of patients in the hypocellular category for WPSS and MDACC.

### Multivariate analyses

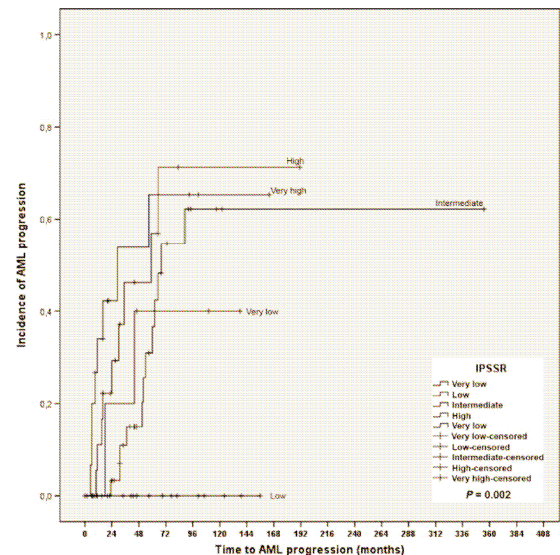
Finally, we examined, if cellularity itself adds prognostic information to the IPSS, IPSS-R, and WPSS. Interestingly,

**Table 3** Survival and AML progression according to cellularity

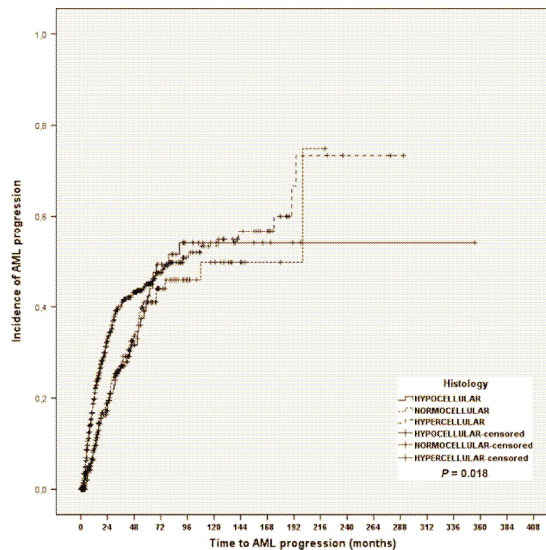
	Hypocellular	Normocellular	Hypercellular	P-value	Normo-/hypercellular	P-value
Median survival (months)	38.0	42.0	25.0	<0.0005	28.9	0.059
% Of patients died	66.8 (133/199)	65.1 (184/283)	73.7 (539/731)	<0.0005 (856/1213)	71.3 (723/1014)	0.059
AML progression after 2 yr (%)	19.1	19.5	33.0	0.018	29.1	0.148
AML progression after 5 yr (%)	40.7	41.0	45.0		44.0	



**Figure 2** Outcome for hypoplastic MDS according to IPSS-R.



**Figure 4** AML transformation for hypoplastic MDS according to IPSS-R.



**Figure 3** AML progression according to cellularity.

multivariate analyses revealed that cellularity has independent prognostic impact when calculated together with all parameters of the IPSS-R (Table 5), except for

hemoglobin, which does not provide additional prognostic information.

**Discussion**

In this study, based on data of 1270 patients of the Dueseldorf MDS registry, we could show that cytologic assessment of cellularity was weak, especially for hypocellular bone marrow, that fibrosis was not associated with hypocellular MDS, that parameters of hematopoietic insufficiency mostly differ significantly between hypo-, normo-, and hypercellular cases, that the prognosis of hypocellular cases was slightly better as compared to hypercellular cases, and finally that the IPSS and the IPSS-R were able to stratify risk groups irrespectively of cellularity of the marrow.

Given the fact that most studies focused on survival benefits and treatment options, potential differences in survival or treatment response for cellularity were not considered. Only a few analyses on bone marrow cellularity were performed until now, obviously with differing results.

We therefore initiated a comparison between histologically assessed hypocellular, normocellular, and hypercellular MDS

**Table 4** Survival (months) according to prognostic scores

	Hypocellular	Normocellular	Hypercellular
IPSS	$P < 0.0005$	$P < 0.0005$	$P < 0.0005$
Low	109.9 months	104.1	83.0
Intermediate-1	50.9	60.9	30.0
Intermediate-2	33.9	18.0	15.0
High	18.0	12.0	8.1
IPSS-R	$P = 0.003$	$P < 0.0005$	$P < 0.0005$
Very low	109.9	104.1	59.0
Low	82.0	76.1	63.9
Intermediate	52.0	31.9	23.9
High	30.0	22.9	13.9
Very high	19.9	8.9	7.9
WPSS	$P = 0.098$	$P < 0.0005$	$P < 0.0005$
Very low	n.r.	n.r.	n.r.
Low	93.9	76.0	106.9
Intermediate	44.0	64.0	47.0
High	52.0	26.9	25.9
Very high	30.9	13.9	8.9
Düsseldorf score	$P = 0.027$	$P < 0.0005$	$P < 0.0005$
low	43.9	94.9	72.0
Intermediate	50.9	40.9	25.0
High	16.0	16.0	9.9
MDACC	$P = 0.118$	$P = 0.112$	$P = 0.047$
Low	43.9	42.9	30.1
Intermediate	67.9	3.0	11.9
High	23.9	4.9	8.0

**Table 5** Multivariate analysis of prognostic scores and cellularity

	$\chi^2$	$P$
Cytogenetics according to IPSS-R	82.03	<0.0005
Medullary blasts according to IPSS-R	46.39	<0.0005
Histocellularity	17.96	<0.0005
ANC according to IPSS-R	9.16	0.002

and concentrated on hematological features as well as cytogenetics, WHO classification, use of prognostic scores, survival, and AML progression. To the best of our knowledge, this was the first large report on cellularity, taking into account the assessment of cellularity comparing both histology and cytology.

Although there was a detailed definition on cellularity assessment, the concordance of cellularity assessed with histology and cytology obviously was weak, even when well standardized cytologic procedures were performed. Perhaps this fact was the reason, why data on cellularity of MDS were sparse. Especially, many hypocellular cases could not be identified correctly by cytology. Therefore, the assessment of cellularity should be performed primarily by histopathology.

The majority of studies and registries did not perform histological examination of the marrow. Even large studies on histopathology of MDS did not describe cellularity in detail

(15, 16). However, both the Italian and the German studies found an association between fibrosis and hypercellularity. This is in-line with our data.

Data published by Maschek *et al.* (17) showed similar results concerning the necessity of histopathology with regard to cellularity, AML progression, and survival. In addition to that we could confirm a significantly higher occurrence of lymphoid cells in hypoplastic bone marrow.

Tuzuner *et al.* (18) performed a study on hypocellular MDS with an age-corrected group of patients. Age, sex distribution, karyotypes, and AML transformation rates were not significantly different. In our study, we also could show a survival benefit for patients with hypocellular and normocellular bone marrow. Furthermore, most of the patients had normal karyotypes in both studies.

Interestingly, the appearance of chromosomal aberrations of chromosome 7 played a controversial role in all studies mentioned. Maschek *et al.* reported changes of chromosome 7 in 3 patients out of 6 with karyotype analyses. Tuzuner *et al.* mentioned one patient with hypocellular MDS and monosomy 7. Our results represented a quite similar distribution of monosomy 7 in all cellularity groups, but a slightly higher occurrence of 7q- in hypocellular MDS. Corrêa de Souza *et al.* (19) recently published a study on cytogenetic changes in a mixed cohort of both pediatric and adult patients with primary hypocellular MDS but did not find specific chromosomal changes associated to hypocellular MDS.

Additionally, Huang *et al.* (20) concentrated on differences in the occurrence of changes in chromosome 7 and reported that monosomy 7 or 7q- were more frequent in normo- or hypercellular MDS, although the study population was quite small. Nevertheless, we found corresponding results for an influence of bone marrow cellularity on bone marrow blast counts and WHO subtypes as well as a more favorable survival in hypoplastic MDS.

Following our data, there were differences between hypo-, normo-, and hypercellular cases with regard to parameters of hematopoietic insufficiency. This was reflected by the fact that the well-established prognostic scoring systems were able to separate risk groups in hypo-, normo-, and hypercellular groups. Obviously, there was no need for a specific prognostic score for hypocellular cases.

The fact that hypocellular MDS presented with slightly poorer cytogenetics was not reflected by an adverse outcome. With regard to prognosis, there was no difference between hypocellular and normocellular cases, including a very similar risk of AML progression. However, our analyses could show that hypercellularity obviously was associated with an adverse prognosis. This probably can be explained by a higher number of poor risk cytogenetics reflected by a high percentage of high and very high-risk patients according to prognostic scoring systems, ending up in a higher progression rate. The higher LDH values

additionally reflected high cell turnover potentially indicating a rapid decrease of hematopoiesis leading to life-threatening hematopoietic insufficiency. One could speculate if hypercellularity at diagnosis was a sign of increased proliferation on the one hand, but decreased maturation at the same time. As we have not enough follow-up data of cell counts during the course of the disease, we cannot provide data based information to that point. A long-term follow-up of the development of hematopoietic insufficiency as performed by Itzykson *et al.* (21) taking into account cellularity could elucidate this topic. As we could show, cellularity added prognostic information to scores such as the IPSS or IPSS-R as well as AML transformation and overall survival. Therefore, a histologic assessment should be performed at diagnosis.

In summary, we think there was not enough evidence to define hypocellular MDS as a specific entity. Although the pathophysiology of hypocellular MDS seems to differ from other forms of MDS, which potentially was reflected by different treatment approaches, the major parameters that influence prognosis and course of the disease were not specific. The histologic assessment of cellularity, however, provides prognostic information, if hypercellularity is described and allows the separation of important differential diagnosis such as aplastic anemia.

### Conflict of interest

There is no conflict of interest concerning the contents and the publication of this manuscript.

### References

- Brunning RD, Orazi A, Germing U, *et al.* Myelodysplastic syndromes/neoplasms, overview. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, *et al.*, eds: *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon: IARC press; 2008: 87–104.
- Brunning RD, Germing U. Myelodysplastic syndromes. In: Orazi A, Weiss LM, Foucar K, Knowles DM. *Neoplastic Hematopathology*, 3rd edn. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2014: 1076–1107.
- Stadler M, Germing U, Kliche KO, *et al.* A prospective, randomised, phase II study of horse antithymocyte globulin vs rabbit antithymocyte globulin as immune-modulating therapy in patients with low-risk myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 2004;**18**:460–5.
- Jonášova A, Neuwirtová R, Cermák J, Vozobulová V, Mocičková K, Sisková M, Hochová I. Cyclosporin A therapy in hypoplastic MDS patients and certain refractory anaemias without hypoplastic bone marrow. *Br J Haematol* 1998;**100**:304–9.
- Sloand EM, Olnes MJ, Shenoy A, *et al.* Alemtuzumab treatment of intermediate-1 myelodysplasia patients is associated with sustained improvement in blood counts and cytogenetic remissions. *J Clin Oncol* 2010;**28**:5166–73.
- Neukirchen J, Platzbecker U, Sockel K, Tsamaloukas A, Haas R, Germing U. Real life experience with alemtuzumab treatment of patients with lower-risk MDS and a hypocellular bone marrow. *Ann Hematol* 2014;**93**:65.
- Sauntharajah Y, Nakamura R, Wesley R, Wang QJ, Barrett AJ. A simple method to predict response to immunosuppressive therapy in patients with myelodysplastic syndrome. *Blood* 2003;**102**:3025–7.
- Aul C, Gattermann N, Heyll A, Germing U, Derigs G, Schneider W. Primary myelodysplastic syndromes: analysis of prognostic factors in 235 patients and proposals for an improved scoring system. *Leukemia* 1992;**6**: 52–9.
- Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, *et al.* International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood* 1997;**89**:2079–88.
- Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, *et al.* Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood* 2012;**120**:2454–65.
- Malcovati L, Germing U, Kuendgen A, *et al.* Time-dependent prognostic scoring system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2007;**25**:3503–10.
- Tong WG, Quintás-Cardama A, Kadia T, *et al.* Predicting survival of patients with hypocellular myelodysplastic syndrome: development of a disease-specific prognostic score system. *Cancer* 2012;**118**:4462–70.
- Tuzuner N, Cox C, Rowe JM, Bennett JM. Bone marrow cellularity in myeloid stem cell disorders: impact of age correction. *Leuk Res* 1994;**18**:559–64.
- Hartsock RJ, Smith EB, Petty CS. Normal variations with aging of the amount of hematopoietic tissue in bone marrow from the anterior iliac crest. A study made from 177 cases of sudden death examined by necropsy. *Am J Clin Pathol* 1965;**43**:326–31.
- Buesche G, Teoman H, Wilczak W, *et al.* Marrow fibrosis predicts early fatal marrow failure in patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 2008;**22**:313–22. Epub 2007 Nov 22.
- Della Porta MG, Malcovati L, Boveri E, *et al.* Clinical relevance of bone marrow fibrosis and CD34-positive cell clusters in primary myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2009;**27**:754–62.
- Maschek H, Kaloutsi V, Rodriguez-Kaiser M, Werner M, Choritz H, Mainzer K, Dietzfelbinger M, Georgii A. Hypoplastic myelodysplastic syndrome: incidence, morphology, cytogenetics, and prognosis. *Ann Hematol* 1993;**66**:117–22.
- Tuzuner N, Cox C, Rowe JM, Watrous D, Bennett JM. Hypocellular myelodysplastic syndromes (MDS): new proposals. *Br J Haematol* 1995;**91**:612–7.
- Corrêa de Souza D, de Souza Fernandez C, Camargo A, Apa AG, Sobral da Costa E, Bouzas LF, Abdelhay E, de Souza Fernandez T. Cytogenetic as an important tool for

- diagnosis and prognosis for patients with hypocellular primary myelodysplastic syndrome. *Biomed Res Int.* 2014;**2014**:542395.
20. Huang TC, Ko BS, Tang JL, *et al.* Comparison of hypocellular myelodysplastic syndrome (MDS) with normo-/hypercellular MDS by International Prognostic Scoring System, cytogenetic and genetic studies. *Leukemia* 2008;**22**:544–50.
21. Itzykson R, Smith A, de Witte T, *et al.* Prognostic relevance of the kinetics of worsening of cytopenias in lower-risk MDS: a substudy from the European Leukemianet Low Risk MDS (EUMDS) Registry. *Blood* 2012;**120**:700.

318

**THE IPSS-R HAS PROGNOSTIC IMPACT IN UNTREATED PATIENTS WITH MDS DEL(5Q)**

J. Schemenau<sup>1</sup>, M. Lauseker<sup>2</sup>, B. Hildebrandt<sup>3</sup>, P. Fenaux<sup>4</sup>, M. Pfeilstöcker<sup>5</sup>, P. Valent<sup>6</sup>, U. Platzbecker<sup>7</sup>, A. Kündgen<sup>1</sup>, G. Bug<sup>8</sup>, R. Haas<sup>1</sup>, U. Germing<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Hematology and Oncology, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf, Germany; <sup>2</sup>Institut für Medizinische Informationsverarbeitung Biometrie und Epidemiologie, Ludwig-Maximilians-Universität, Munich, Germany; <sup>3</sup>Department of Human Genetics, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf, Germany; <sup>4</sup>Department of Hematology, Hôpital St. Louis Université Paris 7, Paris, France; <sup>5</sup>Department of Hematology and Oncology, Hanusch-Krankenhaus, Vienna, Austria; <sup>6</sup>Department of Internal Medicine I Division of Hematology and Hemostaseology, Medical University of Vienna, Vienna, Austria; <sup>7</sup>Department of Hematology and Oncology, Carl Gustav Carus University, Dresden, Germany; <sup>8</sup>Department of Internal Medicine Hematology/Oncology, University Hospital Frankfurt, Frankfurt, Germany

**Introduction:** Since its publication, the IPSS-R proved to be a powerful tool, in order to assess prognosis and outcome in MDS patients. In this study we aimed at a validation for MDS patients with del(5q) being classified low or intermediate-1 after the IPSS.

**Methods:** 186 MDS patients with del(5q) and IPSS-R from MDS centers in Austria, France and Germany were included in this study after being classified as low or intermediate-1 risk according to the IPSS. Patients were followed-up until 31<sup>st</sup> december 2014. Kaplan-Meier estimators (for survival) and cumulative incidences considering competing risks (for progression) as well as Cox models (for both) were performed to describe the natural course of the disease. Patients either were not treated with Lenalidomide or were censored at the time of treatment start.

**Results:** 71.0% of all patients were female, median age was 67 years. According to WHO 2008, 62.4% suffered from MDS del(5q), 10.2% were RCUD, 3.8% RARS, 13.4% RCMD and 10.2% RAEB-I.

53.8% (n=100) of all patients were classified as IPSS low, showing a distribution of very low (21%), low (73%) and intermediate (6%) in the IPSS-R. 46.2% (n=86) were IPSS intermediate-1 and low (43%), intermediate (41%) and high (16%) after the IPSS-R.

Median survival for IPSS low was 7.2 years, for intermediate-1 8.9 years. According to IPSS-R, we observed differences (p=0.028), as median survival for very low risk was 7.3 years, low 8.9 years, intermediate 5.8 years and high 2.7 years (p=0.0021). In a univariate Cox model with the IPSS-R as continuous variable, the hazard ratio per increase of the score by 1 was 1.311 (p=0.013).

When performing multivariate analyses, age and transfusion dependency had a significant impact on survival both when calculated within the IPSS-R or the IPSS model (p<0.001).

Analyzing AML progression using the IPSS, there were no significant differences between low and intermediate-1 groups (HR: 1.412 in favor of low risk). The IPSS-R, however, showed striking differences in progression rates between the risk groups. When IPSS-R categories were considered as for progression, the hazard ratios (compared to very low each) increased from low (3.746) over intermediate (5.099) to high risk (6.773) patients. Multivariate analyses for AML progression revealed that transfusion dependency was the only influencing parameter.

**Discussion:** In MDS with del (5q), the IPSS-R reflects the prognosis of patients more accurately than the IPSS. Nevertheless a comparison remains unsatisfactory due to low patient numbers within the separate risk groups.

317

**ASXL1 MUTATION IS ASSOCIATED TO LOWER PLATELET COUNTS AND DECREASED BONE MARROW CELLULARITY IN MDS**

J. Schemenau<sup>1</sup>, B. Betz<sup>2</sup>, B. Hildebrandt<sup>2</sup>, S. Baldus<sup>3</sup>, A. Kündgen<sup>1</sup>, J. Neukirchen<sup>1</sup>, C. Strupp<sup>1</sup>, R. Haas<sup>1</sup>, U. Germing<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Hematology and Oncology, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf, Germany; <sup>2</sup>Department of Human Genetics, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf, Germany; <sup>3</sup>Department of Pathology, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf, Germany

**Introduction:** ASXL1 mutations in MDS are known to be a poor prognostic marker (Chen et al., Blood 2014). In this study, we focused on clinical differences in ASXL1 mutated and wildtype patients such as bone marrow cellularity, hematological parameters, cytogenetic aberrations as well as molecular anomalies.

**Methods:** 131 MDS patients, of whom 31 (23.6%) showed a mutation in ASXL1, were included in this study and followed up until 31<sup>st</sup> december 2014 following the procedures of the Düsseldorf MDS registry. Analyses were performed using univariate statistical methods such as  $\chi^2$ -test and T-test. Histologically assessed bone marrow cellularity, hematological parameters, cytogenetic aberrations and cytomorphologic anomalies were taken into consideration.

**Results:** ASXL1 mutations appear more frequently in patients with hypo- or normocellular bone marrow (p=0.014). Only 20% of ASXL1 positive patients present with hypercellular bone marrow compared to 53.7% in wildtype patients.

Platelet counts are lower in ASXL1 mutated patients (p=0.006), which could be underlined by a decreased cellularity of megakaryopoiesis in those patients' bone marrow (p=0.047).

Other criteria like age, gender, WHO subtypes, marrow blast count, cytologic bone marrow dysplasia, hematologic parameters or etiology were not found to be associated to ASXL1 mutations.

Concerning cytogenetic anomalies an association between ASXL1 and trisomy 8 could be found as all patients (n=3) presenting with trisomy 8 were equally ASXL1 mutated (p=0.041). All patients with MDS del(5q) (n=9) however showed a wild type (p=0.041). At the same time the coexistence of ASXL1 mutations as well as RUNX1 (p=0.003), MLL (p=0.009) and EZH2 (p=0.001) mutations could be proven.

**Discussion:** ASXL1 mutations show distinct characteristics in clinical features such as lower platelet counts, decreased bone marrow cellularity, decreased number of megakaryocytes, karyotype and other molecular findings, such as RUNX1, MLL and EZH2 mutations. Similar results with regard to cytogenetics and molecular findings were recently published by Chen et al..

It is therefore of great importance to combine molecular and clinical results, in order to establish further diagnostic criteria, which might help to better predict patients' course of the disease and outcome in the near future.

## 4647 Survey of Treatment of 1021 Patients with Myelodysplastic Syndromes in a Tertiary Referral Center 2007-2013

Program: Oral and Poster Abstracts

Session: 637. Myelodysplastic Syndromes – Clinical Studies: Poster III

Monday, December 8, 2014, 6:00 PM-8:00 PM

West Building, Level 1 (Moscone Center)

**Jennifer Schemenau**<sup>1\*</sup>, **Kathrin Nachtkamp**, MD<sup>2\*</sup>, **Blanca Xicoy**, MD, PhD<sup>3\*</sup>, **Andrea Kuendgen**, MD<sup>4\*</sup>, **Corinna Strupp**, MD<sup>1\*</sup>, **Thomas Schroeder**, MD<sup>5\*</sup>, **Esther Schuler**<sup>6\*</sup>, **Guido Kobbe**, MD<sup>7\*</sup>, **Norbert Gattermann**, MD<sup>1</sup>, **Rainer Haas**, MD<sup>4\*</sup> and **Ulrich Germing**<sup>6\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Hematology, Oncology and Clinical Immunology, Heinrich-Heine-University Duesseldorf, Duesseldorf, Germany,

<sup>2</sup>Department of Haematology, Oncology and Clinical Immunology, Heinrich-Heine-University Duesseldorf, Duesseldorf, Germany, <sup>3</sup>Institut de Recerca contra la Leucèmia Josep Carreras-ICO Badalona, Hospital Germans Trias i Pujol-Universitat Autònoma de Barcelona, Badalona, Spain, <sup>4</sup>Department of Hematology, Oncology, and Clinical Immunology, Heinrich-Heine-University Duesseldorf, Duesseldorf, Germany,

<sup>5</sup>Department of Hematology, Oncology and Clinical Immunology, University of Duesseldorf, Medical Faculty, Duesseldorf, Germany,

<sup>6</sup>Department of Hematology, Oncology and Clinical Immunology, University Hospital Düsseldorf, Düsseldorf, Germany, <sup>7</sup>Department of Hematology, Oncology and Clinical Immunology, University of Duesseldorf, Medical Faculty, Duesseldorf, Germany

**Introduction:** Clinical course, prognosis, and therapy are heterogeneous in patients with myelodysplastic syndromes (MDS). Iron chelation, epigenetic treatment, lenalidomide, and allogeneic stem cell transplantation are the only approved therapies. As these treatments are successful only in a minority of patients, other approaches, which do not always meet the criteria of evidence-based medicine, are also used in an individualized manner. In order to get a comprehensive picture of MDS treatment we analysed 1021 patients who were treated between 2007 and 2013. We included patients with RAEB-T (5%) and CMML (10%). Treatment regimens were initiated at our department.

**Methods:** Diagnoses were established within the Düsseldorf MDS Registry. All treatments were documented until 31 Dec 2013. Prognostic risk assessment was performed according to the International Prognostic Scoring System (IPSS) and its revised version (IPSS-R).

**Results:** Median age was 68 years (18-93 years), 13.5 % of patients were >80 years of age. 41% were diagnosed as RCMD, 12% as RAEB I, 15% as RAEB II, 4% as MDSdel(5q), 5% as RARS, and 9% as RCUD. Anemia was present at first diagnosis in 62.5%, hemorrhagic diathesis in 10%, and at least one comorbidity in 51%.

Transfusion therapy was the only treatment in 57% of the patients. 43% (n=441) received at least one specific treatment during the course of the disease. The median number of different therapies was 2 (range 1-9). Of these, 29.9% received cytokines (Epo, G-CSF), 14.4% iron chelation, 11.0% immunomodulation (lenalidomide, thalidomide), 8.7% immunosuppressive treatment (ATG, CSA, AntiCD52), 16.4% cytoreduction (Ara-C, hydroxyurea), and 16.4% valproic acid as a histone-deacetylating agent (HDAC), partly in combination with all-trans retinoic acid. 28.3% were treated with hypomethylating agents (5-azacytidine, decitabine), 14.6% with induction chemotherapy, and 31.1% underwent allogeneic stem cell transplantation. 5.2 % of the patients were treated within clinical trials. Treatment approaches were distributed among IPSS risk groups as follows: cytokines (low: 55.6%/ intermediate-1: 32.8% /intermediate-2: 24.1%/ high: 9.1%), chelation (18.1%/20.9%/8.9%/4.5%), epigenetic treatment (HMA) (6.9%/19.4%/48.1%/54.5%), immunomodulation (19.4%/13.4%/7.6%/2.3%), immunosuppressive treatment (5.6%/17.2%/2.5%/0.0%), HDA (26.4%/16.4% /11.4%/13.6%), induction chemotherapy (5.6%/9.7%/20.3%/34.1%), cytoreduction (9.7%/13.4%/20.3%/13.6%), and allogeneic stem cell transplantation (13.9%/32.8%/48.1%/54.5%). Using the IPSS-R, results were similar: cytokines (very low: 62.5%/low:38.0%/intermediate:25.3%/high:29.6%/very high:11.5%), chelation (15.6%/26.0%/10.1%/14.8%/5.8%), epigenetic treatment (HMA)(6.3%/8.0%/ 30.4%/40.7%/44.2%), immunomodulation (9.4%/18.0%/7.6%/7.4%/5.8%), immunosuppression (9.4%/11.0%/16.5%/3.7%/3.8%), HDA (21.9%/26.0% /13.9 %/11.1%/15.4%), induction chemotherapy (6.3%/7.0%/17.7%/20.4%/26.9%), cytoreduction (12.5%/11.0%/20.3%/14.8%/15.4%) and allogeneic transplantation (15.6%/22.0%/36.7%/48.1%/50.0%). More than 96% of the patients who were treated with HMA, induction chemotherapy or allogeneic transplantation had high-risk MDS (at least IPSS intermediate II) either at diagnosis or during the course of the disease.

**Conclusions:** Our survey shows that off-label treatment is frequent in MDS because there is still a lack of efficient therapies for many patients. During the observation period several treatment modalities were employed, varying in number and type according to IPSS and IPSS-R risk groups. Although numerous clinical trials with new compounds were initiated over the last few years, only a minority of MDS patients were eligible to participate. In the future, a further increase in clinical trial activity will hopefully allow a greater proportion of MDS patients to get access to effective treatment.

**Disclosures:** **Xicoy:** Celgene: Honoraria. **Kuendgen:** Celgene: Honoraria, Research Funding. **Kobbe:** Celgene: Honoraria, Research Funding; Amgen: Honoraria, Research Funding; Medac: Other; Astellas: Honoraria, Research Funding; Novartis: Honoraria, Research Funding; Neovii: Other. **Gattermann:** Novartis: Honoraria, Research Funding, Speakers Bureau; Celgene: Honoraria, Research Funding. **Germing:** Novartis: Research Funding; Celgene: Honoraria, Research Funding; AMGEN: Research Funding; Janssen-Cilag: Honoraria, Research Funding; Boehringer-Ingelheim: Honoraria.



## Diskussion

In der beiliegenden Publikation konnten wir zeigen, dass eine histopathologische Untersuchung des Knochenmarks bei MDS zur validen Beurteilung der Knochenmarkzellularität notwendig ist, da diese ebenfalls von prognostischer Bedeutung ist.

Zudem ermöglicht der IPSS-R, nicht zuletzt durch seine genauere Einteilung der hämatologischen und zytogenetischen Parameter für Patienten mit MDS del(5q) eine präzisere risikoadaptierte Stratifizierung verglichen mit dem IPSS.

Patienten mit einer ASXL1-Mutation haben signifikant häufiger Dysplasien der Megakaryopoese sowie niedrigere Thrombozytenzahlen als Patienten ohne ASXL1-Mutation. Dies deutet eine mögliche Genotyp-Phänotyp-Korrelation an.

Therapien erfolgen bei myelodysplastischen Syndromen risikoadaptiert und zumeist supportiv, da nur die allogene Stammzelltransplantation eine kurative Behandlungsoption darstellt. Da es zur Zeit nur drei in Europa zur Therapie zugelassene Substanzen gibt, sind klinische Studien von besonderer Bedeutung.

Ein Schwerpunkt dieser Arbeit beschäftigt sich mit der Bedeutung und zytomorphologischen Beurteilbarkeit von hypozellulärem Knochenmark bei MDS-Patienten [4]. Es gibt sowohl allgemeine Kriterien für die Einschätzung der Knochenmarkzellularität, aber auch altersabhängige Grenzwerte: Tuzuner et al. definieren Knochenmark ab einer Gesamtmenge < 30 % verglichen mit der zu erwartenden altersabhängigen Zellularität als hypozellulär, 30-50 % als normozellulär und > 50 % als hyperzellulär [16]. Altersabhängige Studien beurteilen Knochenmark als hypozellulär, wenn es < 20 % ausmacht, oder sofern es bei Patienten unter 70 Jahren bei < 30 % liegt [17]. Für unsere Studie werteten wir Daten von 1270 Patienten des MDS-Registers mit zytomorphologischer und histopathologischer Beurteilung des Knochenmarks hinsichtlich der hämatologischen Parameter, Zytogenetik, prognostischer Scores, Überleben und AML-Progression aus.

Wie bereits beschrieben konnten wir feststellen, dass die zytomorphologische Beurteilung von Knochenmarkausstrichen besonders bei hypozellulärem Mark nicht zu einer validen Befundung führt, sondern vor allem bei Hypozellularität viele falsch-negative Beurteilungen entstehen (69,5 %) [4]. Hämatologische Parameter wie verminderte Thrombozyten konnten signifikant häufiger bei hypozellulärem Knochenmark nachgewiesen werden ( $p=0.002$ ), normwertige Thrombozytenwerte

fanden sich häufiger bei normozellulären MDS. Hämoglobinwerte waren nicht signifikant unterschiedlich zwischen den verschiedenen Zellularitätsgruppen. Erhöhte LDH-Werte ( $> 240$  U/L) fielen vor allem bei Patienten mit hyperzellulärem Knochenmark auf ( $p < 0.0005$ ). Blasten  $< 5\%$  ließen sich meist bei normozellulärem Knochenmark nachweisen ( $p < 0.0005$ ). Entsprechend der geringen Blastenanteile bei normozellulärem Knochenmark erscheint das gehäufte Auftreten von WHO Subtypen wie RCUD, RCMD und RARS vor allem bei Patienten mit hypozellulärem und normozellulärem Knochenmark plausibel ( $p < 0.0005$ ). Zeitgleich präsentieren sich Patienten mit hyperzellulärem Knochenmark signifikant häufiger mit erhöhten Blastenanteilen (5-9 %) und Subtypen wie RAEB-I und RAEB-II ( $p < 0.0005$ ). Zudem konnten wir zeigen, dass myelodysplastische-myeloproliferative Overlap-Syndrome wie die chronische myelomonozytäre Leukämie (CMML) nur sehr selten mit einem hypozellulären Knochenmark einhergehen. Aus diesen Ergebnissen lässt sich ein verstärktes proliferatives, aber dysfunktionales, oft zur Apoptose führendes Geschehen im hyperzellulären Knochenmark ableiten, welches früher zu MDS-spezifischen Komplikationen wie Blutungen oder Infektionen und somit zum Tod führen kann. Zudem konnte der von Buesche et al. und Della Porta et al. geschilderte Zusammenhang zwischen gehäufter Vorliegen von Fibrose bei hyperzellulärem Knochenmark bestätigt werden ( $p = 0.0005$ ) [18, 19]. Buesche et al. beschreiben, dass Fibrose im Knochenmark mit einem verkürzten Gesamtüberleben einhergeht. Dabei wirkt sich das Vorliegen einer Knochenmarkfibrose zum Zeitpunkt der Erstdiagnose genauso prognostisch negativ aus wie ein Auftreten der Fibrose während des Krankheitsverlaufs. Ebenso spielt das Ausmaß der Fibrose im Rahmen der verkürzten Überlebensdauer eine untergeordnete Rolle [18]. Della Porta et al. fanden ebenfalls einen Zusammenhang zwischen Knochenmarkfibrose und dem gehäuften Auftreten von multilineären Dysplasien, prognostisch ungünstigen Karyotypen sowie einer erhöhten Transfusionsabhängigkeit. Auch in dieser Studienpopulation resultierte aus dem Vorhandensein einer Fibrose ein schlechteres Gesamtüberleben sowie eine erhöhte Anzahl an AML-Übergängen [19]. Beide Ergebnisse konnten wir bei unseren Patienten mit hyperzellulärem Knochenmark, welches in unserer Analyse mit vermehrter Fibrose auftrat, bestätigen. Das Auftreten einer Monosomie 7 bzw. Deletion 7q war in unserer Analyse bei hypozellulären MDS gesteigert im Vergleich zu normo- und hyperzellulärem MDS. Diese Annahme wird wissenschaftlich diskutiert und konnte mittlerweile in mehreren Studien

nachgewiesen werden [20, 21]. So beschreiben beispielsweise Maschek et al. eine Assoziation zwischen hypozellulärem Knochenmark und zytogenetischen Veränderungen des Chromosoms 7. Dem gegenüber beschreiben Huang et al. ein verstärktes Auftreten von Monosomie 7 und Deletion 7q bei Patienten mit normo- und hyperzellulärem Knochenmark, es handelte sich jedoch um eine Studie mit geringen Fallzahlen (hypozellulär n=37, normo- & hyperzellulär n=152) [21]. Der Vergleich der Knochenmarkzellularität mit Überlebensraten ergab einen Überlebensvorteil für hypo- und normozelluläre MDS ( $p < 0.0005$ ). Ebenso konnte ein Einfluss der Zellularität auf das erhöhte Risiko einer AML-Transformation vor allem bei normo- und hyperzellulären MDS nachgewiesen werden ( $p = 0.018$ ) [4]. Diese Ergebnisse stimmen mit der Interpretation der Ergebnisse von Maschek et al. überein, welche ebenfalls ein kürzeres Gesamtüberleben für Patienten mit hyperzellulärem Knochenmark konstatieren [20]. Auch wenn weiterhin Unklarheiten bezüglich möglicher Therapieregime für Patienten mit hypozellulärem Knochenmark bestehen, belegen die angeführten Studien, dass eine erhöhte Mortalität bei Patienten mit hyperzellulärem Knochenmark besteht und Patienten mit hypo- und normozellulärem Knochenmark bezüglich des klinischen Verlaufs homogener erscheinen.

Der IPSS-R bietet eine klinisch relevante Möglichkeit, die Prognose eines Patienten abzuschätzen und bildet so die Basis für eine risikoadaptierte Therapieplanung. Die folgende Publikation beinhaltet die Fragestellung, ob der IPSS-R in der Lage ist, eine präzisere prognostische Aussage für MDS del(5q) zu treffen als der IPSS [9]. Unseren Daten zufolge kann der IPSS-R aufgrund genauerer zytogenetischer und hämatologischer Stratifizierung Patienten, die nach IPSS in die Kategorie der Niedrigrisikopatienten gehören, in feinere Risikogruppen aufteilen. Die Schwäche des IPSS bei der Risikostratifizierung von Patienten mit MDS del(5q) liegt zum einen an spezifischen Eigenschaften dieser Entität, da diese Patienten meist eine Thrombozytose und normwertige bis hin zu leicht verringerten Granulozytenzahlen aufweisen, sodass meist eine Anämie die einzige Zytopenie darstellt. Dies ist ein bedeutender Unterschied zu anderen MDS Subtypen, welche öfter mit einer Panzytopenie einhergehen. Die Anämie als einzige vorliegende Zytopenie bei MDS del(5q) wird aufgrund der Punktevergabe innerhalb des IPSS nicht berücksichtigt. Zudem weisen Patienten mit MDS del(5q) meist geringe Blastenzahlen auf, ein

Kriterium, welches im IPSS bei Blasten  $< 5\%$  ebenfalls nicht gewertet wird. Da das zytogenetische Vorliegen einer isolierten Deletion des Chromosom 5 als prognostisch günstig gewertet wird, erlangen Patienten mit MDS del(5q) zumeist eine günstige Risikostratifizierung, da der IPSS charakteristische Risikofaktoren dieser Entität nicht einbezieht [22]. Der IPSS-R hingegen berücksichtigt durch seine präzisere Einteilung des Hämoglobins (Hb  $>10$  g/dl,  $8-10$  g/dl,  $<8$  g/dl) indirekt die Transfusionsabhängigkeit, welche nach Germing et al. vor allem bei Erstdiagnose einen ausgeprägten Risikofaktor für den Übergang in eine AML bietet [22]. Zudem werden auch geringe Blastenanteile im Knochenmark im IPSS-R genauer aufgeschlüsselt ( $\leq 2\%$ ,  $>2-5\%$ ,  $5-10\%$ ,  $>10\%$ ), sodass auch hier eine detailliertere Beurteilung möglich ist. Ebenso wird die Deletion des Chromosom 5 im Vergleich zum IPSS nicht mehr als prognostisch besonders günstig, sondern innerhalb des IPSS-R vielmehr als prognostisch neutral erachtet. Insgesamt ergibt sich innerhalb des IPSS-R eine genauere Berücksichtigung von für MDS del(5q) spezifischen Faktoren, welche die Ergebnisse unserer Analysen untermauern. Mallo et al. konnten zeigen, dass sowohl die Anzahl zytogenetischer Aberrationen, als auch der Blastenanteil im Knochenmark sowie die Thrombozytenwerte eine Aussage zum Risiko eines AML-Übergangs erlauben [23]. Zudem haben multivariate Analysen in unserer Studie ergeben, dass Alter und Transfusionsabhängigkeit ebenfalls eine Rolle bezüglich des klinischen Verlaufs spielen. Hieraus lässt sich die prognostische Bedeutung des *World Health Organisation adapted Prognostic Scoring System* (WPSS) bei MDS del(5q) ableiten: dieser Score berücksichtigt als einziges bei MDS definiertes Prognosesystem direkt die Transfusionsabhängigkeit zum Zeitpunkt der Erstdiagnose [10]. Germing et al. zeigten, dass Transfusionsabhängigkeit bei Erstdiagnose sowie Klassifizierung in eine Hochrisikogruppe nach WPSS ungünstige prognostische Marker bezüglich der AML-Progression darstellen [22]. Zudem konnte in dieser Studie belegt werden, dass das Risiko eines AML-Übergangs bei einem transfusionsabhängigen Patienten  $11\%$  gegenüber  $2\%$  bei transfusionsunabhängigen Patienten beträgt, wobei dieser Unterschied nach drei Jahren ohne stattgefundenen AML-Übergang an Bedeutung verliert [22].

Pereira et al. konstatieren, dass nicht nur allgemein die Transfusionsabhängigkeit zum Zeitpunkt der Erstdiagnose, sondern auch die Intensität der Transfusionsabhängigkeit einen wichtigen Parameter für einen AML-Übergang darstellt [24]. Lauseker et al. bezeichnen zunehmendes Alter und männliches

Geschlecht bei Patienten mit MDS del(5q) als bedeutenden Risikofaktor [25]. Dies lässt sich dadurch ableiten, dass MDS del(5q) wie in unserer Studie bestätigt meist bei Frauen mit medianem Alter von 67 Jahren auftritt und Frauen zumeist eine bessere Prognose aufweisen als Männer. Hinzu kommt, dass MDS del(5q) bei den meisten Patienten durchschnittlich 5-10 Jahre früher auftritt als andere MDS-Entitäten [22].

Die Bedeutung somatischer Mutationen bei myeloischen Neoplasien, speziell bei MDS und ihre Auswirkung auf den klinischen Verlauf sind aufgrund eines möglichen prognostischen und therapeutischen Nutzens von zunehmendem wissenschaftlichen Interesse und ermöglichen eine ergänzende Prognoseabschätzung zusätzlich zu etablierten klinischen Prognosescores.

ASXL1-Mutationen wurden hinsichtlich des Gesamtüberlebens wie auch Mutationen der Gene TP53, EZH2, ETV6 sowie RUNX1 als negative prognostische Marker identifiziert [26, 27, 28]. Zu potenziellen Auswirkungen auf die Hämatopoese und den klinischen Verlauf gibt es jedoch bislang keine Daten. In unserer Studie konnte anhand der Daten von 31 ASXL1-mutierten und 100 ASXL1-nicht mutierten Patienten gezeigt werden, dass ASXL1-Mutationen gehäuft bei hypo- und normozellulärem Knochenmark auftreten ( $p=0.014$ ) [13]. Bei hyperzellulärem Knochenmark ließ sich die Mutation seltener nachweisen. 53,7 % aller ASXL1-Wildtyp Patienten fielen durch hyperzelluläres Knochenmark auf, bei den ASXL1 mutierten Patienten waren es jedoch nur 20 %. Zudem besteht in unseren Daten ein Zusammenhang mit Dysplasien und Hypozellularität der Megakaryopoese ( $p=0.047$ ) und verminderten Thrombozytenzahlen ( $p=0.006$ ) bei ASXL1-mutierten Patienten. In unserer Studie fanden wir zudem einen Zusammenhang zwischen ASXL1 und Trisomie 8, eine zytogenetische Aberration, die nach IPSS-R der intermediären Risikogruppe zugeordnet wird. Alle 3 Patienten, die eine Trisomie 8 aufwiesen, wiesen ebenfalls eine ASXL1-Mutation auf ( $p=0.041$ ). Ebenso enthielt unsere Patientenpopulation 9 Patienten mit MDS del(5q), welche alle negativ für eine ASXL1-Mutation waren ( $p=0.041$ ). Dies erscheint plausibel, da Patienten mit MDS del(5q) meist einen milden klinischen Krankheitsverlauf mit günstigem Gesamtüberleben aufweisen und in vielen Fällen eine Thrombozytose haben. Bei Patienten mit ASXL1-Mutation liegt in beiden Fällen das Gegenteil vor. Zudem konnten wir ein gehäuftes gemeinsames Auftreten von ASXL1 mit RUNX1 ( $p=0.003$ ),

MLL ( $p=0.009$ ) und EZH2 ( $p=0.001$ ) belegen; eine Assoziation zu RUNX1 wird ebenfalls von Chen et al. beschrieben [29]. In der Studie von Bejar et al. wurde ein Zusammenhang zwischen RUNX1, TP53 sowie NRAS und verminderten Thrombozytenzahlen gesehen, jedoch fielen die betroffenen Patienten durch erhöhte Blastenanteile auf [26]. Chen et al. beschreiben eine Korrelation zwischen der ASXL1-Mutation und dem gehäuften Auftreten von Trisomie 8 ( $p=0.02$ ). Des Weiteren wurden auch in dieser Studie Zusammenhänge zwischen ASXL1 und RUNX1, EZH2, IDH, NRAS, JAK2, SETBP1 sowie SRSF2 beschrieben. Insgesamt weisen Patienten in dieser Studie ein kürzeres Gesamtüberleben und eine Assoziation zu Hochrisiko-MDS auf. Zusätzlich wurde ein gehäuftes Auftreten der Mutation bei Männern, älteren Patienten und Patienten mit CMML beschrieben. Hämatologische Parameter, insbesondere Hämoglobin und Thrombozytenwerte unterschieden sich in dieser Analyse nicht signifikant, jedoch fielen signifikant erhöhte Leukozytenwerte in der Kohorte mit ASXL1-Mutation sowie ein vermehrtes Vorkommen von Hochrisiko-MDS nach IPSS-R auf [29]. Thol et al. beschreiben ebenfalls eine Korrelation zwischen ASXL1 und intermediären Karyotypen ( $p=0.002$ ) ebenso wie ein verkürztes Gesamtüberleben ( $p=0.024$ ) sowie einen vorzeitigen AML-Übergang verglichen mit den Patienten ohne ASXL1-Mutation ( $p=0.017$ ) [27]. Das gehäufte Auftreten von  $> 4\%$  Blasten bei Patienten mit ASXL1-Mutation wurde von Bejar et al. beschrieben ( $p<0.005$ ), ebenso ergaben Analysen, dass die Mutation in dieser Kohorte mit einem erhöhten Vorkommen ausgeprägter Thrombozytopenien einher ging ( $p<0.01$ ) [28], welches wir durch unsere Berechnungen belegen konnten.

Obwohl in den vergangenen Jahren zahlreiche klinische Studien zur Verbesserung der Therapien bei MDS initiiert wurden, konnte unsere Arbeit zeigen, dass weiterhin der Großteil der MDS-Therapie nur auf supportiver Medikation mit Transfusionen und Gabe von Wachstumsfaktoren beruht. Die einzige kurative Therapieoption, die allogene Stammzelltransplantation, wird besonders bei Hochrisikopatienten bis 65-70 Jahre und ohne relevante Komorbiditäten durchgeführt und kommt daher für die meisten MDS-Patienten nicht infrage. Palliative Therapien stehen mit epigenetischen Substanzen wie 5-Azacytidine oder Decitabine sowie immunmodulatorischen Substanzen wie Lenalidomid zur Verfügung. In unserer Metaanalyse zur Therapie von 1021 MDS Patienten an der Universitätsklinik Düsseldorf in den Jahren 2007-2013 lag das mediane Alter der Patienten bei 68 Jahren, 13.5 % der Patienten waren

> 80 Jahre alt. Bei dem Großteil der Patienten wurde zum Zeitpunkt der Erstdiagnose eine RCMD (41 %) diagnostiziert, MDS del(5q) machte 4 % aller Fälle aus. Hochrisiko-MDS wie RAEB-I oder RAEB-II traten in 27 % aller MDS-Erkrankungen auf.

Die meisten Patienten erhielten aufgrund ihres Allgemeinzustands oder relevanter Komorbiditäten ausschließlich eine supportive Transfusionstherapie (57 %). 43 % erhielten zusätzliche Therapien, wobei die Applikation von Wachstumsfaktoren wie EPO oder G-CSF (12,8 %) sowie die Eisenchelation (6,2 %) zur Behandlung transfusionsbedingter Eisenüberladung am häufigsten vertreten war. Die Gabe hypomethylierender Substanzen erfolgte in 12,1 % aller Fälle; eine allogene Stammzelltransplantation wurde bei 13,3 % der Patienten durchgeführt. Unsere Analysen ergaben eine deutliche Zuordnung der erläuterten Therapien zu den dafür vorgesehenen Risikogruppen nach IPSS und IPSS-R: Zytokine (EPO, G-CSF), Eisenchelatoren, immunsuppressive und immunmodulatorische Substanzen (Lenalidomid, früher auch Thalidomid) wurden überwiegend für Niedrigrisiko-Patienten zur Verfügung gestellt, wohingegen epigenetische Therapie, zytoreduktive Chemotherapie oder Induktionstherapien sowie allogene Stammzelltransplantationen hauptsächlich bei Hochrisiko-Patienten durchgeführt wurden. Bei Patienten, die zum Zeitpunkt der Erstdiagnose ein Niedrigrisiko-MDS hatten und später eine allogene Stammzelltransplantation erhielten, kam es zwischenzeitlich meist zu einem Progress des MDS oder es lag ein ungewöhnlich niedriges Erkrankungsalter vor. Gattermann empfiehlt Eisenchelation vor allem für Niedrigrisiko-Patienten, welche über einen längeren Zeitraum regelmäßige Gaben von Erythrozytenkonzentraten benötigen. Zudem besteht ein Konsens, dass mit der Eisenchelation begonnen werden sollte, bevor das Ferritin über 1.000 µg/l ansteigt [30]. Diese Empfehlungen wurden innerhalb unserer Patientenkohorte umgesetzt, sodass retrospektiv der überwiegende Anteil aller mit Eisenchelatoren behandelten Patienten an einem Niedrigrisiko-MDS leidet. Der Vermeidung der Eisenüberladung liegen mehrere Mechanismen zugrunde: MDS-Patienten leiden aufgrund einer gesteigerten enteralen Eisenresorption sowie einer ineffektiven Erythropoese oftmals unter einer endogenen Eisenüberladung, hinzu kommt die iatrogene, transfusionsbedingte Eisenüberladung. Als Folge können kardiale und hepatische Schädigungen resultieren, aber auch ein erhöhtes Risiko für AML-Transformationen wurde beschrieben [31], weshalb die Eisenchelation vor allem bei Niedrigrisiko-

Patienten auch zukünftig eine essentielle Therapie darstellen wird. Ein weiteres Medikament, welches vor allem zur Anämiebehandlung bei Niedrigrisiko-MDS appliziert wird, ist rekombinantes Erythropoetin, welches als subkutan angewandte Medikation die Transfusionsintensität reduzieren und zu völliger Transfusionsfreiheit führen kann. Der Beginn der EPO-Therapie wirkt sich auf den Therapieerfolg aus: Wird die Erythropoetin-Therapie innerhalb der ersten sechs Monate nach Diagnosestellung begonnen und befindet sich der EPO-Spiegel  $< 500$  U/L, kann dadurch der Beginn einer Transfusionsabhängigkeit hinausgezögert werden. Bei späterem Einsatz des Erythropoetins ist die Wirksamkeit zumeist herabgesetzt und die Behandlung nicht effektiv [32]. Santini et al. fanden heraus, dass der IPSS-R eine Prognoseabschätzung für das Ansprechen von Niedrigrisiko-Patienten auf Erythropoetin ermöglicht [33]. Da die CMML nicht nur über myelodysplastische, sondern auch myeloproliferative Eigenschaften verfügt, fehlten bis vor kurzem Erkenntnisse zur Effektivität von Erythropoetin bei dieser Entität. Kürzlich konnte jedoch belegt werden, dass der CPSS sowie der Erythropoetin-Serumspiegel ebenfalls bei Niedrigrisikopatienten (nach CPSS) als prognostische Instrumente für ein späteres erythroides Ansprechen herangezogen werden können [34], sodass auch CMML-Patienten von Erythropoetingaben profitieren und Transfusionsfreiheit erreichen können. Speziell bei MDS del(5q) bietet sich Lenalidomid zur Behandlung der Anämie an. Lenalidomid wirkt als immunmodulatorische Substanz und induziert vorzeitige Apoptose. Es wirkt besonders effektiv bei MDS del(5q), sodass bei einigen Patienten nicht nur Transfusionsfreiheit, sondern auch eine zytogenetische Remission mit Erholung des Knochenmarks erreicht wird, da der pathologische Zellklon unterdrückt wird [35]. Dies hat zur Folge, dass die Patienten von einer deutlichen Leistungssteigerung und Lebensqualität profitieren. Die These, dass Lenalidomid AML-Transformationen induziert, konnte widerlegt werden [36]. Eine verhältnismäßig neue Form der Therapie bei MDS umfasst das Gebiet der epigenetischen Therapien mit 5-Azacytidine oder Decitabine bei Hochrisiko-Patienten (IPSS intermediate-2 oder high). In klinischen Studien wurde bestätigt, dass 5-Azacytidine im Vergleich zu konventioneller Therapie bestehend aus supportiver Therapie, Gabe von niedrigdosiertem Cytarabin oder intensiver Chemotherapie zu einem Überlebensvorteil führt (14,1 Monate in der Azacytidine-Gruppe versus 8,8 Monate bei konventioneller Therapie) ( $p=0.047$ ). Ebenso konnte in dieser Gruppe ein längeres hämatologisches Ansprechen (13,6 versus 5,2



Monate,  $p=0.0002$ ) erreicht werden sowie eine höhere Rate an Transfusionsfreiheit (45 % versus 11,4 %,  $p<0.0001$ ) [37]. In einer Studie von Lyons et al. wurden ebenfalls Niedrigrisiko-MDS-Patienten mit 5-Azacytidine behandelt [38]. 55 % der Studienpopulation erreichten Transfusionsunabhängigkeit, dennoch wird von der Deutschen MDS-Studiengruppe keine Empfehlung der Behandlung von Niedrigrisikopatienten mit 5-Azacytidine ausgesprochen, da kein Überlebensvorteil bewiesen werden konnte und mögliche Nebenwirkungen wie Infektionen oder lebensbedrohliche Zytopenien den potenziellen Nutzen in dieser Patientengruppe übersteigen [39]. Die allogene Stammzelltransplantation bleibt weiterhin Patienten im Alter bis 65-70 Jahre, mit gutem Allgemeinzustand, ohne relevante Komorbiditäten und Hochrisiko-MDS als einzig kurative Therapie vorbehalten. Hierbei gilt eine strenge Abwägung vorhandener Komorbiditäten, da diese das Langzeitüberleben drastisch beeinflussen können. Zudem beschreibt Deeg, dass das Gesamtüberleben nach der Stammzelltransplantation nach vorheriger Gabe hypomethylierender Substanzen und fehlendem Ansprechen auf diese Therapie ebenfalls aufgrund eines frühzeitigen Rückfalls meist reduziert ist [40]. Vor allem ältere Patienten oder Patienten mit eingeschränkter körperlicher Verfassung profitieren von Konditionierungsprotokollen mit reduzierter Intensität, welche ebenfalls in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen haben und ermöglichen, dass mehr Patienten einer allogenen Stammzelltransplantation zugeführt werden können [41]. McClune et al. belegen, dass ältere Patienten trotz reduzierter Konditionierungsintensität nicht signifikant häufiger Rezidive erleiden, sodass das Gesamtüberleben und das krankheitsfreie Überleben vergleichbar mit den Ergebnissen jüngerer Patienten waren. Ein entscheidender Faktor ist in dieser Studie jedoch das Alter der Spender: Transplantationen mit Stammzellen von Geschwisterspendern bedeuten aufgrund des meist geringen Altersunterschiedes zwischen Patient und Geschwister oftmals ein erhöhtes Risiko für Rezidive. Im Gegensatz dazu kann durch den Einsatz von Zellen unverwandter Fremdspender mit durchschnittlich größerem Altersunterschied ein längeres krankheitsfreies Überleben erreicht werden [41]. In einer Studie von Kröger et al. konnte kein Einfluss des Alters des Geschwisters auf das Gesamtüberleben festgestellt werden, jedoch wurde ein deutlicher Vorteil im Gesamtüberleben für Patienten mit jungem Fremdspender (< 30 Jahre) gegenüber Patienten mit Geschwisterspender oder älterem Fremdspender (> 30 Jahre) beschrieben [42].

## Schlussfolgerungen

Wie eingangs geschildert, bestehen trotz intensiver wissenschaftlicher Anstrengungen und zahlreicher klinischer Studien weiterhin Probleme sowohl bei der Diagnostik als auch bei der Therapie von Patienten mit myelodysplastischen Syndromen. Die Berechnung der Prognose eines Patienten ist durch die Komplexität der Erkrankung und der unzureichend verstandenen Pathophysiologie oftmals ungenau und beschränkte sich bis vor kurzem auf klinische Merkmale. Da mittlerweile einige Mutationen und deren Auswirkung auf den klinischen Verlauf identifiziert werden konnten, bietet dies in der Zukunft die Möglichkeit einer präziseren Risikostratifizierung sowie möglicherweise einer spezifischen Therapie. Zur Zeit gibt es in Europa bisher nur drei zugelassene Substanzen, welche trotz ihrer nachgewiesenen Wirksamkeit nur eine palliative Therapiemöglichkeit bieten. Dennoch konnten wir mit den hier angeführten Arbeiten neue wissenschaftliche Erkenntnisse auf dem Gebiet der Diagnostik, der Prognostizierung sowie der Therapie einbringen und zur Klärung einiger Fragestellungen beitragen.

Aufgrund unserer Veröffentlichungen konnte die Zellularität bei MDS, ein Thema, welches bisher kaum berücksichtigt wurde, genauer beleuchtet und die Wichtigkeit der Knochenmarkbiopsie untermauert werden. Zudem trägt diese Veröffentlichung zur Prognoseabschätzung in Abhängigkeit der Zellularität in Hinblick auf das Überleben und das Risiko einer AML-Progression bei und stellt die Korrelation zahlreicher hämatologischer Parameter sowie der Verteilung der WHO Subtypen je nach Knochenmarkzellularität her.

Wir konnten belegen, dass der IPSS-R aufgrund zahlreicher genannter Kriterien ein geeigneteres Instrument zur Prognoseabschätzung bei Patienten mit MDS del(5q) darstellt, als der IPSS und somit eine präzisere Stratifizierung in die fünf Risikogruppen erlaubt.

Hinsichtlich der Mutation im ASXL1-Gen konnten wir den Zusammenhang zwischen Thrombopenie sowie Dysplasien der Megakaryopoese erstmalig beschreiben und das zytogenetische Auftreten von Anomalien wie Trisomie 8 besonders bei Patienten mit ASXL1-Mutation belegen. Zudem beschrieben wir das fehlende Auftreten von ASXL1-Mutationen bei Patienten mit MDS del(5q).

Hinsichtlich der aktuellen Therapien bei MDS konnten wir zeigen, dass der Großteil der Patienten immer noch ausschließlich supportive Therapien erhält. Die Gabe von Medikamenten wie Lenalidomid oder 5-Azacytidine bietet zwar einen Überlebensvorteil, beinhaltet jedoch keine Heilungschancen. Die allogene Stammzelltransplantation bietet die Möglichkeit der Heilung, bietet sich jedoch nur für verhältnismäßig junge MDS-Patienten mit gutem Allgemeinzustand und ohne Komorbiditäten an und bleibt den meisten Patienten aufgrund der Therapieintensität und damit verbundenen Komplikationen verwehrt. Da dies eine überschaubare Auswahl an verfügbaren Therapien darstellt, haben klinische Studien eine große Bedeutung, jedoch stellen streng definierte Einschluss- bzw. Ausschlusskriterien einen limitierenden Faktor für den Studieneinschluss vieler Patienten dar, sodass meist nur ein geringer Anteil aller Patienten an klinischen Studien teilnehmen kann. Aufbauend auf diesen Daten sind weitere klinisch-wissenschaftliche Projekte vor allem zu Fragen zu Prognose, insbesondere zur prognostischen Bedeutung molekularer Marker und Prädiktion von Therapieergebnissen geplant.

## Literaturverzeichnis

- [1] Neukirchen J, Schoonen WM, Strupp C, Gattermann N, Aul C, Haas R, Germing U. Incidence and prevalence of myelodysplastic syndromes: data from the Düsseldorf MDS-registry. *Leuk Res.* 2011 Dec;35(12):1591-6.
- [2] Germing U, Kobbe G, Haas R, Gattermann N: Myelodysplastic syndromes: diagnosis, prognosis and treatment. *Dtsch Arztebl Int* 2013; 110(46): 783–90.
- [3] Geyh S, Oz S, Cadeddu RP, Fröbel J, Brückner B, Kündgen A, Fenk R, Bruns I, Zilkens C, Hermsen D, Gattermann N, Kobbe G, Germing U, Lyko F, Haas R, Schroeder T. Insufficient stromal support in MDS results from molecular and functional deficits of mesenchymal stromal cells. *Leukemia.* 2013 Sep;27(9):1841-51.
- [4] Schemenau J, Baldus S, Anlauf M, Reinecke P, Braunstein S, Blum S, Nachtkamp K, Neukirchen J, Strupp C, Aul C, Haas R, Gattermann N, Germing U. Cellularity, characteristics of hematopoietic parameters and prognosis in myelodysplastic syndromes. *Eur J Haematol.* 2015 Sep;95(3):181-9.
- [5] Brunning RD, Orazi A, Germing U, et al.: Myelodysplastic syndromes/neoplasms, overview. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al.: WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC press 2008.
- [6] Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, Fenaux P, Morel P, Sanz G, Sanz M, Vallespi T, Hamblin T, Oscier D, Ohyashiki K, Toyama K, Aul C, Mufti G, Bennett J. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood.* 1997 Mar 15;89(6):2079-88.
- [7] Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, Sanz G, Garcia-Manero G, Solé F, Bennett JM, Bowen D, Fenaux P, Dreyfus F, Kantarjian H, Kuendgen A, Levis A, Malcovati L, Cazzola M, Cermak J, Fonatsch C, Le Beau MM, Slovak ML, Krieger O, Luebbert M, Maciejewski J, Magalhaes SM, Miyazaki Y, Pfeilstöcker M, Sekeres M, Sperr WR, Stauder R, Tauro S, Valent P, Vallespi T, van de Loosdrecht AA, Germing U, Haase D. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood.* 2012 Sep 20;120(12):2454-65.
- [8] Such E, Germing U, Malcovati L, Cervera J, Kuendgen A, Della Porta MG, Nomdedeu B, Arenillas L, Luño E, Xicoy B, Amigo ML, Valcarcel D, Nachtkamp K, Ambaglio I, Hildebrandt B, Lorenzo I, Cazzola M, Sanz G. Development and validation of a prognostic scoring system for patients with chronic myelomonocytic leukemia. *Blood.* 2013 Apr 11;121(15):3005-15.
- [9] Schemenau J, Lauseker M, Hildebrandt B, Fenaux P, Pfeilstöcker M, Valent P, Platzbecker U, Kündgen A, Bug G, Haas R, Germing U. The IPSS-R has prognostic impact in untreated patients with MDS del(5q). *Leuk Res (Abstracts of the 13th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes (MDS)), Apr 2015; 39 (Supplement 1):157*

- [10] Malcovati L, Germing U, Kuendgen A, Della Porta MG, Pascutto C, Invernizzi R, Giagounidis A, Hildebrandt B, Bernasconi P, Knipp S, Strupp C, Lazzarino M, Aul C, Cazzola M. Time-dependent prognostic scoring system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2007 Aug 10;25(23):3503-10.
- [11] Della Porta MG, Malcovati L, Strupp C, Ambaglio I, Kuendgen A, Zipperer E, Travaglino E, Invernizzi R, Pascutto C, Lazzarino M, Germing U, Cazzola M. Risk stratification based on both disease status and extra-hematologic comorbidities in patients with myelodysplastic syndrome. *Haematologica*. 2011 Mar;96(3):441-9.
- [12] Gangat N, Patnaik MM, Tefferi A. Myelodysplastic syndromes: Contemporary review and how we treat. *Am J Hematol*. 2016 Jan;91(1):76-89.
- [13] Schemenau J, Betz B, Hildebrandt B, Baldus S, Kündgen A, Neukirchen J, Strupp C, Haas R, Germing U. ASXL1 mutation is associated to lower platelet counts and decreased bone marrow cellularity in MDS. *Leuk Res (Abstracts of the 13th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes (MDS))*, Apr 2015; 39 (Supplement 1):157
- [14] Giagounidis A, Mufti GJ, Mittelman M, Sanz G, Platzbecker U, Muus P, Selleslag D, Beyne-Rauzy O, te Boekhorst P, del Cañizo C, Guerci-Bresler A, Nilsson L, Lübbert M, Quesnel B, Ganser A, Bowen D, Schlegelberger B, Göhring G, Fu T, Benettaib B, Hellström-Lindberg E, Fenaux P. Outcomes in RBC transfusion-dependent patients with Low-/Intermediate-1-risk myelodysplastic syndromes with isolated deletion 5q treated with lenalidomide: a subset analysis from the MDS-004 study. *Eur J Haematol*. 2014 Nov;93(5):429-38.
- [15] Schemenau J, Nachtkamp K, Xicoy B, Kuendgen A, Strupp C, Schroeder T, Schuler E, Kobbe G, Gattermann N, Haas R, Germing U. Survey of Treatment of 1021 Patients with Myelodysplastic Syndromes in a Tertiary Referral Center 2007-2013. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*, Dec 2014; 124 (21): 4647
- [16] Tuzuner N, Cox C, Rowe JM, Bennett JM. Bone marrow cellularity in myeloid stem cell disorders: impact of age correction. *Leuk Res*. 1994 Aug;18(8):559-64.
- [17] Brunning RD, Germing U. Myelodysplastic Syndromes. In: Orazi A, Weiss LM, Foucar K, Knowles DM. *Neoplastic Hematopathology*. Third Edition. Philadelphia Lippincott Williams & Wilkins, 2014: 1076-1107.
- [18] Buesche G, Teoman H, Wilczak W, Ganser A, Hecker H, Wilkens L, Göhring G, Schlegelberger B, Bock O, Georgii A, Kreipe H. Marrow fibrosis predicts early fatal marrow failure in patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2008 Feb;22(2):313-22.
- [19] Della Porta MG, Malcovati L, Boveri E, Travaglino E, Pietra D, Pascutto C, Passamonti F, Invernizzi R, Castello A, Magrini U, Lazzarino M, Cazzola M. Clinical relevance of bone marrow fibrosis and CD34-positive cell clusters in primary myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2009 Feb 10;27(5):754-62.

[20] Maschek H, Kaloutsi V, Rodriguez-Kaiser M, Werner M, Choritz H, Mainzer K, Dietzfelbinger M, Georgii A. Hypoplastic myelodysplastic syndrome: incidence, morphology, cytogenetics, and prognosis. *Ann Hematol.* 1993 Mar;66(3):117-22.

[21] Huang TC, Ko BS, Tang JL, Hsu C, Chen CY, Tsay W, Huang SY, Yao M, Chen YC, Shen MC, Wang CH, Tien HF. Comparison of hypoplastic myelodysplastic syndrome (MDS) with normo-/hypercellular MDS by International Prognostic Scoring System, cytogenetic and genetic studies. *Leukemia.* 2008 Mar;22(3):544-50.

[22] Germing U, Lauseker M, Hildebrandt B, Symeonidis A, Cermak J, Fenaux P, Kelaidi C, Pfeilstöcker M, Nösslinger T, Sekeres M, Maciejewski J, Haase D, Schanz J, Seymour J, Kenealy M, Weide R, Lübbert M, Platzbecker U, Valent P, Götze K, Stauder R, Blum S, Kreuzer KA, Schlenk R, Ganser A, Hofmann WK, Aul C, Krieger O, Kündgen A, Haas R, Hasford J, Giagounidis A. Survival, prognostic factors and rates of leukemic transformation in 381 untreated patients with MDS and del(5q): a multicenter study. *Leukemia.* 2012 Jun;26(6):1286-92.

[23] Mallo M, Cervera J, Schanz J, Such E, García-Manero G, Luño E, Steidl C, Espinet B, Vallespí T, Germing U, Blum S, Ohyashiki K, Grau J, Pfeilstöcker M, Hernández JM, Noesslinger T, Giagounidis A, Aul C, Calasanz MJ, Martín ML, Valent P, Collado R, Haferlach C, Fonatsch C, Lübbert M, Stauder R, Hildebrandt B, Krieger O, Pedro C, Arenillas L, Sanz MÁ, Valencia A, Florensa L, Sanz GF, Haase D, Solé F. Impact of adjunct cytogenetic abnormalities for prognostic stratification in patients with myelodysplastic syndrome and deletion 5q. *Leukemia.* 2011 Jan;25(1):110-20.

[24] Pereira A, Nomdedeu M, Aguilar JL, Belkaid M, Carrió A, Cobo F, Costa D, Rozman M, Sanz C, Nomdedeu B. Transfusion intensity, not the cumulative red blood cell transfusion burden, determines the prognosis of patients with myelodysplastic syndrome on chronic transfusion support. *Am J Hematol.* 2011 Mar;86(3):245-50.

[25] Lauseker M, Schemenau J, Strupp C, Kündgen A, Gattermann N, Hasford J, Germing U. In patients with myelodysplastic syndromes with del(5q), factors other than age and sex contribute to the prognostic advantage, which diminishes over time. *Br J Haematol.* 2015 Sep;170(5):687-93.

[26] Bejar R, Stevenson K, Abdel-Wahab O, Galili N, Nilsson B, Garcia-Manero G, Kantarjian H, Raza A, Levine RL, Neuberg D, Ebert BL. Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med.* 2011 Jun 30;364(26):2496-506.

[27] Thol F, Friesen I, Damm F, Yun H, Weissinger EM, Krauter J, Wagner K, Chaturvedi A, Sharma A, Wichmann M, Göhring G, Schumann C, Bug G, Ottmann O, Hofmann WK, Schlegelberger B, Heuser M, Ganser A. Prognostic significance of ASXL1 mutations in patients with myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol.* 2011 Jun 20;29(18):2499-506.

- [28] Bejar R, Stevenson KE, Caughey BA, Abdel-Wahab O, Steensma DP, Galili N, Raza A, Kantarjian H, Levine RL, Neuberg D, Garcia-Manero G, Ebert BL. Validation of a prognostic model and the impact of mutations in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2012 Sep 20;30(27):3376-82.
- [29] Chen TC, Hou HA, Chou WC, Tang JL, Kuo YY, Chen CY, Tseng MH, Huang CF, Lai YJ, Chiang YC, Lee FY, Liu MC, Liu CW, Liu CY, Yao M, Huang SY, Ko BS, Hsu SC, Wu SJ, Tsay W, Chen YC, Tien HF. Dynamics of ASXL1 mutation and other associated genetic alterations during disease progression in patients with primary myelodysplastic syndrome. *Blood Cancer J*. 2014 Jan 17;4:e177.
- [30] Gattermann N. Overview of guidelines on iron chelation therapy in patients with myelodysplastic syndromes and transfusional iron overload. *Int J Hematol*. 2008 Jul;88(1):24-9. doi: 10.1007/s12185-008-0118-z.
- [31] Fenaux P, Rose C. Impact of iron overload in myelodysplastic syndromes. *Blood Rev*. 2009 Dec;23 Suppl 1:S15-9.
- [32] Hellström-Lindberg E, van de Loosdrecht A. Erythropoiesis stimulating agents and other growth factors in low-risk MDS. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2013 Dec;26(4):401-10.
- [33] Santini V, Schemenau J, Levis A, Balleari E, Sapena R, Adès L, Guerci A, Beyne-Rauzy O, Gourin MP, Cheze S, Stamatoullas A, Sanna A, Gioia D, Cametti G, Ferrero D, Raffoux E, Rose C, Poloni A, Prebet T, Legros L, Natarajan-Amé S, Fenaux P, Germing U, Dreyfus F, Park S. Can the revised IPSS predict response to erythropoietic-stimulating agents in patients with classical IPSS low or intermediate-1 MDS? *Blood*. 2013 Sep 26;122(13):2286-8.
- [34] Xicoy B, Germing U, Jimenez MJ, Garcia O, Garcia R, Schemenau J, Pedro C, Luño E, Bernal T, González B, Strupp C, Ardanaz M, Kuendgen A, Cedena MT, Neukirchen J, Calabuig M, Brunet S, Medina A, Amigo ML, Ramos F, Callejas M, Díez-Campelo M, Bailén A, Collado R, Vicente A, Arnan M, Valcarcel D, Arilla MJ, Zamora L, Benlloch L, Sanz G. Response to erythropoietic-stimulating agents in patients with chronic myelomonocytic leukemia. *Eur J Haematol*. 2015 Sep 5.
- [35] List A, Dewald G, Bennett J, Giagounidis A, Raza A, Feldman E, Powell B, Greenberg P, Thomas D, Stone R, Reeder C, Wride K, Patin J, Schmidt M, Zeldis J, Knight R; Myelodysplastic Syndrome-003 Study Investigators. Lenalidomide in the myelodysplastic syndrome with chromosome 5q deletion. *N Engl J Med*. 2006 Oct 5;355(14):1456-65.
- [36] Komrokji RS, List AF. Short- and long-term benefits of lenalidomide treatment in patients with lower-risk del(5q) myelodysplastic syndromes. *Ann Oncol*. 2016 Jan;27(1):62-8.

- [37] Fenaux P, Mufti GJ, Hellstrom-Lindberg E, Santini V, Finelli C, Giagounidis A, Schoch R, Gattermann N, Sanz G, List A, Gore SD, Seymour JF, Bennett JM, Byrd J, Backstrom J, Zimmerman L, McKenzie D, Beach C, Silverman LR; International Vidaza High-Risk MDS Survival Study Group. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. *Lancet Oncol.* 2009 Mar;10(3):223-32.
- [38] Lyons RM, Cosgriff TM, Modi SS, Gersh RH, Hainsworth JD, Cohn AL, McIntyre HJ, Fernando IJ, Backstrom JT, Beach CL. Hematologic response to three alternative dosing schedules of azacitidine in patients with myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol.* 2009 Apr 10;27(11):1850-6.
- [39] Götze K, Platzbecker U, Giagounidis A, Haase D, Lübbert M, Aul C, Ganser A, Germing U, Hofmann WK. Azacitidine for treatment of patients with myelodysplastic syndromes (MDS): practical recommendations of the German MDS Study Group. *Ann Hematol.* 2010 Sep;89(9):841-50.
- [40] Deeg HJ. Hematopoietic cell transplantation for myelodysplastic syndrome. *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* 2015:e375-80.
- [41] McClune BL, Weisdorf DJ, Pedersen TL, Tunes da Silva G, Tallman MS, Sierra J, Dipersio J, Keating A, Gale RP, George B, Gupta V, Hahn T, Isola L, Jagasia M, Lazarus H, Marks D, Maziarz R, Waller EK, Bredeson C, Giralt S. Effect of age on outcome of reduced-intensity hematopoietic cell transplantation for older patients with acute myeloid leukemia in first complete remission or with myelodysplastic syndrome. *J Clin Oncol.* 2010 Apr 10;28(11):1878-87.
- [42] Kröger N, Zabelina T, de Wreede L, Berger J, Alchalby H, van Biezen A, Milpied N, Volin L, Mohty M, Leblond V, Blaise D, Finke J, Schaap N, Robin M, de Witte T; MDS subcommittee of the Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). Allogeneic stem cell transplantation for older advanced MDS patients: improved survival with young unrelated donor in comparison with HLA-identical siblings. *Leukemia.* 2013 Mar;27(3):604-9.



## Eidesstattliche Versicherung

### Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation selbstständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erstellt worden ist und die hier vorgelegte Dissertation nicht von einer anderen medizinischen Fakultät abgelehnt worden ist.

Düsseldorf, den 14.03.2016

---

(Jennifer Kaivers, geb. Schemenau)