

**ÄRZTLICHE FACHINFORMATION**  
**MOLEKULARGENETISCHES ANGEBOT BEI HÄMATOONKOLOGISCHEN ERKRANKUNGEN**

### Hintergrundinformationen

Der Nachweis von bestimmten genetischen Veränderungen ist ein diagnostisches, prognostisches oder therapie-entscheidendes Kriterium bei den meisten hämatoonkologischen Erkrankungen. Molekulargenetische Methoden haben, neben der bereits seit Jahrzehnten etablierten Zytogenetik, in den letzten Jahren enorm an Bedeutung gewonnen. Gemeinsam mit der Zytogenetik trägt die molekulargenetische Untersuchung erheblich zur Diagnose, Prognoseabschätzung als auch Verlaufskontrolle bei, ist aber auch gerade bei zytogenetisch unauffälligen Patienten entscheidend.

Für die Klassifizierung bzw. Erstellung von Prognose-Scores mancher hämatoonkologischer Erkrankungen (z.B. IPSS-M bei MDS oder *NPM1*-Mutationen für AML) sind Sequenzveränderung oder Kopienzahlveränderungen in bestimmten Genen mittlerweile entscheidend. Darüber hinaus kann der Nachweis von zytogenetischen oder molekularen klonalen Veränderungen dabei helfen, hämato-onkologische von reaktiven Erkrankungen zu unterscheiden (z.B. bei V.a. MDS).

### Präanalytik

Für molekulargenetische Analysen wird auf Raumtemperatur gelagertes EDTA-Knochenmark bevorzugt. Alternativ können aber auch andere Materialien insbesondere EDTA-Blut, aber auch Heparin-Knochenmark oder -Blut verwendet werden. Im Idealfall sollte ein Röhrchen gesondert nur für molekulargenetische Analysen vorhanden sein; bei zusätzlichen zytogenetischen Analysen dementsprechend weitere Probenmaterialien (siehe Ärztliche Fachinformation Zytogenetische Diagnostik bei Leukämien und Lymphomen).

### Methoden

#### **Panel-Diagnostik:**

Massiv-parallele Sequenzierung mittels Custom-Enrichment Panel (IDT xGEN) aus gDNA; kodierende und flankierende intronische (+/- 2bp) Sequenzen werden mit i.d.R.  $\geq 100$ -facher Lesetiefe (Coverage) erfasst. Detektionsgrenze Varianten-Allelfrequenz (VAF): 2% für Sequenzveränderungen; berichtet werden krankheitsrelevante Mutationen und Varianten unklarer Signifikanz (VUS). Weiter berichtet werden Kopienzahlveränderungen.

Nachfolgende Aufzählung listet klinisch relevante Zielgene, die nach dem neuesten Stand wissenschaftlicher Erkenntnisse diagnostisch, prognostisch oder therapeutisch relevant sind. Die klinisch indizierte und von uns angebotene gezielte Paneldiagnostik beschränkt sich nicht mehr auf bestimmte Exone, es werden alle angebotenen Gene vollständig sequenziert.

**Myeloische Neoplasien im Allgemeinen:** Diagnostische, prognostische und therapie-relevante Marker bei myeloischen Neoplasien. Dieses sehr umfassende Genpanel zum Nachweis von somatischen Mutationen kann bei allen myeloischen Neoplasien analysiert werden. Es empfiehlt sich vor allem, wenn keine genaue Diagnose vorliegt oder aber eine sehr gründliche Untersuchung gewünscht wird.

**Gene:** *ASXL1, ASXL2, ATRX, BCOR, BCORL1, BRAF, BRCC3, CALR, CBL, CDKN2A, CEBPA, CREBBP, CSF1R, CSF3R, CSNK1A1, CTCF, CUX1, DDX41\*\*, DNMT3A, ETNK1, ETV6, EZH2, FBXW7, FLT3, FLT3-ITD\*, GATA1, GATA2, GNAS, GNB1, IDH1, IDH2, IL6R, JAK2, JAK3, KDM6A, KIT, KMT2A, KMT2A-PTD\*, KRAS, MPL, MYC, MYD88, NF1, NFE2, NOTCH1, NPM1, NRAS, PDGFRA, PDGFRB, PHF6, PIGA, PPM1D, PRPF40B, PRPF8, PTEN, PTPN11, RAD21, RB1, RUNX1, SETBP1, SF1, SF3A1, SF3B1, SH2B3, SMC1A, SMC3, SRSF2, STAG2, STAT3, STAT5B, SUZ12, TET2, TP53, U2AF1, U2AF2, UBA1, WT1, ZEB2, ZRSR2*

\* Genaueres zur Methodik siehe unter Punkt Einzelgenanalysen.

\*\* Zusätzlich wird für diese Analysen eine gesonderte Einverständniserklärung (EV) gemäß §69 GTG benötigt; das entsprechende Formular finden Sie ebenfalls auf unserer Webseite.

---

**ÄRZTLICHE FACHINFORMATION**  
**MOLEKULARGENETISCHES ANGEBOT BEI HÄMATOONKOLOGISCHEN ERKRANKUNGEN**

---

**AML:**

**Prognostisches Genpanel:** Panel zum Nachweis von somatischen Mutationen im Rahmen der Abklärung einer AML. Das Panel enthält alle Marker, die gemäß den aktuellen ELN-Empfehlungen (Döhner et al. 2022) bzw. laut WHO 2022 bei gesicherter AML-Diagnose untersucht werden sollten.

**Gene:** *ASXL1, BCOR, BCORL1, BRAF, CBL, CEBPA, CSF3R, DDX41\*\**, *DNMT3A, ETV6, EZH2, FLT3, FLT3-ITD\**, *GATA2, IDH1, IDH2, JAK2, KIT, KMT2A-PTD\**, *KRAS, NF1, NPM1, NRAS, PHF6, PPM1D, PTPN11, RAD21, RUNX1, SETBP1, SF3B1, SRSF2, STAG2, TET2, TP53, U2AF1, WT1, ZRSR2*

\* Genauerer zur Methodik siehe unter Punkt Einzelgenanalysen.

\*\* Zusätzlich wird für diese Analysen eine gesonderte Einverständniserklärung (EV) gemäß §69 GTG benötigt; das entsprechende Formular finden Sie ebenfalls auf unserer Webseite.

**Zusatzanalysen:** Panel zum Nachweis von Resistenzmutationen bei Therapieresistenz. Die Testung kann bei Venetoclax-Resistenz (*BAX*- und/oder *BCL2*-Resistenzmutationen) oder bei Ivosidenib-Resistenz (*IDH1*-Resistenzmutationen) im Rahmen der Therapie von AML erfolgen. Es empfiehlt sich, diese Analysen zusätzlich zum normalen AML-Panel durchzuführen und nicht als alleinige Analyse.

**Gene:** *BAX, BCL2, IDH1*

---

**MDS:**

**Kleines Genpanel:** Panel zum Nachweis von somatischen Mutationen bei CH, CCUS oder V.a. MDS aus peripherem Blut. Dieses Panel ist zur basalen Abklärung einer Zytopenie geeignet und umfasst die laut WHO 2022 häufig mutierten bzw. klinisch relevanten Gene. Die Auswertung kann bei Bedarf auf das große Genpanel erweitert werden.

**Gene:** *ASXL1, BCOR, BCORL1, BRCC3, CBL, CTCF, DNMT3A, GNAS, GNB1, IDH1, IDH2, JAK2, KRAS, NRAS, PPMD1, PTPN11, SF3B1, SRSF2, TET2, TP53, U2AF1*

**Großes Genpanel:** Panel zum Nachweis von somatischen Mutationen bei CH, CCUS oder V.a. MDS aus peripherem Blut. Es enthält neben den Genen des kleineren Panels auch noch alle weiteren, in der WHO 2022 genannten, Gene, die bei einer CCUS analysiert werden sollen. Ebenfalls enthalten sind einige Gene, die zur Berechnung des IPSS-M nach Bernard et al. 2022 notwendig sind.

**Gene:** *ASXL1, BCOR, BCORL1, BRAF, BRCC3, CALR, CBL, CEBPA, CREBBP, CSF1R, CSF3R, CTCF, CUX1, DNMT3A, ETNK1, ETV6, EZH2, FLT3, FLT3-ITD\**, *GATA2, GNAS, GNB1, IDH1, IDH2, JAK2, JAK3, KDM6A, KIT, KMT2A, KMT2A-PTD\**, *KRAS, MPL, MYD88, NF1, NOTCH1, NPM1, NRAS, PHF6, PIGA, PPM1D, PRPF40B, PRPF8, PTEN, PTPN11, RAD21, RUNX1, SETBP1, SF1, SF3A1, SF3B1, SMC1A, SMC3, SRSF2, STAG2, STAT3, TET2, TP53, U2AF1, U2AF2, WT1, ZRSR2*

\* Genauerer zur Methodik siehe unter Punkt Einzelgenanalysen.

\*\* Zusätzlich wird für diese Analysen eine gesonderte Einverständniserklärung (EV) gemäß §69 GTG benötigt; das entsprechende Formular finden Sie ebenfalls auf unserer Webseite.

---

**Prognostisches Genpanel (IPSS-M):** Panel zum Nachweis von somatischen Mutationen bei gesicherter MDS-Diagnose ergänzend zur Zytogenetik aus Knochenmark. Dieses Panel umfasst alle Gene, die zur Prognoseabschätzung mittels IPSS-M (Bernard et al. 2022) untersucht werden sollen.

**Gene:** *ASXL1, BCOR, BCORL1, CBL, CEBPA, DNMT3A, ETNK1, ETV6, EZH2, FLT3, FLT3-ITD\**, *GATA2, GNB1, IDH1, IDH2, KMT2A-PTD\**, *KRAS, NF1, NPM1, NRAS, PHF6, PPM1D, PRPF8, PTPN11, RUNX1, SETBP1, SF3B1, SRSF2, STAG2, TET2, TP53, U2AF1*

\* Genauerer zur Methodik siehe unter Punkt Einzelgenanalysen.

\*\* Zusätzlich wird für diese Analysen eine gesonderte Einverständniserklärung (EV) gemäß §69 GTG benötigt; das entsprechende Formular finden Sie ebenfalls auf unserer Webseite.

---

**ÄRZTLICHE FACHINFORMATION**  
**MOLEKULARGENETISCHES ANGEBOT BEI HÄMATOONKOLOGISCHEN ERKRANKUNGEN**

**MDS/MPN-Overlap-Syndrom:** Genpanel zum Nachweis von somatischen Mutationen bei unterschiedlichen MDS/MPN-Erkrankungen. Das Panel erlaubt eine Abklärung der CMML gemäß den ELN/EHA-Empfehlungen (Itzykson et al. 2018 bzw. WHO 2022) und umfasst daneben einige, zur differentialdiagnostischen Abgrenzung verschiedener MPN, relevante Gene.

**Gene:** *ASXL1, BCOR, CALR, CBL, CSF3R, CUX1, DNMT3A, ETNK1, EZH2, FLT3, FLT3-ITD\*, GATA2, IDH1, IDH2, JAK2, KRAS, MPL, NF1, NPM1, NRAS, RUNX1, SETBP1, SF3B1, SRSF2, STAG2, TET2, TP53, U2AF1, ZRSR2*

\* Genauerer zur Methodik siehe unter Punkt Einzelgenanalysen.

\*\* Zusätzlich wird für diese Analysen eine gesonderte Einverständniserklärung (EV) gemäß §69 GTG benötigt; das entsprechende Formular finden Sie ebenfalls auf unserer Webseite.

**MPN:**

**Stufendiagnostik:** Kleines Genpanel zur diagnostischen Abklärung bei V.a. PV, ET oder PMF bzw. MPN im Allgemeinen. Die Paneldiagnostik wird im Rahmen einer Stufendiagnostik durchgeführt, wenn mittels ddPCR-Analyse keine *JAK2* p.V617F Mutation nachgewiesen wurde.

**Gene:** *JAK2, CALR, MPL*

**Prognostisches Panel:** Das umfangreichere Genpanel dient dem Nachweis von somatischen Mutationen in MPN-relevanten Genen, zur besseren Prognoseabschätzung nach Grinfeld et al. 2018, sowie zur Abklärung von CNL oder CEL bzw. dem HES gemäß WHO 2022.

**Gene:** *ASXL1, BCOR, BCORL1, CALR, CBL, CSF3R, CUX1, DNMT3A, ETNK1, EZH2, GATA2, GNAS, IDH1, IDH2, JAK2, KIT, KRAS, MPL, NFE2, NRAS, PHF6, PTPN11, RUNX1, SETBP1, SF3B1, SRSF2, STAG2, STAT5B, TET2, TP53, U2AF1, ZRSR2*

**CML:** Panel zum Nachweis von *ABL1* Resistenzmutationen bei Therapieresistenz.

**Gene:** *ABL1*

**Systemische Mastozytose:** Genpanel zum Nachweis von somatischen Mutationen bei systemischer Mastozytose (u. a. nach Munoz-Gonzales et al. 2019). Es dient der besseren Prognoseabschätzung und kann vor allem bei Patientinnen ohne die Hotspot-Mutation *KIT* p.D816V Mutation maßgeblich zur diagnostischen Abklärung beitragen.

**Gene:** *ASXL1, CBL, DNMT3A, EZH2, JAK2, KIT, KRAS, NRAS, RUNX1, SRSF2, TET2, U2AF1*

**Lymphatische Neoplasien im Allgemeinen:** Dieses sehr umfassende Genpanel zum Nachweis von somatischen Mutationen kann bei allen lymphatischen Neoplasien analysiert werden. Es empfiehlt sich vor allem, wenn keine genaue Diagnose vorliegt oder aber eine sehr gründliche Untersuchung gewünscht wird.

**Gene:** *ARID1A, ATM, ATR, BCL10, BCL2, BIRC3, BRAF, BTK, CARD11, CCL22, CCND1, CCND3, CD274, CD28, CD58, CD70, CD79B, CD83, CDKN2A, CREBBP, CXCR4, DIS3, DNMT3A, EGR1, EP300, ETV6, EZH2, FAS, FBXW7, FLT3, FOXO1, FYN, GPR34, ID3, IDH2, IKZF1, IL7R, IRF4, JAK1, JAK2, JAK3, KLF2, KLHL6, KMT2D, KRAS, MAP2K1, MEF2B, MYC, MYD88, NCOR2, NOTCH1, NOTCH2, NRAS, PAX5, PHF6, PIM1, PLCG1, PLCG2, POT1, PRDM1, PTEN, PTPRD, RHOA, RPS15, RUNX1, SF3B1, SGK1, SLAMF1, SOCS1, SPEN, STAT3, STAT5B, STAT6, TBL1XR1, TET2, TMEM30A, TNFAIP3, TNFRSF14, TP53, UBR5, VAV1, XPO1, ZEB2*

**B-ALL:** Genpanel zum Nachweis von somatischen Mutationen und Deletionen bei verschiedenen Subformen der B-ALL.

**Gene:** *IKZF1, PAX5, ZEB2*

**ÄRZTLICHE FACHINFORMATION**  
**MOLEKULARGENETISCHES ANGEBOT BEI HÄMATOONKOLOGISCHEN ERKRANKUNGEN**

---

**T-ALL:** Genpanel zum Nachweis von somatischen Mutationen bei T-ALL.

**Gene:** *CDKN2A, FBXW7, KMT2D, NOTCH1, PTEN,*

---

**T-/NK-NHL:** Genpanel zum Nachweis von somatischen Mutationen bei reifzelligen T- und NK-NHL. Das Panel unterstützt bei der differentialdiagnostischen Unterscheidung verschiedener T-NHL.

**Gene:** *CCL22, CD28, FYN, IDH2, PLCG1, RHOA, STAT3, STAT5B, TET2, VAV1*

---

**CLL/SLL:** Genpanel zum Nachweis prognostisch relevanter Mutationen bei der CLL oder dem SLL. Das Panel umfasst die häufigsten mutierten Gene sowie prognostische von der WHO 2022 empfohlene Marker. Wird eine umfangreichere Analyse gewünscht, sollte das umfassende Genpanel zur Analyse lymphatischer Marker durchgeführt werden.

**Gene:** *ATM, BCL2, BIRC3, BTK, NOTCH1, PLCG2, SF3B1, TP53*

---

**FL:** Genpanel zum Nachweis rekurrenter Mutationen beim follikulären Lymphom. Es ist ausreichend zur Berechnung des m7-FLIPI Scores und hilfreich zur Identifikation von FL mit ungewöhnlichen Merkmalen, wenn keine BCL2-Translokation nachgewiesen werden kann.

**Gene:** *ARID1A, BCL2, CARD11, CREBBP, EP300, EZH2, FOXO1, KMT2D, MEF2B, MYC, STAT6, TNFRSF14, TP53*

---

**MCL:** Genpanel zum Nachweis somatischer Mutationen in der häufigsten mutierten Gene beim Mantelzelllymphom.

**Gene:** *ATM, CCND1, NOTCH1, NOTCH2, TP53, UBR5*

---

**Zusatzanalysen bei FL oder MCL:** Analysen zur Testung auf Venetoclax-Resistenzmutationen im Rahmen der Therapie von FL oder MCL. Es empfiehlt sich, diese Analyse zusätzlich zum normalen Panel durchzuführen und nicht als alleinige Analyse.

**Gene:** *BCL2*

---

**LPL:** Genpanel zum Nachweis von somatischen Mutationen bei LPL, vor allem bei Morbus Waldenström. Das Panel trägt erheblich zur Prognoseabschätzung bei. Die Analyse wird aber immer gemeinsam mit einer ddPCR-Analyse zum Nachweis der *MYD88* p.L265P Mutation durchgeführt, da bei einem Drittel der Patienten im NGS aufgrund der Klongröße keine Mutation nachgewiesen werden kann.

**Gene:** *CXCR4, MYD88, TP53*

---

**Splenische B-NHL:** Genpanel zum Nachweis von somatischen Mutationen bei splenischen B-NHLs. Es umfasst die am häufigsten mutierten Gene bei S-MZL sowie wichtige differentialdiagnostisch relevante Gene für andere splenische B-NHL sowie zum Ausschluss anderer Erkrankungen (z.B. HCL).

**Gene:** *BRAF, CXCR4, KLF2, KMT2D, MAP2K1, MYD88, NOTCH1, NOTCH2, TNFAIP3, TP53*

---

**MZL:** Genpanel zum Nachweis von somatischen Mutationen beim nodalen, extranodalen sowie dem primär kutanen Marginalzonenlymphom. Es enthält die bei den verschiedenen Formen am häufigsten mutierten Gene, die bei der Einteilung der Erkrankung helfen können. Daneben umfasst das Panel auch einige Gene, die differentialdiagnostisch zum Ausschluss anderer B-NHL hilfreich sein können.

**Gene:** *BRAF, CARD11, CD274, CREBBP, CXCR4, FAS, GPR34, KLF2, KMT2D, MYD88, NCOR2, NOTCH2, PTPRD, SLAMF1, SPEN, TBL1XR1, TET2, TNFAIP3, TNFRSF14*

---

## ÄRZTLICHE FACHINFORMATION

### MOLEKULARGENETISCHES ANGEBOT BEI HÄMATOONKOLOGISCHEN ERKRANKUNGEN

**Myelom:** Genpanel zum Nachweis somatischer Mutationen beim Multiplen Myelom. Dieses fokussierte Panel umfasst die wichtigsten mutierten Gene beim Multiplen Myelom. Nach Möglichkeit sollte die Analyse an isolierten Plasmazellen erfolgen, eine Analyse aus Knochenmark ist aber ebenfalls möglich.

**Gene:** *BRAF, KRAS, NRAS, TP53*

**DLBCL/HGBL:** Genpanel zum Nachweis somatischer Mutationen bei DLBCL/HGBL. Das Panel enthält Gene, die bei DLBCL/HGBL häufig mutiert sind bzw. bei der Unterscheidung zwischen molekularen Subtypen nach der LymphGen- (Schmitz et al. 2018), Harvard- (Chapuy et al. 2018) oder der HMRN-Klassifikation (Lacey et al. 2020/Runge et al. 2021) helfen können.

**Gene:** *BCL10, BCL2, BRAF, CCND3, CD58, CD70, CD79B, CD83, CDKN2A, CREBBP, ETV6, EZH2, FAS, KMT2D, MEF2B, MYD88, NOTCH1, NOTCH2, PIM1, PRDM1, PTEN, SGK1, SOCS1, SPEN, STAT3, TET2, TMEM30A, TNFAIP3, TNFRSF14, TP53*

### Analysen zum MRD-Monitoring:

**CML:** Droplet Digital PCR zur initialen und sensitiven Quantifizierung (im Verlauf) von BCR::ABL1 Rearrangements (major break points). Die Methode basiert auf RNA und weist nachdem Umschreiben in cDNA die BCR::ABL1 Fusionstranskripte e13a2 (b2a2) und/oder e14a2 (b3a2) nach; es kann jedoch nicht zwischen den beiden Typen unterschieden werden. Die Ergebnisse werden sowohl als %IS (international scale percent ratio) als auch MR Level (molecular log reduction level) berichtet.

**ALL/Lymphatische Erkrankungen:** Massiv-parallele Sequenzierung der IGH-, IGK-, TRG- und TRB-Gene mittels LymphoTrack Kit aus gDNA zur Bestimmung der initialen und sensitiven Klonalität von B- und/oder T-Zellen. Der initiale Klonalitätsnachweis dient dabei der Bestimmung aller vorhandener B- und T-Zellklone um auf diese im Verlauf der Erkrankung screenen zu können (sensitiver Nachweis).

### Nachweis Diagnostischer Punktmutationen:

Droplet Digital PCR (ddPCR) zum absoluten, quantitativen und sensitiven Punktmutationsnachweis (einzelne bekannte sog. „Hotspot“-Mutationen) basierend auf gDNA. Die hohe Sensitivität ermöglicht sowohl Diagnosesicherung als auch Verlaufskontrollen. Sie wird zum Nachweis u.a. folgender Mutationen durchgeführt:

**MPN:** Nachweis der *JAK2* p.V617F Mutation

**HCL:** Nachweis der *BRAF* p.V6100E Mutation

**LPL:** Nachweis der *MYD88* P.L265P Mutation

**Mastozytose:** Nachweis der *KIT* p.D816V Mutation

### Einzelgenanalysen:

**FLT3-ITD\*:** PCR und Fragmentlängenanalyse zum Nachweis langer Insertionen in der juxtamembranären Domäne des *FLT3* (fms like tyrosine kinase 3) Gen aus gDNA.

**KMT2A-PTD\*:** Bestimmung von partiellen Tandem-Duplikationen (Duplikation großer Genfragmente, meist im Bereich der Exons 2-11) im *KMT2A* (MLL) Gen mittels NGS durch Bestimmung der Kopienzahl aller kodierender Exons des Gens.

---

**ÄRZTLICHE FACHINFORMATION**  
**MOLEKULARGENETISCHES ANGEBOT BEI HÄMATOONKOLOGISCHEN ERKRANKUNGEN**

---

IGHV-Mutationsstatus: Massiv-parallele Sequenzierung der IGH-Gene mittels LymphoTrack Kit aus gDNA zur Bestimmung des IGHV-Mutationsstatus. Es erfolgt der Nachweis eines klonalen B-Zell-Rezeptors und dessen Hypermutationsgrad (Äquivalenz zur Keimbahnsequenz) bei CLL.

**Weitere Erkrankungen:**

Nachweis von UBA1-Mutationen bei VEXAS-Syndrom.

**Kontakt**

Zentrum Medizinische Genetik Innsbruck, Peter-Mayr-Str. 1, 6020 Innsbruck

Tel. 0512-9003-70531; Fax 0512-9003-73510;

E-mail: [humgendiag@i-med.ac.at](mailto:humgendiag@i-med.ac.at);

Webseite: <https://www.i-med.ac.at/tumorgenetik-1/>

Ansprechpartner/Bereichsleitung: Emina Jukic, PhD

Direktor: Prof. DDr. med. Johannes Zschocke;