

**Diplomarbeit**

**Das Myelodysplastische Syndrom in der Next-generation sequencing Ära - Erfahrungen an einem tertiären Krebszentrum**

eingereicht von

**Marc Ceru**

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor(in) der gesamten Heilkunde**

**(Dr<sup>(in)</sup>. med. univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt an der

**Universitätsklinik für Innere Medizin - Klinischen Abteilung für Hämatologie**

unter der Anleitung von

Univ.-Prof. Dr.med.univ. Armin Zebisch

und

Dr<sup>in</sup>.med.univ. Barbara Uhl

Graz, Datum 11.07.2025

## **Eidesstattliche Erklärung**

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Des Weiteren erkläre ich hiermit, dass, sofern bei der Erstellung dieser Arbeit Künstliche Intelligenz (KI) Werkzeuge zur Generierung und/oder Korrektur bestimmter Textpassagen verwendet wurden, dieser Einsatz unter Einhaltung ethischer Grundsätze, akademischer Integrität und den Vorgaben meiner Universität erfolgte, sowie in Folge dies transparent gemacht und in angemessener Weise gekennzeichnet wurde.

Graz, am 11.07.2025

Marc Ceru eh.

## **Danksagungen**

Zuerst möchte ich mich bei meinen Betreuern Univ.-Prof. Dr. med. univ. Armin Zebisch und Dr<sup>in</sup>. med. univ. Barbara Uhl für ihre Unterstützung, Geduld, ihren Rat und die aufgebrauchte Zeit während des Betreuens der Arbeit bedanken.

Des Weiteren möchte ich mich bei meinen Freunden bedanken, welche mich während des Studiums begleitet haben, für mich da waren und die die Studienzeit um vieles unterhaltsamer gemacht haben.

Mein größter Dank gilt meiner Familie, besonders meinen Eltern Martina und Peter, die mich stets unterstützten und mir eine sorgenfreie Studienzeit ermöglichten.

## Zusammenfassung

**Einleitung:** Das myelodysplastische Syndrom zählt zu den häufigsten hämatologischen Erkrankungen in der älteren Bevölkerung. Durch die Identifikation von für MDS-typischen Mutationen konnte mithilfe der Einführung des Next-generation sequencing (NGS) als Routineuntersuchung die Diagnosegenauigkeit und Klassifikationen verbessert werden. Die meisten Daten zum Überleben, Therapieansprechen, sowie zur Durchführbarkeit und den Ergebnissen von NGS stammen aus klinischen Studien mit strengen Ein- und Ausschlusskriterien. Real-World-Daten sind hingegen deutlich seltener verfügbar und es ist fraglich wie die Daten aus den klinischen Studien in den klinischen Alltag transferierbar sind.

**Ziele:** Das Hauptziel dieser Arbeit bestand darin, eine Datenbank aller MDS-Patient\*innen anzulegen, welche an der klinischen Abteilung für Hämatologie der Medizinischen Universität Graz diagnostiziert und/oder behandelt wurden und diese Daten anschließend mit vergleichbaren internationalen Daten in Bezug zu setzen.

**Material und Methoden:** Mithilfe von openMEDOCS wurde nach Patient\*innen im Zeitraum vom 01.01.2005 bis 31.12.2022 gesucht, bei denen die Begriffe „Myelodysplastisches Syndrom“ oder „MDS“ oder „Myelodysplasie“ im Diagnosenkopf etwaiger Arztbriefe vorkamen. Die klinisch relevanten Daten, inklusive NGS Ergebnisse, der tatsächlich an MDS erkrankten Patient\*innen wurden anschließend in eine Datenbank eingetragen und retrospektiv statistisch analysiert.

**Ergebnisse:** Es konnten 145 MDS-Patient\*innen identifiziert werden. Die mediane Überlebenszeit der gesamten Kohorte betrug 976 Tage. Die mediane Überlebenszeit nach IPSS-R betrug für die Low-Risikogruppe 1503 Tage, für die Intermediate-Risikogruppe 1204 Tage, für die High-Risikogruppe 756 Tage und die Very-High-Risikogruppe von 416 Tage. Die mediane Überlebenszeit der Very-Low-Risikogruppe wurde im Beobachtungszeitraum nicht erreicht. Die Zeit bis 25% in eine AML transformierten betrug in der Intermediate-Risikogruppe 441 Tage, 221 Tage in der High-Risikogruppe und 196 Tage in der Very-High-Risikogruppe. In der Very-Low- und Low-Risikogruppe transformierten im Beobachtungszeitraum weniger als 25% der Patient\*innen in eine AML. Die

Therapie mit HMAs und allo-SCT konnte in unserer Kohorte im Vergleich mit einer anderweitigen Therapie zwar keinen signifikanten Unterschied in der Überlebenszeit, dafür aber eine signifikant längere Zeit bis zu einer AML-Transformation aufzeigen. Insgesamt wurde bei 85% der Patient\*innen ein NGS durchgeführt, 90% davon zeigten mindestens eine Mutation. Die am häufigsten mutierten Gene waren TP53, TET2, ASXL1, DNMT3A RUNX1, und SRSF2 und SF3B1. TP53 und CEBPA Mutationen kamen signifikant häufiger bei High-Risk Patient\*innen und TET2 Mutationen signifikant häufiger bei Low-Risk Patient\*innen vor. STAG2 Mutation traten signifikant häufiger bei Patient\*innen > 70 Jahren auf. Es konnte kein Unterschied in der Anzahl an Mutation pro Patient\*in zwischen Risiko- und Altersgruppen festgestellt werden.

**Konklusion:** Diese Studie liefert wertvolle Real-World-Daten bezüglich MDS. Das Überleben und die Therapieerfolge der Grazer Patient\*innen entsprechen oder übertreffen weitestgehend denen anderer internationaler Studien. NGS hat sich in Graz inzwischen als feste Routinediagnostik bei MDS etabliert und konnte mit seinen Ergebnissen Unterschiede zwischen Alters- und Risikogruppen feststellen.

## Abstract

**Introduction:** Myelodysplastic syndrome is one of the most common hematological diseases of the elderly population. Through the identification of MDS-specific mutations with the introduction of next generation sequencing (NGS) as part of routine diagnostic, the diagnostic accuracy and classification was improved. Most data concerning survival, response to therapy, as well as feasibility and results of NGS come from clinical trials with strict inclusion and exclusion criteria. Real-World data in contrast, are much rarer and it is uncertain how these results from clinical trials are transferable to everyday clinical practice.

**Aims:** The primary aim of this study was to establish a database of all MDS patients who were diagnosed and/or treated at the Department of Hematology at the Medical University of Graz, and to compare these data afterwards with comparable international datasets.

**Material and Methods:** Using openMEDOCS, patients who had the terms “myelodysplastic syndrome” or “MDS” or “myelodysplasia” in the diagnosis section of their medical reports between 1.1.2005 and 31.12.2022 were identified. Clinically relevant data, including NGS, of patients actually diagnosed with MDS was then recorded into a database and retrospectively statistically analyzed.

**Results:** A total of 145 MDS patients were identified. The median overall survival of the entire cohort was 976 days. Using IPSS-R the median overall survival was 1503 days in the low-risk group, 1204 days in the intermediate-risk group, 756 days in the high-risk group and 415 days in the very-high-risk group- The median overall survival time in the very-low-risk group was not reached during observation period. The time until 25% of patients transformed into an AML was 441 days in the intermediate-risk group, 221 days in the high-risk group and 196 days in the very-high-risk group. During observation period less than 25% of patients transformed into an AML in the very-low and low-risk groups. Treatment with HMAs and allo-SCT did not show a significant difference in overall survival compared to other treatments, but did provide a significant longer time until AML progression. NGS was performed in 85% of patients and 90% of them showed at least one mutation. The most frequently mutated genes were TP53, TET2, ASXL1, DNMT3A, RUNX1, SRSF2 and SF3B1. TP53 and CEBPA mutations occurred significantly more often in high-risk patients, while TET2 mutations were

significantly more common in low risk-risk patients. STAG2 occurred significantly more often in patients > 70 of age. No difference was found in the number of mutations per patient between risk and age groups.

**Conclusion:** This study provides valuable real-world data on MDS. The survival and therapeutic success of the patients in Graz match or surpass those of other international studies. NGS has become an established part of routine diagnostics in Graz and its results have revealed differences between age and risk groups.

# Inhaltsverzeichnis

Glossar und Abkürzungen .....	1
Abbildungsverzeichnis.....	2
Tabellenverzeichnis.....	3
1. Einleitung .....	4
1.1 Definition .....	4
1.2 Epidemiologie .....	4
1.3 Ätiologie und Pathogenese .....	4
1.4 Zytogenetische Veränderungen des MDS .....	5
1.5 Häufige Genmutationen bei MDS .....	6
1.6 Klinische Symptomatik .....	9
1.7 Diagnostik .....	10
1.7.1. Blutbild .....	10
1.7.2. Peripherer Blutausstrich.....	11
1.7.3. Knochenmarkspunktion .....	11
1.7.4. Immunhistochemie und Durchflusszytometrie.....	12
1.7.5. Zytogenetik .....	12
1.7.6. Molekulargenetische Untersuchung.....	13
1.7.7. Diagnosekriterien .....	13
1.8. Wichtige Differentialdiagnosen.....	15
1.9. Klassifikation des MDS nach der WHO 2016.....	17
1.10. Risikostratifizierung des MDS .....	20
1.11. Therapie .....	22
1.11.1. Niedrigrisiko-MDS .....	22
1.11.1.1. Observanz .....	22
1.11.1.2. Anämie.....	22
1.11.1.3. Thrombozytopenie .....	24
1.11.1.4. Granulozyten-Kolonie-stimulierender-Faktor (G-CSF).....	24
1.11.1.5. Immunsuppressive Therapie.....	24
1.11.1.6. Allogene Stammzelltransplantation (allo-SCT) .....	24
1.11.2. Hochrisiko-MDS .....	25
1.11.2.1. Hypomethylierende Substanzen (HMA).....	25
1.11.2.2. Allogene Stammzelltransplantation.....	26
2. Ziele der Arbeit.....	26
3. Material und Methoden.....	27
3.1 Studiendesign und Population .....	27
3.2 Datenerhebung und statistische Auswertung.....	27
3.3 Zielgrößen der Arbeit .....	28
4. Ergebnisse .....	35
4.1. Patient*innencharakteristika.....	35
4.2. Überleben der gesamten Kohorte .....	36
4.3. IPSS-R.....	37
4.3.1. Risikogruppen .....	37
4.3.2. Low Risk vs. High Risk .....	38
4.4. IPSS.....	39
4.4.1. Risikogruppen .....	39
4.4.2. Low Risk vs. High Risk .....	40

4.5.	AML-Transformation .....	41
4.5.1.	IPSS-R.....	41
4.5.2.	IPSS.....	43
4.6.	Therapieansprechen der Hochrisikopatient*innen .....	45
4.6.1.	IPSS-R.....	45
4.6.2.	IPSS.....	47
4.7.	Mutationen .....	49
4.7.1.	NGS an der Medizinischen Universität Graz.....	49
4.7.2.	Mutationen Allgemein .....	50
4.7.3.	Häufigkeitsverteilungen der Mutationen Low vs. High Risk IPSS-R	51
4.7.4.	Häufigkeitsverteilungen der Mutationen $\leq 70$ Jahre und $>70$ .....	53
5.	Diskussion.....	56
6.	Konklusion.....	58
	Literaturverzeichnis .....	60

## Glossar und Abkürzungen

AA	Aplastische Anämie
Allo-SCT	Allogene Stammzelltransplantation
AML	Akute myeloische Leukämie
ANC	Absolute Neutrophilenzahl
CCUS	Klonale Zytopenie unklarer Signifikanz
CHIP	Klonale Hämatopoese unklarer Signifikanz
CMML	Chronische myelomonozytäre Leukämie
CR	Complete Remission
EK	Erythrozytenkonzentrat
ESA	Erythropoese-stimulierende-Substanzen
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
G-CSF	Granulozyten-Kolonie-stimulierende Faktor
Hb	Hämoglobin
HCL	Haarzelleukämie
HI	Hematological Improvement
HMA	Hypomethylierende Substanz
ICUS	Idiopathische Zytopenie unklarer Signifikanz
IDUS	Idiopathische Dysplasie unklarer Signifikanz
IMI	Institut für Medizinische Informatik, Statistik und Dokumentation der Medizinischen Universität Graz
IPSS	International Prognostic Scoring System
IPSS-M	Molecular International Prognostic Scoring System
IPSS-R	Revised International Prognostic Scoring System
KM	Knochenmark
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
MDS-EB	Myelodysplastisches Syndrom mit Blastenexzess
MDS-MLD	Myelodysplastisches Syndrom mit multilineärer Dysplasie
MDS-RS	Myelodysplastisches Syndrom mit Ringsideroblasten
MDS-SLD	Myelodysplastisches Syndrom mit unilineärer Dysplasie
MDS-U	Myelodysplastisches Syndrom – unklassifizierbar
MPN	Myeloproliferative Neoplasien
NGS	Next-generation-Sequencing
PB	Peripheres Blut
PR	Partial Remission
TPO-Agonisten	Thrombopoetin-Rezeptor-Agonisten
WHO	World Health Organization

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Überlebenskurve der gesamten Kohorte .....	37
Abbildung 2 Überlebenszeit der IPSS-R Risikostratifizierung .....	38
Abbildung 3 Überlebenszeit der Low-Risk und High-Risk IPSS-R Risikogruppen	39
Abbildung 4 Überlebenszeit der IPSS-Risikostratifizierung .....	40
Abbildung 5 Überlebenszeit der Low-Risk und High-Risk IPSS Risikogruppen ...	41
Abbildung 6 Relative Häufigkeiten der AML-Transformation pro IPSS-R Risikogruppe .....	42
Abbildung 7 AML-Transformationen in Abhängigkeit von der IPSS-R Risikogruppe .....	43
Abbildung 8 Relative Häufigkeiten der AML-Transformation pro IPSS-Risikogruppe .....	44
Abbildung 9 AML-Transformationen in Abhängigkeit von der IPSS-Risikogruppe	45
Abbildung 10 Überlebenskurve der Hochrisiko-Patient*innen in Abhängigkeit von der Therapiegruppe.....	46
Abbildung 11 AML-Transformationskurve der Hochrisiko-Patient*innen in Abhängigkeit von der Therapiegruppe .....	47
Abbildung 12 Überlebenskurve der Hochrisiko-Patient*innen in Abhängigkeit von der Therapiegruppe.....	48
Abbildung 13 AML-Transformationskurve der Hochrisiko-Patient*innen in Abhängigkeit von der Therapiegruppe .....	49
Abbildung 14 Entwicklung der NGS-Bearbeitungsdauer über die Jahre .....	50
Abbildung 15 Prozentueller Anteil an durchgeführten NGS an der Medizinischen Universität Graz über die Jahre.....	50
Abbildung 16 Anzahl der Mutation eingeteilt nach Risikogruppe.....	52
Abbildung 17 Mutationsprofile der einzelnen Patient*innen eingeteilt nach Risikogruppe .....	53
Abbildung 18 Anzahl der Mutationen eingeteilt nach Altersgruppe .....	54
Abbildung 19 Mutationsprofile der einzelnen Patient*innen eingeteilt nach Altersgruppe.....	55

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1 MDS-Klassifikation der WHO 2016 adaptiert nach (29,36).....	18
Tabelle 2 IPSS-Tabelle adaptiert nach (40) .....	20
Tabelle 3 IPSS-R Tabelle adaptiert nach (41).....	21
Tabelle 4 – Patient*innencharakteristika der gesamten Kohorte .....	35

# 1. Einleitung

## 1.1 Definition

Myelodysplastische Syndrome (MDS) stellen eine Gruppe von klonalen hämatopoetischen Erkrankungen der Stammzelle dar, die durch eine ineffektive Hämatopoese, morphologische Dysplasien in einer oder mehrerer Zelllinien, periphere Zytopenien sowie ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer akuten myeloischen Leukämie (AML) gekennzeichnet sind. (1)

## 1.2 Epidemiologie

MDS zählt zu den häufigsten hämatologischen Erkrankungen in der älteren Bevölkerung. In den USA betrug die altersangepasste Inzidenz in den Jahren von 2010-2015 zwischen 4,1–5,6/100000/Jahr. Das mediane Erkrankungsalter liegt bei 76 Jahren und  $\geq 86\%$  der Patient\*innen sind bei der Diagnosestellung über 60 Jahre alt. Männer sind häufiger betroffen als Frauen und die weiße Bevölkerung hat ein höheres Risiko an MDS zu erkranken als andere ethnische Gruppen. Die meisten MDS-Fälle sind idiopathisch, in 10% liegt aber ein sekundäres oder therapieassoziiertes MDS vor, induziert durch eine vorherige Chemo- oder Strahlentherapie. (1–4)

## 1.3 Ätiologie und Pathogenese

Bei den meisten Patient\*innen bleibt die Ätiologie des MDS schwer zu bestimmen. Da MDS häufig bei älteren Personen auftritt, geht man von genetischen Schäden oder schädlichen Umweltbelastungen aus. Dazu zählt unter anderem der Kontakt mit Lösungsmitteln, Diesel und verschiedene Pestizide. Rauchen, exzessiver Alkoholkonsum, Infektionen, Immunsuppression und eine vorausgegangene Strahlen- oder Chemotherapie erhöhen ebenfalls das Risiko an MDS zu erkranken. (5)

Die Pathogenese von MDS ist komplex und bis jetzt noch nicht vollständig verstanden. Es handelt sich um einen mehrstufigen Prozess welcher Veränderung der hämatopoetischen Stammzellen, des Knochenmark-Microenvironments und Interaktionen zwischen diesen beiden Faktoren umfasst. MDS entsteht grundsätzlich in einer hämatopoetischen Stammzelle, da nur solche Zellen das

Selbstreplikationspotential haben, das erforderlich ist um einen dominanten Klon zu etablieren und zu erhalten. Durch genotoxische Einflüsse entstehen Mutationen oder chromosomale Aberrationen die dann dazu führen, dass die Stammzelle einen dysfunktionalen und dysplastischen Zellklon ausbildet, der sich durchsetzt und das Knochenmark (KM) dominiert. (1,5)

Eines der Hauptmerkmale des MDS ist die Krankheitsprogression im Verlauf der Jahre. Dies kommt durch das Auftreten von neuen dominanten Klonen, mit neuen Mutationen oder genetischen Aberrationen zustande. Dies zeigt sich auch durch die sich verändernden Mutationsprofile im Verlauf der Behandlung. Die Mutationen welche der Zelle dabei einen Wachstumsvorteil verschaffen, werden als Treibermutationen bezeichnet. (1,6)

Treibermutationen lassen sich aber nicht nur Patient\*innen mit MDS oder AML finden, sondern auch bei augenscheinlich gesunden, meist älteren, Personen. Da hierbei davon ausgegangen wird, dass bereits ein klonales Wachstum einer hämatologischen Stammzelle stattfindet wird dies als Klonale Hämatopoese unklarer Prognose (CHIP), beziehungsweise Klonale Zytopenie unklarer Signifikanz (CCUS) sofern bereits Zytopenien im peripheren Blut (PB) zu finden sind, bezeichnet. Personen mit CHIP beziehungsweise CCUS haben ein 10-30-faches erhöhtes Risiko an MDS zu erkranken im Vergleich mit gesunden Individuen, wobei das absolute Risiko mit ca. 0,5-1% pro Erkrankungsjahr noch immer niedrig ist. (1,6)

#### **1.4 Zytogenetische Veränderungen des MDS**

Ungefähr die Hälfte der MDS-Patient\*innen weisen chromosomale Aberrationen auf. In den meisten Fällen betreffen diese die absolute Anzahl der Chromosomen (Deletion, Monosomie, Trisomie), seltener treten aber auch strukturelle Veränderungen auf (z.B. Translokation, Inversion). Ungefähr 30% der Erkrankten weisen einen komplexen Karyotyp mit mehr als drei Aberrationen auf. Dieser ist mit einem deutlich höheren Risiko einer AML-Transformation und einer generell schlechteren Prognose verbunden. Im Folgenden werden nun die wichtigsten zytogenetischen Veränderungen bei MDS erläutert. (7)

Deletion 5q: Der Verlust des langen Armes des Chromosoms 5 ist die häufigste auftretende chromosomale Aberration bei MDS. Sie tritt in etwa in 10-15% aller

Fälle auf, mit einer höheren Inzidenz bei therapieassoziierten MDS. Sollte del(5q) alleine oder in Kombination mit einer weiteren zytogenetischen Veränderung welche nicht das Chromosom 7 betrifft auftreten, zeigt es eine gute Prognose. Umgekehrter Weise zeigt del(5q) in Zusammenhang mit anderen Veränderungen oder einem Überschuss an unreifen Zellen im Knochenmark ein bis zu 6-fach erhöhtes Risiko einer AML-Transformation. (7)

Monosomie 7 und Deletion 7q: Die zweithäufigste zytogenetische Aberration bei MDS ist die Monosomie 7 oder der Verlust des langen Armes von Chromosom 7. Sie treten in etwa bei 10% aller MDS-Patient\*innen auf, wobei der Anteil bei therapieassoziierten MDS bei bis zu 50% liegt. Monosomie 7 tritt etwas häufiger auf als del(7q) und ist mit einer schlechteren Prognose verbunden. (7)

Trisomie 8: Trisomie 8 lässt sich ebenfalls in etwa 10% aller Erkrankten nachweisen. Sie ist mit einem mittleren Risiko verbunden. (7)

Deletion 20q: Der Verlust des langen Armes von Chromosom 20 kommt bei 5% aller MDS-Patient\*innen vor. Prinzipiell ist sie mit einem guten Risiko verbunden. In 30% der Fälle liegt aber zusätzlich eine Mutation des ASXL1-Gens vor, welche die Prognose negativ beeinflusst. (7)

## **1.5 Häufige Genmutationen bei MDS**

Während etwa die Hälfte aller MDS-Patient\*innen chromosomale Änderungen vorweisen können, lassen sich bei über 90% genetische Mutationen nachweisen. Die meisten Patient\*innen weisen insgesamt 2-4 genetische Veränderungen auf, wobei ältere Patient\*innen (> 60 Jahre) mehr Mutationen aufweisen als jüngere. Studien haben gezeigt, dass Mutationen in Spleißfaktoren und epigenetischen Modifikatoren früh in der Entwicklung eines MDS, und Mutationen in Transkriptionsfaktoren erst später auftreten. Zu den häufigsten mutierten Genen zählen TET2, DNMTA3, SF3B1, ASXL1, RUNX1 und SRSF2. Im Folgenden werden nun die verschiedenen zellulären Wege der Mutationen und deren wichtigste Vertreter aufgelistet. (1,7–9)

### Spleißfaktor-Mutationen

Mutationen der Spleißfaktoren sind in ca. 50-60% der Fälle nachweisbar. Unter Splicing versteht man den Vorgang, bei dem aus der Prä-mRNA jene Abschnitte entfernt werden, die nicht für die Proteinsynthese benötigt werden. Die fertige

mRNA wird anschließend an den Ribosomen in Proteine übersetzt. Durch Mutationen in diesen Faktoren entstehen fehlerhaft gespleißte Gene, welche anschließend zu Dysregulationen in Prozessen wie Mitochondrienfunktion, Zellzyklus, Häm-Synthese oder der Reparatur von DNA-Schäden führt. (1)

Die häufigste Mutation der Spleißfaktoren betrifft SF3B1, welche in etwa 30% aller MDS-Patient\*innen und in bis zu 80% der Fälle bei Patient\*innen mit Ringsideroblasten (eine spezielle erythroide Vorläuferzelle mit peripheren Eisengranula) im Knochenmark nachweisbar ist. Deshalb ist in der Klassifikation der World Health Organization (WHO) von 2016 der Nachweis einer SF3B1-Mutation auch ein diagnostisches Kriterium für die Diagnose des Subtyps MDS mit Ringsideroblasten (MDS-RS). Das Vorliegen dieser Mutation ist mit einer guten Prognose und einer niedrigen Wahrscheinlichkeit einer AML-Transformation verbunden. Sie tritt vermehrt bei Patient\*innen über 60 Jahre auf (7,10,11)

SRSF2- und U2AF1-Mutationen sind seltener und treten in etwa 10-15% aller MDS-Fälle auf. Beide Mutationen zeigen eine klinisch schlechtere Prognose und eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für die Entstehung einer AML. Veränderungen im SRSF2-Gen treten häufiger bei Patient\*innen über 60 Jahren auf. (7,11)

#### DNA-Methylierung

Die DNA-Methylierung spielt in der normalen Differenzierung und Proliferation von hämatopoetischen Stammzellen eine zentrale Rolle. Durch die Anlagerung einer Methylgruppe an Cytosin in bestimmten DNA-Abschnitten kommt es zur Rekrutierung von Proteinen, welche für Genrepression verantwortlich sind, oder es wird die Bindung von Transkriptionsfaktoren blockiert. Damit wird die Expression des betroffenen Bereichs verhindert. Gene die für die DNA-Methylierung verantwortlich sind, sind häufig bei MDS mutiert und führen zu einer Hypermethylierung und damit zur Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen oder von Genen, die für eine normale Ausreifung der Zellen verantwortlich sind. (1,7,12)

TET2-Mutationen lassen sich in 20-30% aller MDS-Fälle nachweisen und sind bezüglich ihrer prognostischen Aussagekraft noch unklar. Veränderungen in diesem Gen treten häufiger bei Patient\*innen über 60 Jahren auf. (7,11)

Etwas seltener sind Mutationen von DNMT3A in ca. 15%, sowie IDH1 und IDH2 in jeweils <10% aller MDS-Fälle. Alle drei Veränderungen sind mit einer schlechten Prognose und einem erhöhten Risiko einer AML-Transformation verbunden. (7)

#### Histonmodifikation

In eukaryotischen Zellen liegt die DNA verdichtet als Chromatin im Zellkern vor. Die Grundeinheit des Chromatins, das Nukleosom, besteht aus Histonproteinen um die sich die DNA windet. Deren Enden können posttranslational mittels Acetylierung, Methylierung, Phosphorylierung oder Ubiquitinierung modifiziert werden und so der Grad der Kondensierung geändert werden. Dicht gepackte DNA ist für die Transkription nicht zugänglich und daher inaktiv. Damit ein Gen abgelesen werden kann muss das Chromatin durch Histonmodifikation gelockert werden. Mutationen in diesem Bereich können daher zu einer gestörten Genexpression führen. (13–15)

Veränderungen im ASXL1-Gen kommen in 15-20% der MDS-Fälle vor und treten gehäuft in Kombination mit weiteren genetischen Veränderungen auf. ASXL1-Mutationen wirken sich negativ auf das Gesamtüberleben aus und erhöhen das Risiko für ein Rezidiv. (7)

Veränderungen im EZH2-Gen treten bei 5-10% der Patient\*innen auf und wirken sich ebenfalls negativ auf die Prognose aus. (7)

#### Cohesinkomplex

Der Cohesinkomplex ist eine ringförmige Proteinstruktur, welcher die beiden Schwesterchromatiden nach der Replikation in der S-Phase bis zu Beginn der Metaphase zusammenhält und übernimmt eine wichtige Rolle in der DNA-Reparatur sowie Transkriptionsregulation. Mutationen im Cohesinkomplex lassen sich in 10-15% aller MDS-Patient\*innen nachweisen und sind häufige genetische Treiber, die zu Störungen in den vorhin genannten Funktionen führen. (6,14,16)

STAG2 ist ein Protein des Cohesinkomplexes und ist in ca. 5% aller MDS-Fälle mutiert. Es ist mit einer schlechten Prognose und einem erhöhten Risiko der AML-Transformation assoziiert. (7)

#### Transkriptionsfaktoren

Transkriptionsfaktoren die für die Differenzierung und Regulation der hämatopoetischen Stammzellen verantwortlich sind, sind häufig bei MDS mutiert. Somatische Mutationen treten in 10-15% der MDS-Fälle auf, wobei häufig die

Gene RUNX1, BCOR, ETV6, GATA2 und CEBPA betroffen sind. Zusätzlich können diese Mutationen aber auch als Keimbahnmutationen auftreten, die für familiär gehäuftes MDS verantwortlich sind. (7,16)

Der Transkriptionsfaktor RUNX1 ist ein wichtiger Regulator der Hämatopoese und eine Mutation lässt sich in etwa 10% aller Patient\*innen nachweisen. Diese ist mit einer schlechten Prognose assoziiert und tritt vermehrt bei therapieassoziierten MDS-Erkrankungen auf. RUNX1-Mutationen sind auch häufig mit anderen genetischen Veränderungen in Genen wie ASXL1, SRSF2, TET2, SF3B1 und EZH2 oder auch mit chromosomalen Aberrationen am Chromosom 7 verbunden. (7)

Veränderungen von BCOR treten in ca. 5% und Mutationen im ETV6-Gen treten in weniger als 5% aller MDS-Fälle auf. Beide Veränderungen zeigen eine ungünstige Prognose und ETV6-Mutationen sind zusätzlich noch mit einem höheren Risiko einer AML-Transformation assoziiert. (7)

### TP53

TP53 ist ein Tumorsuppressor und Transkriptionsfaktor. Es ist das am häufigsten mutierte Gen in Krebserkrankungen und ist in 10% aller de novo MDS-Fälle, sowie in 25% aller therapieassoziierten MDS-Erkrankungen mutiert. TP53-Mutationen treten vermehrt bei Patient\*innen über 60 Jahren auf und sind häufig mit einer del(5q) und einem komplexen Karyotyp assoziiert. Das Vorhandensein dieser Genveränderung ist außerdem mit einer niedrigen Lebenserwartung, hohem Risiko einer AML-Transformation und früh auftretenden Rezidiven verbunden. (7,11)

## **1.6 Klinische Symptomatik**

Mit 80-90% aller Patient\*innen ist die Anämie (Hämoglobin (Hb) < 10g/dl) die häufigste Erstmanifestation des MDS und wird meist in Folge einer routinemäßigen Blutbildkontrolle entdeckt. Multilineare Zytopenien sind zum Zeitpunkt der Diagnose seltener zu beobachten. Die typischen Symptome einer Anämie wie Blässe der Haut und Schleimhäute, Abgeschlagenheit, Müdigkeit oder Schwindel treten jedoch nur bei einem Teil der Patient\*innen auf. Durch die Anämie kann eine bestehende koronare Herzkrankheit oder zerebrovaskuläre Insuffizienz verstärkt werden. Entwickelt sich die Anämie rasch, können auch

Sehstörungen und Verwirrheitszuständen auftreten. Im weiteren Verlauf führt die Anämie häufig zu Einschränkungen der Lebensqualität und des Performance Status. (1)

Etwa ein Drittel der Patient\*innen berichtet bei der Diagnose von wiederkehrenden Infektionen aufgrund eines Mangels an neutrophilen Granulozyten, vor allem an den Atemwegen oder der Haut. Eine Neutropenie bei MDS liegt ab einer Anzahl von neutrophilen Granulozyten  $< 1800/\mu\text{l}$  vor. Ab einer Anzahl von  $< 500/\mu\text{l}$  besteht eine erhöhte Gefahr von Infektionen mit opportunistischen Erregern wie z.B. eine Aspergillose. In diesem Zustand können bakterielle Infektionen in eine neutropene Sepsis übergehen und unbehandelt oder zu spät therapiert letal verlaufen. (1,17)

Ungefähr die Hälfte der Patient\*innen hat bei der Erstdiagnose des MDS eine Thrombozytopenie (Thrombozyten  $< 100000/\mu\text{l}$ ). Initiale Blutungskomplikationen wie Spontanhämatome, Petechien oder vermehrtes Zahnfleischbluten sind trotzdem selten. Spontane Blutungen treten in der Regel erst ab einer Thrombozytenzahl von  $< 10000/\mu\text{l}$  auf. Bei etwa 10% der Patient\*innen zeigt sich das MDS mit einer schweren Blutung, beispielsweise im Magen-Darm-Trakt, in den ableitenden Harnwegen, im zentralen Nervensystem oder der Retina. (1)

Zusätzlich zu den oben genannten Symptomen, welche auf die Blutbildveränderungen zurückzuführen sind, können auch weitere Symptome auftreten die unter anderem immunologisch bedingt sind. So können sich vaskulitisartige Erscheinungen an der Haut und den Gelenken zeigen oder in Form einer peripheren Polyneuropathie manifestieren. (17)

## **1.7 Diagnostik**

### **1.7.1. Blutbild**

In den meisten Fällen entsteht der Verdacht auf ein MDS aufgrund von länger bestehenden unerklärlichen Zytopenien im peripheren Blut. Die Anämie ist hierbei typisch normozytär oder makrozytär und die Retikulozytenzahl ist in der Regel erniedrigt. Isolierte Leukozytopenien oder Thrombozytopenien ohne reduzierte Hämoglobinwerte sind selten. (18)

### **1.7.2. Peripherer Blutausstrich**

Liegt eine oder liegen mehrere Zytopenien vor, sollte ein peripherer Blutausstrich durchgeführt werden, um die Blutzellen morphologisch zu untersuchen. Erythrozyten, Granulozyten und Thrombozyten zeigen hierbei gelegentlich typische Veränderungen (z.B. Poikilozytose der Erythrozyten, Hypogranulation oder Hypersegmentation der Granulozyten, Anisozytose der Thrombozyten), welche erste Hinweise auf ein MDS liefern können. (18,19)

### **1.7.3. Knochenmarkspunktion**

Zur Diagnosestellung eines MDS ist eine Knochenmarkspunktion erforderlich. Die Materialgewinnung kann durch Knochenmarksaspirat und Stanzzyylinder erfolgen. Mittels Aspirat ist es möglich die Zytomorphologie, Zytogenetik, Immunphänotypisierung und Molekulargenetik durchzuführen. Stanzzyylinder hingegen ermöglichen die Knochenmarkszellularität besser zu beurteilen, eine Fibrosierung festzustellen und das Erkennen einer abnormen räumlichen Verteilung der Vorläuferzellen. Daher sollten für die Initialdiagnostik immer beide Untersuchungen durchgeführt werden. (1,20)

In der Knochenmarksprobe werden die erythroide, myeloische und megakaryozytäre Zelllinie hinsichtlich Reifung und Dysplasiezeichen histologisch beurteilt. Das Vorhandensein von dysplastischen Veränderungen von 10% oder mehr innerhalb einer hämatopoetischen Zelllinie spricht für das Vorliegen eines MDS. Sofern die Probe es erlaubt, sollten für eine aussagekräftige diagnostische Einschätzung mindestens 500 Zellen ausgewertet werden. (19)

Ebenfalls von Bedeutung ist der Blastenanteil für die weitere Klassifikation, Risikostratifizierung und auch zur Abgrenzung zur AML. Ein höherer Anteil ist mit einer schlechteren Prognose verbunden und ab einem Anteil von 20% oder mehr liegt definitionsgemäß eine AML vor. (19)

Es gibt einige histologische Färbeverfahren die angewandt werden können um bestimmte zellulären Strukturen besser zu erkennen. Eine Berliner-Blau-Färbung der Knochenmarksprobe sollte aber bei allen Patient\*innen mit Verdacht auf MDS durchgeführt werden um Ringsideroblasten nachzuweisen. Dies ist essentiell, da wie früher schon erwähnt, das MDS-RS einen eigenen Subtyp darstellt. (1,19,21)

#### **1.7.4. Immunhistochemie und Durchflusszytometrie**

Bei der Immunhistochemie kommen spezielle Antikörper zum Einsatz, die sich an spezifische Antigene im Gewebe oder einer Zelle binden. Diese Antigen-Antikörper Komplexe werden anschließend mit verschiedenen Methoden (z.B. fluoreszierende Farbstoffe in der Auflichtmikroskopie) sichtbar gemacht und hervorgehoben. Dysplastische Merkmale wie das Vorhandensein von unreifen abnorm lokalisierten Vorläuferzellen können so besser beurteilt werden. Bei MDS spielt hier das Antigen CD34 eine wichtige Rolle, welches von hämatopoetischen Stammzellen exprimiert wird und ein Blastenmarker ist. (1,19,22)

Mithilfe der Durchflusszytometrie lassen sich herausgelöste einzelne Zellen oder zelluläre Strukturen anhand unterschiedlicher physikalischer und fluoreszenzassoziierter Eigenschaften erfassen und quantifizieren. Dadurch können mit ihr abnorme Expressionsmuster differenzierungsassoziierter Antigene in Zellen, sowie untypische phänotypische Merkmale in reifenden hämatopoetischen Zellen bei MDS bestimmt werden. Obwohl die Untersuchung bei MDS aufwendig und komplex ist, hat sie dank der Entwicklung von standardisierten Parametern und Minipaneln in den letzten 10 Jahren zunehmend an Bedeutung in der Diagnostik gewonnen. (1,21,22)

#### **1.7.5. Zytogenetik**

Bei Verdacht auf MDS gehört die zytogenetische Untersuchung des Knochenmarks auf Veränderungen des Karyotyps mittels Chromosomenanalyse, eventuell ergänzt mit Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH), zur Erstdiagnostik. (1)

Bei der konventionellen Karyotypisierung werden Zellen in der Metaphase auf strukturelle und numerische chromosomale Veränderung untersucht. Da ca. die Hälfte der Patient\*innen mit MDS mindestens eine chromosomale Aberration aufweisen, lässt sich mit dieser Untersuchung die Diagnose bei einem Großteil der Fälle zusätzlich absichern und sie ist entscheidend für die Klassifikation sowie Risikostratifizierung. Für ein aussagekräftiges Ergebnis müssen 20-25 Metaphasen evaluiert werden. (1,19)

Die FISH ist eine weitere Untersuchungsmethode zur Darstellung von Chromosomen. Mit Fluoreszenzfarbstoffen markierte DNA-Sonden binden an

spezifische Bereiche der Chromosomen und lassen sich anschließend im Mikroskop mit speziellen Filtern darstellen. Für MDS gibt es eigene Panels die auf die häufigsten Aberrationen testen. Die FISH hat neben einem höheren Auflösungsvermögen ebenfalls den Vorteil die Chromosomen in allen Phasen des Zellzyklus, einschließlich der Interphase, zu beurteilen. (1,13)

### **1.7.6. Molekulargenetische Untersuchung**

Der Nachweis somatischer Mutationen hat eine große Relevanz für die Prognosebeurteilung, Klassifikation und Therapie des MDS. Die Molekulargenetik kann aber auch bei diagnostischer Unsicherheit z.B. bei geringen Dysplasiezeichen im Blut und Knochenmark, niedrigem Blastenanteil und unauffälligen Karyotyp eine bedeutende Hilfe sein. Deshalb hat sie sich zunehmend als wichtige Routineuntersuchung etabliert. (1,23)

Mittels DNA-Sequenzierung kann die Abfolge der DNA-Basen bestimmt werden. Durch Vergleich mit einem Referenzgenom werden dadurch Abweichungen identifiziert und Genmutationen bestimmt. Moderne Technologien die als Next-generation Sequencing (NGS) bezeichnet werden, ermöglichen Millionen bis Milliarden parallele Sequenzreaktionen gleichzeitig und liefern dadurch schnellere und günstigere Ergebnisse als frühere Varianten. So kostete das erste sequenzierte humane Genom ungefähr 3 Milliarden Dollar und dauerte 12 Jahre, während in der heutigen Zeit ein vollständiges Genom innerhalb nur eines Tages für 1000 Dollar bestimmt werden kann. (13,14,24)

Der Großteil der krankheitsrelevanten Mutationen bei MDS tritt in einem Kernset von etwa 50 Genen auf. Daher kommen bei Verdacht auf MDS gezielte NGS-Genpanels zum Einsatz, die auf die häufigsten genetischen Veränderungen testen. (23,25)

### **1.7.7. Diagnosekriterien**

Um die Diagnose eines MDS zu stellen wurden folgende minimale Diagnosekriterien vorgeschlagen: (1,26)

A. Voraussetzende Kriterien (beide müssen erfüllt sein)

- a. Persistierende Zytopenie (>4 Monate) in mindestens einer folgenden Zelllinien: Rote Blutkörperchen (Hb < 10g/dl), Neutrophile

Granulozyten (Absolute Neutrophilenzahl (ANC)  $< 1,8 \times 10^9/l$ ) oder Thrombozyten ( $< 100 \times 10^9/l$ )

- b. Ausschluss aller anderen hämatopoetischen oder nicht-hämatopoetischen Erkrankungen als Ursache der Zytopenien und/oder Dysplasien

B. MDS-bezogene Hauptkriterien (zumindest eines muss erfüllt sein)

- a. Dysplasie in mindestens 10% aller Zellen in einer der folgenden Zelllinien im Knochenmarksaustrich: erythroid, myeloisch oder megakaryozytär)
- b.  $\geq 15\%$  Ringsideroblasten, oder  $\geq 5\%$  Ringsideroblasten falls eine SF3B1 Mutation vorhanden ist
- c. 5-19% Blasten im Knochenmarksausstrich (oder 2-19% Blasten im peripheren Blut)
- d. Typische Chromosomenaberrationen bei konventioneller Karyotypisierung oder FISH (z.B. 5q-, -7)

C. Co-Kriterien (Falls keine Hauptkriterien aus B erfüllt werden. Zwei oder mehr dieser Kriterien müssen erfüllt werden)

- a. Auffällige histologische oder immunhistologische Knochenmarksbefunde
- b. Auffälliger Immunphänotyp von Zellen des Knochenmarks in der Durchflusszytometrie
- c. Nachweis der Klonalität myeloischer Zellen basierend auf einem molekularen Screening

(1,26)

Falls beide voraussetzende Kriterien und mindestens ein Hauptkriterium erfüllt sind, kann die Diagnose eines MDS gestellt werden. Ist kein Hauptkriterium erfüllt, aber es besteht ein begründeter Verdacht, dass der/die Patient\*in trotzdem an einem MDS leidet, sollten die Co-Kriterien angewandt werden um die Erkrankung vorläufig zu diagnostizieren. In solchen Fällen kann es erforderlich sein das Knochenmark im Krankheitsverlauf erneut zu untersuchen.(1)

## 1.8. Wichtige Differentialdiagnosen

Reaktive Ursachen: MDS ist prinzipiell eine Ausschlussdiagnose. Alkohol, bestimmte Medikamente (z.B. Antibiotika, Antirheumatika, Zytostatika) und die Exposition von Giftstoffen können zu einem MDS-ähnlichen klinischen Bild mit Knochenmarksveränderungen führen und sollten deswegen anamnestisch ausgeschlossen werden. Bei Patient\*innen mit chronischer Anämie sollte auch immer ein Eisen-, Folsäure-, oder Vitamin B12-Mangel ausgeschlossen werden, bevor an ein MDS gedacht wird. (1)

AML: Der entscheidende Unterschied zwischen einem MDS und einer AML ist die Anzahl an myeloischen Blasten. Eine AML hat laut Definition  $\geq 20\%$  im Knochenmark oder peripheren Blut. Ausnahmen bilden hierbei die Chromosomenaberrationen  $(8;21)(q22;q22)$ ,  $inv(16)(p13q22)$  und  $t(16;16)(p13;q22)$ . Sollte eine von diesen vorliegen, wird die Erkrankung als AML klassifiziert, unabhängig von der Blasenzahl. (27)

Potenzielle Vorstufen des MDS: In den letzten Jahren wurden eine Reihe von MDS-Vorläuferstadien beschrieben, nämlich CHIP, CCUS, Idiopathische Zytopenie unklarer Signifikanz (ICUS) und Idiopathische Dysplasie unklarer Signifikanz (IDUS). Die Erkrankungen wurden folgendermaßen definiert: (28)

- CHIP: Keine Zytopenien im peripheren Blut,  $< 10\%$  Dysplasie im Knochenmark und mindestens eine für MDS typische Mutation mit einer Allelfrequenz von  $\geq 2\%$ .
- CCUS: Zytopenien im peripheren Blut,  $< 10\%$  Dysplasien im Knochenmark und mindestens eine für MDS typische Mutation mit einer Allelfrequenz von  $\geq 2\%$ .
- ICUS: Zytopenien im peripheren Blut,  $< 10\%$  Dysplasien im Knochenmark und keine MDS-typische Mutationen.
- IDUS: Keine Zytopenien im peripheren Blut,  $> 10\%$  Dysplasien im Knochenmark und keine MDS-typische Mutationen.

(28)

Diese Erkrankungen können ohne klinische Manifestation oder Progression persistieren, aber auch in ein MDS oder eine andere hämatologische Erkrankung

übergehen. Aus diesem Grund sollten solche Patient\*innen regelmäßig bezüglich des Krankheitsverlaufs kontrolliert werden. (28)

Haarzelleukämie (HCL): Die HCL gehört zur Gruppe der niedrigmalignen Non-Hodgkin-Lymphome der B-Zell-Reihe. Sie ist durch das Vorhandensein von den sogenannten Haarzellen geprägt, kleine B-Lymphozyten mit ovalen Kernen und haarförmigen Ausziehungen im Zytoplasma, welche man im Knochenmark, seltener auch im peripheren Blut auffindet. Patient\*innen zeigen häufig eine Panzytopenie und Splenomegalie. Das Knochenmark ist häufig fibrosiert. (29)

MDS/myeloproliferative Neoplasie (MPN) Overlap-Erkrankungen: Die MDS/MPN-Overlap-Erkrankungen sind eine Gruppe von Erkrankungen mit Eigenschaften eines MDS und von MPN. Diese gliedern sich laut WHO Klassifikation von 2022 in folgende Krankheitsbilder:(30,31)

- Chronische Myelomonozytäre Leukämie (CMML): Ist die häufigste Entität der MDS/MPN-Overlap-Erkrankungen. Sie ist gekennzeichnet durch eine Monozytose im peripheren Blut ( $\geq 0,5 \times 10^9/l$  und  $\geq 10\%$  aller Leukozyten). Zusätzlich muss mindestens eines der folgenden Zusatzkriterien erfüllt sein:
  - $\geq 10\%$  Dysplasiezeichen in mindestens einer myeloischen Zelllinie
  - eine zytogenetische oder molekulargenetische Aberration (z.B. TET2, ASXL1 oder SRFS2)
  - Abnormale Verteilung oder Teilung der Monozyten im peripheren Blut in der Durchflusszytometrie
- MDS/MPN mit SF3B1-Mutation und Thrombozytose (MDS/MPN-SF3B1-T): Patient\*innen mit MDS/MPN-SF3B1-T erfüllen die Kriterien eines MDS mit Ringsiderblasten und müssen außerdem eine persistierende Thrombozytose ( $\geq 450 \times 10^9/l$ ) aufweisen. Sollte keine SF3B1-Mutation aber  $\geq 15\%$  Ringsiderblasten im Knochenmark vorliegen kann die Erkrankung auch wie in der WHO-Klassifikation von 2016 als MDS/MPN mit Ringsiderblasten und Thrombozytose (MDS/MPN-RS-T) bezeichnet werden.
- MDS/MPN mit Neutrophilie: Die MDS/MPN mit Neutrophilie ist gekennzeichnet durch eine Leukozytose ( $\geq 13 \times 10^9/l$ ) mit Neutrophilie und neutrophiler Dysplasie im peripheren Blut. Zusätzlich müssen unreife myeloische Zellen  $\geq 10\%$  aller Leukozyten ausmachen. Das Knochenmark

ist hyperzellulär mit granulozytärer Hyper- und Dysplasie. Das BCR-ABL1-Fusionsgen, sowie JAK2-, MPL-, CALR- und CSF3R-Mutationen dürfen nicht vorhanden sein.

(31–34)

Aplastische Anämie (AA): Die Unterscheidung zwischen einer AA und einem hypoplastischen MDS ist mit gängigen Diagnoseverfahren schwierig. Aufgrund der niedrigen Zellularität des Knochenmarks kann es erschwert sein dieses bezüglich Dysplasien zu beurteilen. Bestimmte chromosomale Aberrationen wie del(5q), Monosomie 7 und Inversion 3, sowie Mutationen von SF3B1 und RUNX1 sprechen eher für MDS, während Mutationen von BCOR, BCORL1 und PIGA auf eine AA hindeuten. (1,32)

## **1.9. Klassifikation des MDS nach der WHO 2016**

Obwohl 2022 gleich zwei neue Klassifikationen für MDS veröffentlicht wurden, einerseits eine überarbeitete Version der WHO und andererseits die International Consensus Classification, wird in dieser Arbeit nur die WHO 2016 – Version erläutert, da diese für den praktischen Teil der Diplomarbeit verwendet wurde. (35)

Tabelle 1 MDS-Klassifikation der WHO 2016 adaptiert nach (29,36)

Name	Dysplastische Linien	Zytopenien	Ringsideroblasten (% von erythroiden Zellen)	Anteil der Blasten im Knochenmark (KM) und peripheren Blut (PB) in %	Zytogenetik (nach konventioneller Karyotypisierung)
MDS mit unlineärer Dysplasie (MDS-SLD)	1	1 oder 2	<15%/<5% <sup>1</sup>	KM <5%, PB <1%, keine Auerstäbchen	Alle, außer es werden alle Kriterien für ein MDS mit isoliertem del(5q) erfüllt
MDS mit multilineärer Dysplasie (MDS-MLD)	2 oder 3	1 bis 3	<15%/<5% <sup>1</sup>	KM <5%, PB <1%, keine Auerstäbchen	Alle, außer es werden alle Kriterien für ein MDS mit isoliertem del(5q) erfüllt
<u>MDS mit Ringsideroblasten (MDS-RS)</u>					
MDS-RS mit unilineärer Dysplasie	1	1 oder 2	≥15%/≥5% <sup>1</sup>	KM <5%, PB <1%, keine Auerstäbchen	Alle, außer es werden alle Kriterien für ein MDS mit isoliertem del(5q) erfüllt
MDS-RS mit multilineärer Dysplasie	2 oder 3	1 bis 3	≥15%/≥5% <sup>1</sup>	KM <5%, PB <1%, keine Auerstäbchen	Alle, außer es werden alle Kriterien für ein MDS mit isoliertem del(5q) erfüllt
MDS mit isolierter del(5q)	1 bis 3	1 bis 2	irrelevant	KM <5%, PB <1%, keine Auerstäbchen	del(5q) isoliert oder mit einer anderen Aberration (ausgenommen -7 oder del(7q))
<u>MDS mit Blastenexzess (MDS-EB)</u>					
MDS-EB-1	0 bis 3	1 bis 3	irrelevant	KM 5-9%, PB 2-4%, keine Auerstäbchen	irrelevant
MDS-EB-2	0 bis 3	1 bis 3	irrelevant	KM 10-19%, PB 5-19%, oder Auerstäbchen	irrelevant
<u>MDS, unklassifizierbar (MDS-U)</u>					
mit 1% Blasten im PB	1 bis 3	1 bis 3	irrelevant	KM <5%, PB=1% <sup>2</sup> , keine Auerstäbchen	irrelevant
with unlineärer Dysplasie und Panzytopenie	1	3	irrelevant	KM <5%, PB<1%, keine Auerstäbchen	irrelevant
basierend auf bestimmten zytogenetischen Aberrationen	0	1 bis 3	<15% <sup>3</sup>	KM <5%, PB <1%, keine Auerstäbchen	MDS defenierte Abnormalität <sup>4</sup>
Refraktäre Zytopenie des Kindesalters	1 bis 3	1 bis 3	Keine	KM <5%, PB <2%	irrelevant

<sup>1</sup>falls SF3B1 mutiert ist  
<sup>2</sup>1% Blasten im PB muss zu mindestens 2 verschiedenen Zeitpunkten dokumentiert sein  
<sup>3</sup>Fälle mit >15% Ringsideroblasten haben per Definition eine signifikante erythroide Dysplasie und sind als MDS-RS-SLD klassifiziert  
<sup>4</sup>Unbalancierte Abnormalitäten: -7 oder del(7q), -5 oder del(5q), i(17q) oder t(17p), -13 oder del(13q), del(11q), del(12p) oder t(12p), del(9q), idic(X)(q13)

**MDS-SLD:** Eine dysplastische Zelllinie, 1 bis 2 Zytopenien im PB, weniger als 5% Blasten im KM und weniger als 1% im PB, keine Auerstäbchen. Im KM finden sich

außerdem weniger als 15% Ringsideroblasten oder weniger als 5% falls eine SF3B1-Mutation bei der erkrankten Person vorliegt. (37)

MDS-MLD: Zwei bis drei dysplastische Zelllinien, 1 bis 3 Zytopenien im PB, weniger als 5% Blasten im KM und weniger als 1% im PB, keine Auerstäbchen. Im KM finden sich außerdem weniger als 15% Ringsideroblasten oder weniger als 5% falls eine SF3B1-Mutation bei der erkrankten Person vorliegt. (37)

MDS-RS: Enthält zwei Subtypen: MDS-RS mit unilineärer und multilineärer Dysplasie. Generell braucht man für die Diagnose 15% Ringsideroblasten im KM oder 5% falls eine SF3B1-Mutation der erkrankten Person vorliegt. Weniger als 5% Blastem im KM und weniger als 1% im PB, keine Auerstäbchen. Je nach Subtyp finden sich im KM 1 oder mehrere dysplastische Linien und im PB 1 oder mehrere Zytopenien. (37)

MDS mit isolierten del(5q): 1 bis 3 dysplastische Linien im KM, 1 oder 2 Zytopenien im PB, weniger als 5% Blasten im KM und weniger als 1% im PB, keine Auerstäbchen. Die Menge an Ringsideroblasten ist bei dieser Entität irrelevant. Entscheidend für die Diagnose ist das Vorliegen einer del(5q) Chromosomenaberration alleine, oder neu in der WHO-2016 Klassifikation, zusammen mit einer zusätzlichen chromosomalen Aberration mit der Ausnahme von Monosomie 7 oder del(7q). (37,38)

MDS-EB: Ist durch einen erhöhten Blastenanteil KM und PB definiert. Bei MDS-EB-1 sind es 5-9% Blasten im KM oder 2-4% im PB und bei MDS-EB-2 sind es 10-19% Blasten im KM oder 5-19% im PB. MDS-EB-2 kann außerdem auch bei Vorkommen von Auerstäbchen diagnostiziert werden. (36,39)

MDS-U: Besteht aus 3 Subtypen.

- Bei MDS mit 1% Blasten im PB, müssen diese 1% zu zwei unterschiedlichen Zeitpunkten gemessen werden.
- MDS mit unilineärer Dysplasie und Panzytopenie äußert sich durch nur eine dysplastische Zellreihe im KM aber Panzytopenie im PB.
- Bei MDS basierend auf zytogenetischen Aberrationen zeigen sich im KM nicht die für die Diagnose notwendigen 10% dysplastische Zellen. Dafür finden sich aber mindestens eine für MDS typische genetische Abnormalität (-7 oder del(7q), -5 oder del(5q), i(17q) oder t(17p), -13 oder del(13q), del(11q), del(12p) oder t(12p), del(9q), idic(X)(q13))

(29,37)

Refraktäre Zytopenie des Kindesalters: ist nur eine zusätzliche provisorische Entität welche charakterisiert ist durch 1 bis 3 dysplastischen Zelllinien, 1-3 Zytopenien im PB und weniger als 5% Blasten im KM und weniger als 2% im PB.

(37)

## 1.10. Risikostratifizierung des MDS

Um den klinischen Verlauf von MDS-Patient\*innen abzuschätzen und deren Risiko einer AML-Transformation zu evaluieren, wurde 1997 das International Prognostic Scoring System entworfen. Mithilfe von den 3 Parametern - Blasten im Knochenmark, Karyotyp und Zytopenien - werden die Patient\*innen damit in 4 Risikogruppen eingeordnet, welche dann für die geplante Therapie entscheidend sind. Patient\*innen mit hohem Risiko zeigen ein deutlich reduziertes Gesamtüberleben und eine erhöhte Rate an AML-Transformationen. (40)

Tabelle 2 IPSS-Tabelle adaptiert nach (40)

Kategorie	Punkte				
	0	0,5	1	1,5	2
Blasten im KM (%)	<5	5-10	-	11-20	21-30
Karyotyp <sup>1</sup>	Good	Intermediate	Poor		
Zytopenien <sup>2</sup>	0 oder 1	2 oder 3			

<sup>1</sup>Good: normal, -Y, del(5q); Poor: Komplex (≥3 Aberrationen) oder eine Chromosom 7 Aberration; Intermediate: alle anderen Abberationen  
<sup>2</sup>Hb < 10g/dL, ANC < 1,500/μL, Thrombozyten < 100000/μL

Die 4 Risikogruppen lautet wie folgt:

- Low: 0 Punkte (mediane Überlebenszeit 5,7 Jahre, nach 9,4 Jahren entwickelten 25% eine AML)
- Intermediate I: 0,5-1 Punkte (mediane Überlebenszeit 3,5 Jahre, nach 3,3 Jahren entwickelten 25% eine AML)
- Intermediate II: 1,5-2 Punkte (mediane Überlebenszeit 1,2 Jahre nach 1,1 Jahren entwickelten 25% eine AML)
- High: ≥ 2,5 Punkte (mediane Überlebenszeit 0,4 Jahre nach 0,2 Jahren entwickelten 25% eine AML)

(40)

Der IPSS war lange Zeit ein wichtiger Standard um die Prognose für MDS-Patient\*innen abzuschätzen, bis schließlich in 2012 der Revised-IPSS (IPSS-R) veröffentlicht wurde. Dieser ist eine überarbeitete Form des IPSS bei dem es nun fünf Gruppen für die Zytogenetik gibt, genauer auf die einzelnen Zytopenien eingegangen wird und auch den niedrigeren Blastenanteilen im Knochenmark mehr prognostischen Wert gegeben wird. (41)

Tabelle 3 IPSS-R Tabelle adaptiert nach (41)

Kategorie	Punkte						
	0	0,5	1	1,5	2	3	4
Blasten im KM (%)	≤2	-	>2 - <5	-	5-10	>10	
Zytogenetik <sup>1</sup>	Very Good	-	Good	-	Intermediate	Poor	Very Poor
Hämoglobin (g/dL)	≥10	-	8 bis <10	<8	-	-	-
Thrombozyten (x10 <sup>9</sup> /L)	≥100	50 bis <100	<50	-	-	-	-
ANC (x10 <sup>9</sup> /L)	≥0,8	<0,8	-	-	-	-	-

<sup>1</sup>Very Good:-Y, del(11q); Good: Normal, del(5q), del(12p), del(20q), del(5q) + eine zusätzliche Aberration; Intermediate: del(7q), +8, +19, i(17q), jede andere einzel- oder doppel-Aberration, welche nicht in den anderen Gruppen vorkommt; Poor: -7, inv(3)/t(3q)/del(3q), -7/del(7q) + eine weitere Aberration, jegliche dreifach Aberration; Very Poor: ≥3 Aberrationen

Anders als der IPSS, gliedert sich der IPSS-R in fünf Risikogruppen:

- Very Low: ≤ 1,5 (mediane Überlebenszeit 8,8 Jahre, weniger als 25% entwickelten im untersuchten Zeitraum eine AML)
- Low: > 1,5 – 3 (mediane Überlebenszeit 5,3 Jahre, nach 10,8 Jahren entwickelten 25% eine AML)
- Intermediate: > 3 – 4,5 (mediane Überlebenszeit 3,0 Jahre, nach 3,2 Jahren entwickelten 25% eine AML)
- High: > 4,5 – 6 (mediane Überlebenszeit 1,6 Jahre, nach 1,4 Jahren entwickelten 25% eine AML)
- Very High > 6 (mediane Überlebenszeit 0,8 Jahre, nach 0,73 Jahren entwickelten 25% eine AML)

(41)

IPSS Low und Intermediate-I, sowie IPSS-R ≤ 3,5 Punkte zählen prognostisch als Niedrigrisiko-MDS (Low Risk MDS). IPSS Intermediate-II und High, sowie IPSS-R > 3,5 Punkte werden hingegen prognostisch als Hochrisiko-MDS eingestuft (High Risk MDS). (1)

Obwohl in dieser Arbeit nicht näher auf ihn eingegangen wird, sei an dieser Stelle trotzdem noch der IPSS-Molecular (IPSS-M) erwähnt. Anders als sein Vorgänger werden hier nun auch Genmutation für das Scoring herangezogen, nachdem

gezeigt wurde, dass diese einen Einfluss auf die Prognose der MDS-Patient\*innen haben. Insgesamt zieht der IPSS-M 31 Genmutationen für die Prognostik mit ein. Dabei spielen aber auch strukturelle Veränderungen, wie die MLL-partielle Tandemduplikation eine große Rolle. Diese wird erst seit 2024 in der Routine bestimmt und der Score konnte daher rückwirkend in dieser Diplomarbeit nicht erhoben werden. (42)

## **1.11. Therapie**

### **1.11.1. Niedrigrisiko-MDS**

Der Großteil der MDS-Patient\*innen fallen in die Kategorie des Niedrigrisiko-MDS. Diese sind gekennzeichnet durch Dysplasie, einen niedrigen Anteil an myeloischen Blasten im Knochenmark, wenige und meistens nur schwach ausgeprägte Zytopenien, sowie eine günstige Zytogenetik. Daher haben die Patient\*innen eine gute Prognose bezüglich Langzeitüberleben und AML-Transformation. Die Therapie zieht hauptsächlich darauf ab die Zytopenien zu verbessern um deren Komplikationen zu verhindern und die Lebensqualität der Erkrankten beizubehalten. (1,43–45)

#### **1.11.1.1. Observanz**

Bei Niedrigrisiko-MDS-Patient\*innen welche nur schwach ausgeprägte asymptomatische Zytopenien zeigen ist ein „Watch and Wait“ Konzept ausreichend. Kontrollen sollten in der Regel alle 1-3 Monate erfolgen. Generell ist bei MDS-Patient\*innen sowohl Low- als auch High-Risk, welche aufgrund ihres Alters und Komorbiditäten nur eine kurze Lebenserwartung haben, eine rein supportive Therapie empfohlen. (43,46)

#### **1.11.1.2. Anämie**

Die Anämie ist die häufigste Form der Zytopenie bei MDS mit bis zu 90% der Fälle. Zur Therapie stehen hier mehrere Möglichkeiten zur Auswahl. (43)

Erythrozytensubstitution: Die meisten Patient\*innen mit MDS benötigen irgendwann im Verlauf der Krankheit einmal ein Erythrozytenkonzentrat (EK). Die Verabreichung sollte aber symptomorientiert erfolgen. Die meisten Erkrankten haben Probleme mit Hb-Werten von < 8g/dl, jedoch gibt es auch Patient\*innen,

welche bereits ab einem Wert von ungefähr 10 g/dl Symptome wie Müdigkeit, Atembeschwerden und Angina Pectoris zeigen und deswegen bereits früher Konserven erhalten sollten. (1,47)

Bei einem hohen Transfusionsbedarf ( $\geq 2$  EK alle 4 Wochen) kommt es zu einer Eisenüberladung im Körper, welches sich dann vor allem im Herz und der Leber einlagert und die Organfunktion einschränkt. In einer Studie konnte gezeigt werden, dass der Eisenchelator Deferasirox eine positive Auswirkung auf das ereignisfreie Überleben von Patient\*innen mit einem Serum-Ferritinwert von  $> 1000\text{ng/ml}$  und 15 - 75 zuvor erhaltenen EKs hatte. Deshalb sollten Eisenchelatoren bei Patient\*innen angedacht werden, welche einen Serum-Ferritinwert von  $>1000\text{ng/ml}$ , um die 20 EKs erhalten und eine Lebenserwartung von  $> 1$  Jahren haben. (1,43,45,48)

Erythropoese-stimulierende-Substanzen (ESA): ESAs können zwar die Anämie der Patient\*innen bessern und den Transfusionsbedarf senken, haben aber keinen Einfluss auf den Verlauf der Krankheit an sich. Die Ansprechrate der Therapie (Reduktion der benötigten EKs oder Anstieg des Hb um  $> 1.5$  g/dl) liegt zwischen 40-60% und dauert in der Regel 1-2 Jahre an. ESAs kommen bei Patient\*innen mit einem Serum-EPO-Spiegel von  $< 200$  U/l und einem niedrigen Transfusionsbedarf in Frage. (1,49,50)

Lenalidomid: Lenalidomid gehört zur Gruppe der Immunmodulatoren und ist zur Behandlung von Patient\*innen mit MDS mit isoliertem del(5q) zugelassen. Hierbei gehört es bei Niedrigrisiko-Patient\*innen mit transfusionsabhängiger Anämie zur Standardtherapie. In klinischen Studien konnte gezeigt werden, dass dieses Patient\*innenkollektiv in bis zu zwei Drittel der Fälle wieder eine Transfusionsfreiheit erlangen konnte und bei über 40% zeigte sich auch eine zytogenetische Remission. (1,43)

Luspatercept: Luspatercept sorgt für eine bessere Ausreifung der Erythroblasten in der Spätphase. Dieser Wirkstoff ist als Erstlinientherapie bei allen transfusionsbedürftigen Low-Risk MDS Fällen zugelassen, da in einer Studie gezeigt wurde, dass Luspatercept bei dieser Gruppe in 59% der Fälle eine Transfusionsfreiheit für mindestens 12 Wochen und einen Hb Anstieg um  $\geq 1,5$  g/dl erzielte und sich damit der Therapie mit ESA überlegen zeigte. (45,51,52)

### **1.11.1.3. Thrombozytopenie**

Eine ausgeprägte Thrombozytopenie erhöht nicht nur die Gefahr von spontanen Blutungen, sondern senkt auch die Wirksamkeit der krankheitsspezifischen Therapien. In klinischen Studien konnten die Thrombopoetin-Rezeptor-Agonisten (TPO-Agonisten) Romiplostim und Elthrombopag bei bis zu 50% der Patient\*innen einen signifikanten Anstieg an Blutplättchen erreichen. Romiplostim ist derzeit nicht für MDS in Europa zugelassen und zeigte bei Patient\*innen mit erhöhtem Blastenanteil im Knochenmark ein gesteigertes AML-Transformationsrisiko, weswegen es bei dieser Gruppe vermieden werden sollte. (1,44)

### **1.11.1.4. Granulozyten-Kolonie-stimulierender-Faktor (G-CSF)**

G-CSFs werden bei MDS häufig in Kombination mit ESAs eingesetzt, da sie das Ansprechen auf die ESA-Therapie verbessern oder gar erst auslösen können. Ansonsten sollten G-CSF im Falle einer febrilen Neutropenie verabreicht werden. Der Einsatz von G-CSFs bei einer isolierten Neutropenie ist derzeit nicht empfohlen. (43,44,50)

### **1.11.1.5. Immunsuppressive Therapie**

Eine Dysregulation des Immunsystems kann mitverantwortlich für die Entstehung eines MDS sein. Zytotoxische T-Zellen führen dabei zur Apoptose von hämatologischen Stammzellen und damit zu einer ineffektiven Hämatopoese. Antithymozytenglobulin alleine oder in Kombination mit Cyclosporin konnte bei Patient\*innen eine bis zu 50%ige Ansprechrate erzielen. Prädiktoren für das Ansprechen waren dabei ein Alter unter 60 Jahren, ein normaler Karyotyp, der HLA-Phänotyp DR15 und eine kurze Krankheitsdauer. Da aber beide Medikamente nicht für die Behandlung des MDS zugelassen sind und erhebliche Nebenwirkungen verursachen können, sollte eine Therapie nur an einem hämatologischen Fachzentrum erfolgen. (1,46,50)

### **1.11.1.6. Allogene Stammzelltransplantation (allo-SCT)**

Eine allo-SCT ist die einzige potentiell kurative Therapie für MDS, spielt aber bei Low-Risk Patient\*innen nur eine untergeordnete Rolle aufgrund der hohen therapiebezogenen Mortalität (bis zu 30%). Auch ohne Therapie würden 30% der Niedrigrisiko-MDS-Patient\*innen erst nach Jahren verstorben sein. Daher ist eine

allo-SCT bei Low-Risk MDS nur in Einzelfällen bei ungünstigen prognostischen Markern wie eine persistierend erhöhte Blastenzahl, wiederholte Infekte aufgrund einer Neutropenie, symptomatische Thrombozytopenie oder fehlendes Ansprechen auf anderweitige Therapie empfohlen. (1,45)

### **1.11.2. Hochrisiko-MDS**

Hochrisiko-MDS-Patient\*innen haben ein hohes Risiko für eine Transformation in eine AML und eine schlechte Prognose unbehandelt (medianes Überleben von 4-12 Monate). Daher zielen die Therapiemöglichkeiten darauf ab, die Krankheitsprogression zu verlangsamen und das Gesamtüberleben bei möglichst guter Lebensqualität zu verbessern. (1,53)

#### **1.11.2.1. Hypomethylierende Substanzen (HMA)**

HMAs sind die Therapie der Wahl bei Hochrisiko-MDS-Patient\*innen vor einer allo-SCT oder bei Patient\*innen welche dafür nicht geeignet sind. Die häufigsten für die Behandlung des MDS eingesetzten Wirkstoffe sind die Pyrimidin-Analoga Azacitidin und Decitabin. Ihre Wirkung beruht auf der Hemmung des Enzyms DNA-Methyltransferase (DNMT), welches für die DNA-Methylierung verantwortlich ist. Bei MDS-Patient\*innen bewirkt eine Hypermethylierung der DNA eine Inaktivierung von Genabschnitten welche kritisch für die Zellzykluskontrolle sind. Die Hemmung von DNMT stoppt diesen Vorgang und hemmt die ungehinderte Proliferation von aberranten hämatopoetischen Stammzellen. (1,54,55)

In den klinischen Studien zeigte Azacitidin ein signifikant längeres Gesamtüberleben (24,5 vs. 15 Monate) gegenüber der konventionellen Therapie. Die Verabreichung von Azacitidin erfolgt subkutan mit 75mg/m<sup>2</sup> für 7 Tage alle 28 Tage. Das Ansprechen auf die Therapie erfolgt langsam und kann erst nach mindestens 6 Zyklen beurteilt werden. Etwa die Hälfte der Patient\*innen zeigt Erfolge bei der Behandlung. Die Ansprechdauer ist in der Regel nur auf 1,5-2 Jahre begrenzt, danach haben Patient\*innen nur noch ein medianes Überleben von 6 Monaten. Einen Standard für eine mögliche Folgetherapie, gibt es derzeit noch nicht. (1,53)

### **1.11.2.2. Allogene Stammzelltransplantation**

Wie bereits erwähnt ist die allo-SCT die einzige kurative Therapie für MDS und zeigt in klinischen Studien 3-Jahres-Überlebensraten von bis zu 70%. Daher sollten alle Hochrisiko-Patient\*innen evaluiert werden, ob sie für allo-SCT geeignet sind. Aufgrund von Begleiterkrankungen, Alter und der hohen Mortalitätsrate der Therapie ist dies aber nur bei ca. 10% der Patient\*innen der Fall. Falls der medulläre Blastenanteil bei geeigneten Patient\*innen über >10% beträgt so wird von manchen Autor\*innen zuerst eine zytoreduktive Behandlung empfohlen (wahlweise mit HMAs oder eine intensive Chemotherapie) um das Rezidivrisiko zu senken. (53,56,57)

## **2. Ziele der Arbeit**

Die detaillierte Beschreibung des MDS in der Einleitung, diene um einen Überblick über das Erkrankungsbild zu geben. Durch die Identifikation von für MDS-typischen Mutationen konnte mithilfe der Einführung des NGS als Routineuntersuchung die Diagnosegenauigkeit und Klassifikationen verbessert werden. MDS zählt zwar zu den häufigsten hämatologischen Erkrankungen in der älteren Bevölkerung, ist aber insgesamt noch immer eine seltene Krankheit. Die Therapiealgorithmen leiten sich von internationalen Studien ab, welche oftmals mit strengen Ein- und Ausschlusskriterien durchgeführt werden und die Frage der Verallgemeinerung dieser Resultate auf Real-World-Kollektive bleibt offen. (1,4,58)

Das Ziel dieser Arbeit ist die Erstellung einer Datenbank mit sämtlichen klinisch relevanten Daten aller Patient\*innen die an der klinischen Abteilung für Hämatologie der Medizinischen Universität Graz diagnostiziert und/oder behandelt wurden. Diese Daten werden anschließend bezüglich Gesamtüberleben, Risikostratifizierung, AML-Transformation und Therapieansprechen analysiert. Die NGS-Daten der Patient\*innen werden bezüglich Anzahl, Risikostratifizierung und Altersunterschiede untersucht. Zusätzlich wird die Häufigkeit sowie Bearbeitungsdauer des NGS seit routinemäßiger Einführung in 2013 analysiert. All diese erhobenen Daten werden anschließend mit vergleichbaren internationalen Daten in Bezug gesetzt, interpretiert und bewertet. Damit dient

diese Arbeit auch der Qualitätskontrolle der hämatologischen Abteilung und hilft die Behandlungsqualität der MDS-Patient\*innen zu verbessern.

### **3. Material und Methoden**

#### **3.1 Studiendesign und Population**

Diese retrospektive Studie umfasst Patient\*innen mit MDS welche im Zeitraum von 01.01.2005 bis 31.12.2022 an der Klinischen Abteilung für Hämatologie am Universitätsklinikum LKH Graz diagnostiziert und/oder behandelt wurden. Es gab keine weiteren Ein- oder Ausschlusskriterien. Die Durchführung der Studie sowie die Verwendung der Daten wurde vor Beginn der Diplomarbeit von der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz geprüft und genehmigt (EK - Nummer: 35-079 ex 22/23). Alle Teilnehmer\*innen haben eine Einwilligung für die Analyse ihrer Daten unterschrieben.

#### **3.2 Datenerhebung und statistische Auswertung**

Für die Identifikation potentieller Patient\*innen wurde über das Institut für Medizinische Informatik, Statistik und Dokumentation der Medizinischen Universität Graz (IMI) nach Patient\*innen der Klinischen Abteilung für Hämatologie der Medizinischen Universität Graz gesucht, bei denen die Begriffe „Myelodysplastisches Syndrom“ oder „MDS“ oder „Myelodysplasie“ im Diagnosenkopf etwaiger Arztbriefe vorkommt. Diese Patient\*innen wurden anschließend einzeln im openMEDOCS evaluiert um herauszufiltern, wer davon tatsächlich an einem MDS erkrankt war. Die bestätigten Fälle wurden anschließend in die RDA (Abkürzung für „Research, Documentation & Analysis“, eine Software für medizinische Dokumentation und Datenerfassung des IMI) systematisch eingetragen und analysiert. Die für die statistische Auswertung relevanten Daten werden bei den Zielgrößen noch genauer erläutert. Sämtliche für die Arbeit relevanten Patient\*innendaten wurden über das Krankenhausinformationssystem openMEDOCS erhoben.

Die statistische Auswertung erfolgte mittels Microsoft Excel sowie SPSS (Version 28). Dabei wurden p-Werte  $<0,05$  als signifikant angesehen. Für die Beschreibung der demografischen und klinischen Merkmale der Patient\*innen wurde deskriptive

Statistik verwendet. Dabei wurden kategorielle Merkmale mit deren absoluten Häufigkeiten und deren Prozentwerten angegeben, während metrische Daten mit ihrem Median und Range dargestellt wurden. Die Überlebens- sowie Transformationszeiten der einzelnen Patient\*innengruppen wurden mithilfe von Kaplan-Meier-Kurven grafisch dargestellt und durch den Log-Rank Test auf Signifikanz überprüft. Die CR- sowie „Andere Response“-Raten wurden mittels dem exakten Fischer-Test untersucht. Unterschiede in der Häufigkeit einzelner Mutationen zwischen Risiko- und Altersgruppen wurde ebenfalls mit dem exakten Fischer-Test untersucht. Zur Bestimmung ob sich die Anzahl der Mutationen pro Patient\*in zwischen den Risiko- und Altersgruppen unterscheidet, wurde der Mann-Whitney-U-Test herangezogen.

### **3.3 Zielgrößen der Arbeit**

Zum Zeitpunkt der Diagnose erhobenen Parameter:

- Diagnosedatum
- Alter und Geschlecht der Patient\*innen
- Therapie Assoziation
- Extramedulläre Manifestation
- Laborparameter
- Risikostratifizierung (IPSS und IPSS-R)
- Zytogenetik (Karyotyp und FISH)
- Klassifikation nach WHO 2016

Die zwei nachfolgenden Screenshots zeigen die Eingabemaske dieser Daten

### Allgemeine Informationen

Diagnosedatum

Alter  Jahre

Datum  Prüfer

Therapie-assoziiert

Ja  Nein

Zusatz

Extramedulläre Manifestation

Ja  Nein

Zusatz

Risiko

IPSS-R: Very Low  IPSS-R: Low  IPSS-R: Intermediate ≤3.5 Punkte  IPSS-R: Intermediate >3.5 Punkte  
 IPSS-R: High  IPSS-R: Very High  CPSS: Low  CPSS: Int-1  CPSS: Int-2  CPSS: High

Risiko IPSS

IPSS: Low  IPSS: Int-1  IPSS: Int-2  IPSS: High

Risiko Zusatz

Zytogenetik

Durchgeführt  Nicht durchgeführt  Kein Wachstum

Karyotyp

FISH

Ergebnis

Zeilenumbruch mit <Shift><CR> oder <Alt><CR>

### Klassifikation

Klassifikation WHO 2016 MDS

- MDS with single lineage dysplasia (MDS-SLD)
- MDS with multilineage dysplasia (MDS-MLD)
- MDS with ring sideroblasts and single lineage dysplasia (MDS-RS-SLD)
- MDS with ring sideroblasts and multilineage dysplasia (MDS-RS-MLD)
- MDS with isolated del(5q)
- MDS with excess of blasts 1 (MDS-EB-1)
- MDS with excess of blasts 2 (MDS-EB-2)
- MDS unclassifiable (MDS-U)
- CMML-0
- CMML-1
- CMML-2
- Atypical chronic myeloid leukemia (aCML), BCR-ABL1neg
- Juvenile myelomonocytic leukemia (JMML)
- MDS/MPN with ring sideroblasts and thrombocytosis (MDS/MPN-RS-T)
- MDS/MPN unclassifiable (MDS/MPN-U)
- Nicht erhoben

### Laborparameter

WBC  G/l  
Hb  g/dl  
Thrombozyten  G/l  
LDH  U/l  
PB Blasten  %  
BM Blasten  %  
Monozytäre Zellen  %

### Molekulargenetik

Germline   
Mutations [Keine neuen Eingaben!](#)

Sequenzierung Panel

Molekulargenetische Untersuchung: die Patient\*innen wurden im Rahmen der Routine mittels NGS auf die häufigsten Mutationen bei MDS untersucht. Dabei kamen drei Sequenzierungspanels zum Einsatz:

- Ion Torrent Ampliseq Panel für myeloide Neoplasien (MN): untersucht die gesamte kodierende Region von CEBPA, BCOR, DDX41, DNMT3a, ETV6, GATA2, NF1, PHF6, SF3B2, SFRP1, SRP72, STAG2, TP53, ZRSR2 sowie Mutationshotspots in ASXL1, BRAF, CALR, CBL, CSF3R, ETNK1, EZH2, FLT3, IDH1, IDH2, JAK2, KIT, KRAS, MPL, NPM1, NRAS, PTPN11, RUNX1, SETBP1, SF3B1, SRSF2, STAT3, TET2, U2AF1 und WT1.
- Ion Torrent Ampliseq Panel für myeloische Neoplasien (MNP2021v1): untersucht die gesamte kodierende Region von ANKRD26, BCOR, CEBPA, DDX41, DNMT3a, ELANE, ETV6, GATA2, HAX1, NF1, PHF6, PIGA, SF3B2, SFRP1, SRP72, STAG2, TP53, ZRSR2 sowie Mutationshotspots in ASXL1, BRAF, CALR, CBL, CSF3R, CXCR4, ETNK1, EZH2, FLT3, IDH1, IDH2, JAK2, KIT, KRAS, MPL, NPM1, NRAS, PTPN11, RUNX1, SETBP1, SF3B1, SRSF2, STAT3, STAT5B, TET2, U2AF1 und WT1.
- AMLv2 Panel: analysiert die gesamte kodierende Sequenz von CEBPA, DNMT3A, GATA2, TET2 und TP53 sowie Mutations-Hotspots in ASXL1, BRAF, CBL, FLT3 (D835), IDH1, IDH2, JAK2, KIT, KRAS, NPM1 (Tetraisinsertion), NRAS, PTPN11, RUNX1 und WT1.

(59)

ANKRD26	<input type="radio"/> Ja <input checked="" type="radio"/> Nein <input type="radio"/> Nicht durchgeführt	mut-ANKRD26 cDNA	<input type="text"/>	<input type="text"/>	AA	<input type="text"/>	<input type="text"/>	VAF	<input type="text"/>	%
ASXL1	<input type="radio"/> Ja <input checked="" type="radio"/> Nein <input type="radio"/> Nicht durchgeführt	mut-ASXL1 cDNA	<input type="text"/>	<input type="text"/>	AA	<input type="text"/>	<input type="text"/>	VAF	<input type="text"/>	%
BCOR	<input type="radio"/> Ja <input checked="" type="radio"/> Nein <input type="radio"/> Nicht durchgeführt	mut-BCOR cDNA	<input type="text"/>	<input type="text"/>	AA	<input type="text"/>	<input type="text"/>	VAF	<input type="text"/>	%
BRAF	<input type="radio"/> Ja <input checked="" type="radio"/> Nein <input type="radio"/> Nicht durchgeführt	mut-BRAF cDNA	<input type="text"/>	<input type="text"/>	AA	<input type="text"/>	<input type="text"/>	VAF	<input type="text"/>	%
CALR	<input type="radio"/> Ja <input checked="" type="radio"/> Nein <input type="radio"/> Nicht durchgeführt	mut-CALR cDNA	<input type="text"/>	<input type="text"/>	AA	<input type="text"/>	<input type="text"/>	VAF	<input type="text"/>	%
CBL	<input type="radio"/> Ja <input checked="" type="radio"/> Nein <input type="radio"/> Nicht durchgeführt	mut-CBL cDNA	<input type="text"/>	<input type="text"/>	AA	<input type="text"/>	<input type="text"/>	VAF	<input type="text"/>	%
CEBPA	<input type="radio"/> Ja <input checked="" type="radio"/> Nein <input type="radio"/> Nicht durchgeführt	mut-CEBPA cDNA	<input type="text"/>	<input type="text"/>	AA	<input type="text"/>	<input type="text"/>	VAF	<input type="text"/>	%
CSF3R	<input type="radio"/> Ja <input checked="" type="radio"/> Nein <input type="radio"/> Nicht durchgeführt	mut-CSF3R cDNA	<input type="text"/>	<input type="text"/>	AA	<input type="text"/>	<input type="text"/>	VAF	<input type="text"/>	%
CXCR4	<input type="radio"/> Ja <input checked="" type="radio"/> Nein <input type="radio"/> Nicht durchgeführt	mut-CXCR4 cDNA	<input type="text"/>	<input type="text"/>	AA	<input type="text"/>	<input type="text"/>	VAF	<input type="text"/>	%
DDX41	<input type="radio"/> Ja <input checked="" type="radio"/> Nein <input type="radio"/> Nicht durchgeführt	mut-DDX41 cDNA	<input type="text"/>	<input type="text"/>	AA	<input type="text"/>	<input type="text"/>	VAF	<input type="text"/>	%
DNMT3A	<input type="radio"/> Ja <input checked="" type="radio"/> Nein <input type="radio"/> Nicht durchgeführt	mut-DNMT3A cDNA	<input type="text"/>	<input type="text"/>	AA	<input type="text"/>	<input type="text"/>	VAF	<input type="text"/>	%

Eingabemuster: c.A1640G
Eingabemuster: p.D547G

Anmerkung

Zeilenumbruch mit <Alt><CR> oder <Shift><CR>

Der oben gezeigte Screenshot zeigt eine der vier Seiten für die Mutationsdokumentation. War ein Gen mutiert, so wurde der entsprechende cDNA-Abschnitt, die Aminosäuresequenz und der dazugehörige Mittelwert der Varianten-Allel-Frequenz (VAF) eingetragen. Falls ein Gen mehrmals mutiert war, so wurde das mit der höheren VAF eingetragen.

Therapiebezogene Daten:

Das folgende Eingabeformular zeigt alle therapielevanten Daten, welche für die Patient\*innen dieser Kohorte erhoben wurden.

**Therapie und Outcome**

Regimen1	Regimen2	Regimen3	Regimen4	Regimen Gesamt
EPO	G-CSF			EPO / G-CSF
Azacitidin				Azacitidin

CR MDS  
 CCR, marrow CR, CR  Nicht evaluiert  Nein Datum

CR-Cri auf 1st line  
 Ja  Nein Datum

Anderer Response MDS  
 PR  HI, CB  Nicht evaluiert  Nein Datum

Treatment failure MDS  
 SD  PD  Tod während der Therapie  Nicht evaluiert  Nein Datum

Relaps nach CR  
 Ja  Nein  Nicht zutreffend Datum

PD nach anderer Response  
 Ja  Nein  Nicht zutreffend Datum

AML Transformation  
 Ja  Nein  Nicht zutreffend Datum

Lebend  
 Ja  Nein Last Follow-Up

allo-Tx  
 Ja  Nein  Nicht vorhanden Sterbedatum

OS  Tage Datum

OS censored Tx  Tage Datum

RFS (DFS)  Tage Datum

RFS censored Tx  Tage Datum

EFS  Tage Datum

Dauer anderer Response (PFS)  Tage Datum

Dauer anderer Response censored Tx  Tage Datum

Zeit bis AML  Tage Datum

Zeit bis AML censored Tx  Tage Datum

Therapieregime: Hier wurden die Therapieverfahren und Medikamente eingetragen, welche die Patient\*innen mit MDS erhielten. Als Beispiel wird hier eine fiktive Therapie bei welcher ein/e Patient\*in zuerst eine Kombination mit einem EPO und einem G-CSF bekommen hat und anschließend nach fehlender Wirksamkeit oder Progression der Erkrankung ein Azacitidin. Bei der Auswertung der Ergebnisse wurde bei den Hochrisikopatient\*innen unterschieden zwischen denen, welche mit Azacitidin, Decitabin und allogener Stammzelltransplantation behandelt wurden und den anderen, welche eine anderweitige Therapie erhielten, die nicht in den Krankheitsverlauf eingreift (In dieser Kohorte vorkommend: EPO, G-CSF, Lenalidomid, TPO-Agonisten, Hydroxyurea und Best supportive care (BSC)).

Therapieansprechen:

Complete Remission (CR): Weniger als 5% Blasten im Knochenmark mit normaler Ausreifung aller Zelllinien; keine Blasten im peripheren Blut; Hb  $\geq$  110 g/l, Thrombozyten  $\geq$  100 g/l; Neutrophile Granulozyten  $\geq$   $1,0 \cdot 10^9/l$ . (60)

Partial Remission (PR): Gleiche Kriterien wie CR, mit der Ausnahme, dass die Blasten im Knochenmark im Vergleich zu vor der Therapie um  $\geq 50\%$  abgenommen haben aber insgesamt noch immer  $> 5\%$  ausmachen. (61)

Hematological Improvement (HI):

- Erythrozyten-Response (HI-E): Anstieg des Hämoglobinwertes um 1,5 g/dl im Vergleich zum Durchschnitt der zwei niedrigsten gemessenen Werte vor Therapiebeginn. Reduktion der Transfusionsbedürftigkeit um mindestens 4 Blutkonserven für 8 Wochen im Vergleich zu vor Therapiebeginn. Vor Therapie zählen nur Blutkonserven die unter einem Hb-Wert von 9 g/dl gegeben wurden.
- Neutrophilen-Response (HI-N): Ein 100% Anstieg und eine absolute Zunahme um mehr als  $0,5 \cdot 10^9/l$  falls der ANC-Wert vor Therapiebeginn  $< 1 \cdot 10^9/l$  betrug.
- Thrombozyten-Response (HI-P): Absoluter Anstieg um  $30 \cdot 10^9/l$  für Patient\*innen mit einem Wert von über  $20 \cdot 10^9/l$ , oder eine Zunahme bei  $< 20 \cdot 10^9/l$  zu  $> 20 \cdot 10^9/l$  um mindestens 100%.

(60,62)

Stable Disease (SD): Kein Erreichen einer PR, aber keine Zeichen einer Progression. (63)

Progressive Disease (PD): Mindestens einer von den folgenden Punkten:

- $\geq 50\%$ ige Reduktion der Thrombozyten und Granulozyten im Vergleich mit dem höchsten Werten während der Behandlung.
- Abfall der Hämoglobinkonzentration um  $\geq 2$  g/dl
- Transfusionsabhängigkeit
- Anstieg der Blasten im Knochenmark:
  - $\leq 5\%$  Blasten:  $\geq 50\%$  Anstieg an Blasten zu  $>5\%$  Blasten
  - 5–10% an Blasten:  $\geq 50\%$  Anstieg zu  $>10\%$  Blasten
  - 10–20% Blasten:  $\geq 50\%$  Anstieg zu  $>20\%$  an Blasten

(60)

Relaps nach CR: Auftreten eines Rezidivs nach kompletter Remission

Hämatologisches Rezidiv: Mindestens einer von den folgenden Punkten:

- Anstieg der Blasten im Knochenmark auf Werte wie vor der Therapie.
- $\geq 50\%$ ige Reduktion der Thrombozyten und Granulozyten im Vergleich mit dem höchsten Werten während der Behandlung.
- Reduktion der Hämoglobinkonzentration um  $\geq 1,5$  g/dl oder Transfusionsabhängigkeit

(60)

Allo-Tx: Gibt an ob der/die Patient\*in eine allogene Stammzelltransplantation erhalten hat oder nicht.

AML-Transformation: Zeit vom Diagnosedatum zum Übergang in eine AML

Relaps free Survival (RFS): Zeit von der kompletten Remission bis zum Auftreten des Rezidivs

Event free Survival (EFS): Zeit vom Diagnosedatum bis zum Auftreten eines Events (Treatment Failure (SD, PD), Relaps nach CR, AML-Transformation, Tod)

Dauer anderer Response: Zeit von der PR oder HI bis zum Auftreten einer PD, AML-Transformation oder Tod

Gesamtüberleben (OS): Vom Zeitpunkt der Diagnose bis zum Sterbedatum oder dem letzten Follow-Up.

Zeit bis AML: Diagnosezeitpunkt des MDS bis zum Diagnosezeitpunkt der AML (sofern eine Transformation stattgefunden hat).

Alle therapiebezogenen Daten mit Ausnahme des Gesamtüberlebens (OS) wurden für die Patient\*innen nur so lange erfasst, solange sie auch wirklich an MDS erkrankt waren. Sofern eine AML-Transformation stattgefunden hat, wurde nur mehr das Sterbedatum oder das letzte Follow-UP aktualisiert, nicht aber das Therapieansprechen.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Patient\*innencharakteristika

Mithilfe der Suche über das IMI wurden anfänglich 257 mögliche Patient\*innen mit MDS gefunden von denen schließlich nur 145 an dieser Erkrankung litten. Von diesen 145 Patient\*innen welche im Zeitraum von 01.01.2005 bis 31.12.2022 an der Klinischen Abteilung für Hämatologie am Universitätsklinikum LKH Graz diagnostiziert und/oder behandelt wurden ergaben sich folgende Charakteristika zum Diagnosezeitpunkt

Tabelle 4 – Patient\*innencharakteristika der gesamten Kohorte

<b>Alter bei Diagnose</b>	69 (37-90)
<b>Geschlecht</b>	
männlich	95/145 (65,5%)
weiblich	50/145 (34,5%)
<b>Therapie Assoziiert</b>	25/145 (17,2%)
<b>AML-Transformation</b>	59/145 (40,7%)
<b>Labor bei Diagnose</b>	
WBC ( $10^9/l$ )	3,1 (0,4-48,3)
HB (g/dl)	9,4 (6,3-15,1)
Thrombozyten ( $10^9/l$ )	96 (8-633)
LDH (U/l)	243 (127-1412)
Blasten im Knochenmark (%)	5 (0-19)
Blasten im peripheren Blut (%)	0 (0-17)
Monozyten (%)	7 (0-38)
<b>Risikogruppen</b>	
<u>IPSS</u>	

Low	28/145 (19,3%)
Intermediate I	51/145 (35,2%)
Intermediate II	35/145 (24,1%)
High	23/145 (15,9)
Nicht erhebbar	8/145 (5,5%)
<u>IPSS-R</u>	
Very Low	17/145 (11,7%)
Low	33/145 (22,8%)
Intermediate	28/145 (19,3%)
High	26/145 (17,9%)
Very High	34/145 (23,4%)
Nicht erhebbar	7/145 (4,8%)

## 4.2. Überleben der gesamten Kohorte

Um einen allgemeinen Überblick über das klinische Outcome der MDS-Patient\*innen zu erhalten wurde zuerst eine Überlebensanalyse der gesamten Kohorte durchgeführt. Die folgende Kaplan-Meier Kurve zeigt die Überlebenszeit aller 145 Patient\*innen, welche im Zeitraum von 01.01.2005 bis 31.12.2022 an der Klinischen Abteilung für Hämatologie am Universitätsklinikum LKH Graz diagnostiziert und/oder behandelt wurden. 95 Patient\*innen verstarben während dieses Zeitraumes und 50 wurden als zensiert gewertet. Die mediane Überlebenszeit der ganzen Kohorte beträgt 976 Tage (95% KI 674 – 1278).

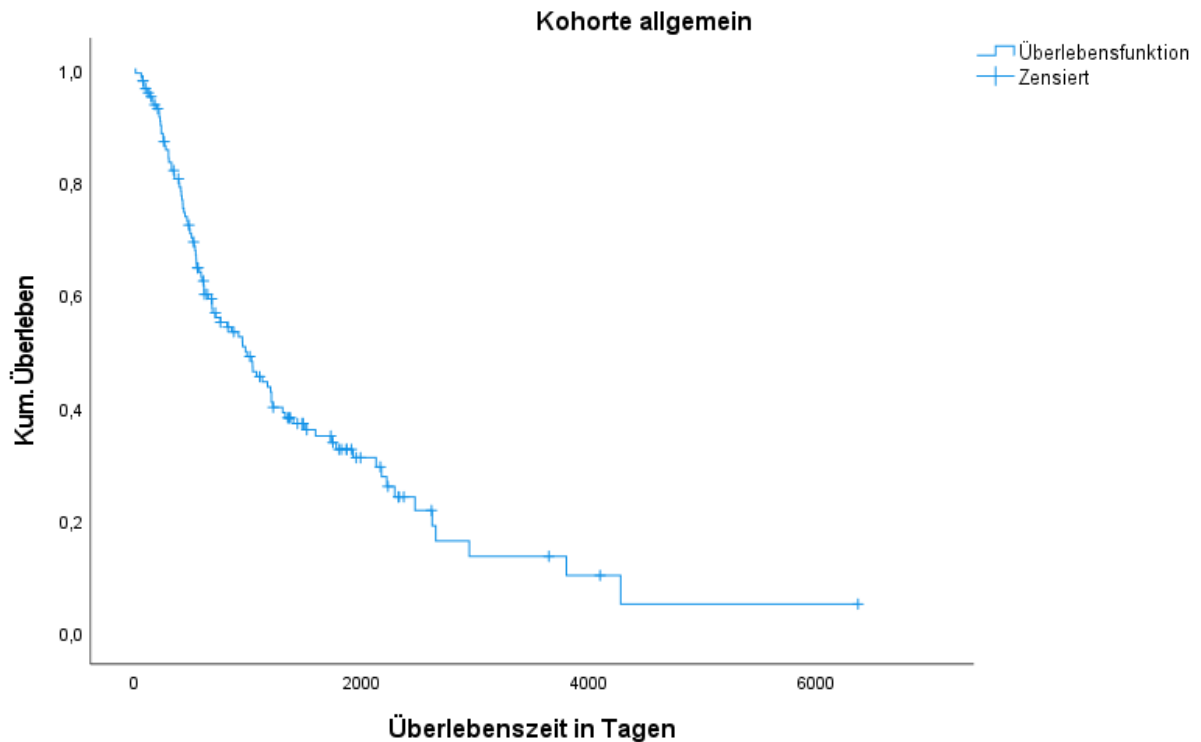


Abbildung 1 Überlebenskurve der gesamten Kohorte

## 4.3. IPSS-R

### 4.3.1. Risikogruppen

Zur Untersuchung der prognostischen Unterschiede zwischen den einzelnen IPSS-R Risikogruppen wurden deren Überlebensdaten analysiert. Von den insgesamt 145 Patient\*innen, welche im Zeitraum von 01.01.2005 bis 31.12.2022 an der Klinischen Abteilung für Hämatologie am Universitätsklinikum LKH Graz diagnostiziert und/oder behandelt wurden, konnten bei 138 eine IPSS-R Risikostratifizierung durchgeführt werden. Davon fielen 17 Patient\*innen in die Very-Low-, 33 Patient\*innen in die Low-, 28 Patient\*innen in die Intermediate-, 26 Patient\*innen in die High- und 34 Patient\*innen in die Very-High-Risikogruppe. Von diesen 138 Patient\*innen verstarben nachweislich 90 im Untersuchungszeitraum, 48 wurden als zensiert gewertet.

Die folgende Kaplan-Maier Kurve zeigt den zeitlichen Verlauf der Überlebenswahrscheinlichkeit der Patient\*innen abhängig von ihrer IPSS-R Risikogruppe. Es zeigt sich eine mediane Überlebenszeit der Low-Risikogruppe von 1503 Tagen (95% KI 824 - 2182), der Intermediate-Risikogruppe von 1204 Tagen (95% KI 830 - 1578), der High-Risikogruppe von 756 Tagen (95% KI 205 -

1307) und der Very-High-Risikogruppe von 416 Tagen (95% KI 308 - 524). Die mediane Überlebenszeit der Very-Low-Risikogruppe wurde im Behandlungszeitraum nicht erreicht. Die Ergebnisse sind mit einem p-Wert von  $<0,001$  statistisch signifikant.

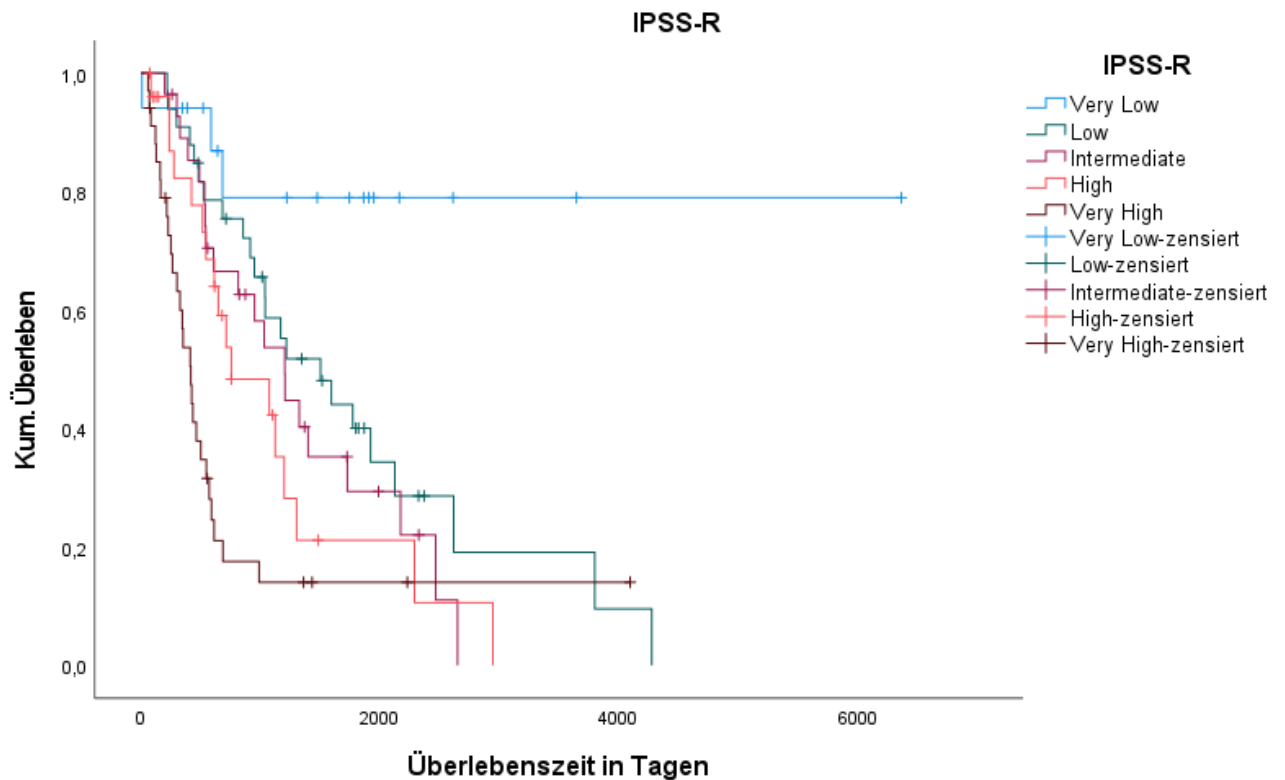


Abbildung 2 Überlebenszeit der IPSS-R Risikostratifizierung

#### 4.3.2. Low Risk vs. High Risk

In der klinischen Praxis werden Patient\*innen bezüglich Krankheitsverlauf und Therapieplanung in ein Low-Risk MDS (IPSS-R Low  $\leq 3,5$ ) und High-Risk MDS (IPSS-R  $>3,5$ ) eingestuft. Um die Signifikanz dieser Einteilung zu beurteilen wurden das Überleben der beiden Gruppen miteinander verglichen. (1)

Von den 138 Patient\*innen welche einer IPSS-R Risikogruppe zugewiesen wurden, entfielen 60 Patient\*innen in die Low-Risk Kategorie mit einem IPSS-R Wert von  $\leq 3,5$  Punkten und 78 Patient\*innen in die High-Risk Kategorie mit einem IPSS-R Wert von  $> 3,5$  Punkten. Von diesen 138 Patient\*innen verstarben nachweislich 90 im Untersuchungszeitraum, 40 wurden als zensiert gewertet.

Die unten angeführte Kaplan-Maier Kurve zeigt die Wahrscheinlichkeit des Überlebens im zeitlichen Verlauf der beiden Gruppen. Dabei ergab sich für die Low-Risk Kohorte eine mediane Überlebenszeit von 1923 Tagen (95% KI 1189 -

2657) und 590 Tage (95% KI 474 - 706) für die High-Risk Kohorte. Die Ergebnisse sind mit einem p-Wert von  $<0,001$  statistisch signifikant.

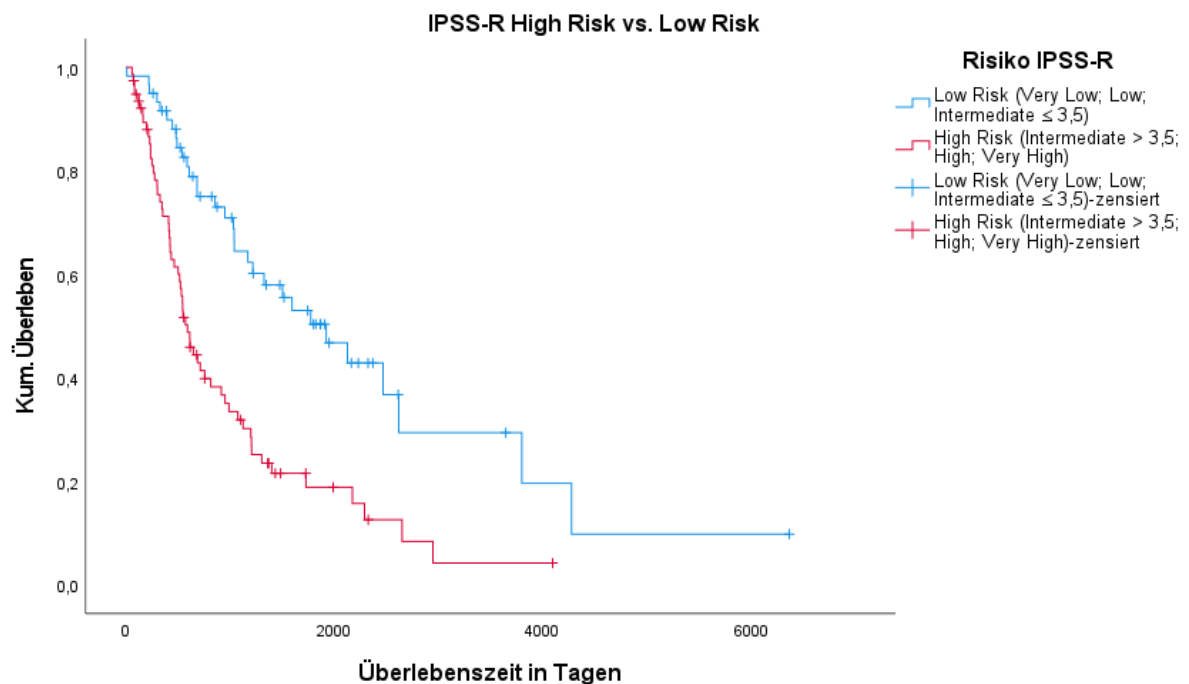


Abbildung 3 Überlebenszeit der Low-Risk und High-Risk IPSS-R Risikogruppen

## 4.4. IPSS

### 4.4.1. Risikogruppen

Zur Untersuchung der prognostischen Unterschiede zwischen den einzelnen IPSS Risikogruppen wurden deren Überlebensdaten analysiert. Von den insgesamt 145 Patient\*innen, welche im Zeitraum von 01.01.2005 bis 31.12.2022 an der Klinischen Abteilung für Hämatologie am Universitätsklinikum LKH Graz diagnostiziert und/oder behandelt wurden, konnten bei 137 eine IPSS Risikostratifizierung durchgeführt werden. Davon fielen 28 Patient\*innen in die Low-, 51 Patient\*innen in die Intermediate-1-, 23 Patient\*innen in die Intermediate-2- und 34 Patient\*innen in die High-Risikogruppe. Von diesen 137 Patient\*innen verstarben 91 nachweislich im Untersuchungszeitraum, 46 wurden als zensiert gewertet.

Die folgende Kaplan-Maier Kurve zeigt den zeitlichen Verlauf der Überlebenswahrscheinlichkeit der Patient\*innen abhängig von ihrer IPSS Risikogruppe. Es zeigt sich eine mediane Überlebenszeit der Low-Risikogruppe von 2657 Tagen (95% KI 1240 - 3696), der Intermediate-1-Risikogruppe von 1218

Tagen (95% KI 807 - 1629), der Intermediate-2-Risikogruppe von 685 Tagen (95% KI 468 - 902) und der High-Risikogruppe von 345 Tagen (95% KI 175 - 515). Die Ergebnisse sind mit einem p-Wert von  $<0,001$  statistisch signifikant.

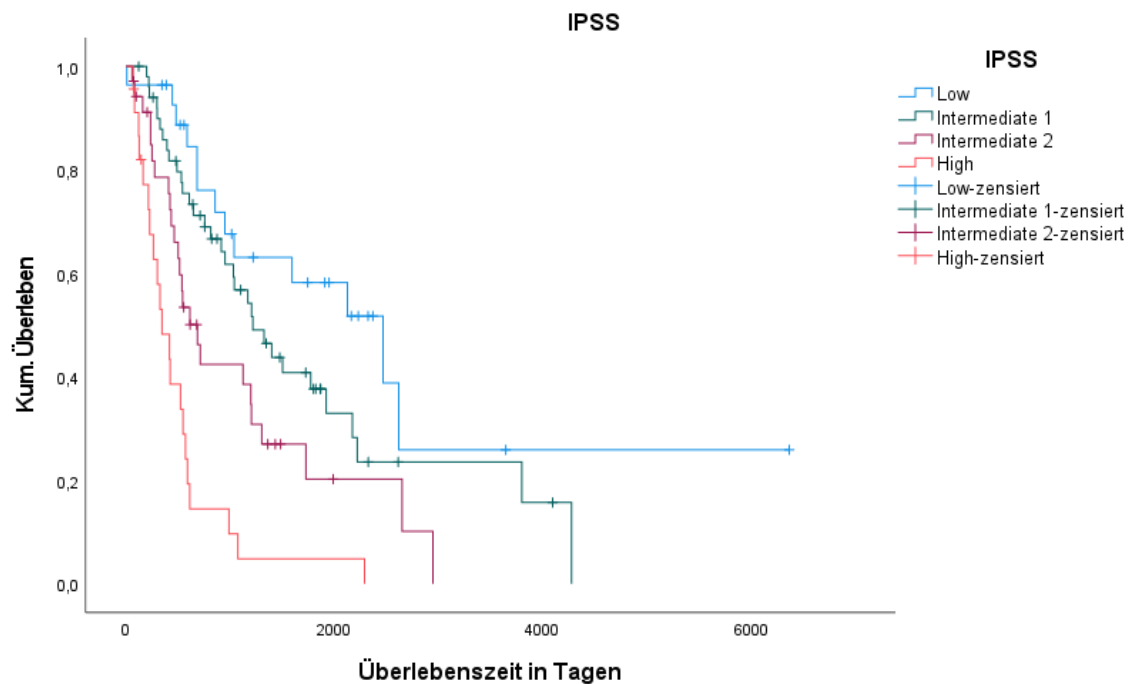


Abbildung 4 Überlebenszeit der IPSS-Risikostratifizierung

#### 4.4.2. Low Risk vs. High Risk

In der klinischen Praxis werden Patient\*innen bezüglich Krankheitsverlauf und Therapieplanung in ein Low-Risk MDS (IPSS Low und Intermediate I) und High-Risk MDS (IPSS Intermediate II und High) eingestuft. Um die Signifikanz dieser Einteilung zu beurteilen wurden das Überleben der beiden Gruppen miteinander verglichen. (1)

Von den 137 Patient\*innen welche einer IPSS Risikogruppe zugewiesen wurden, entfielen 79 Patient\*innen in die Low-Risk Kategorie mit einem IPSS Wert von  $\leq 1$  Punkten und 58 Patient\*innen in die High-Risk Kategorie mit einem IPSS Wert von  $> 1$  Punkten. Von diesen 137 Patient\*innen verstarben nachweislich 91 im Untersuchungszeitraum, 46 wurden als zensiert gewertet.

Die unten angeführte Kaplan-Maier Kurve zeigt die Wahrscheinlichkeit des Überlebens im zeitlichen Verlauf der beiden Gruppen. Dabei ergab sich für die Low-Risk Kohorte eine mediane Überlebenszeit von 1503 Tagen (95% KI 841 - 2165) und 522 Tage (95% KI 424 - 620) für die High-Risk Kohorte. Die Ergebnisse sind mit einem p-Wert von  $<0,001$  statistisch signifikant.

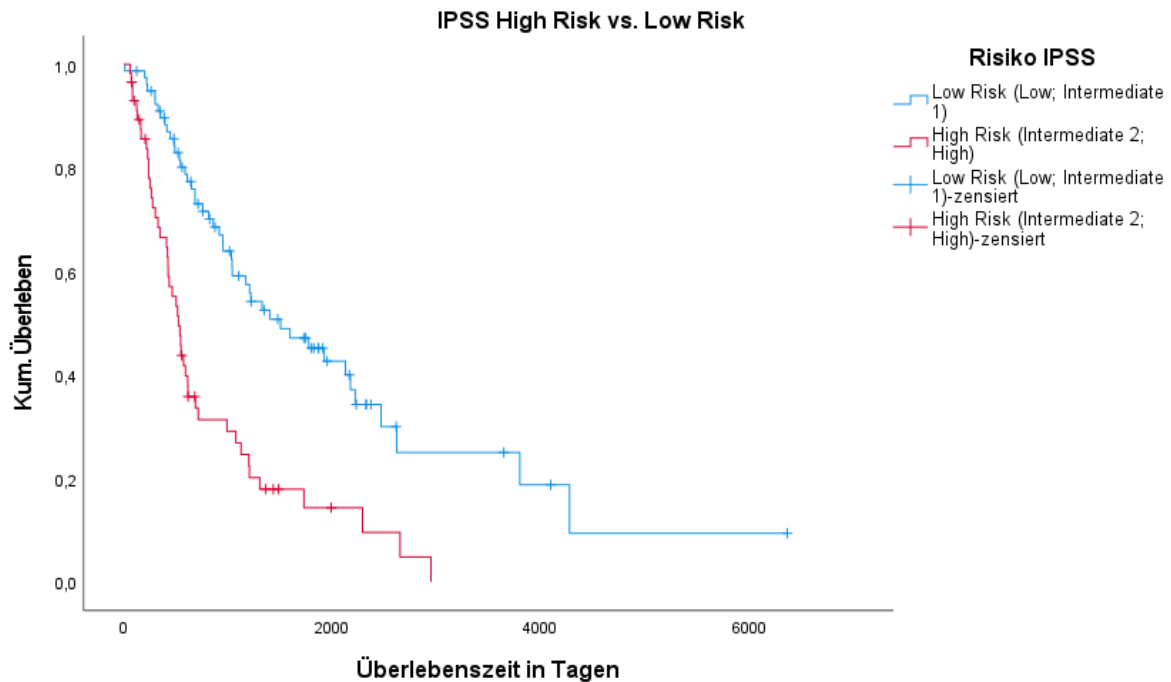


Abbildung 5 Überlebenszeit der Low-Risk und High-Risk IPSS Risikogruppen

## 4.5. AML-Transformation

### 4.5.1. IPSS-R

Um das Risiko einer AML-Transformation der verschiedenen IPSS-R Risikogruppen zu untersuchen, wurden deren Transformationsraten analysiert. Von den 138 Patient\*innen bei denen eine IPSS-R Risikostratifizierung durchgeführt wurde, gingen 54 nachweislich im Untersuchungszeitraum in eine AML über, 84 wurden als zensiert gewertet. 3 der transformierten Patient\*innen befanden sich davon in der Very-Low-, 6 Patient\*innen in der Low-, 12 Patient\*innen in der Intermediate-, 14 Patient\*innen in der High- und 19 Patient\*innen in der Very High-Risikogruppe.

Die unten angeführte Abbildung zeigt die relativen Häufigkeiten der transformierten Patient\*innen pro Gruppe. In der Very-Low-Risikogruppe transformierten 17,6% der Patient\*innen, 18,1% waren es in der Low-, 42,9% in der Intermediate-, 53,8% in der High und 55,8% der MDS Patient\*innen der Very-High-Risikogruppe gingen in eine AML über.

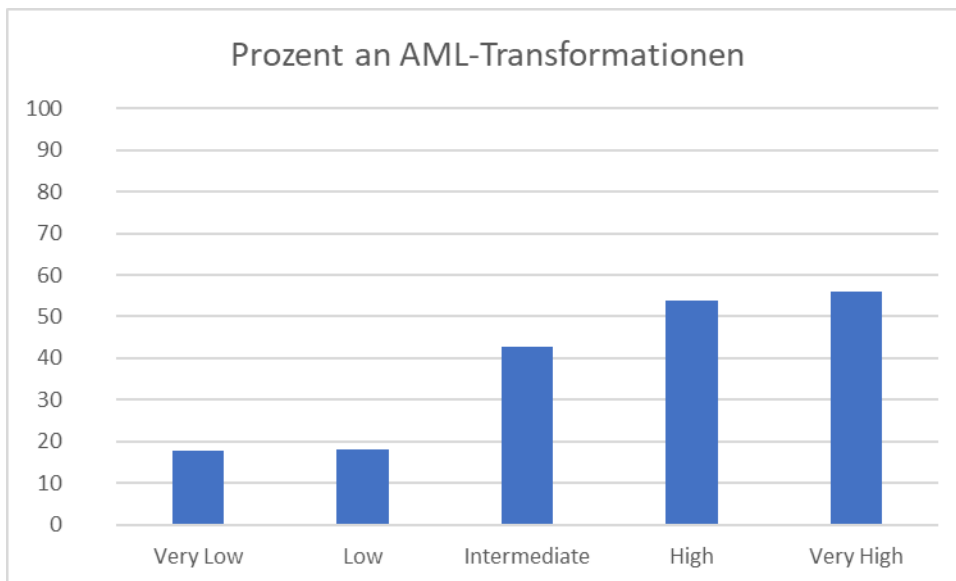


Abbildung 6 Relative Häufigkeiten der AML-Transformation pro IPSS-R Risikogruppe

Die mediane Zeit bis zur Transformation in eine AML betrug in der Intermediate Risikogruppe 2200 Tage (95% KI 560 – 3840), in der High 605 Tage (95% KI 370 – 840) und in der Very High waren es 375 Tage (95% KI 134 – 616). In der Very-Low und Low-Risikogruppe wurde die mediane Transformationszeit nicht erreicht. Die Zeit bis 25% der Patient\*innen in eine AML transformierten betrug 441 Tage für die Intermediate-, 221 Tage für die High- und 196 Tage für die Very-High Risikogruppe. In der Very-Low und Low-Risikogruppe transformierten weniger als 25% der Patient\*innen in eine AML. Die Ergebnisse sind mit einem p-Wert von  $<0,01$  statistisch signifikant. Die unten angeführte Kaplan-Meier-Kurve veranschaulicht diese Ergebnisse.

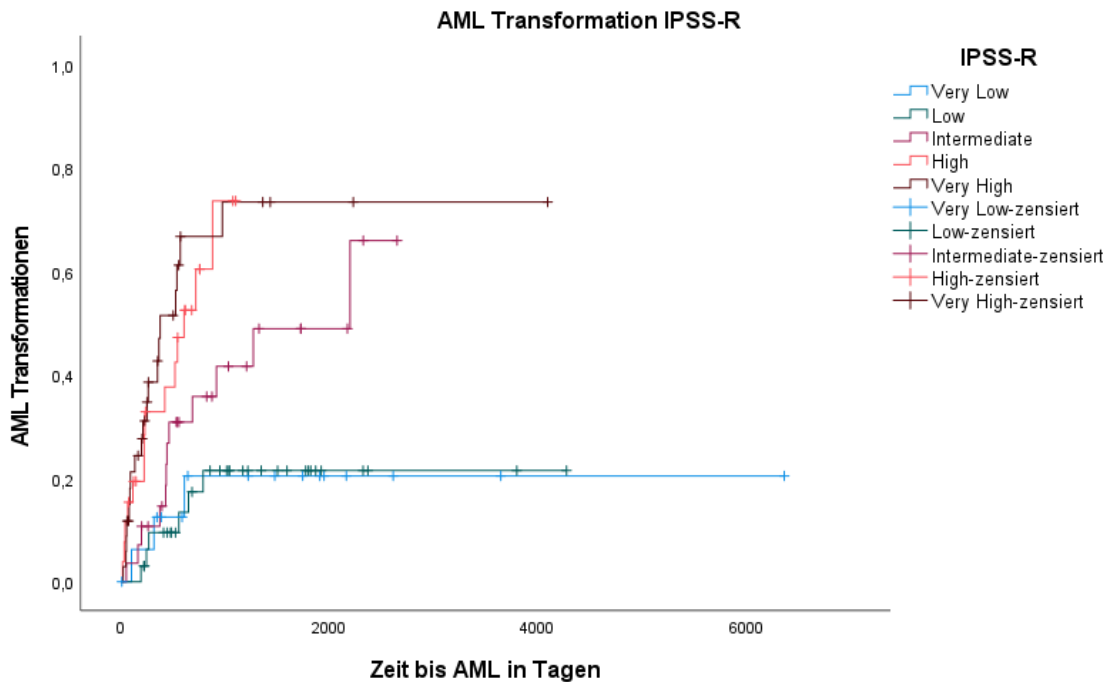


Abbildung 7 AML-Transformationen in Abhängigkeit von der IPSS-R Risikogruppe

#### 4.5.2. IPSS

Um das Risiko einer AML-Transformation der verschiedenen IPSS Risikogruppen zu untersuchen, wurden deren Transformationsraten analysiert. Von den 137 Patient\*innen bei denen eine IPSS Risikostratifizierung durchgeführt wurde, gingen 53 nachweislich im Untersuchungszeitraum in eine AML über, 84 wurden als zensiert gewertet. 5 der transformierten Patient\*innen befanden sich davon in der Low-, 15 Patient\*innen in der Intermediate-1-, 18 Patient\*innen in der Intermediate-2- und 15 Patient\*innen in der High-Risikogruppe.

Die unten angeführte Abbildung zeigt die relativen Häufigkeiten der transformierten Patient\*innen pro Gruppe. In der Low-Risikogruppe transformierten 17,9% der Patient\*innen, 29,4% waren es in der Intermediate-1-, 51,4% in der Intermediate-2-, und 65,2% der MDS Patient\*innen der Very-High-Risikogruppe gingen in eine AML über.

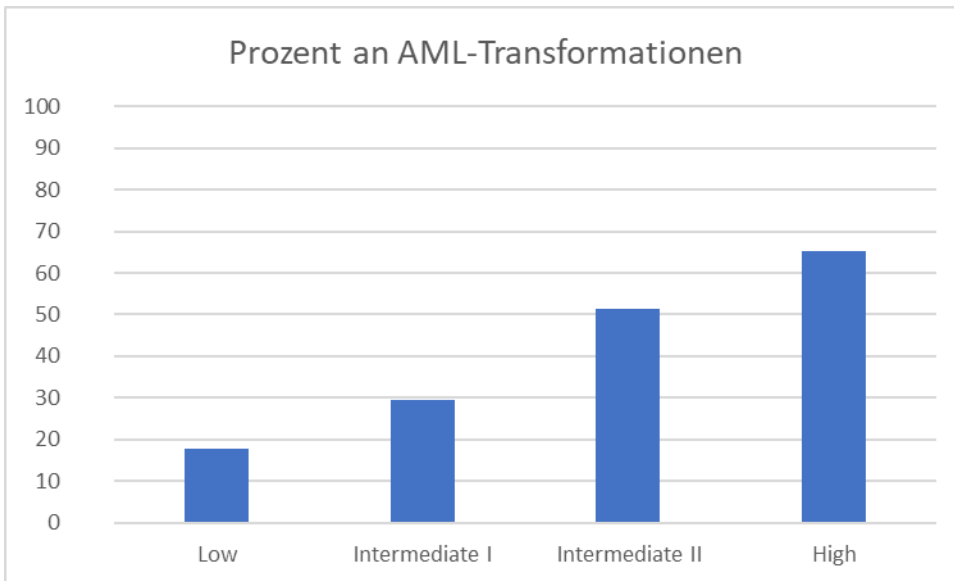


Abbildung 8 Relative Häufigkeiten der AML-Transformation pro IPSS-Risikogruppe

Die mediane Zeit bis zur Transformation in eine AML betrug in der Intermediate-2-Risikogruppe 541 Tage (95% KI 337 – 745) und in der High 260 Tage (95% KI 43 – 477). In der Low und Intermediate-1-Risikogruppe wurde die mediane Transformationszeit nicht erreicht. Die Zeit bis 25% der Patient\*innen in eine AML transformierten betrug 2200 Tage für die Low-, 788 Tage für die Intermediate-1-, 248 Tage für die Intermediate-2- und 90 Tage für die High-Risikogruppe. Die Ergebnisse sind mit einem p-Wert von  $<0,01$  statistisch signifikant. Die unten angeführte Kaplan-Meier veranschaulicht diese Ergebnisse

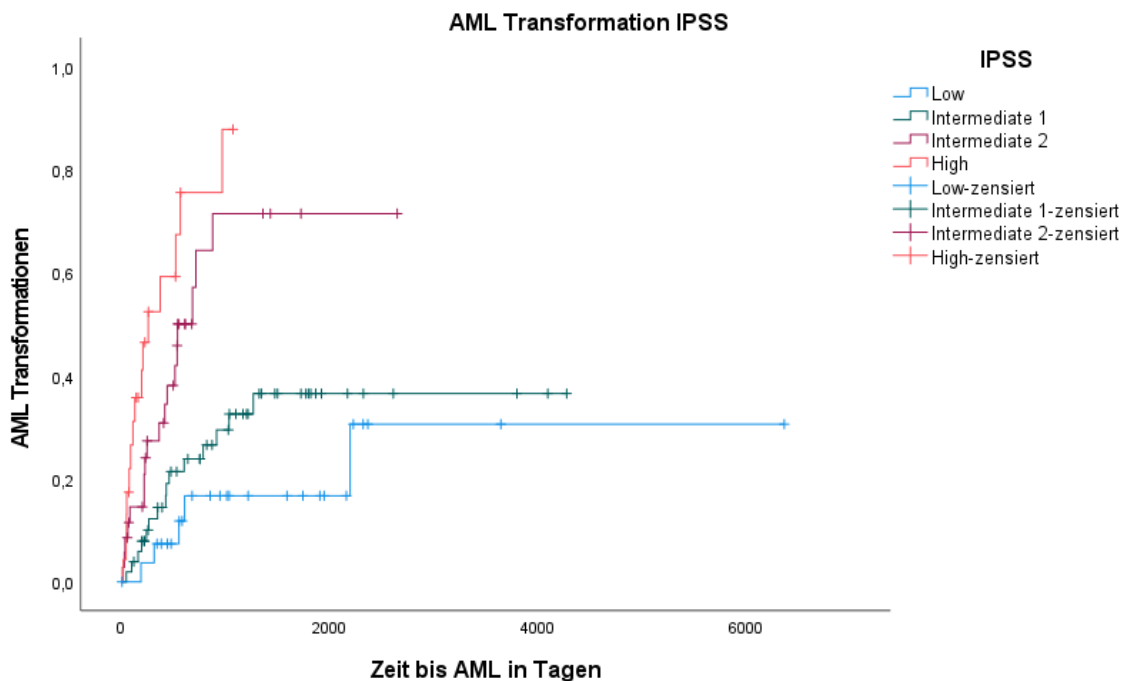


Abbildung 9 AML-Transformationen in Abhängigkeit von der IPSS-Risikogruppe

## 4.6. Therapieansprechen der Hochrisikopatient\*innen

Da das Niedrigrisiko-MDS oftmals keine aktive Therapie benötigt, sondern lediglich nach dem Watch-and-Wait Konzept behandelt werden kann, wurde sich in dieser Arbeit auf die Hochrisikopatient\*innen konzentriert. (46)

Um die Behandlungsstrategien des High-Risk MDS zu evaluieren wurden die Therapie der Hochrisikopatient\*innen in zwei Gruppen eingeteilt: die erste umfasst die für High-Risk MDS empfohlene Therapiemöglichkeiten wie Azacitidin, Decitabin und allo-SCT. Die zweite Gruppe erhielt eine anderweitige Therapie (in dieser Kohorte vorkommend: EPO, G-CSF, Lenalidomid, TPO-Agonisten, Hydroxyurea und BSC).

### 4.6.1. IPSS-R

Von den insgesamt 78 IPSS-R Hochrisiko Patient\*innen wurden 49 mit Azacitidin, Decitabin, oder allogener Stammzelltransplantation behandelt. Die restlichen 29 Patient\*innen erhielten eine anderweitige Therapie. 59 Patient\*innen verstarben nachweislich im Untersuchungszeitraum, 19 wurden als zensiert gewertet. Die folgende Kaplan-Meier zeigt den zeitlichen Verlauf der Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit von der Therapiegruppe. Dabei zeigt sich bei Therapie mit Azacitidin, Decitabin, oder allogener

Stammzelltransplantation eine mediane Überlebenszeit von 712 Tagen (95% KI 351 – 1073) während bei der anderweitigen Therapie die mediane Überlebenszeit 351 Tage (95% 134 – 568) betrug. Die Ergebnisse sind mit einem p-Wert von 0,054 statistisch nicht signifikant.

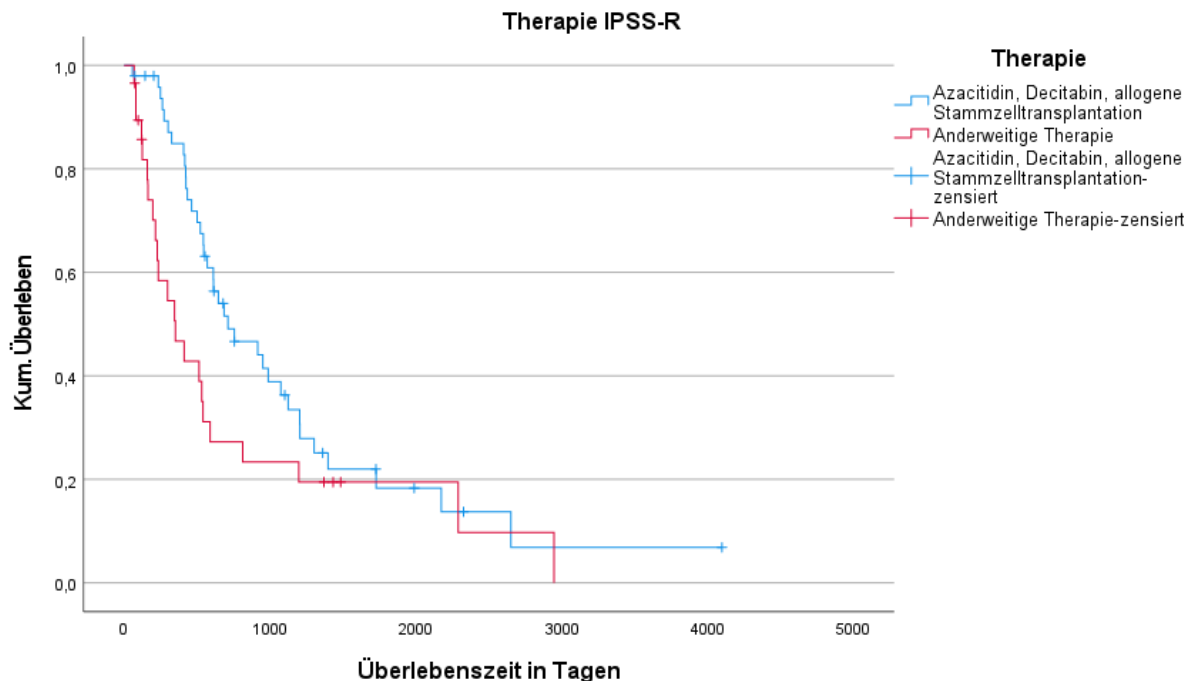


Abbildung 10 Überlebenskurve der Hochrisiko-Patient\*innen in Abhängigkeit von der Therapiegruppe

In weiterer Folge wurde der Einfluss der Therapie auf die Transformation in eine AML untersucht, sowie der Einfluss auf die CR, PR und HI Raten.

Von den 49 Hochrisiko Patient\*innen welche mit Azacitidin, Decitabin, oder allogener Stammzelltransplantation behandelt wurden, transformierten 22 in eine AML, 27 wurden als zensiert gewertet. 20 der 29 Patient\*innen der anderweitigen Therapiegruppe gingen in eine AML über, die restlichen 9 Patient\*innen wurden als zensiert gewertet.

Betrachtet man die Zeit bis eine Transformation stattfand, so ergibt sich eine mediane Transformationszeit von 916 Tagen (95% 632 – 1200) für die Therapie mit Azacitidin, Decitabin, oder allogener Stammzelltransplantation und von 209 Tagen (95% KI 0 – 465) für die anderweitige Therapie. Die Zeit bis 25% der Patient\*innen in eine AML transformierten betrug 537 Tage für die Therapie mit HMAs und allo-SCT und 77 Tage für die anderweitige Therapie. Das Ergebnis ist mit einem p-Wert von  $< 0,001$  statistisch signifikant.

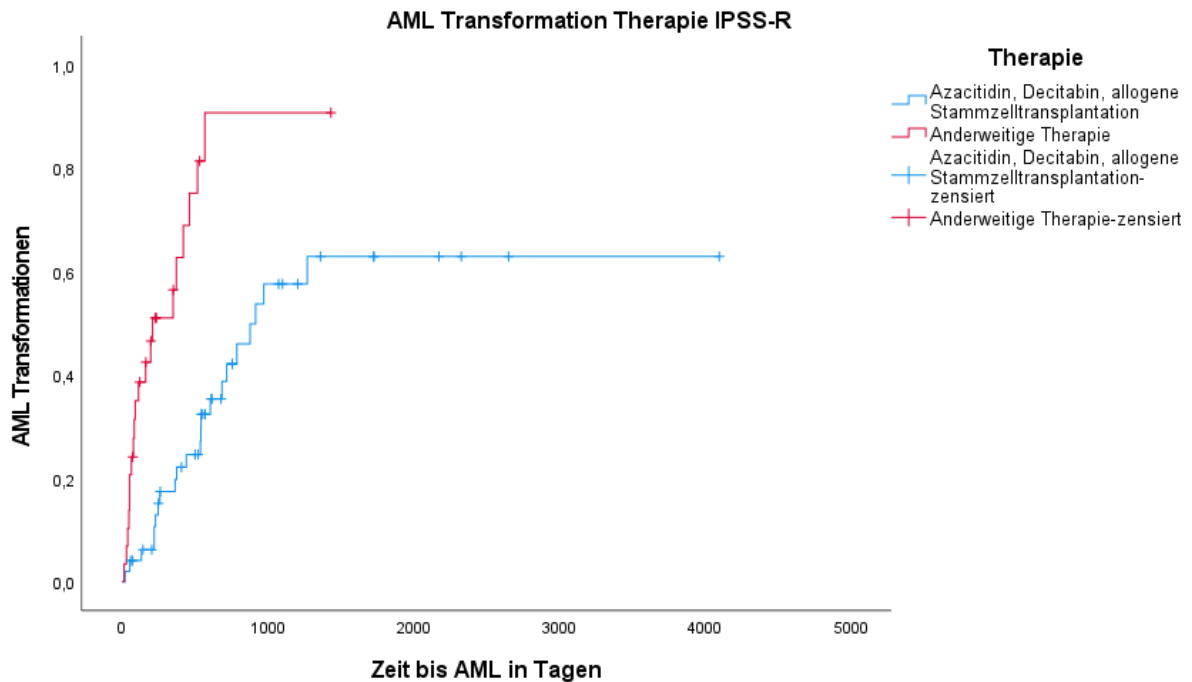


Abbildung 11 AML-Transformationskurve der Hochrisiko-Patient\*innen in Abhängigkeit von der Therapiegruppe

Von den 49 Patient\*innen welche eine Therapie mit Azacitidin, Decitabin, oder allogener Stammzelltransplantation erhielten, konnten 19 davon eine CR erreichen. Von den 29 Patient\*innen, welche eine anderweitige Therapie erhielten war dies bei keinem der Fall. Dieser Unterschied ist einem p-Wert von  $< 0,001$  statistisch signifikant (Fischers exakter Test).

Von den verbleibenden 30 Patient\*innen, welche keine CR erreichen konnten und eine Therapie mit Azacitidin, Decitabin, oder allogener Stammzelltransplantation erhielten, zeigt sich bei 12 eine HI oder PR. Bei den 29 Patient\*innen welche eine anderweitige Therapie erhielten zeigte sich lediglich bei einer Person eine HI oder PR. Diese Ergebnisse sind mit einem p-Wert von 0,0011 statistisch signifikant (Fischers exakter Test).

#### 4.6.2. IPSS

Von den insgesamt 58 IPSS Hochrisiko Patient\*innen wurden 38 mit Azacitidin, Decitabin, oder allogener Stammzelltransplantation behandelt. Die restlichen 20 Patient\*innen erhielten eine anderweitige Therapie (in dieser Kohorte vorkommend: EPO, G-CSF, Lenalidomid, TPO-Agonisten, Hydroxyurea und BSC). 46 Patient\*innen verstarben nachweislich im Untersuchungszeitraum, 12 wurden als zensiert gewertet. Die folgende Kaplan-Meier zeigt den zeitlichen Verlauf der

Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit von der Therapiegruppe. Dabei zeigt sich bei Therapie mit Azacitidin, Decitabin, oder allogener Stammzelltransplantation eine mediane Überlebenszeit von 546 Tagen (95% KI 420 – 672) während bei der anderweitigen Therapie die mediane Überlebenszeit 345 Tage (95% 0 – 736) betrug. Die Ergebnisse sind mit einem p-Wert von 0,671 statistisch nicht signifikant.

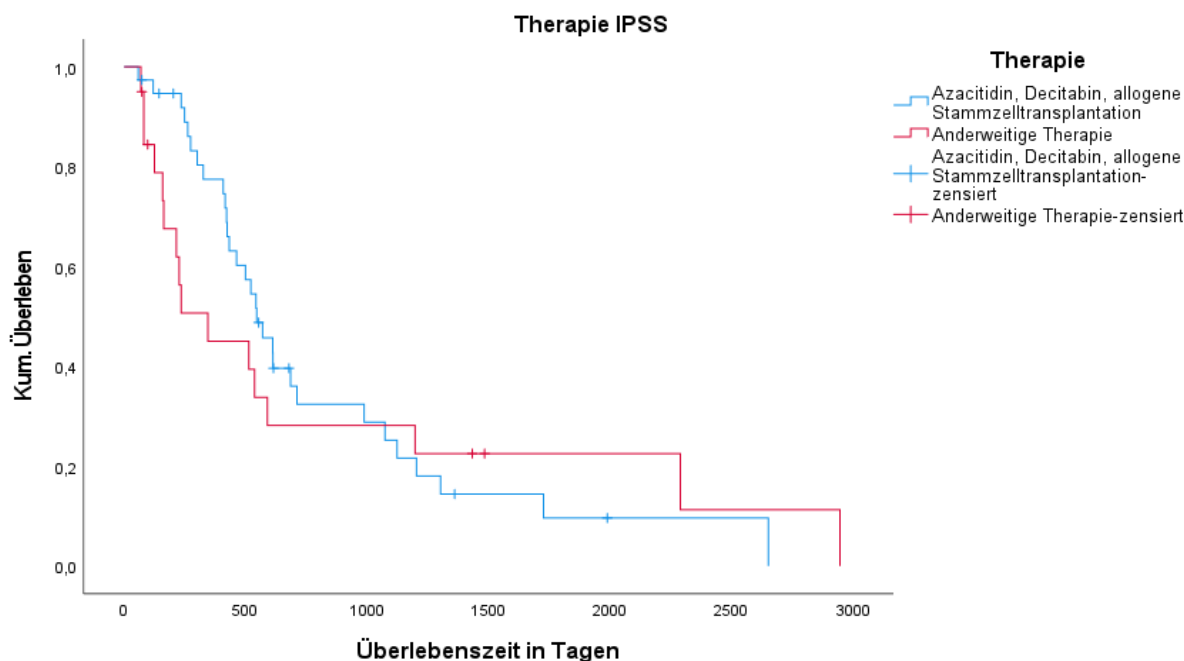


Abbildung 12 Überlebenskurve der Hochrisiko-Patient\*innen in Abhängigkeit von der Therapiegruppe

In weiterer Folge wurde der Einfluss der Therapie auf die Transformation in eine AML untersucht, sowie der Einfluss auf die CR, PR und HI Raten.

Von den 38 Hochrisiko Patient\*innen welche mit Azacitidin, Decitabin, oder allogener Stammzelltransplantation behandelt wurden, transformierten 19 in eine AML, 19 wurden zensiert gewertet. 14 der 20 Patient\*innen der anderweitigen Therapiegruppe gingen in eine AML über, die verbliebenen 6 Patient\*innen wurden zensiert gewertet.

Betrachtet man die Zeit bis eine Transformation stattfand, so ergibt sich eine mediane Transformationszeit von 685 Tagen (95% 475 – 895) für die Therapie mit Azacitidin, Decitabin, oder allogener Stammzelltransplantation und von 196 Tagen (95% KI 41 – 351) für die anderweitige Therapie. Die Zeit bis 25% der Patient\*innen in eine AML transformierten betrug 260 Tage für die Therapie mit HMAs und allo-SCT und 51 Tage für die anderweitige Therapie. Das Ergebnis ist mit einem p-Wert von 0,004 statistisch signifikant.

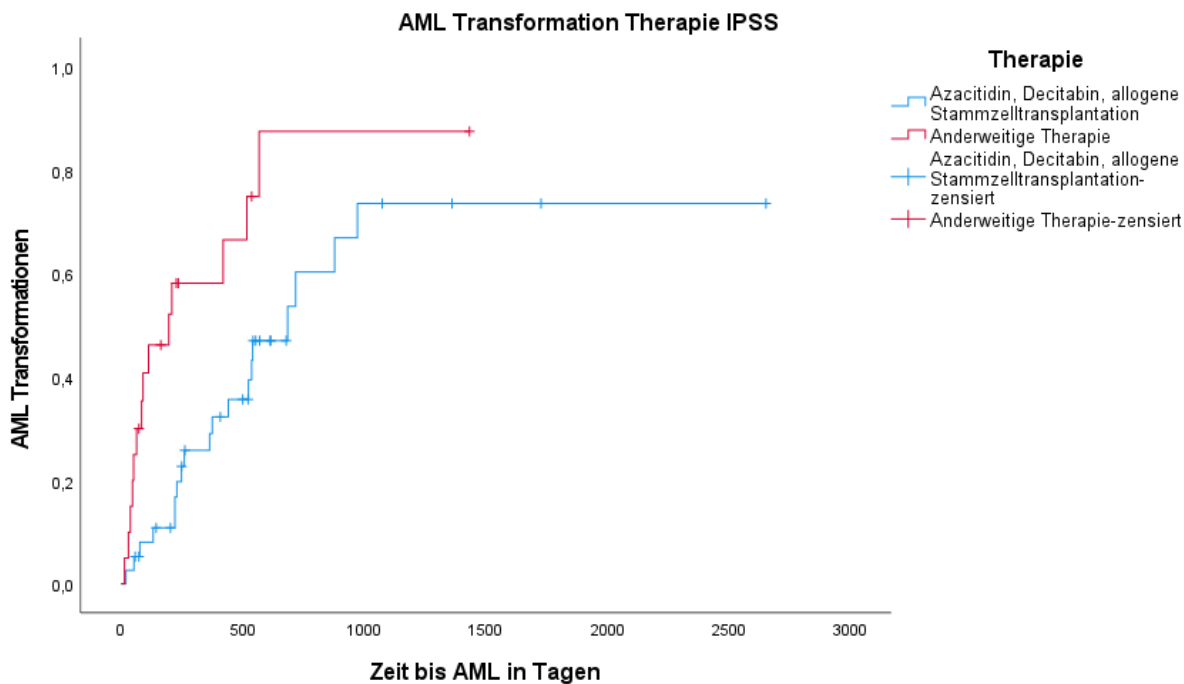


Abbildung 13 AML-Transformationskurve der Hochrisiko-Patient\*innen in Abhängigkeit von der Therapiegruppe

Von den 38 Patient\*innen welche eine Therapie mit Azacitidin, Decitabin, oder allogener Stammzelltransplantation erhielten, konnten 13 davon eine CR erreichen. Von den 20 Patient\*innen, welche eine anderweitige Therapie erhielten war dies bei keinem der Fall. Dieser Unterschied ist einem p-Wert von 0,002 statistisch signifikant (Fischers exakter Test).

Von den verbleibenden 25 Patient\*innen, welche keine CR erreichen konnten und eine Therapie mit Azacitidin, Decitabin, oder allogener Stammzelltransplantation erhielten, zeigt sich bei 8 eine HI oder PR. Bei den 20 Patient\*innen welche eine anderweitige Therapie erhielten zeigte sich bei keiner Person eine HI oder PR. Diese Ergebnisse sind mit einem p-Wert von 0,0056 statistisch signifikant (Fischers exakter Test).

## 4.7. Mutationen

### 4.7.1. NGS an der Medizinischen Universität Graz

NGS gehört seit 2013 zur Routinediagnostik des MDS an der Medizinischen Universität Graz. Zur diagnostischen Qualitätssicherung wurde deswegen die Bearbeitungsdauer und die Anzahl an durchgeführten Untersuchungen über die Jahre 2013-2022 analysiert.

Insgesamt wurde bei 108/126 (86%) MDS-Patient\*innen welche seit 1.1.2013 an der medizinischen Universität Graz diagnostiziert und/oder behandelt wurden ein NGS angeordnet und durchgeführt. Dieses war in allen Fällen erfolgreich. Wie man in den unten abgebildeten Darstellungen sehen kann verkürzte sich die mediane Bearbeitungsdauer von 18 Tagen in 2013 auf nur mehr 11 Tage in 2022. Auch erhöhte sich die Rate an durchgeführten NGS von nur 60% der Patient\*innen in 2013 auf 100% in den letzten drei Jahren dieser Studie.

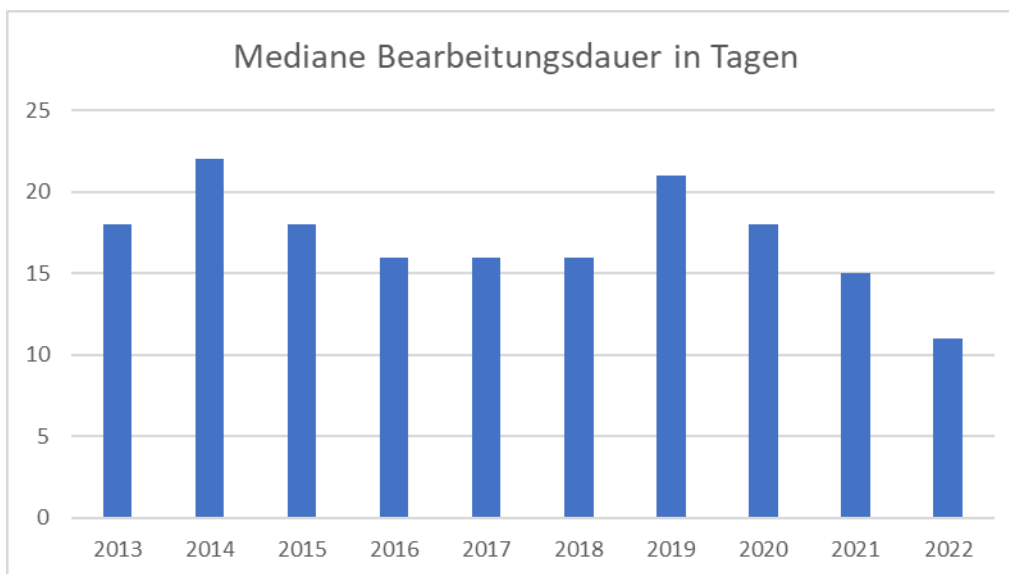


Abbildung 14 Entwicklung der NGS-Bearbeitungsdauer über die Jahre

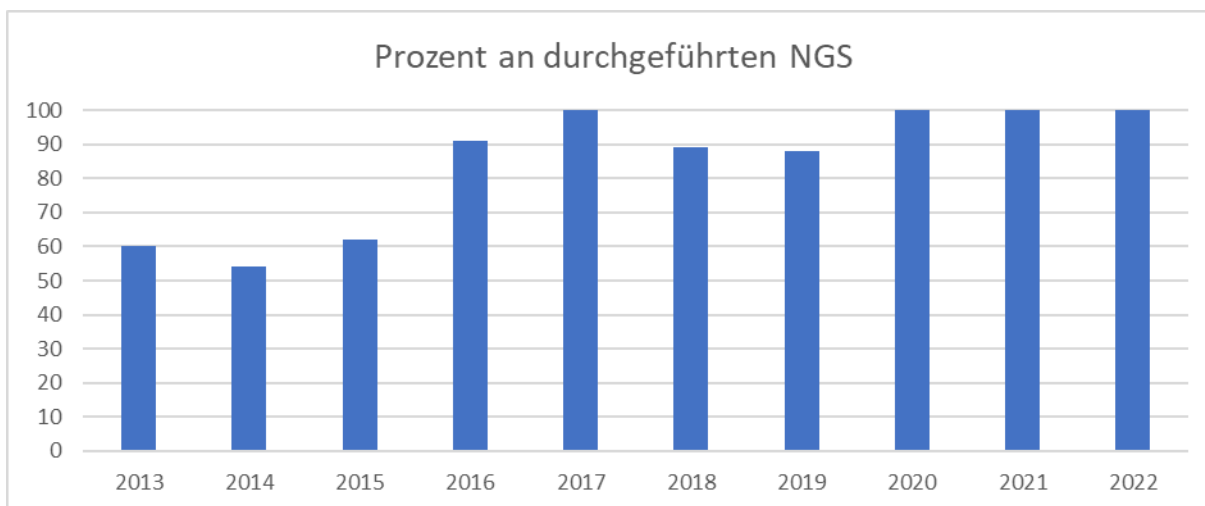


Abbildung 15 Prozentueller Anteil an durchgeführten NGS an der Medizinischen Universität Graz über die Jahre

#### 4.7.2. Mutationen Allgemein

Mutationen bei MDS sind ein wichtiger diagnostischer und prognostischer Marker. Deswegen wurden die Mutationsprofile aller Patient\*innen hinsichtlich ihrer

absoluten Anzahl und auch bezüglich der Risikostratifizierung und Altersunterschiede evaluiert.

Insgesamt wurde auf 44 verschiedene Mutationen gescreent (ANKRD26, ASXL1, BCOR, BRAF, CALR, CBL, CEBPA, CSF3R, CXCR4, DDX41, DNMT3A, ELANE, ETNK1, ETV6, EZH2, FLT3, GATA2, HAX1, IDH1, IDH2, JAK2, KIT, KRAS, MPL, NF1, NPM1, NRAS, PHF6, PTPN11, RUNX1, SETBP1, SF3B1, SF3B2, SFRP1, SRP72, SRSF2, STAG2, STAT3, STAT5B, TET2, TP53, U2AF1, WT1 und ZRSR2), wovon 37 in der untersuchten Kohorte vorkamen. Die Mutationen welche nicht festgestellt wurden waren: CALR, ELANE, HAX1, KIT, SFRP1, SRP72, STAT5B.

Insgesamt wurde bei 123/145 Patient\*innen (85%) ein NGS im gesamten Beobachtungszeitraum vom 1.1.2005 bis 31.12.2022 durchgeführt. Davon zeigten 111 (90%) von ihnen mindestens eine Mutation. Der Median an Mutationen pro Person betrug zwei und das Maximum neun. Die häufigsten Mutationen waren TP53 (39/123), TET2 (30/123), ASXL1 (24/123), DNMT3A (19/123), RUNX1 (14/123) und SRSF2 (14/123).

#### **4.7.3. Häufigkeitsverteilungen der Mutationen Low vs. High Risk IPSS-R**

Ein NGS wurde bei 47 Low-Risk-, 71 High-Risk- und 5 nicht klassifizierbaren Patient\*innen durchgeführt. Die unten angeführte Abbildung zeigt die Häufigkeitsverteilung der Mutationen und gibt an ob sie bei Low-Risk-, High-Risk- oder nicht klassifizierbaren Patient\*innen vorkamen.

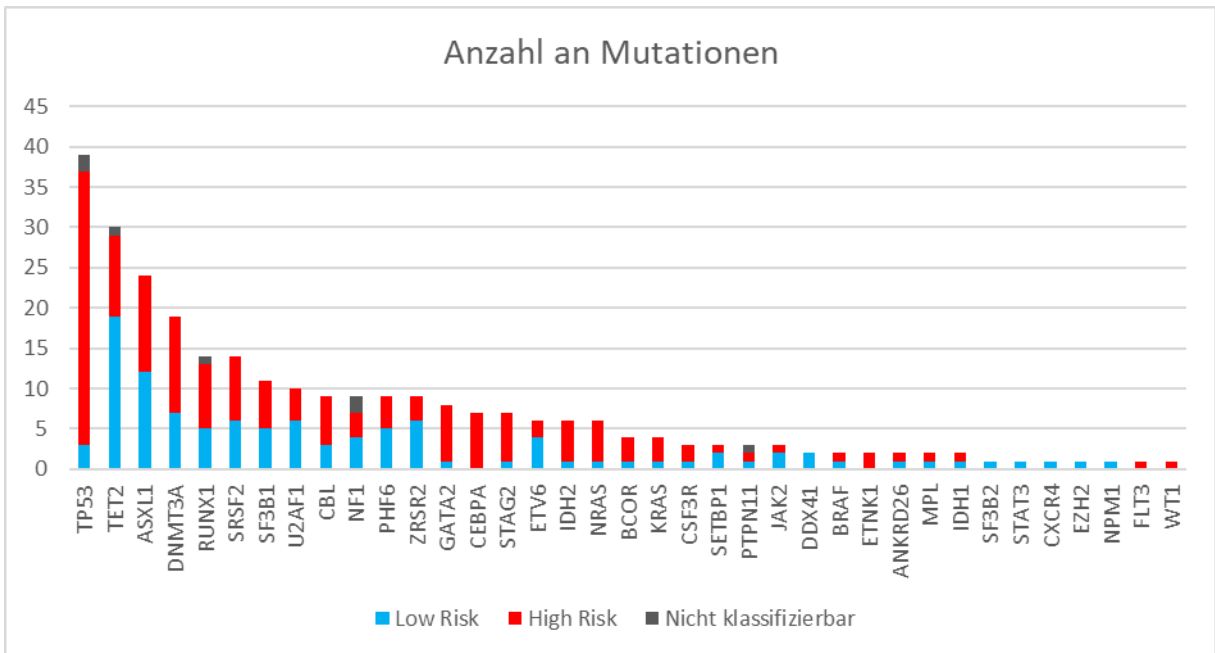


Abbildung 16 Anzahl der Mutation eingeteilt nach Risikogruppe

In der zweiten Darstellung der aufgetreten Mutationen lassen sich die Mutationsprofile der Patient\*innen ablesen. Hier zeigen die Spalten einzelne Patient\*innen und die Zeilen die jeweilige Mutation.

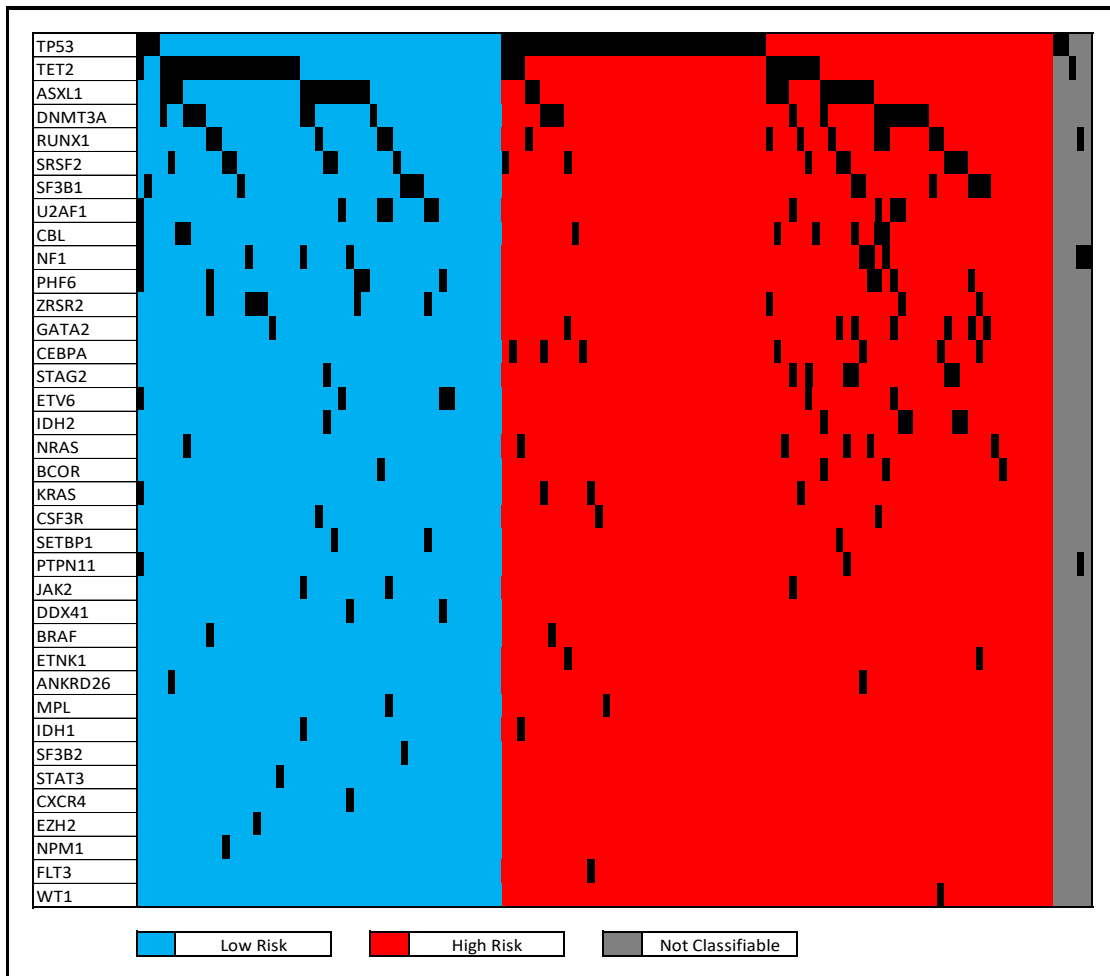


Abbildung 17 Mutationsprofile der einzelnen Patient\*innen eingeteilt nach Risikogruppe

Bei den High-Risk Patient\*innen wurde mittels exakten Fisher-Tests ein statistisch signifikant höherer Anteil an TP53- ( $p < 0,001$ ), sowie CEBPA-Mutationen ( $p = 0,041$ ) festgestellt. In Low-Risk Gruppe zeigte sich ein statistisch signifikant höherer Teil and TET2-Mutationen ( $p = 0,002$ ).

Zwischen den Low-Risk und High-Risk Patient\*innen konnte mithilfe des Mann-Whitney-U-Tests kein signifikanter Unterschied in der Anzahl der Mutationen pro Patient\*in gefunden werden ( $p = 0,951$ )

#### 4.7.4. Häufigkeitsverteilungen der Mutationen $\leq 70$ Jahre und $> 70$

Wie für die Low- und High-Risk Patient\*innen wurde auch für die Gruppe der  $\leq 70$  Jahre und  $> 70$  Jahre alten Erkrankten die Mutationsverteilungen untersucht. Ein NGS wurde bei 67 Patient\*innen  $\leq 70$  Jahren und bei 56 Patient\*innen  $> 70$  Jahren durchgeführt

Die unten angeführte Abbildung zeigt die Häufigkeitsverteilung der Mutationen und gibt an ob sie bei  $\leq 70$  oder  $> 70$  Jahren alten Patient\*innen vorkamen.

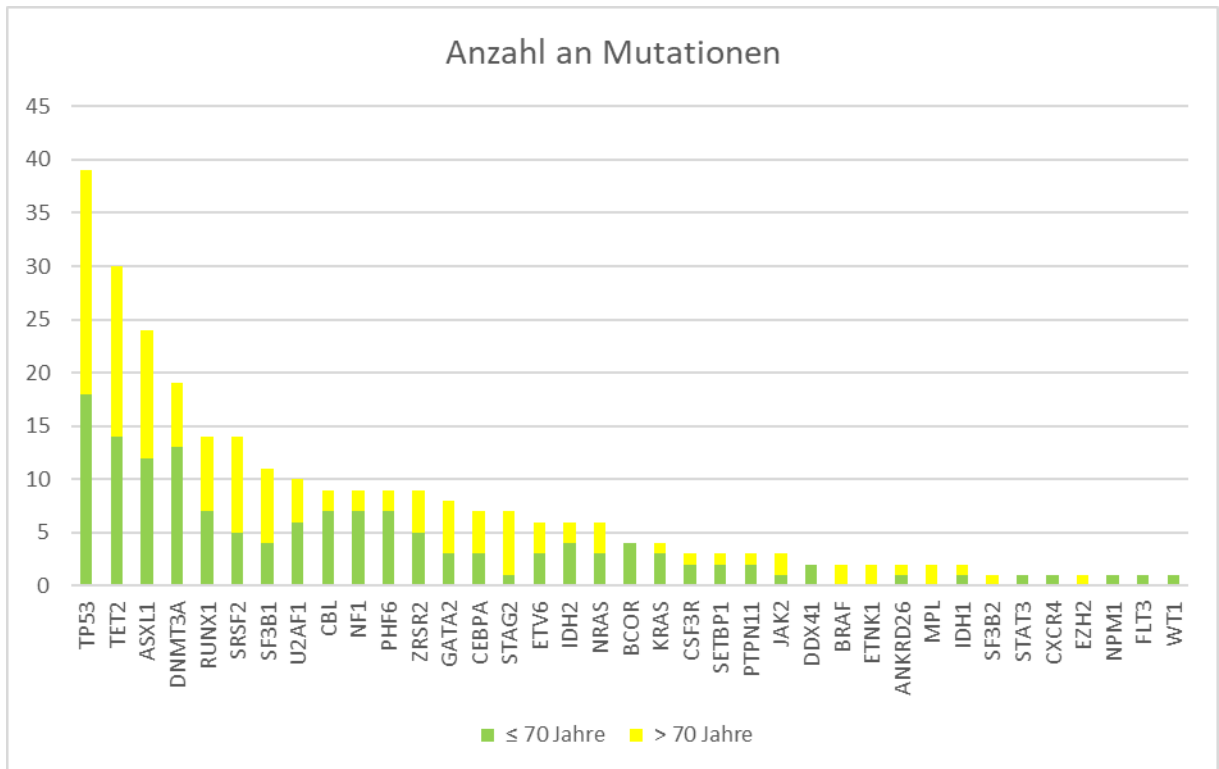


Abbildung 18 Anzahl der Mutationen eingeteilt nach Altersgruppe

In der zweiten Darstellung der aufgetreten Mutationen lassen sich wie vorhin wieder die Mutationsprofile der Patient\*innen ablesen. Hier zeigen die Spalten einzelne Patient\*innen und die Zeilen die jeweilige Mutation.

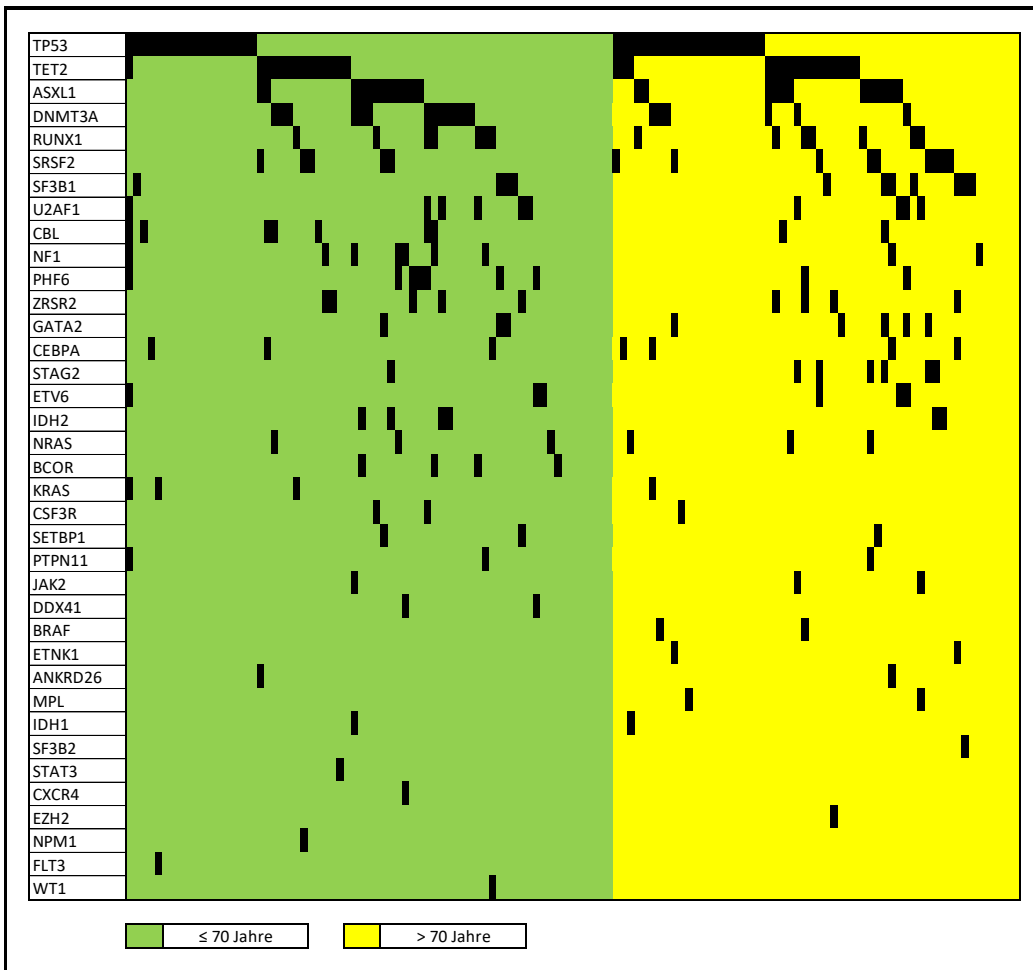


Abbildung 19 Mutationsprofile der einzelnen Patient\*innen eingeteilt nach Altersgruppe

Patient\*innen über 70 Jahre zeigten ein statistisch signifikant häufigeres Auftreten von STAG2-Mutationen (exakter Fisher-Test,  $p=0,046$ ).

Zwischen den Altersgruppen konnte wie auch schon bei den Risikogruppen, mithilfe des Mann-Whitney-U-Test kein signifikanter Unterschied in der Anzahl der Mutationen pro Patient\*in festgestellt werden ( $p=0,263$ )

## 5. Diskussion

MDS ist eine Erkrankung die überwiegend die ältere Bevölkerung betrifft. Dies spiegelt sich auch in unserer Kohorte mit einem medianen Erkrankungsalter von 69 Jahren. Die mediane Überlebenszeit aller Patient\*innen entspricht weitgehend auch denen anderer Studien. So zeigt Tuominen et al. (2023) ein leicht niedrigeres medianes Gesamtüberleben von 26,9 Monate für seine gesamte Kohorte wie die Grazer Uniklinik mit 976 Tagen beziehungsweise 32,5 Monaten (1 Monat = 30 Tage). (64)

In der Kohorte konnte zwischen den Risikogruppen des IPSS und IPPS-R nicht nur bei der medianen Überlebenszeit, sondern auch bei der Zeit bis eine AML-Transformation eintrat ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Dies bestätigt die Wichtigkeit einer initialen Risikostratifizierung um Patient\*innen mit einem hohen Risiko früh zu identifizieren und adäquat und schnell zu therapieren.

Die Überlebensdaten der Grazer Patient\*innen anhand IPSS zeigen im Vergleich mit Moreno Berggren et al. (2018) (Medianes OS: Low: 67,2 Monate, Intermediate I: 31,1 Monate, Intermediate II: 13,4 Monate, High: 10,8 Monate) für die Low, Intermediate I und Intermediate II leicht höhere Überlebenszeiten. Vergleicht man aus derselben Studie auch Überlebenszeiten des IPSS-R (Mediane OS: Very Low: nicht erreicht, Low: 57,7 Monate, Intermediate: 29,8 Monate, High: 17,0 und Very High: 9,3 Monate), welcher als verlässlichere Risikostratifizierung gilt, so zeigen sich auch hier mit Ausnahme der Low-Risikogruppe höhere Überlebenszeiten an der Grazer Hämatologie. (65)

Anders als in vielen Studien (z.B. Montonoro et al. (2023)) zu finden, konnte bei unserer Kohorte kein signifikanter Unterschied in der Überlebenszeit zwischen den Therapieregimen der High-Risk Patient\*innen sowohl beim IPSS als auch beim IPSS-R festgestellt werden. Dies liegt vermutlich daran, dass einige Erkrankte welche eine anderweitige Therapie erhielten, relativ schnell in eine AML transformierten und anschließend eine intensive Chemotherapie oder eine allo-SCT erhielten und dadurch noch lange überlebten. Da sich diese Studie aber lediglich mit MDS beschäftigt, wurde entschieden diese Patient\*innen trotzdem in der Gruppe der anderweitigen Therapie zu belassen, da sie ihre Behandlung erst

als AML-Patient\*innen erhielten. Hätte man sich anders entschieden wäre das Ergebnis vermutlich doch signifikant gewesen. (66)

Deswegen wurde zusätzlich auch untersucht ob die Therapie eine Auswirkung auf die Zeit bis zur AML-Transformation hat. Hier konnte gezeigt werden, dass obwohl sich die Lebenserwartung in der Patient\*innengruppe welche mit Azacitidin, Decitabin oder allo-SCT behandelt wurden nicht signifikant verbesserte, sich die Zeit bis zur Transformation in eine AML jedoch signifikant verlängerte.

In dieser Studie wurde auch gezeigt, dass die Therapieerfolge von HMAs und allo-SCT, denen einer anderweitigen Therapie überlegen sind. In der ersten genannten Gruppe lagen die CR-Raten unserer Kohorte bezüglich IPSS-R bei 38,8% (19/49 Patient\*innen) und bezüglich IPSS bei 34,2% (13/38 Patient\*innen). Vergleiche mit anderen Studien sind schwierig da die Erfolge bei allo-SCT häufig nur in Langzeitüberlebensdaten angegeben werden. Initial war auch geplant bei der Therapie zwischen HMAs und allo-SCT zu unterscheiden, dies wurde aber aufgrund der doch eher geringeren Fallzahlen wieder verworfen.

In der Studie von Montonoro et al. (2023) erreichten in der „active treatment“-Gruppe 22/106 Patient\*innen (20,8%) eine complete response und in der „HSCT“-Gruppe erreichten dies 17/52 Patient\*innen (32,7%). Zusammengerechnet ergibt dies für beiden Gruppen eine complete response Rate von 24,7% (39/158 Patient\*innen), welche deutlich unter den CR-Raten der Grazer Uniklinik liegt. (66) NGS gewinnt zunehmend an Bedeutung für die Diagnostik. Es finden sich jedoch kaum Daten wie häufig die Untersuchung in der Diagnostik des MDS aber tatsächlich durchgeführt wird. Bei unserer Kohorte wurde zwischen 1.1.2013 und 31.12.2022 bei 86% der Patient\*innen ein NGS durchgeführt. In den letzten 3 Jahren des Untersuchungszeitraumes lag die Quote bei 100%. Bei einer anderen Studie der Grazer Uniklinik von Wurm et al. (2024) bezüglich des Einsatzes von NGS bei AML-Patient\*innen lag die Quote bei 94%. Daraus lässt sich schließen, dass sich NGS in Graz als feste Routinediagnostik etabliert hat. (59)

Devarkonda et al. (2023) beschreibt die durchschnittliche Bearbeitungsdauer des NGS bei AML mit ca. 13 Tagen und zeigt damit eine ähnliche Dauer wie Universitätsklinik Graz in den letzten Jahren dieser Studie. (67)

MDS zeigte in unserer Studie ein äußerst vielfältiges Mutationsprofil. Haferlach et al. (2014) und Papaemmanuil et al. (2013) beschreiben TET2, ASXL1, DNMT3A,

RUNX1, SRFS2 und SF3B1 als die am häufigsten vorkommenden Mutationen. Dies deckt sich auf mit unserer Kohorte, mit der Ausnahme von der TP53-Mutation, welche sich in dieser Studie als die prominenteste Mutation herausgestellt hat. Dies kann einerseits an der Variabilität der Patient\*innenkollektiven oder andererseits daran liegen, dass wir in unserer Kohorte bezüglich NGS mit ca. 58% einen relativ hohen Anteil an IPSS-R High-Risk Patient\*innen hatten. (9,68)

In unserer Kohorte konnten bezüglich Mutationen 4 signifikante Ergebnisse festgestellt werden. TP53-Mutationen sind in der Literatur mit einer schlechten Prognose assoziiert, was erklären könnte weshalb sie in unserer Kohorte bei High-Risk Patient\*innen signifikant häufiger nachgewiesen wurden. TET2- und CEBPA-Mutationen gelten hingegen bezüglich ihrer prognostischen Aussagekraft noch immer als unklar und bei STAG2-Mutationen gibt es in Studien bis jetzt noch keine Hinweise darauf, dass diese bei älteren Patient\*innen signifikant häufiger auftreten als bei jüngeren. Da die Aussagekraft dieser Ergebnisse aufgrund der geringen Anzahl an Patient\*innen eingeschränkt ist, werden vermutlich weitere Studien notwendig sein um diese Zusammenhänge zu validieren. (69,70)

Der nicht signifikanten Unterschied in der Anzahl an Mutationen pro Patient\*in zwischen der Low-Risk und High-Risk Gruppe könnten darauf hindeuten, dass die Mutation selbst mehr Einfluss auf die Risikostratifizierung hat als die absolute Anzahl.

Im Gegensatz zu Studien wie Stengel et al. (2021) oder Wu et al. (2022), wurde in unserer Kohorte kein signifikanter Unterschied in der Anzahl an Mutationen pro Patient\*in zwischen den Altersgruppen festgestellt. Grund dafür könnte die Altersgrenze sein. Beide der vorhin genannten Studien haben ihre Grenze zwischen jungen und alten Patient\*innen bei 60 Jahren festgelegt. Vielleicht hätten wir mit der gleichen Einteilung auch ein signifikantes Ergebnis feststellen können. (8,71)

## **6. Konklusion**

Ziel dieser Arbeit war die Erstellung einer Datenbank von MDS-Patient\*innen an der klinischen Abteilung für Hämatologie der Medizinischen Universität Graz und der anschließende Vergleich mit ähnlichen internationalen Daten.

Insgesamt konnten 145 MDS-Patient\*innen erfasst werden. Die Daten der Grazer Patient\*innen betreffend Überleben und Therapieerfolg entsprechen oder übertreffen weitestgehend denen vergleichbarer internationaler Studien.

NGS hat sich in Graz inzwischen als feste Routinediagnostik des MDS und anderer hämatologischer Erkrankungen etabliert. In den Mutationsprofilen der Patient\*innen konnten signifikante Unterschiede zwischen Risiko- und Altersgruppen gefunden werden, die vielleicht neue Hinweise liefern können wie verschiedene Mutationen in Zukunft betrachtet werden.

Darüber hinaus liefert diese Studie wertvolle Real-World-Daten bezüglich Versorgung und Charakteristik von MDS-Patient\*innen im klinischen Alltag.

## Literaturverzeichnis

1. Haferlach T, Gattermann N, Giagounidis A. Myelodysplastische Syndrome von A bis Z. 4. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2021.
2. Ma X. Epidemiology of Myelodysplastic Syndromes. *The American Journal of Medicine*. 2012 July;125(7):S2–5.
3. Zeidan AM, Shallis RM, Wang R, Davidoff A, Ma X. Epidemiology of myelodysplastic syndromes: Why characterizing the beast is a prerequisite to taming it. *Blood Reviews*. 2019 Mar;34:1–15.
4. Giagounidis A. Myelodysplastische Syndrome. *Internist*. 2020 Feb;61(2):175–84.
5. Zhou J, Orazi A, Czader MB. Myelodysplastic syndromes. *Seminars in Diagnostic Pathology*. 2011 Nov;28(4):258–72.
6. Ogawa S. Genetics of MDS. *Blood*. 2019 Mar 7;133(10):1049–59.
7. Hoff FW, Madanat YF. Molecular Drivers of Myelodysplastic Neoplasms (MDS)—Classification and Prognostic Relevance. *Cells*. 2023 Feb 15;12(4):627.
8. Stengel A, Baer C, Walter W, Meggendorfer M, Kern W, Haferlach T, et al. Mutational patterns and their correlation to CHIP-related mutations and age in hematological malignancies. *Blood Advances*. 2021 Nov 9;5(21):4426–34.
9. Haferlach T, Nagata Y, Grossmann V, Okuno Y, Bacher U, Nagae G, et al. Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2014 Feb;28(2):241–7.
10. Patnaik MM, Tefferi A. Myelodysplastic syndromes with ring sideroblasts ( MDS-RS ) and MDS /myeloproliferative neoplasm with RS and thrombocytosis ( MDS/MPN-RS-T ) – “ 2021 update on diagnosis, risk-stratification, and management.” *American J Hematol*. 2021 Mar;96(3):379–94.
11. Meggendorfer M, Kern W, Perglerová K, Schnittger S, Haferlach C, Haferlach T. Does Age of Patients Influence the Composition of Gene Mutations in Myeloid Neoplasms? *Blood*. 2015 Dec 3;126(23):3821–3821.
12. Moore LD, Le T, Fan G. DNA Methylation and Its Basic Function. *Neuropsychopharmacol*. 2013 Jan;38(1):23–38.
13. Murken J, Grimm T, Holinski-Feder E, Zerres K. Taschenlehrbuch Humangenetik. 9. teilaktualisierte Auflage. Stuttgart: Thieme; 2017.
14. Nordheim A, Knippers R, Dröge P, Meister G, Schiebel E. Molekulare Genetik. 11., unveränderte Auflage. Stuttgart: Thieme; 2018.

15. Fang D, Han J. Histone Mutations and Cancer. 1st ed. 2021. Singapore: Springer; 2021. (Advances in Experimental Medicine and Biology).
16. Kontandreopoulou CN, Kalopisis K, Viniou NA, Diamantopoulos P. The genetics of myelodysplastic syndromes and the opportunities for tailored treatments. *Front Oncol*. 2022 Oct 20;12:989483.
17. Thol F, Heuser M, Ganser A. Myelodysplastische Syndrome. *Internist*. 2015 Apr;56(4):364–73.
18. Kreuzer KA, Beyer J. Hämatologie und Onkologie: Fallorientierte Darstellung - rationale Diagnostik und Therapie. 1. Auflage. Stuttgart: Thieme; 2016.
19. Dyer P, Arellano ML. Myelodysplastic syndromes. Abingdon, Oxford, UK: S. Karger; 2021. (Fast facts).
20. Malcovati L, Hellström-Lindberg E, Bowen D, Adès L, Cermak J, Del Cañizo C, et al. Diagnosis and treatment of primary myelodysplastic syndromes in adults: recommendations from the European LeukemiaNet. *Blood*. 2013 Oct 24;122(17):2943–64.
21. Mufti GJ, McLornan DP, Van De Loosdrecht AA, Germing U, Hasserjian RP. Diagnostic algorithm for lower-risk myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2018 Aug;32(8):1679–96.
22. Höfler G, Kreipe HH, Moch H. Pathologie: das Lehrbuch. 6., vollständig überarbeitete Auflage. München: Elsevier, Urban & Fischer; 2019.
23. Hasserjian RP, Germing U, Malcovati L. Diagnosis and classification of myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2023 Dec 28;142(26):2247–57.
24. Muzzey D, Evans EA, Lieber C. Understanding the Basics of NGS: From Mechanism to Variant Calling. *Curr Genet Med Rep*. 2015 Dec;3(4):158–65.
25. Shumilov E, Flach J, Kohlmann A, Banz Y, Bonadies N, Fiedler M, et al. Current status and trends in the diagnostics of AML and MDS. *Blood Reviews*. 2018 Nov;32(6):508–19.
26. Valent P, Orazi A, Steensma DP, Ebert BL, Haase D, Malcovati L, et al. Proposed minimal diagnostic criteria for myelodysplastic syndromes (MDS) and potential pre-MDS conditions. *Oncotarget*. 2017 Sept 26;8(43):73483–500.
27. Estey E, Hasserjian RP, Döhner H. Distinguishing AML from MDS: a fixed blast percentage may no longer be optimal. *Blood*. 2022 Jan 20;139(3):323–32.
28. Valent P. ICUS, IDUS, CHIP and CCUS: Diagnostic Criteria, Separation from MDS and Clinical Implications. *Pathobiology*. 2019;86(1):30–8.
29. Eucker J, Scholz C, Bathon M, Busse A, Dieing A. Klinikleitfaden Hämatologie Onkologie. 2. Auflage. München: Elsevier; 2021. (Klinikleitfaden).

30. Patnaik MM, Lasho T. Evidence-Based Minireview: Myelodysplastic syndrome/myeloproliferative neoplasm overlap syndromes: a focused review. *Hematology*. 2020 Dec 4;2020(1):460–4.
31. Fontana D, Elli EM, Pagni F, Piazza R. Myelodysplastic Syndromes/Myeloproliferative Overlap Neoplasms and Differential Diagnosis in the WHO and ICC 2022 Era: A Focused Review. *Cancers*. 2023 June 13;15(12):3175.
32. Tanaka TN, Bejar R. MDS overlap disorders and diagnostic boundaries. *Blood*. 2019 Mar 7;133(10):1086–95.
33. Baumgartner F, Baer C, Bamopoulos S, Ayoub E, Truger M, Meggendorfer M, et al. Comparing malignant monocytosis across the updated WHO and ICC classifications of 2022. *Blood*. 2024 Mar 21;143(12):1139–56.
34. Khoury JD, Solary E, Abla O, Akkari Y, Alaggio R, Apperley JF, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia*. 2022 July;36(7):1703–19.
35. Lee WH, Lin CC, Tsai CH, Tien FM, Lo MY, Tseng MH, et al. Comparison of the 2022 world health organization classification and international consensus classification in myelodysplastic syndromes/neoplasms. *Blood Cancer J*. 2024 Apr 9;14(1):57.
36. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016 May 19;127(20):2391–405.
37. Zini G. Diagnostics and Prognostication of Myelodysplastic Syndromes. *Ann Lab Med*. 2017 Nov 1;37(6):465–74.
38. Hasserjian RP. Myelodysplastic Syndrome Updated. *Pathobiology*. 2019;86(1):7–13.
39. Volpe VO, Garcia-Manero G, Komrokji RS. SOHO State of the Art & Next Questions: Myelodysplastic Syndromes: A New Decade. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*. 2022 Jan;22(1):1–16.
40. Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, Fenaux P, Morel P, Sanz G, et al. International Scoring System for Evaluating Prognosis in Myelodysplastic Syndromes. *Blood*. 1997 Mar 15;89(6):2079–88.
41. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, Sanz G, Garcia-Manero G, Solé F, et al. Revised International Prognostic Scoring System for Myelodysplastic Syndromes. *Blood*. 2012 Sept 20;120(12):2454–65.
42. Bernard E, Tuechler H, Greenberg PL, Hasserjian RP, Arango Ossa JE, Nannya Y, et al. Molecular International Prognostic Scoring System for Myelodysplastic Syndromes. *NEJM Evidence [Internet]*. 2022 June 28 [cited

2024 Aug 17];1(7). Available from:  
<https://evidence.nejm.org/doi/10.1056/EVIDoa2200008>

43. Carraway HE, Saygin C. Therapy for lower-risk MDS. *Hematology*. 2020 Dec 4;2020(1):426–33.
44. Santini V. Treatment of low-risk myelodysplastic syndromes. *Hematology*. 2016 Dec 2;2016(1):462–9.
45. Lucero J, Al-Harbi S, Yee KWL. Management of Patients with Lower-Risk Myelodysplastic Neoplasms (MDS). *Current Oncology*. 2023 June 27;30(7):6177–96.
46. Toprak SK. Past, present and future in low-risk myelodysplastic syndrome. *Front Med*. 2022 July 15;9:967900.
47. Steensma DP, Bennett JM. The Myelodysplastic Syndromes: Diagnosis and Treatment. *Mayo Clinic Proceedings*. 2006 Jan;81(1):104–30.
48. Angelucci E, Li J, Greenberg P, Wu D, Hou M, Montano Figueroa EH, et al. Iron Chelation in Transfusion-Dependent Patients With Low- to Intermediate-1–Risk Myelodysplastic Syndromes: A Randomized Trial. *Ann Intern Med*. 2020 Apr 21;172(8):513.
49. Park S, Kelaidi C, Sapena R, Vassilieff D, Beyne-Rauzy O, Coiteux V, et al. Early introduction of ESA in low risk MDS patients may delay the need for RBC transfusion: A retrospective analysis on 112 patients. *Leukemia Research*. 2010 Nov;34(11):1430–6.
50. Volpe VO, Komrokji RS. Treatment options for lower-risk myelodysplastic syndromes. Where are we now? *Therapeutic Advances in Hematology*. 2021 Jan;12:204062072098664.
51. Platzbecker U, Della Porta MG, Santini V, Zeidan AM, Komrokji RS, Shortt J, et al. Efficacy and safety of luspatercept versus epoetin alfa in erythropoiesis-stimulating agent-naive, transfusion-dependent, lower-risk myelodysplastic syndromes (COMMANDS): interim analysis of a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *The Lancet*. 2023 July;402(10399):373–85.
52. Santini V, Consagra A. How to use luspatercept and erythropoiesis-stimulating agents in low-risk myelodysplastic syndrome. *Br J Haematol* [Internet]. 2025 May 2 [cited 2025 July 8]; Available from:  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/bjh.20126>
53. Scalzulli E, Pepe S, Colafigli G, Breccia M. Therapeutic strategies in low and high-risk MDS: What does the future have to offer? *Blood Reviews*. 2021 Jan;45:100689.
54. Khan C, Pathe N, Fazal S, Lister J, Rossetti JM. Azacitidine in the management of patients with myelodysplastic syndromes. *Therapeutic Advances in Hematology*. 2012 Dec;3(6):355–73.

55. Sekeres MA, Cutler C. How we treat higher-risk myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2014 Feb 6;123(6):829–36.
56. Maksymowicz M, Moqbil S, Machowiec P, Podhorecka M. Therapeutic options in high-risk myelodysplastic syndrome. *Hematology in Clinical Practice*. 2023 Feb 28;13(3–4):97–111.
57. Garcia-Manero G, Chien KS, Montalban-Bravo G. Myelodysplastic syndromes: 2021 update on diagnosis, risk stratification and management. *American J Hematol*. 2020 Nov;95(11):1399–420.
58. Borate U, Pugh K, Waller A, Welkie RL, Huang Y, Bewersdorf JP, et al. Reducing clinical trial eligibility barriers for patients with MDS: an icMDS position statement. *Blood*. 2025 Mar 27;145(13):1369–81.
59. Wurm S, Waltersdorfer M, Loindl S, Moritz JM, Herzog SA, Bachmaier G, et al. Acute myeloid leukemia in the next-generation sequencing era: Real-world data from an Austrian tertiary cancer care center. *Wien Klin Wochenschr* [Internet]. 2024 Nov 11 [cited 2025 Aug 12]; Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s00508-024-02463-w>
60. Kim N, Pavletic S, Norsworthy KJ. Meaningful response criteria for myelodysplastic syndromes. *British Journal of Haematology*. 2022;196(5):1137–48.
61. Komrokji RS, Al Ali NH, Sallman D, Padron E, DeZern AE, Barnard J, et al. Validation of International Working Group response criteria in higher-risk myelodysplastic syndromes: A report on behalf of the MDS Clinical Research Consortium. *Cancer Medicine*. 2021 Jan;10(2):447–53.
62. Cheson BD, Greenberg PL, Bennett JM, Lowenberg B, Wijermans PW, Nimer SD, et al. Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia. *Blood*. 2006 July 15;108(2):419–25.
63. Bejar R. How can we improve response assessments in MDS? Strategies to improve response assessment in MDS treatment paradigms. *Best Practice & Research Clinical Haematology*. 2022 Dec 1;35(4):101405.
64. Tuominen S, Miettinen T, Dünweber C. Characteristics, treatment and outcomes of myelodysplastic syndrome in two Finnish hospital districts [Internet]. 2023 [cited 2025 June 17]. Available from: <http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2023.10.06.23296265>
65. Moreno Berggren D, Folkvaljon Y, Engvall M, Sundberg J, Lambe M, Antunovic P, et al. Prognostic scoring systems for myelodysplastic syndromes ( MDS ) in a population-based setting: a report from the Swedish MDS register. *Br J Haematol*. 2018 June;181(5):614–27.
66. Montoro MJ, Pomares H, Coll R, Bernal Del Castillo T, Tormo M, Jiménez A, et al. Evaluation of the outcomes of newly diagnosed patients with high-risk

- myelodysplastic syndrome according to the initial therapeutical strategies chosen in usual clinical practice. *Leukemia & Lymphoma*. 2023 Feb 23;64(3):679–90.
67. Devarkonda V, Akabane H. Transforming Acute Myeloid Leukemia Treatment Through Next-Generation Sequencing: A Single-Center Experience. *Cureus* [Internet]. 2023 Sept 25 [cited 2025 June 30]; Available from: <https://www.cureus.com/articles/184042-transforming-acute-myeloid-leukemia-treatment-through-next-generation-sequencing-a-single-center-experience>
68. Papaemmanuil E, Gerstung M, Malcovati L, Tauro S, Gundem G, Van Loo P, et al. Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2013 Nov 21;122(22):3616–27.
69. Ganguly BB, Kadam NN. Mutations of myelodysplastic syndromes (MDS): An update. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*. 2016 July;769:47–62.
70. Hirsch CM, Przychodzen BP, Radivoyevitch T, Patel B, Thota S, Clemente MJ, et al. Molecular features of early onset adult myelodysplastic syndrome. *Haematologica*. 2017 June;102(6):1028–34.
71. Wu J, Zhang Y, Qin T, Xu Z, Qu S, Pan L, et al. IPSS-M has greater survival predictive accuracy compared with IPSS-R in persons  $\geq 60$  years with myelodysplastic syndromes. *Exp Hematol Oncol*. 2022 Oct 17;11(1):73.

Zur sprachlichen Optimierung des Textes wurde folgendes Tool verwendet:

- GPT-5 (Stand August 2025)
- OpenAI
- Inhaltsgenerierung März-August 2025
- <https://chat.openai.com/>