

# Immuunfenotyperingsdiagnostiek van acute leukemie met lymfatische en myeloïde kenmerken: WHO 2008

**Auteurs** M. Terwijn, W. van den Ancker, T.M. Westers, G.J. Ossenkoppele en A.A. van de Loosdrecht

**Trefwoorden** bifenotypische acute leukemie, immuunfenotypering, MPAL, WHO 2008

## Samenvatting

Acute leukemieën worden benoemd naar cellijnspecificiteit: myeloïd of lymfatisch. Bij ongeveer 4% van de acute leukemieën is het onduidelijk of er sprake is van een acute myeloïde leukemie of een acute lymfatische leukemie. In de WHO-criteria uit 2001 worden deze omschreven als bilineaire of bifenotypische leukemieën. Deze WHO-criteria zijn gebaseerd op een scoringstelsel ontwikkeld door de Europese

Groep voor de Immunologische Karakterisering van Acute Leukemieën uit 1995. Recentelijk zijn de WHO 2008 richtlijnen gepubliceerd voor de diagnostiek van de verschillende hematopoëtische en lymfatische maligniteiten. De veranderingen die deze richtlijnen met zich meebrengen voor de diagnostiek van acute leukemieën van onduidelijke afkomst zijn in dit artikel uiteengezet.

(*Ned Tijdschr Hematol* 2009;6:205-10)

## Inleiding

Acute leukemieën (AL) worden benoemd naar cellijnspecificiteit: myeloïd of lymfatisch. In het maken van dit onderscheid speelt immuunfenotypering een belangrijke rol. Bij ongeveer 4% van de AL is het onduidelijk of er sprake is van een acute myeloïde leukemie (AML) of een acute lymfatische leukemie (ALL). In de WHO-criteria uit 2001 worden AL met zowel lymfatische als myeloïde kenmerken omschreven als bilineaire of bifenotypische AL. Onder de term acute bilineaire leukemie (aBLL) worden de leukemieën gegroepeerd die uit 2 (of meer) verschillende blastenpopulaties bestaan die van elkaar in cellijnspecificiteit verschillen. Een bifenotypische acute leukemie (BAL) bestaat uit een enkele blastenpopulatie die antigenen van verschillende differentiatielijnen tot expressie brengt. Er wordt aangenomen dat de prognose van een BAL of een aBLL slechter is vergeleken met een AML of ALL. Deze verslechterde prognose kan voor een deel worden verklaard door het vaker voorkomen van het philadelphia-chromosoom en complexe chromosoomafwijkingen.<sup>1</sup>

Ook wordt in deze patiëntengroep, vaker dan bij AML en ALL, een extramedullaire lokalisatie van de ziekte aangetroffen. Vanwege de slechtere prognose en de bijbehorende intensievere behandelingsprotocollen is een juiste diagnose van BAL en aBLL van groot belang. Het is echter onduidelijk of een BAL of een aBLL behandeld dient te worden volgens een AML- of een ALL-protocol of een combinatie van beide.<sup>1-10</sup> Om deze vraagstelling te kunnen beantwoorden is een gerandomiseerde studie gebaseerd op eenduidige classificatie van BAL noodzakelijk.

Tot 1995 waren er geen eenduidige richtlijnen voor een classificering van een BAL of aBLL en was het onderscheid tussen een AL met aberrante merkerexpressie enerzijds, en een BAL of een aBLL anderzijds, onduidelijk. In 1995 heeft de Europese Groep voor de Immunologische Karakterisering van Acute Leukemieën (EGIL) criteria opgesteld waaraan een BAL en aBLL immuunfenotypisch zouden moeten voldoen, zodat een uniforme basis gevormd kon worden voor verder onderzoek naar behandeling en

**Tabel 1. Scoringssysteem van de EGIL-werkgroep voor de definitie van bifenotypische acute leukemieën (BAL).\***

Punten**	B-celijn	T-celijn	Myeloïde celijn
2	CD79a cytoplasmatisch IgM cytoplasmatisch CD22	CD3 (cytoplasmatisch of membraan) T-celreceptor $\alpha/\beta$ T-celreceptor $\gamma/\delta$	MPO
1	CD19 CD10 CD20	CD2 CD5 CD8 CD10	CD13 CD33 CD65 CD117
0,5	TdT CD24	TdT CD7 CD1a	CD14 CD15 CD64

\*Een BAL wordt gedefinieerd indien er meer dan 2 punten voor 2 differentiatielijnen worden gevonden.

\*\*Elke merker wordt gescoord volgens het corresponderende puntentotaal bij >20% positiviteit op de blastenpopulatie (indien MPO, cytoplasmatisch CD79a, TdT en CD3 lichtmicroscopisch positief zijn, dan geldt er fenotypisch een cut-off van 10%).

MPO=myeloperoxidase, IgM=immunglobuline M, TdT='terminal deoxynucleotidyl transferase'.

prognose. In 2001 heeft de WHO beoordelingscriteria opgesteld voor BAL en aBLL, gebaseerd op het scoringssysteem zoals ontwikkeld door de EGIL-werkgroep.<sup>11,12</sup> Recentelijk zijn de nieuwe WHO (2008) richtlijnen gepubliceerd voor de diagnostiek van de verschillende hematopoëtische en lymfatische maligniteiten.<sup>13</sup> De veranderingen die deze richtlijnen met zich meebrengen voor de diagnostiek van AL met myeloïde en lymfatische kenmerken zijn in dit artikel uiteengezet.

### Bifenotypische acute leukemieën volgens EGIL 1995 en WHO 2001

Op basis van immunologische merkers heeft de EGIL-werkgroep definities opgesteld om onderscheid te maken tussen de verschillende differentiatielijnen van AL.<sup>11</sup> Om een AL als een B-cel-ALL te classificeren moet een blast, naast algemene blastaire kenmerken zoals CD34-expressie en een middel-hoge CD45-expressie, ten minste 2 van de 3 vroege B-celmerkers tot expressie brengen: CD19, cytoplasmatisch CD79a of CD22. Een T-cel-ALL wordt gedefinieerd op basis van cytoplasmatische of oppervlakte-expressie van CD3. Een AML wordt gedefinieerd door expressie van ten minste 2 van de volgende merkers: myeloperoxidase (MPO), CD13, CD33, CD65 of CD117, waarbij MPO de hoogste specificiteit voor de myeloïde lijn toegekend wordt. Als cut-off wordt gesteld dat ten minste 20% van de blasten positief moeten zijn voor een merker. Vanwege de grotere cellijnspecificiteit is een uitzonde-

ring gemaakt voor MPO, CD3, cytoplasmatisch CD79a en 'terminal deoxynucleotidyl transferase' (TdT): deze merkers worden positief beschouwd vanaf 10% positiviteit, mits deze ook lichtmicroscopisch positief zijn. In de praktijk wordt de grens van 10%, hoewel arbitrair, ook gebruikt zonder lichtmicroscopische controle.<sup>8</sup> Voor de diagnose 'aBLL' is het voldoende dat 2 of meer verschillende populaties verschillende differentiatiemerken tot expressie brengen, zoals gedefinieerd voor een AML of een ALL. Wanneer dezelfde cel echter merkers tot expressie brengt van verschillende differentiatielijnen is het belangrijk onderscheid te maken tussen een BAL en een AML of ALL met aberrante expressie van 1 of meer merkers. De EGIL-werkgroep heeft hiervoor een scoringssysteem opgezet, gebaseerd op de cellijnspecificiteit van de merkers die tot expressie komen op dezelfde blastenpopulatie (zie *Tabel 1*).<sup>11,14</sup> Een AL wordt als BAL beschouwd als er meer dan 2 punten worden gescoord voor 2 verschillende differentiatielijnen. CD117 werd in de eerste versie van het scoringssysteem nog 0,5 punt toegekend, maar dit is in het jaar 2000 veranderd naar 1 punt vanwege een aangetoonde hogere specificiteit voor de myeloïde lijn.<sup>15,16</sup> In 2001 heeft de WHO de EGIL-criteria overgenomen in haar richtlijnen voor de classificatie van BAL.

### Beperkingen classificatie EGIL 1995 en WHO 2001

De EGIL en WHO 2001 hebben jarenlang een eenduidige en eenvoudige houvast geboden waarmee de

**Tabel 2. WHO 2008: eisen voor de classificatie van 'mixed phenotype acute leukemia'.**

Lymfatische B-celijn*	Lymfatische T-celijn*	Myeloïde celijn*
sterke expressie** van CD19 met sterke expressie** van: cytoplasmatisch CD22, CD10 óf cytoplasmatisch CD79a	sterke expressie** van CD3 (cytoplasmatisch of membraanexpressie)	expressie van MPO
óf zwakke expressie*** van CD19 met sterke expressie** van ten minste 2 van de volgende merkers: cytoplasmatisch CD22, CD10 óf cytoplasmatisch CD79a		óf aanwezigheid van monocyttaire differentiatie gedefinieerd als expressie van ten minste 2 monocyttaire merkers: CD11c, CD14, CD64, lysozym, niet-specifieke esterase
<p>*Een 'mixed phenotype acute leukemia' wordt gedefinieerd indien er aan de eisen voor meer dan 2 lijnen wordt voldaan.  **Sterke expressie wordt gedefinieerd als de expressie van de merker gelijk is aan of hoger dan respectievelijk de normale T- of B-cellen van de patiënt.  ***Zwakke expressie wordt gedefinieerd als de expressie van de merker lager is dan de normale B-cellen van de patiënt.</p>		

diagnoses voor BAL en aBLL konden worden gesteld. Toch is er ook kritiek op deze manier van scoren. Binnen het EGIL-scoringsstelsel zijn veel verschillende merkercombinaties mogelijk waardoor een zeer heterogene groep van BAL ontstaat. Daarnaast zijn sommige combinaties van merkers weinig specifiek: bij een pro-B-ALL met 'mixed lineage leukemia' (MLL)-translocaties wordt vaak positiviteit van CD15, CD65, CD13 en CD33 gezien en cytoplasmatisch CD79a is vaak positief bij een T-ALL. Een ander punt van kritiek is dat het expressieniveau van bepaalde merkers niet wordt gewogen in de EGIL-criteria, terwijl een overexpressie van bijvoorbeeld CD19 zeer specifiek is voor de B-celijn.<sup>8,17,18</sup> Bovendien worden in veel laboratoria niet alle merkers uit de EGIL-tabel gemeten, wat leidt tot discrepanties in de diagnose. In de ontwikkeling van de opvolging van de WHO 2001 criteria is geprobeerd om een nieuwe vereenvoudigde indeling te maken gebaseerd op basis van de cytogenetica en op een verkort panel aan merkers waarin de waarde van merkers opnieuw is gewogen. Eind 2008 zijn de nieuwe criteria voor de classificatie van een AL van onduidelijke afkomst gepubliceerd.<sup>19</sup>

### **Bifenotypische acute leukemieën volgens WHO 2008: 'mixed phenotype acute leukemias'**

In de criteria van de WHO 2008 worden geen eenduidige richtlijnen geboden voor de immunologische eisen waar een T-ALL, B-ALL of AML aan moet voldoen. Aanwezigheid van myeloïde merkers

met afwezigheid van lymfatische merkers is voldoende voor een diagnose 'AML' en bij afwezigheid van myeloïde merkers op blasten met lymfatische merkerexpressie kan de diagnose 'ALL' worden gesteld. Indien er geen cellijnspecifieke merkers op de blasten tot expressie komen, wordt er gesproken van een niet-classificeerbare AL (vaak CD34-, CD38- en HLA-DR-positief). Omdat het onderscheid tussen een BAL en een aBLL soms onduidelijk is, zeker als beide tegelijkertijd worden gezien, worden zowel de aBLL als de BAL in de WHO 2008 richtlijnen in de categorie AL met een gemengd fenotype ('mixed phenotype acute leukemia'; MPAL) ingedeeld.

Indien er 2 of meer verschillende blastenpopulaties aanwezig zijn, welke duidelijk verschillende myeloïde of lymfatische eigenschappen vertonen (aBLL volgens EGIL), dan is dat voldoende om de diagnose 'MPAL' te stellen. Bij 1 blastenpopulatie met verschillende B- of T-lymfatische of myeloïde merkers (BAL volgens EGIL) dan stelt de WHO wel duidelijke eisen voor de classificatie MPAL (zie Tabel 2). Voor de myeloïde component van een MPAL is de expressie van MPO essentieel; expressie van een combinatie van merkers zoals CD13, CD33 en CD117 is niet meer voldoende. Daarnaast mag de myeloïde component bij afwezigheid van MPO, maar bij aanwezigheid van monocyttaire differentiatie ook positief worden beschouwd (gedefinieerd als positiviteit van ten minste 2 van de volgende merkers: niet-specifieke esterase (NSE), CD11c, CD14, lysozym of CD36). Voor de T-lymfatische component is expressie van cytoplasmatisch CD3 of

**Tabel 3. Enkele praktijkvoorbeelden die de verschillen benadrukken in de classificering volgens EGIL en WHO 2008.**

	EGIL 1995	WHO 2008
een AL positief voor: MPO, CD13, CD33, cytoplasmatisch CD79a, CD10	BAL	AML
een AL positief voor: MPO, CD33, CD13 en CD19 (sterk), CD10	AML	MPAL
een AL positief voor: MPO, CD13, cytoplasmatisch CD22, CD10	BAL	AML
een AL positief voor: CD19 (zwak), cytoplasmatisch CD79a, CD33, CD13, CD11c, CD117	BAL	niet te classificeren
een AL positief voor: CD3 (sterk), MPO, TdT	ALL	MPAL

*AL=acute leukemie, BAL=bifenytypische acute leukemie, AML=acute myeloïde leukemie, MPO=myeloperoxidase, MPAL='mixed phenotype acute leukemia', TdT='terminal deoxynucleotidyl transferase', ALL=acute lymfatische leukemie.*

oppervlakte CD3 voldoende, waarbij het expressie-niveau van cytoplasmatisch CD3 en/of CD3 gelijk moet zijn aan de expressie van de normale T-cellen van de patiënt. Terwijl voor de myeloïde en T-celijn 1 enkele merker voldoende is, wordt voor de B-lymfatische component expressie van ten minste 2 merkers geëist (zie *Tabel 2* op pagina 207). Expressie van CD19 is hier altijd noodzakelijk gezien de relatieve lage specificiteit van CD10 en cytoplasmatisch CD79a. Er wordt 1 uitzondering op deze regel gemaakt: bij expressie van cytoplasmatisch CD22, cytoplasmatisch CD79a én CD10 mag een MPAL worden overwogen.<sup>19</sup>

### Beperkingen classificatie WHO 2008

Opvallend aan de criteria van de WHO 2008 is dat er geen eisen worden gesteld aan het percentage merkerexpressie op de blastenpopulatie. Omdat de intracellulaire merkers zoals MPO en cytoplasmatisch CD3 als hoog cellijnspecifiek kunnen worden beschouwd, kan worden overwogen om de grens van 10% positiviteit voor deze intracellulaire merkers te handhaven.<sup>8,11</sup> Het aantonen van een MPAL of een niet-classificeerbare AL gebeurt op basis van immunofluorescentie en bij voorkeur met behulp van flowcytometrische analyse. Opmerkelijk is dan ook de toevoeging van NSE en lysozym aan de eisen voor een myeloïde differentiatie bij afwezigheid van MPO, omdat deze in de praktijk van de flowcytometrie weinig worden toegepast. Verder is het onduidelijk hoe bijvoorbeeld een AL met expressie van CD19 (zwak), cytoplasmatisch CD79a, CD33,

CD13, CD11c, CD117 en afwezigheid van MPO en CD34 wordt ingedeeld (zie *Tabel 3*). Een AL die niet voldoet aan de eisen voor een acuut ongedifferentieerde AL (welke per definitie negatief is voor cellijnspecifieke merkers zoals MPO, cytoplasmatisch CD3, cytoplasmatisch CD22, cytoplasmatisch CD79a, sterke CD19) en wel positief is voor enkele merkers van verschillende cellijnen, maar onvoldoende voor de classificatie MPAL, is in de WHO 2008 niet te classificeren. Volgens de EGIL-criteria is het aannemelijk te veronderstellen dat het hier gaat om een BAL.

### Uitzonderingen op immunologische classificatie WHO 2008

In de WHO 2008 criteria worden alle AL die kunnen worden geclassificeerd als AML of ALL op basis van cytogenetische en klinische eigenschappen uitgesloten van de diagnose MPAL. Zo wordt een AL met een t(8;21); t(15;17) of inv(16) per definitie geclassificeerd als een AML, ongeacht het immuunfenotype van de blasten.<sup>20</sup> Daarnaast kunnen ook AL met *fibroblast groeifactorreceptor (FGFR1)*-mutaties, CML-blastencrisis, MDS-voorfase of een therapie-gerelateerde AL niet worden geclassificeerd als een MPAL.

### Verdere classificatie MPAL, WHO 2008

Indien op basis van immuunfenotypering een gemengd fenotype wordt vastgesteld, wordt volgens de WHO-criteria van 2008 op basis van cytogenetica

**Tabel 4. Classificatie van 'mixed phenotype acute leukemia' (MPAL).**

MPAL B-cel/myeloïd (B/My), niet verder te classificeren ('not otherwise specified'; NOS)
MPAL T-cel/myeloïd (T/My), NOS
MPAL met t(9;22)(q34;q11.2); uitgezonderd blastencrisis die zijn ontstaan uit een voorfase-CML <sup>8</sup>
MPAL met 11q23-afwijkingen ('mixed lineage leukemia') <sup>8</sup>
MPAL NOS, zeldzame types: <ul style="list-style-type: none"><li>- MPAL met T- en B-celkenmerken</li><li>- MPAL met kenmerken van de 3 differentiatielijnen (T/B/My)</li><li>- MPAL met megakaryocytair kenmerk (B/ of T/megakaryocytair leukemieën) of</li><li>- MPAL met erythroblastair kenmerk (B/ of T/erytroleukemieën)</li></ul>

een verdere indeling voorgesteld. Er zijn enkele translocaties bekend die frequent voorkomen en zich in een aantal eigenschappen duidelijk onderscheiden van de overige soorten MPAL: MPAL met t(9;22)(q34;q11.2) (zonder CML-voorfase) en een MPAL met *MLL*-genherschikking. Buiten deze 2 bovengenoemde translocaties zijn er vele andere genetische laesies beschreven gecombineerd met een MPAL-fenotype, zonder dat deze een onderscheid vormen in subgroepen. Een verdere indeling gebeurt dan ook alleen op basis van immunologische markers (zie *Tabel 4*).

### Conclusie: samenvatting belangrijkste verschillen

Er zijn een aantal belangrijke verschillen tussen de classificatie van een BAL/aBLL volgens de WHO 2001 (zie *Tabel 1* op pagina 206) en de classificering van een MPAL volgens de WHO 2008 (zie *Tabel 2 en 3* op pagina 207 en 208). Een T-cel/myeloïd- of een B-cel/myeloïd-BAL die (cytoplasmatisch) CD3-,

MPO- of CD19-negatief is, komt in de WHO 2008 richtlijnen niet meer in aanmerking voor de diagnose 'MPAL'. De expressie van MPO of (cytoplasmatisch) CD3 is nu op zichzelf voldoende voor de respectievelijk myeloïde of T-celcomponent een MPAL. Bij een AL met expressie van MPO en CD19 moet afhankelijk van de expressie van cytoplasmatisch CD22, cytoplasmatisch CD79a en CD10 een B-cel/myeloïd-MPAL worden overwogen. In *Tabel 3* zijn een aantal voorbeelden uiteengezet, die illustreren wat deze veranderingen voor het classificeren volgens de nieuwe criteria voor de praktijk betekenen. De cut-offwaarde voor merkerpositiviteit (20% volgens WHO 2001 criteria), en wanneer een merker normaal of hoger dan normaal tot expressie komt, wordt in de WHO 2008 richtlijnen voor eigen interpretatie opengelaten. Mogelijk zullen deze onduidelikheden eenduidig onderzoek naar behandeling en prognose van MPAL bemoeilijken. Ten slotte dient opgemerkt te worden dat de klinische consequenties van de nieuwe richtlijnen vooralsnog volstrekt onduidelijk zijn. Prospectieve validatie van

### Aanwijzingen voor de praktijk

1. Bij een acute leukemie met expressie van myeloperoxidase (MPO) en CD19 moet afhankelijk van de expressie van cytoplasmatisch CD22, cytoplasmatisch CD79a en CD10 een B-cel/myeloïd 'mixed phenotype acute leukemia' (B/My-MPAL) worden overwogen.
2. Een B/My-MPAL mag pas worden overwogen als naast aanwezigheid van MPO en CD19 (sterk) ook 1 van de volgende 3 merkers wordt gevonden: cytoplasmatisch CD22, cytoplasmatisch CD79a en/of CD10. Bij een zwakke CD19-expressie moeten 2 van de 3 merkers positief zijn.
3. Voor een T/My-MPAL is expressie van MPO en sterke expressie van (cytoplasmatisch) CD3 voldoende.
4. De klinische implicaties van de nieuwe richtlijnen zijn vooralsnog onduidelijk.

de WHO 2008 met klinische data zullen noodzakelijk zijn om de impact te kunnen overzien.

## Referenties

- Xu XQ, Wang JM, Lu SQ, Chen L, Yang JM, Zhang WP, et al. Clinical and biological characteristics of adult biphenotypic acute leukemia in comparison with that of acute myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia: a case series of Chinese population. *Haematologica* 2009;94:891-3.
- Aribi A, Bueso-Ramos C, Estey E, Estrov Z, O'Brien S, Giles F, et al. Biphenotypic acute leukaemia: a case series. *Br J Haematologica* 2007;138:213-6.
- Buccheri V, Matutes E, Dyer MJ, Catovsky D. Lineage commitment in biphenotypic acute leukemia. *Leukemia* 1993;7:919-27.
- Carbonell F, Swansbury J, Min T, Matutes E, Farahat N, Buccheri V, et al. Cytogenetic findings in acute biphenotypic leukaemia. *Leukemia* 1996;10:1283-7.
- Killick S, Matutes E, Powles RL, Hamblin M, Swansbury J, Treleaven JG, et al. Outcome of biphenotypic acute leukemia. *Haematol* 1999;84:699-706.
- Lee JH, Min YH, Chung CW, Kim BK, Yoon HJ, Jo DY, et al. Prognostic implications of the immunophenotype in biphenotypic acute leukemia. *Leuk Lymphoma* 2008;49:700-9.
- Legrand O, Perrot JY, Simonin G, Baudard M, Cadiou M, Blanc C, et al. Adult biphenotypic acute leukaemia: an entity with poor prognosis which is related to unfavourable cytogenetics and P-glycoprotein over-expression. *Br J Haematol* 1998;100:147-55.
- Owaidah TM, Al BA, Iqbal MA, Elkum N, Roberts GT. Cytogenetics, molecular and ultrastructural characteristics of biphenotypic acute leukemia identified by the EGIL scoring system. *Leukemia* 2006;20:620-6.
- Sulak LE, Clare CN, Morale BA, Hansen KL, Montiel MM. Biphenotypic acute leukemia in adults. *Am J Clin Pathol* 1990;94:54-8.
- Weir EG, Ali Ansari-Lari M, Batista DA, Griffin CA, Fuller S, Smith BD, et al. Acute bilineal leukemia: a rare disease with poor outcome. *Leukemia* 2007;21:2264-70.
- Bene MC, Castoldi G, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A, et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia* 1995;9: 1783-6.
- Bruning RD, Matutes E, Borowitz MJ, Flandrin G, Head D, Vardiman JW, et al. Acute leukaemias of ambiguous lineage. In: Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman, JW, editors. *Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Third Edition*. IARC Press, Lyon, 2001.
- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Fourth Edition*. IARC Press, Lyon, 2008.
- Matutes E, Morilla R, Farahat N, Carbonell F, Swansbury J, Dyer M, et al. Definition of acute biphenotypic leukemia.

*Haematologica* 1997;82:64-6.

- Bene MC, Bernier M, Casanovas RO, Castoldi G, Knapp W, Lanza F, et al. The reliability and specificity of c-kit for the diagnosis of acute myeloid leukemias and undifferentiated leukemias. The European Group for the Immunological Classification of Leukemias (EGIL). *Blood* 1998;92:596-9.
- Bene MC, Bernier M, Castoldi G, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, et al. The value of c-kit in the diagnosis of biphenotypic acute leukemia. EGIL (European Group for the Immunological Classification of Leukaemias). *Leukemia* 1998;12:2038.
- Kozlov I, Beason K, Yu C, Hughson M. CD79a expression in acute myeloid leukemia t(8;21) and the importance of cytogenetics in the diagnosis of leukemias with immunophenotypic ambiguity. *Cancer Genet Cytogenet* 2005;163:62-7.
- Lai R, Juco J, Lee SF, Nahiriak S, Etches WS. Flow cytometric detection of CD79a expression in T-cell acute lymphoblastic leukemias. *Am J Clin Pathol* 2000;113:823-30.
- Borowitz MJ, Béné M, Harris NL, Porwit A, McCann SR. Acute leukaemias of ambiguous lineage. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri S, Stein H, et al., editors. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Fourth Edition*. IARC Press, Lyon, 2008.
- Tiacci E, Pileri S, Orleth A, Pacini R, Tabarrini A, Frenguelli F, et al. PAX5 expression in acute leukemias: higher B-lineage specificity than CD79a and selective association with t(8;21)-acute myelogenous leukemia. *Cancer Res* 2004;64:7399-404.

Ontvangen 30 juni 2009, geaccepteerd 31 juli 2009.

## Correspondentieadres

Mw. drs. M. Terwijn\*, promovenda  
 Mw. drs. W. van den Ancker\*, promovenda  
 Mw. dr. ing. T.M. Westers, onderzoeksmedewerker  
 Dhr. prof. dr. G.J. Ossenkoppele, internist-hematoloog  
 Dhr. dr. A.A. van de Loosdrecht, internist-hematoloog

VU medisch centrum  
 Afdeling Hematologie  
 De Boelelaan 117  
 1081 HV Amsterdam  
 Tel.: 020 444 73 17  
 E-mailadres: m.terwijn@vumc.nl

\* Beide auteurs hebben gelijkwaardig bijgedragen aan dit artikel

Correspondentie graag richten aan de eerste auteur.

Belangenconflict: geen gemeld.  
 Financiële ondersteuning: geen gemeld.