

Für die Mehrzahl der Krebserkrankungen, auch für Leukämien und Lymphome, sind genetische Defekte verantwortlich, die in somatischen, also in Körperzellen, und nicht in Keimzellen entstehen und nicht die Keimbahn passieren. Auf Zellniveau sind Leukämien eine genetische Erkrankung, denn eine Mutation in Form einer mikroskopisch sichtbaren Chromosomenveränderung oder von submikroskopischen Genveränderungen wird von Zellgeneration zu Zellgeneration weitergegeben. Daher stellt die cytogenetische und moleku-

largenetische Analyse von Leukämien auch für den Humangenetiker eine Herausforderung dar. Darüberhinaus ist das gehäufte Auftreten von Leukämien im Rahmen von genetisch bedingten Krankheitsbildern, zum Beispiel den autosomal-rezessiv vererbten Chromosomeninstabilitätssyndromen, seit längerem bekannt, und es mehren sich die Hinweise auf die Assoziation zwischen bestimmten Erbkrankheiten und Leukämien, wie später auszuführen sein wird.

Zunächst aber soll die Bedeutung der cytogenetischen Analyse mittels klassischer, konventioneller Chromosomenbänderung und Fluoreszenz-in situ-Hybridisierung (FISH) erörtert werden, die ein etabliertes Verfahren in der Leukämiediagnostik darstellt und zur Vorhersage des Krankheitsverlaufes und des Ansprechens auf die Therapie dienlich ist. Im folgenden wird eine Auflistung der Einsatzmöglichkeiten und eine Bewertung der Aussagekraft der Chromosomenanalyse im Rahmen der Leukämiediagnostik versucht:

1. Der Nachweis einer klonalen Chromosomenanomalie stützt die Verdachtsdiagnose Leukämie und kann Hinweise auf den Typ der Leukämie geben. So sichert die Feststellung der Philadelphia-Translokation $t(9;22)(q34;q11)$ bei Verdacht auf chronisch-myeloische Leukämie (CML) diese klinische Diagnose. Die Translokationen $t(8;21)(q22;q22)$ und $t(15;17)(q22;q21)$ (Abb. 1) und eine Reihe anderer spezifischer Chromosomenanomalien bestätigen das Vorliegen einer akuten myeloischen Leukämie (AML). Der Verlust eines ganzen oder eines Teiles des langen Armes von Chromosom 5 und 7 deutet entweder auf ein myelodysplastisches Syndrom (MDS) oder eine akute myeloische Leukämie hin. Die Verdachtsdiagnose akute lymphatische Leukämie (ALL) wird durch den Nachweis z. B. einer Philadelphia-Translokation oder einer Translokation $t(4;11)(q21;q23)$, aber auch eines hyperdiploiden Chromosomensatzes, der mehr als 51 Chromosomenelemente umfaßt, bestätigt (Heim und

Mitelman, 1995). Besondere diagnostische Bedeutung kommt dem cytogenetischen Befund zu, wenn im Knochenmark des Patienten, bei dem eine akute unklare Leukämie vorliegt, eine Chromosomenanomalie entdeckt wird, die ausnahmslos bei einem spezifischen soliden Tumor auftritt: zum Beispiel kann ein alveoläres Rhabdomyosarkom (ARMS), ins Knochenmark metastasiert, als akute Leukämie imponieren, wird aber aufgrund der charakteristischen Translokation $t(2;13)(q35;q14)$ als ARMS identifiziert (Abb. 2) (Stindl et al., im Druck).

2. Bestimmte Subtypen von Leukämien zeichnen sich durch spezifische Chromosomenanomalien aus, sodaß einerseits mittels der cytogenetischen Analyse einzelne Leukämietypen diagnostiziert werden und andererseits neue Korrelationen zwischen histologischem Subtyp und spezifischer Chromosomenanomalie geschaffen werden können. Die bereits erwähnte Translokation $t(15;17)$ wird ausschließlich bei der akuten Promyelocytenleukämie nachgewiesen; eine perizentrische Inversion im Chromosom 16 – $inv(16)(p13q22)$ – charakterisiert den Subtyp akute myelomonocytäre Leukämie mit Knochenmarksinophilie. Die Translokation $t(4;11)$ ist spezifisch für sogenannte hybride akute Leukämien mit sowohl myeloischen als auch lymphatischen Markern (Heim und Mitelman, 1995). Eine Reihe von Karyotypveränderungen, deren klinische und prognostische Merkmale noch nicht hinreichend erfaßt sind, gilt es in Zukunft zu klären – zum Beispiel die Wertigkeit verschie-

den großer Deletionen im kurzen Arm von Chromosom 12 (Abb. 3) (Streubel et al., 1998) oder die unterschiedlichen Translokationen zwischen dem langen Arm von Chromosom 3 und dem kurzen Arm von Chromosom 12, bzw. zwischen den langen Armen der Chromosomen 3 und 5 (Heim und Mitelman, 1995).

3. Bestimmte chromosomale Abweichungen haben sich als unabhängige Prognosefaktoren erwiesen. Bei der akuten myeloischen Leukämie signalisieren die Translokationen $t(8;21)$ und $t(15;17)$, sowie die Inversion $inv(16)$ eine günstigere Prognose, während 3q-Anomalien und komplex aberrante Karyotypen ein schlechtes Ansprechen auf die Therapie vorhersehen lassen (Fonatsch et al., 1994). Bei der akuten lymphatischen Leukämie gilt der, vor allem im Kindesalter zu beobachtende, hyperdiploide Karyotyp > 51 als günstiger Prognosefaktor, während die Philadelphia-Translokation und die Translokation $t(4;11)$ mit einer schlechten Prognose vergesellschaftet sind (Heim und Mitelman, 1995; Rieder et al., 1996). Ein Stückverlust im langen Arm eines Chromosoms 5 als isolierte Chromosomenanomalie bei MDS spricht für einen milden Krankheitsverlauf, dagegen ist die 5q-Deletion, meist in Verbindung mit anderen Chromosomenanomalien, bei der AML ein Hinweis auf eine ungünstige Prognose. Die Monosomie 7 ist sowohl bei MDS als auch bei AML mit einem ungünstigen Krankheitsverlauf korreliert (Heim und Mitelman, 1995).

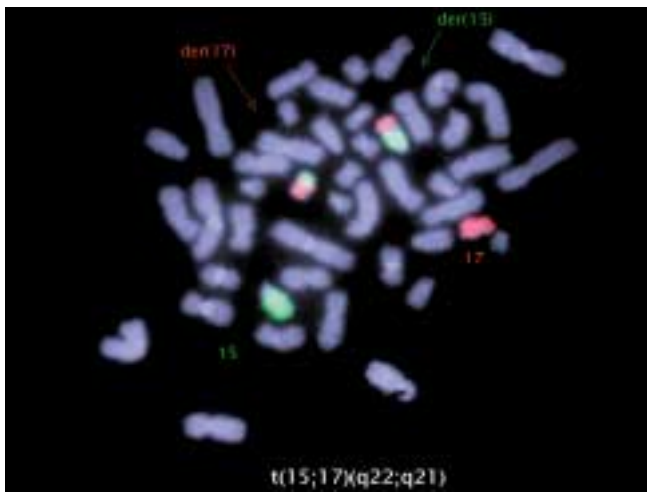


Abb 1 Fluoreszenz-in situ-Hybridisierung (FISH) mit Paintingsonden für die Chromosomen 15 (FITC/grün) und 17 (TRITC/rot) einer DAPI-gefärbten Knochenmarkmetaphase einer Patientin mit akuter Promyelocytenleukämie und Translokation t(15;17)(q22;q21). Die Pfeile weisen auf die Translokations-Chromosomen.

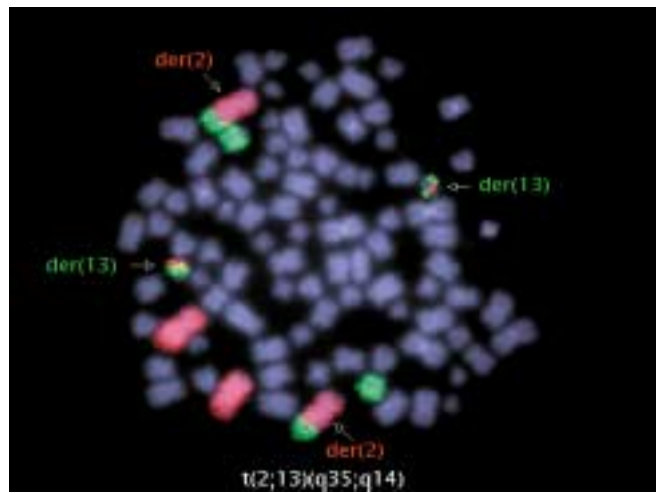


Abb 2a DAPI-gefärbte tetraploide Metaphase nach Hybridisierung mit Paintingsonden für die Chromosomen 2 (TRITC/rot) und 13 (FITC/grün). Je zwei normale Chromosomen 2 und 13, sowie je zwei Translokations-Chromosomen der(2) und der(13) sind erkennbar (Pfeile).

4. Neben spezifischen primären Chromosomenanomalien treten bei Leukämien häufig zusätzliche, also sekundäre Chromosomenanomalien auf, die ebenfalls von prognostischer Signifikanz sein können. Z. B. signalisiert das Auftreten eines Isochromosoms der langen Arme eines Chromosoms 17, eines zweiten Philadelphia-Chromosoms, einer Trisomie 8 u.a. zusätzlich zur Philadelphia-Translokation das Herannahen einer Blastenkrise bei der chronisch-myeloischen Leukämie (Abb. 4) (Heim und Mitelman, 1995). Eine Deletion im langen Arm eines Chromosoms 9 verschlechtert die sonst mit der Translokation t(8;21) verbundene günstige Prognose bei der AML (Abb. 5) (Schoch et al., 1996).

5. Bei der Wahl der Therapie spielt zunehmend der cytogenetische Befund eine Rolle. So hat sich bei der akuten Promyelocytenleukämie mit 15;17-Translokation die Therapie mit all-trans Retin-Säure (ATRA) in Kombination mit Chemotherapie als vorteilhaft herausgestellt (Lengfelder et al., 1998). Bei der Philadelphia-positiven akuten lymphatischen Leukämie ist eine Hochrisikotherapie angezeigt, wie auch bei der akuten myeloischen Leukämie mit cytogenetisch ungünstigem Befund das Gesamtüberleben durch Hochdosis-Chemotherapie oder Knochenmarktransplantation verbessert werden kann.

6. Das Ansprechen auf die Therapie kann mit Hilfe einer Chromosomenuntersuchung überprüft werden. Auch zur Remissionsüberwachung und zur Früherkennung von Rezidiven tragen

Chromosomenanalysen bei. Mittels cytogenetischer Verlaufskontrollen wird das Verschwinden bzw. Persistieren des chromosomal abnormen Klons und das Auftreten von neuen oder zusätzlichen Chromosomenanomalien untersucht.

7. Spezifische chromosomale Umbauten dienen als Ausgangsbasis für molekulargenetische Untersuchungen und zur Isolierung relevanter Gene. So konnten u.a. die von der Translokation t(15;17) betroffenen Gene RARA und PML identifiziert werden, wie auch die in die Translokation t(8;21) involvierten Gene AML1 und ETO. Auch die Gene ABL und BCR, die bei der Philadelphia-Translokation rearrangiert sind, und sowohl bei der CML als auch bei der ALL und seltener bei der AML eine Rolle spielen, wurden, ausgehend von der Translokation t(9;22), erfaßt (Mitelman et al., 1997).

8. Aus dem cytogenetischen Befund können häufig Rückschlüsse auf Entstehungsmechanismen von Chromosomenanomalien gezogen werden. Während alkylierende Substanzen vorwiegend unbalancierte Anomalien, zum Beispiel Verluste der Chromosomen 5 und 7 oder des kurzen Armes von Chromosom 17, induzieren, lassen Topoisomerase-II-Blocker meist balancierte Chromosomenrearrangements entstehen, zum Beispiel Translokationen, in die die Chromosomenbande 11q23, aber auch die Chromosomenbande 21q22 involviert sind (Pedersen-Bjergaard und Rowley, 1994).

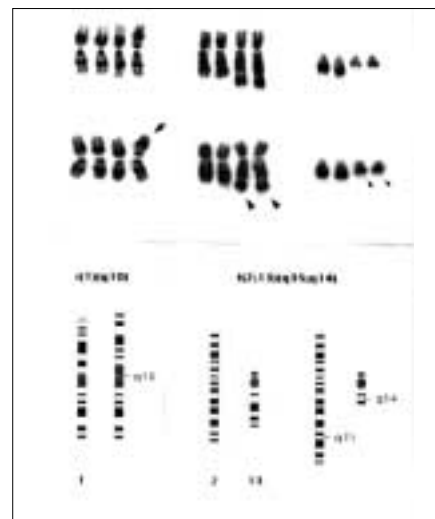


Abb 2b Partielle Karyotypen von zwei nahezu tetraploiden Metaphasen mit Translokation t(2;13)(q35;q14) x 2 (Pfeilköpfe) und Isochromosom i(1)(q10) (Pfeil). Giemsa-Bandenfärbung

Eine Konsequenz der Erkenntnisse der klassischen und molekularen Cytogenetik ist die Forderung nach obligater Chromosomenanalyse bei Erstdiagnose im Rahmen international anerkannter Studien über die AML und ALL. Dies gilt auch für die Therapiestudien über chronische myeloische Leukämie, bei denen die Verlaufskontrollen unter und nach Abschluß der Therapie, zum Beispiel nach Interferonbehandlung oder Knochenmarktransplantation, neben hämatologischen und molekulargenetischen Verfahren auch eine Chromosomenanalyse einschließen.

Wie eingangs erwähnt, treten im Gefolge von Krankheitsbildern, die auf

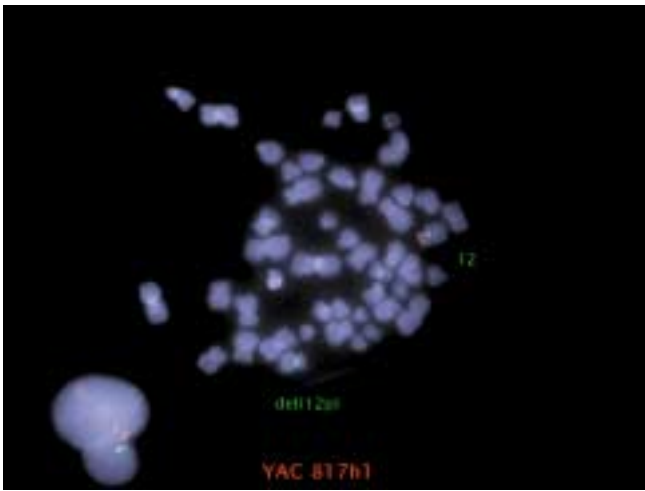


Abb 3a DAPI-gefärbte Knochenmarkmetaphase nach FISH mit einer YAC-Sonde, die das ETV6-Gen enthält (TRITC/rot), das in 12p12.2 lokalisiert ist, und einer Zentromerprobe des Chromosoms 12 (FITC/grün). Das normale Chromosom 12 (rechts im Bild) weist ein ETV6-Signal auf beiden Chromatiden auf, während dem unten in der Metaphase liegenden, im kurzen Arm deletierten Chromosom 12 das ETV6-YAC-Signal fehlt.

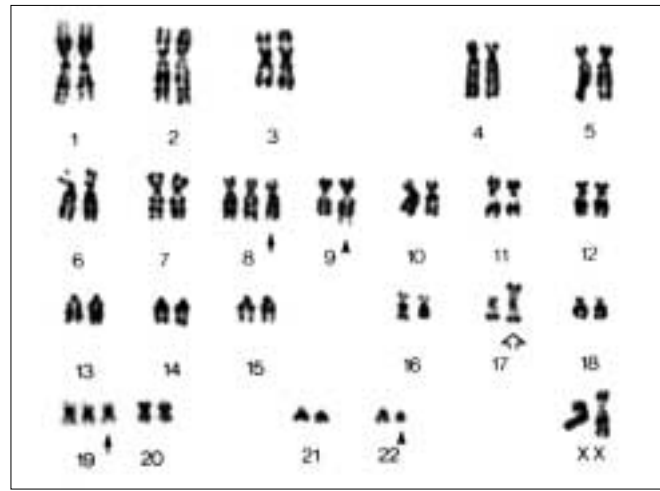


Abb 4 Giemsa-Banden-Karyogramm einer Knochenmarkmetaphase einer Patientin mit CML in Blastenkrise. Neben der Philadelphia-Translokation (Pfeilköpfe) sind je ein zusätzliches Chromosom 8 und 19 (volle Pfeile) und ein Isochromosom der langen Arme eines Chromosoms 17 (hohler Pfeil) erkennbar.

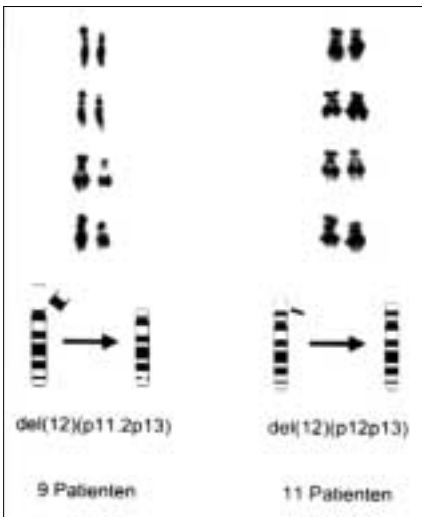


Abb 3b Deletionen im kurzen Arm von Chromosom 12. Die linke Reihe zeigt Chromosomenpaare 12 aus vier verschiedenen Metaphasen von Patienten mit einer großen Deletion, die rechte Reihe zeigt Chromosomenpaare 12 aus vier verschiedenen Metaphasen von Patienten mit einer subtilen kleinen Deletion. Die darunter liegenden Schemata deuten die Größe des jeweiligen Stückverlustes in 12p an.

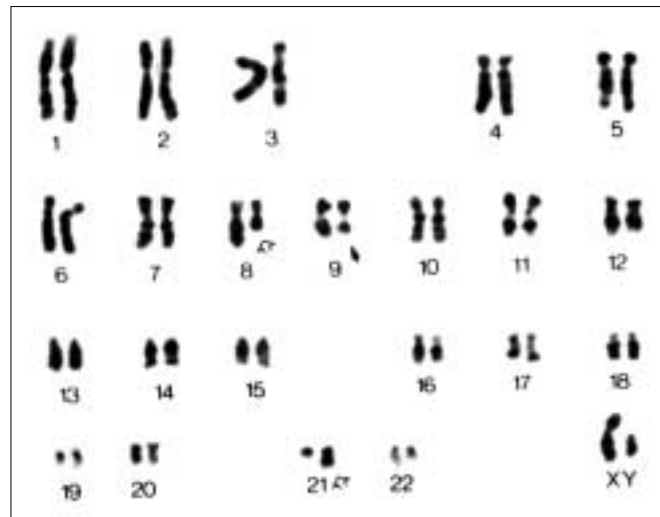


Abb 5 Giemsa-Bandenkaryogramm einer Knochenmarkmetaphase eines Patienten mit AML-M2 und Translokation t(8;21)(q22;q22) (hohle Pfeile) und Deletion im langen Arm eines Chromosom 9 (voller Pfeil).

der Vererbung eines mutierten Gens beruhen, oder auch von Syndromen auf der Basis einer angeborenen Chromosomenanomalie, gehäuft Leukämien auf. Down-Syndrom-Patienten haben ein 10 – 18-fach-erhöhtes Leukämie-Risiko, wobei vor dem dritten Lebensjahr die akute Megakaryoblastenleukämie dominiert. Patienten mit konstitutioneller Trisomie 8, im Mosaik mit Zellen mit Normalkaryotyp, tragen ein erhöhtes Risiko, myelodysplastische Syndrome und akute und chronisch-myeloische Leukämien zu entwickeln (Horwitz, 1997).

Bei den autosomal-rezessiv vererbten Chromosomeninstabilitäts-Syndromen, die auf einer mangelhaften DNA-Reparatur beruhen, werden besonders

häufig Leukämien beobachtet: Bei der Fanconi-Anämie überwiegen akute myeloische Leukämien, während bei der Ataxia teleangiectasia meist lymphatische Leukämien und Lymphome auftreten und beim Bloom-Syndrom neben soliden Tumoren auch Leukämien beobachtet werden (Tabelle).

Aber auch bei der Neurofibromatose 1 von Recklinghausen, einer mit einer Inzidenz von 1 : 3000 relativ häufigen autosomal-dominanten Erbkrankheit, können myelodysplastische Syndrome, oftmals mit Monosomie 7, der juvenile Typ der chronisch-myeloischen Leukämie und akute myeloische Leukämien beobachtet werden. Beim Li-Fraumeni-Syndrom, einem seltenen

autosomal-dominanten „cancer family“-Syndrom, wurden neben einer Reihe anderer Neoplasien auch Leukämien beschrieben. Weitere monogene Erbleiden mit erhöhter Leukämie-Inzidenz sind das Wiskott-Aldrich-Syndrom, das Shwachman-Bodian-Syndrom, das Kostmann-Syndrom und das Blackfan-Diamond-Syndrom (Tabelle).

Während bei den zuletzt genannten Krankheitsbildern Leukämien eine Komponente des Syndroms darstellen, gibt es sogenannte familiäre Leukämien, bei denen die monogen vererbte Disposition zu einer malignen Erkrankung auf die Hämatopoese beschränkt ist. Familien wurden be-

Tabelle: Genetische Krankheitsbilder mit erhöhter Leukämieinzidenz (nach Horwitz, 1997)

Syndrom	Erbgang	Leukämie-Typ
Bloom-Syndrom	AR	verschiedene
Fanconi-Anämie	AR	AML
Ataxia teleangiectasia	AR	lymphatische
Neurofibromatose 1 von Recklinghausen	AD	MDS (-7), JCML, AML
Li-Fraumeni-Syndrom	AD	verschiedene
Wiskott-Aldrich-Syndrom	XR	ALL, AML
Shwachman-Bodian-Syndrom	AR	MDS
Kostmann-Syndrom	AR	AML
Blackfan-Diamond-Syndrom	AD, AR	AML
Reine familiäre Leukämien		
Kindl. MDS mit Monosomie 7	AR	
MDS und/oder AML (versch. Subtypen)	AD mit Antizipation	

AD: autosomal dominant
 ALL: akute lymphatische Leukämie
 AML: akute myeloische Leukämie
 AR: autosomal-rezessiv
 JCML: juvenile chronische myeloische Leukämie
 MDS: myelodysplastisches Syndrom
 XR: X-chromosomal rezessiv

schrieben, bei denen mehrere Kinder an myelodysplastischen Syndromen mit Monosomie 7 im Knochenmark erkrankten. Während in diesen Familien ein autosomal-rezessiver Erbgang zu beobachten ist, wurden bei anderen Familien Myelodysplasien und akute myeloische Leukämien verschiedener Subtypen autosomal-dominant vererbt und zeigten Antizipation, das heißt, ein von Generation zu Generation niedrigeres Erkrankungsalter (Horwitz, 1997).

Auch wenn die zuletzt erörterten, auf ererbten Genmutationen beruhenden Leukämien, sei es im Rahmen eines genetischen Syndroms oder als isolierte Leukämiedisposition, nur einen geringen Prozentsatz aller Blutkrebse ausmachen, gilt ihnen unser besonderes Interesse, da die Erforschung der Entstehungsmechanismen und der zugrundeliegenden Gendefekte auch zur Entschlüsselung der weitaus häufigeren sporadischen Leukämieerkrankungen beitragen kann.

Literatur:

1. Fonatsch C, Gudat H, Lengfelder E, Wandt H, Silling-Engelhardt G, Ludwig W-D, Thiel E, Freund M, Bodenstein H, Schwieder G, Grüneisen A, Aul C, Schnittger S, Rieder H, Haase D, Hild F (1994) Correlation of cytogenetic findings with clinical features in 18 patients with inv(3)(q21q26) or t(3;3)(q21;26). *Leuk.8:* 1318-1326
2. Heim S, Mitelman F (1995) *Cancer Cytogenetics* (2nd ed.). Wiley-Liss, New York
3. Horwitz M (1997) The genetics of familial leukemia. *Leuk.11:*1347-1359
4. Lengfelder E, Seifarth W, Hehlmann R, Fonatsch C, Ludwig W D, Staib P, Reichert A, Wör-

mann B, Hiddemann W, Sauerland M C, Heinecke A, Büchner T (for the AML Cooperative Group) All-trans retinoic acid (ATRA) combined with double induction strategy in acute promyelocytic leukemia (APL). Preliminary results. In: *Acute Leuk. VII. Experimental Approaches and Novel Therapies*, Hiddemann et al. (eds). Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pp.881-885

5. Mitelman F, Mertens F, Johansson B (1997) A breakpoint map of recurrent chromosomal rearrangements in human neoplasia. *Nat. Genet. Spec. Issue*

6. Pedersen-Bjergaard J, Rowley JD (1994) The balanced and the unbalanced chromosome aberrations of acute myeloid leukemia may develop in different ways and may contribute differently to malignant transformation. *Blood 83:*2780-2786

7. Rieder H, Ludwig W-D, Gassmann W, Maurer J, Janssen J W G, Gökbuget N, Schwartz S, Thiel E, Löffler H, Bartram C R, Hoelzer D, Fonatsch C (1996) Prognostic significance of additional chromosome abnormalities in adult patients with Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukaemia. *Brit. J. Haematol. 95:*678-691

8. Schoch C, Haase D, Haferlach T, Gudat H, Büchner T, Freund M, Link H, Lengfelder E, Wandt H, Sauerland MC, Löffler H, Fonatsch C (1996) Fifty-one patients with acute myeloid leukemia and translocation t(8;21)(q22;q22): an additional deletion in 9q is an adverse prognostic factor. *Leuk.10:*1288-1295

9. Stindl R, Fiegl M, Regele H, Gisslinger H, Breitensteiner M J, Fonatsch C: Alveolar rhabdomyosarcoma in a 68-year-old patient identified by cytogenetic analysis of bone marrow. *Cancer Genet. Cytogenet.* im Druck

10. Streubel B, Sauerland C, Heil G, Freund M, Bartels H, Lengfelder E, Wandt H, Ludwig W-D, Nowotny H, Baldus M, Grothaus-Pinke B, Büchner T, Fonatsch C (1998) Correlation of cytogenetic, molecular cytogenetic, and clinical findings in 59 patients with ANLL or MDS and abnormalities of the short arm of chromosome 12. *Brit. J. Haematol.100:*521-533

Korrespondenzadresse

Univ.-Prof. Dr. Christa Fonatsch
 Institut für Medizinische Biologie
 Universität Wien
 Währinger Str. 10
 A-1090 Wien
 Tel 0043-1-319 13 49 -232
 Fax 0043-1-319 13 49 -251
 christa.fonatsch@univie.ac.at