

Mosaik in der Tumorzytogenetik

Der Mosaikstatus von Tumoren im Patienten an sich und innerhalb eines Tumors stellt in der Tumorzytogenetik eine Herausforderung methodischer Art für die Diagnostik dar. Mit der Chromosomenbandenanalyse und Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) stehen dem Humangenetiker jedoch Methoden zur Verfügung, die eine aussagekräftige Diagnostik als Voraussetzung sowohl für die „targeted“- als auch die individualisierte Therapie ermöglichen.

Hintergrund

Grundsätzlich wird ein genetisches Mosaik definiert als das gemeinsame Vorkommen von Zellen mit 2 oder mehr verschiedenen Karyotypen, die von einem Individuum stammen. Die häufigste Form des somatischen Mosaiks sind Krebserkrankungen. Krebszellen zeichnen sich durch im Laufe des Lebens erworbene Chromosomenaberrationen und molekulare Mutationen aus. Beim Vorliegen eines Tumors mit aberrantem Karyotyp ist somit die Definition des Vorliegens eines Mosaiks erfüllt. Die Tatsache, dass nicht alle Zellen des von der Neoplasie betroffenen Gewebes die erworbenen genetischen Aberrationen aufweisen, erfordert für die diagnostische Tumorgenetik die Notwendigkeit, Methoden einzusetzen, die ggf. auch kleine Klone erfassen können. Ferner können Tumoren selbst Mosaik aufweisen, also aus Klonen mit unterschiedlichen genetischen Aberrationen bestehen. Hier ist zwischen Klonen, die einen gemeinsamen Ursprungsklon aufweisen und durch klonale Evolution oder Regression auseinander hervorgegangen sind, und zytogenetisch unabhängigen Klonen zu unterscheiden.

Somatische Mosaik und Alter

In einer sehr großen Studie wurde kürzlich mithilfe genomweiter „Single-nucleotide-polymorphism(SNP)-Array“-Analysen von Blut- oder Mundschleimhautzellen gezeigt, dass der Nachweis von somatischen Mosaiken mit steigendem Alter der untersuchten Probanden zunehmend positiv ausfällt. Die Häufigkeit von chromosomalen Imbalancen oder kopieneutralen Verlust der Heterozygotie > 2 Megabasen betrug bei Individuen ohne Krebserkrankung 0,23 % für unter 50-Jährige und stieg auf 1,91 % bei Personen zwischen dem 75. und 79. Lebensjahr [5]. Ferner betrug in dieser Studie bei insgesamt 43 Patienten mit hämatologischen Neoplasien, bei denen die DNA mindestens ein Jahr vor der Diagnosestellung der Leukämie asserviert wurde, die Häufigkeit des Nachweises eines klonalen Mosaiks 20 % bei den Patienten, die im Verlauf eine myeloische Leukämie entwickelten, und 22 % bei denen, die im Verlauf eine lymphatische Leukämie (überwiegend chronische lymphatische Leukämie, CLL) zeigten.

Bedingt durch eine frühzeitige und umfangreiche genetische Diagnostik werden zunehmend Zellpopulationen mit genetischen Veränderungen in der Routinediagnostik identifiziert. Eine Herausforderung für die Zukunft wird sein, zu klären, zu welchem Zeitpunkt es sich lediglich um ein Mosaik ohne Krankheitswert und ab wann um ein Mosaik im Sinne einer Krebsprädisposition oder manifesten Krebserkrankung handelt.

Mosaik innerhalb der Tumorzellpopulation – Intratumorale Heterogenität

In der Tumorzytogenetik wird der Begriff „Mosaik“ üblicherweise nicht verwendet, sondern von verschiedenen Klonen bzw. Subklonen gesprochen. Gemäß der aktuellen Nomenklatur der International System for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN) wird ein Klon als eine Zellpopulation, die von einer einzelnen Vorläuferzelle abstammt, definiert [10]. Es ist üblicherweise von einem klonalen Ursprung auszugehen, wenn mehrere Zellen dieselben oder eng verwandte Chromosomensätze aufweisen. Ein Klon muss mindestens 2 Zellen mit derselben Aberration aufweisen, wenn es sich bei der Aberration um den Zugewinn eines Chromosoms oder eine strukturelle chromosomale Veränderung handelt. Handelt es sich bei der Karyotypveränderung um den Verlust eines Chromosoms, muss dasselbe Chromosom in mindestens 3 Zellen fehlen, um als klonal akzeptiert zu werden. Subklone müssen zytogenetisch verwandt sein, um als solche bezeichnet werden zu können. Es muss somit mindestens eine zytogenetische Aberration in allen Klonen beobachtet werden, sonst sind die Klone als zytogenetisch unabhängig einzustufen. In der aktuellen Nomenklatur nach ISCN werden der Ursprungsklon als *Stammlinie* („stem line“) und die Subklone als *Seitenlinie* („side line“) bezeichnet [10].

Wichtige Begriffe in der Beschreibung von Tumorzellklonen zu einem Untersuchungszeitpunkt bzw. bei Verlaufsuntersuchungen zu verschiedenen Zeitpunkten sind „klonale Evolution“ und „klonale Regression“.

Bereits 1976 schrieb P.C. Nowell, der 1960 zusammen mit D.A. Hungerford das Philadelphia-Chromosom bei der chro-

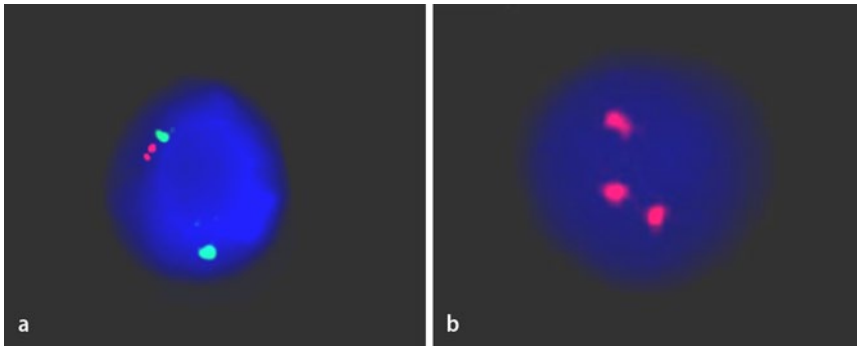


Abb. 1 ▲ Interphasekerne nach Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierungen (FISH) mit verschiedenen Sonden, wie sie sowohl bei Patientin 1 (■ Abb. 2a, b), bei Patientin 2 (■ Abb. 3) und bei Patientin 3 (■ Abb. 4a, b) gefunden werden; **a** FISH mit einer Sonde für einen anonymen Locus in der Chromosomenbande 5p15 (*grün*) und einer Sonde für das in der Chromosomenbande 5q31 lokalisierte *EGR1*-Gen (*rot*). Die Signalkonstellation weist auf das Vorliegen einer 5q31-Deletion hin; **b** FISH mit einer Sonde für die Zentromerregion von Chromosom 8 (*rot*). Die Signalkonstellation weist auf das Vorliegen einer Trisomie 8 hin

nischen myeloischen Leukämie (CML) identifiziert hatte, dass die meisten Neoplasien aus einer Zelle hervorgehen und die Tumorprogression auf dem Zuegwinnt weiterer genetischer Aberrationen im Verlauf beruht [9]. Die erworbene genetische Instabilität und die Selektion führen zu individuellen Tumoren. Nowell [9] zog bereits den Schluss, dass der individuelle Tumor eines Patienten eine individuelle spezifische Therapie erfordert, diese jedoch auch erfolglos bleiben kann, wenn sich ein therapieresistenter Subklon entwickelt. Somit ist es wichtig, die Prozesse der Evolution besser zu verstehen. Zu diesem Thema erschien kürzlich eine wichtige Studie von Gerlinger et al. [3], in der mithilfe von Exomsequenzierung und SNP-Array-Analysen Primärtumoren und verschiedene Metastasen einzelner Patienten mit Nierenzellkarzinom analysiert wurden. Hierbei zeigt sich Folgendes:

Für die Tumoren der einzelnen Patienten konnte belegt werden, dass es genetische Alterationen gibt, die sowohl im Primärtumor als auch in allen Metastasen nachweisbar sind, dass aber sowohl der Primärtumor als auch die einzelnen Metastasen weitere genetische Veränderungen aufweisen, die sich jeweils nur in einer Lokalisation finden lassen. Wesentlich für eine Verbesserung der Therapiestrategien wird sein, die Alterationen therapeutisch anzugehen, die von allen Klonen geteilt werden, und zusätzlich diejenigen, die sich bekanntermaßen als resistent gegenüber den Standardtherapien erwiesen haben.

Hämatologische Neoplasien wie z. B. akute Leukämien, myelodysplastische Syndrome (MDS) und Lymphome weisen eine wesentlich niedrigere Anzahl sowohl an zytogenetischen als auch an molekulargenetischen Veränderungen auf als solide Tumoren. Auch die intratumorale Heterogenität ist bei hämatologischen Neoplasien deutlich geringer. Beides stellen Gründe für die zumeist besseren Behandlungserfolge bei Leukämien und Lymphomen im Vergleich zu soliden Tumoren dar.

Zytogenetisch unabhängige Klone

Neben der klonalen Heterogenität eines Tumors, die durch klonale Evolution entstanden ist, wurde bei einer kleinen Subgruppe von Patienten mit hämatologischen Neoplasien beschrieben, dass 2 Klone mit zytogenetischen Aberrationen vorliegen, wobei diese Klone keine gemeinsame zytogenetische Aberration aufweisen – sog. zytogenetisch unabhängige Klone. Johannsson et al. evaluierten in einer 1999 publizierten Analyse insgesamt 17.733 Fälle mit aberrantem Karyotyp und fanden unabhängige Klone bei 1,7% der 6526 ausgewerteten akuten myeloischen Leukämien (AML), 3,4% der 2391 MDS, 0,4% der 1920 Philadelphia-positiven CML, 2,9% der 856 myeloproliferativen Neoplasien (MPN), 0,9% der 4226 akuten lymphatischen Leukämie (ALL) und 5,8% der 1814 chronischen lymphoproliferativen Erkrankungen (CLD) [6]. Die Inzidenz der zytogenetischen Polyklonalität

unterschied sich nicht signifikant zwischen MDS-, MPN- oder ALL-Subgruppen sowie zwischen Männern und Frauen oder Kindern (< 16 Jahre) und Erwachsenen. Hingegen fanden sich Unterschiede zwischen den AML-Subgruppen und den verschiedenen Entitäten der Gruppe der CLD. Außerdem wurde eine zytogenetische Polyklonalität häufiger bei therapieassoziierten AML und MDS beobachtet als bei *de novo* AML und MDS. Detaillierte Untersuchungen im Rahmen des Europäischen Leukämienetzes ergaben, dass bei MDS bestimmte Kombinationen von zytogenetischen Aberrationen in unabhängigen Klonen häufig vorkamen, wie z. B. ein Klon mit alleiniger 5q-Deletion und ein Klon mit alleiniger Trisomie 8 (Beispiel: ■ Abb. 1).

In seltenen Fällen weisen Patienten parallel zwei hämatologische Erkrankungen auf, so dass im Rahmen der zytogenetischen Diagnostik ebenfalls zwei zytogenetisch unabhängige Klone beobachtet werden können. Eine häufige Kombination stellt das gleichzeitige Auftreten von MDS mit reifen B-Zell-Neoplasien oder auch multiplen Myelomen dar. Weiterhin kommen auch 2 verschiedene reife B-Zell-Neoplasien gemeinsam vor.

Dies ist dann durch weitere Methoden wie eine zytomorphologische Untersuchung, Immunphänotypisierung und/oder histologische Untersuchung zu bestätigen.

Im Krankheitsverlauf der CML findet sich ebenfalls bei einem Teil der Patienten das Phänomen von neu auftretenden zytogenetisch unabhängigen Klonen. Hier ist weiterhin offen, ob sich diese Klone aus einer mit der CML gemeinsamen Ursprungszelle entwickeln oder unabhängig entstanden sind. Die CML stellt aus vielerlei Gründen eine Neoplasie von besonderer Bedeutung dar: Sie war die erste maligne Erkrankung, bei der 1960 von Nowell u. Hungerford [8] eine mit dieser Erkrankung assoziierte erworbene Chromosomenaberration, das Philadelphia-Chromosom, beschrieben wurde. Weitere zytogenetische und molekulargenetische Analysen ergaben, dass das Philadelphia-Chromosom durch eine reziproke Translokation zwischen dem langen Arm eines Chromosoms 9 und dem langen Arm eines Chromosoms 22 (t(9;22))

(q34;q11) entsteht und auf molekularer Ebene zu einem *BCR-ABL1*-Fusionsgen führt (BCR: „breakpoint cluster region“, *ABL1*: „Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1“). Im Gegensatz zur unveränderten Tyrosinkinase *ABL1* ist das aberrante Protein konstitutiv aktiviert und bewirkt die Proliferation der aberranten Zellen. Nach Einführung spezifisch gegen das aberrante *BCR-ABL1*-Protein gerichtete Therapien mit Tyrosinkinaseinhibitoren wurde es möglich, dass der aberrante Klon bei den meisten Patienten zurückgedrängt werden kann (partielle zytogenetische Remission), überwiegend sogar bis unter die Nachweisbarkeitsgrenze (komplette zytogenetische Remission). Bei ca. 5–10% der Patienten in zytogenetischer Remission werden im Rahmen von weiteren Kontrolluntersuchungen zytogenetisch aberrante Klone beobachtet, die kein Philadelphia-Chromosom aufweisen und somit zytogenetisch unabhängige Klone darstellen. Welche klinische Bedeutung diese Klone aufweisen, ist bisher unklar. Das Spektrum an zytogenetischen Aberrationen, die bei diesen Patienten beobachtet werden, ähnelt dem Muster, das man bei MDS und MPN findet. Die häufigste Aberration ist die Trisomie 8. Diese Klone können in ihrer Größe fluktuieren oder auch transient sein. Patienten, die eine Monosomie 7 als Veränderung aufwiesen, entwickelten im weiteren Verlauf häufiger ein MDS oder eine AML [7]. Untersuchungen laufen zurzeit, die mithilfe der Analyse von molekularen Mutationen versuchen zu klären, ob die Philadelphia-positiven und Philadelphia-negativen Klone gemeinsame molekulare Mutationen aufweisen. Dies könnte ein Hinweis auf einen gemeinsamen Ursprung sein oder auch zeigen, dass es sich um tatsächlich unabhängige Klone handelt. Diese könnten entweder zufällig entstanden sein, wie es auch bei Normalpersonen in der Studie von Jacobs et al. [5] beobachtet wurde, oder möglicherweise durch die CML-Therapie induziert worden sein.

Implikationen des Mosaikstatus für die Diagnostik

Die zytogenetische Analyse von soliden Tumoren ist nur für sehr wenige Entitäten an wenigen Zentren als Routinemethode

medgen 2014 · 26:324–329 DOI 10.1007/s11825-014-0001-7
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

C. Haferlach

Mosaik in der Tumorzytogenetik

Zusammenfassung

Eine Tumorerkrankung stellt, bezogen auf den Gesamtorganismus, per definitionem ein Mosaik dar. Zusätzlich sind die meisten Tumoren, für sich betrachtet, Mosaik. Dieser Mosaikstatus wird üblicherweise als intratumorale Heterogenität bezeichnet und ist ein wesentlicher Faktor, der sowohl Relevanz für die Diagnostik als auch für die therapeutischen Strategien hat. Um die genetischen Veränderungen eines Tumors analysieren zu können, muss im Rahmen der Diagnostik sichergestellt werden, dass eine ausreichende Anzahl an Tumorzellen ausgewertet werden kann und nicht lediglich das normale Gewebe betrachtet wird. Dieses wird in der Diagnostik bei den verschiedenen Neoplasien mit

unterschiedlichen Vorgehensweisen in Abhängigkeit von den verwendeten diagnostischen Methoden und der Art der Neoplasie erreicht. Zur Anwendung kommen Methoden, die die malignen Zellen anreichern und diese gezielt zur Proliferation stimulieren, oder die Methode wird mit einer ausreichenden Sensitivität durchgeführt, um auch kleine Klone erfassen zu können.

Schlüsselwörter

Chromosomenaberrationen · Genetische Heterogenität · Klonale Evolution · Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung · Chromosomenbandenanalyse

Mosaicism in tumor cytogenetics

Abstract

By definition a tumor disease represents a mosaicism with respect to the entire organism but in addition most tumors also show mosaicism within themselves. This status of mosaicism is usually called intratumoral heterogeneity and is an essential factor which is of relevance for diagnostic as well as for therapeutic strategies. To be able to analyze the genetic changes of a tumor it has to be ensured that a sufficient number of tumor cells is analyzed and not only normal tissue. This is achieved in the diagnostic work-up of the

different neoplasias with various approaches depending on the diagnostic method used and the type of neoplasia. Methods are used which either enrich the malignant cells stimulating them to targeted proliferation or the method is carried out with sufficient sensitivity to also detect small clones.

Keywords

Chromosome aberrations · Genetic heterogeneity · Clonal evolution · In situ hybridization, fluorescence · Chromosome banding analysis

etabliert. Der diagnostische Schwerpunkt der Tumorzytogenetik liegt bei den hämatologischen Neoplasien. Für die eingesetzten tumorzytogenetischen Techniken Chromosomenbandenanalyse und FISH an Interphasekernen ist es für eine aussagekräftige Diagnostik notwendig zu klären, wie hoch der zu erwartende Anteil an Tumorzellen ist. Speziell für die Chromosomenbandenanalyse spielt die Proliferationsaktivität der malignen Zellen in vitro eine wichtige Rolle. Sofern die zu analysierende maligne Zellpopulation durch andere Techniken wie Zytomorphologie, Immunphänotypisierung und/oder Histologie oder vorangegangene zytogenetische Untersuchungen bereits charakterisiert ist, können die Kultivierungsbedingungen gezielt ausgerichtet werden, um

bevorzugt die maligne Zellpopulation in vitro in Teilung zu bringen. Es sind der variable Anteil an malignen Zellen im Untersuchungsmaterial, deren unterschiedliche Proliferationsaktivität in vitro und die aufgrund des Mosaikstatus nicht zur malignen Population gehörenden Zellen („normale“ Zellen) im Untersuchungsmaterial zu beachten. Daraus ergibt sich, dass in der Tumorzytogenetik mindestens 20 Metaphasen ausgewertet werden sollen, um mit ausreichend hoher Sicherheit die maligne Zellpopulation zu erfassen [4]. In einer Studie an 529 Patienten mit MDS konnten Steidl et al. [11] die Abhängigkeit der Erfassung von kleinen Klonen von der Anzahl analysierter Metaphasen zeigen und kommen anhand ihrer statistischen Auswertungen eben-

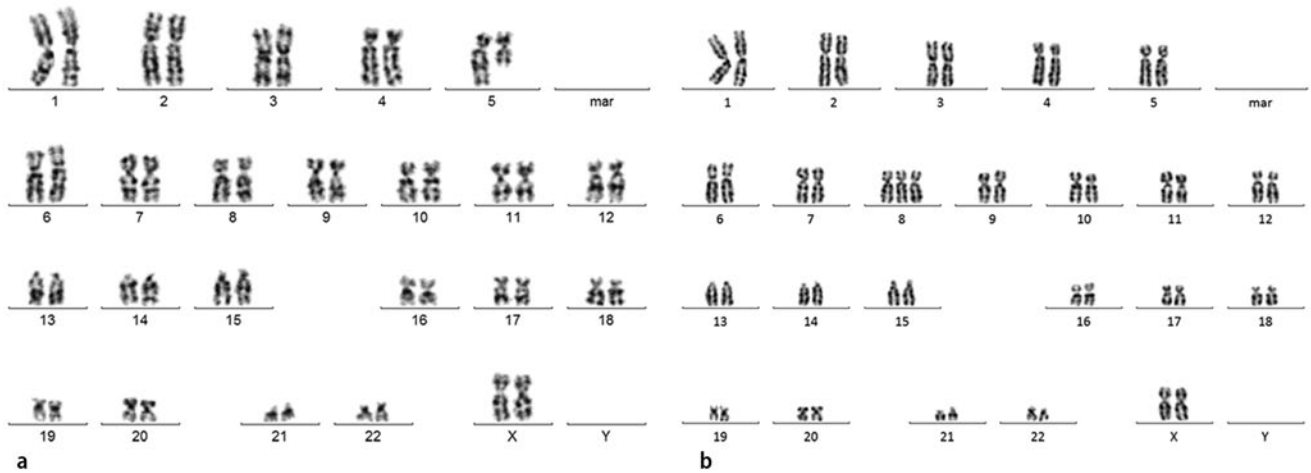


Abb. 2 ▲ Zwei Karyogramme einer Patientin mit myelodysplastischem Syndrom mit 2 zytogenetisch unabhängigen Klonen: Ein Klon weist als alleinige Aberration eine 5q-Deletion auf, der 2. Klon weist als alleinige Aberration eine Trisomie 8 auf. **a** Klon mit einer 5q-Deletion, Karyotyp: 46,XX,del(5)(q14q34); **b** Klon mit einer Trisomie 8, Karyotyp: 47,XX,+8

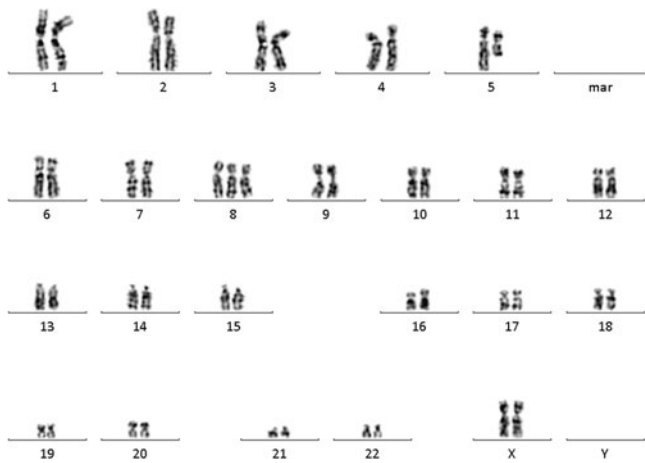


Abb. 3 ◀ Karyogramm einer Patientin mit myelodysplastischem Syndrom, die im Gegensatz zur Patientin in **Abb. 2** eine 5q-Deletion und eine Trisomie 8 in einem Klon aufweist: 47,XX,del(5)(q14q34),+8

falls zu dem Schluss, dass mindestens 20 Metaphasen ausgewertet werden sollten.

Die Chromosomenbandenanalyse ist zurzeit die einzige Methode, die auf Einzelzellebene einen Gesamtüberblick über Chromosomenaberrationen gibt und somit die Zusammensetzung verschiedener Klone aufzeigen kann. Die FISH an Interphasekernen kann ebenfalls Aussagen auf Einzelzellebene treffen, jedoch nur wenige Aberrationen gleichzeitig in einer Zelle erfassen. Methoden wie Array-CGH/SNP-Array-Analyse oder Exom- oder Genomsequenzierungen geben einen Überblick über das gesamte Genom und können genetische Alterationen auch quantifizieren, die verschiedenen genetischen Veränderungen jedoch nicht einzelnen Zellen zuordnen. Somit hat die Chromosomenbandenanalyse eine wesentliche Rolle in der Tumorzytogenetik beim

Aufdecken von Mosaiken, sei es aufgrund von klonaler Tumorevolution oder bei Vorhandensein von unabhängigen Klonen (**Abb. 1, 2, 3 und 4**).

Die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung an Interphasekernen stellt eine etablierte Methode in der Diagnostik von Tumorerkrankungen dar und hat ihren besonderen Schwerpunkt bei Entitäten, die der Chromosomenbandenanalyse aufgrund der niedrigen Proliferationsraten der malignen Zellen *in vitro* nur unzureichend zugänglich sind. Hier ist unter den hämatologischen Neoplasien v. a. das multiple Myelom zu nennen.

Die FISH-Analyse an Interphasekernen hat darüber hinaus den Vorteil, dass sie auch nach Anreicherung einer Zellpopulation z. B. nach magnetaktivierter Zellsortierung (MACS) durchgeführt werden kann.

Hierfür ist es jedoch wichtig, dass das Labor für jede eingesetzte Sonde die Rate an methodisch-bedingten falsch-positiven Kernen bestimmt und Schwellenwerte berechnet („Cut-off-Werte“, [13]). Die Nachweisgrenze für kleine Klone mithilfe der FISH an Interphasekernen liegt in Abhängigkeit von den verwendeten Sonden und der Anzahl ausgewerteter Kerne in der Größenordnung von 0,5–10%.

In einer internationalen Studie wurde bei 100 Patienten mit einem MDS überprüft, inwiefern der Nachweis eines aberranten Klonen von der verwendeten Methode (Chromosomenbandenanalyse vs. FISH an Interphasekernen) und dem eingesetzten Material (Knochenmark vs. peripheres Blut) abhängt. Es zeigte sich, dass mithilfe der Chromosomenbandenanalyse bei 68% der Patienten ein aberranter Klon im Knochenmark, jedoch nur bei 31% der Patienten auch im peripheren Blut nachgewiesen werden konnte. Bei 12% der Patienten konnten Aberrationen ausschließlich mithilfe der Chromosomenanalyse und nicht mithilfe der FISH nachgewiesen werden, da das verwendete „panel“ an FISH-Sonden die bei diesen Patienten vorliegenden Aberrationen nicht detektieren konnte. Bei 3% der Patienten fand sich eine Diskordanz zwischen den Ergebnissen der FISH-Analyse am Knochenmark und am peripheren Blut, die durch die geringere Größe des aberranten Klonen im peripheren Blut bedingt sein dürfte [2]. Somit wird deutlich, dass in der Tumorzytogenetischen Dia-

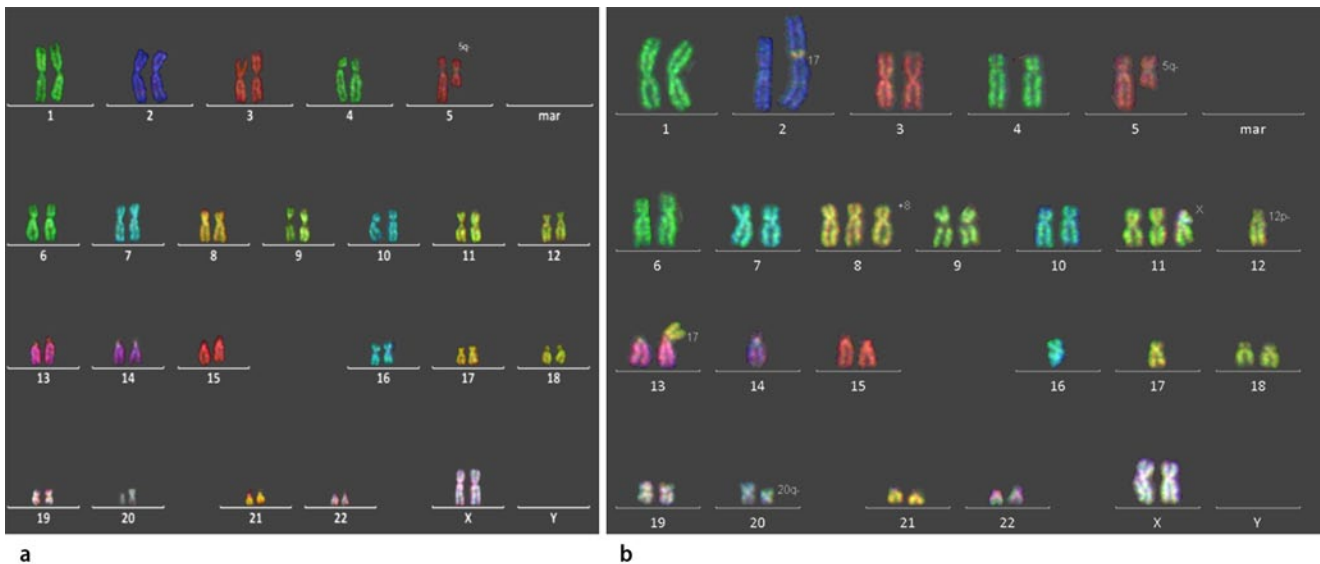


Abb. 4 ▲ Zwei Karyogramme nach 24-Farben-Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung einer Patientin mit akuter myeloischer Leukämie, die in einem Klon als alleinige Aberration eine 5q-Deletion und in einem 2. Klon zusätzlich zur 5q-Deletion zahlreiche weitere Aberrationen aufweist (klonale Evolution). **a** 46,XX,del(5)(q14q34); **b** 47,XX,der(2)ins(2;17)(p11;p11p12)dup(2)(p23p25)dup(2)(q33q37),del(5)(q14q34),+8,+der(11)t(X;11)(p11;p11),del(12)(p11p13),der(13;17)(q10;q10),del(20)(q11q13)

gnostik sowohl die Auswahl der Methode als auch des Untersuchungsmaterials wichtig ist, um den aberranten Klon erfassen zu können. Diese Auswahl muss in Abhängigkeit von der angenommenen Erkrankung und ihren Charakteristika getroffen werden und erfordert somit ein breites Wissen über die Biologie der Erkrankung sowie Befunde anderer Methoden wie Zytomorphologie, Histologie und Immunphänotypisierung.

Implikationen des Mosaikstatus für die Therapie

Wie bereits erwähnt, ist sowohl die Anzahl an genetischen Aberrationen bei hämatologischen Neoplasien als auch die intratumorale genetische Heterogenität geringer als bei soliden Tumoren [12]. Die Entwicklung der Therapiestrategien geht hin zur „Targeted“-Therapie, die sich gezielt gegen tumorspezifische Eigenschaften, z. B. genetische Aberrationen oder Expression von Proteinen, richtet. Des Weiteren ist das Ziel eine individualisierte Therapie, also eine speziell auf den einzelnen Patienten angepasste Therapie, die nicht lediglich die Tumorentität, sondern ganz speziell v. a. die genetischen Eigenschaften des individuellen Tumors berücksichtigt. In der Hämatologie sind zwei Erkrankungen Paradebeispiele für

diese Entwicklung: die CML und die akute Promyelozyten-Leukämie (APL oder auch AML M3/M3v).

Mit der bereits dargestellten gegen das BCR-ABL1-Protein gerichteten Therapie mit Tyrosinkinaseinhibitoren werden große therapeutische Erfolge erzielt. Finden sich jedoch zusätzlich zum Philadelphia-Chromosom/BCR-ABL1-Rearrangement weitere zytogenetische und/oder molekulare Mutationen, ist eine alleinige Tyrosinkinaseinhibitortherapie häufig nicht ausreichend.

Die APL ist charakterisiert durch die Translokation t(15;17)(q24;q21), die auf molekularer Ebene zu einem PML-RARA-Fusionsgen führt. Sie stellt die AML mit der günstigsten Prognose dar, seitdem sie mit gegen die Wirkung des PML-RARA-Fusionsproteins gerichteten Therapien wie All-trans-Retinsäure und Arsenitrioxid behandelt wird. Bemerkenswert ist, dass dieser AML-Subtyp eine vergleichsweise geringe Anzahl an zusätzlichen rekurrenten Mutationen von im Mittel 3,5 aufweist im Vergleich zur gesamten AML-Kohorte, die im Mittel 5,24 rekurrente Mutationen pro Patient zeigt [1]. Zielgerichtete Therapiestrategien scheinen am effektivsten bei Neoplasien zu sein, bei denen die Therapie gegen die primäre genetische Aberration wie z. B. BCR-ABL1 oder PML-RARA gerichtet ist, und

bei denen eine geringe Anzahl an genetischen Aberrationen und, damit oft auch verbunden, eine geringe intratumorale Heterogenität vorliegen. Therapiestudien bei AML mit „Fms-like-tyrosine-kinase-3“ (FLT3)-Inhibitoren haben z. B. im Gegensatz dazu bisher wenig überzeugende Resultate ergeben. Die Gründe hierfür sind u. a., dass Mutationen im FLT3-Gen sehr wahrscheinlich Sekundärmutationen darstellen und damit häufig lediglich in einem Subklon der AML vorhanden sind.

Fazit für die Praxis

- Moderne Therapiestrategien verlangen ein besseres Verständnis der klonalen Evolution von Tumoren. Hier kann die Tumorzytogenetik, die mit der Chromosomenbandenanalyse und der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung an Zellkernen die chromosomalen Veränderungen auf Einzelzellenebene erfasst, einen wesentlichen Beitrag leisten.
- Tumoren mit einer bekannten Primäraberration und einem begrenzten Spektrum an weiteren genetischen Alterationen können heute schon erfolgreich mit zielgerichteten Therapien behandelt werden.
- Für genetisch komplexere Tumoren sind andere therapeutische Ansätze

notwendig, die mit mehreren Therapeutika gleichzeitig die für den Tumor relevanten genetischen Aberrationen angreifen.

Korrespondenzadresse

Prof Dr. med. C. Haferlach

Münchner Leukämielabor
Max-Lebsche-Platz 31
81377 München
claudia.haferlach@mll.com

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. C. Haferlach ist MitinhaberIn des Münchner Leukämielabors.

Alle beschriebenen Untersuchungen wurden mit Zustimmung der zuständigen Ethikkommission, im Einklang mit nationalem Recht sowie gemäß der Deklaration von Helsinki von 1975 (in der überarbeiteten Fassung) durchgeführt. Von allen beteiligten Patienten liegt eine Einverständniserklärung vor.

Literatur

1. Cancer Genome Atlas Research Network (2013) Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 368: 2059–2074
2. Cherry AM, Slovak ML, Campbell LJ, Chun K, Eclache V, Haase D, Haferlach C, Hildebrandt B, Iqbal AM, Jhanwar SC, Ohyashiki K, Sole F, Vandenberghe P, VanDyke DL, Zhang Y, Dewald GW (2012) Will a peripheral blood (PB) sample yield the same diagnostic and prognostic cytogenetic data as the concomitant bone marrow (BM) in myelodysplasia? *Leuk Res* 36:832–840
3. Gerlinger M, Rowan AJ, Horswell S, Larkin J, Endesfelder D, Gronroos E, Martinez P, Matthews N, Stewart A, Tarpey P, Varela I, Phillimore B, Begum S, McDonald NQ, Butler A, Jones D, Raine K, Latimer C, Santos CR, Nohadani M, Eklund AC, Spencer-Dene B, Clark G, Pickering L, Stamp G, Gore M, Szallasi Z, Downward J, Futreal PA, Swanton C (2012) Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *N Engl J Med* 366:883–892
4. Haferlach C, Rieder H, Lillington DM, Dastugue N, Hagemeyer A, Harbott J, Stilgenbauer S, Knuutila S, Johansson B, Fonatsch C (2007) Proposals for standardized protocols for cytogenetic analyses of acute leukemias, chronic lymphocytic leukemia, chronic myeloid leukemia, chronic myeloproliferative disorders, and myelodysplastic syndromes. *Genes Chromosomes Cancer* 46:494–499
5. Jacobs KB, Yeager M, Zhou W, Wacholder S, Wang Z et al. (2012) Detectable clonal mosaicism and its relationship to aging and cancer. *Nat Genet* 44:651–658
6. Johansson B, Billström R, Broberg K, Fioretos T, Nilsson PG, Ahlgren T, Malm C, Samuelsson BO, Mitelman F (1999) Cytogenetic polyclonality in hematologic malignancies. *Genes Chromosomes Cancer* 24:222–229
7. Kovitz C, Kantarjian H, Garcia-Manero G, Abruzzo LV, Cortes J (2006) Myelodysplastic syndromes and acute leukemia developing after imatinib mesylate therapy for chronic myeloid leukemia. *Blood* 108:2811–2813
8. Nowell PC, Hungerford DA (1960) A minute chromosome in human granulocytic leukemia. *Science* 132:1497
9. Nowell PC (1976) The clonal evolution of tumor cell populations. *Science* 194:23–28
10. Shaffer LG, McGowan-Jordan J, Schmid M (2013) An international system for human cytogenetic nomenclature. Karger, Basel
11. Steidl C, Steffens R, Gassmann W, Hildebrandt B, Hilgers R, Germing U, Trumper L, Haase D (2005) Adequate cytogenetic examination in myelodysplastic syndromes: analysis of 529 patients. *Leuk Res* 29: 987–993
12. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz LA Jr, Kinzler KW (2013) Cancer genome landscapes. *Science* 339:1546–1558
13. Wolff DJ, Bagg A, Cooley LD, Dewald GW, Hirsch BA, Jacky PB, Rao KW, Rao PN (2007) Guidance for fluorescence in situ hybridization testing in hematologic disorders. *J Mol Diagn* 9:134–143

Hier steht eine Anzeige.

 Springer