

Jeroen S. Goede<sup>1</sup>

# Genetische Anwendungen in der Hämatologie

**Die genetische Analytik hat im Bereich der Hämatologie im Verlaufe der letzten 10 Jahre enorm an Bedeutung gewonnen. So wurden immer mehr genetische Marker in Definitionskriterien diverser hämatologischer Neoplasien berücksichtigt. Zusätzlich ermöglichen die genetischen Untersuchungen eine zunehmend genauere Risikobeurteilung dieser Erkrankungen, insbesondere bei den akuten Leukämien. Weiter haben genetische Untersuchungen immer mehr Wichtigkeit im Therapie-Monitoring von hämatologischen Erkrankungen erlangt. Dabei wird das Erbgut der pathologischen Zellen nach krankheitsspezifischen somatischen Mutationen untersucht.**

In der Hämatologie besteht der grosse Vorteil, dass die kranken Zellen meist einfach über eine Blutentnahme oder eine Knochenmarkpunktion in genügender Menge für die geplanten Untersuchungen zur Verfügung stehen. Je nach Fragestellung und Ausgangslage wird das Erbgut dieser Zellen mittels Zytogenetik, Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH), Polymerase-Kettenreaktionen (PCR) und/oder DNA-Sequenzierung untersucht. Im Bereich der DNA-Sequenzierung stehen zunehmend leistungsfähigere Methoden zur Verfügung (next generation sequencing), die sich aktuell an der Schwelle

nem Freitag bei planbaren Untersuchungen zu vermeiden. Für alle Leukämien gilt, dass die heutige moderne Diagnostik einerseits aus klassischen Analysen wie der maschinellen quantitativen Analytik und der Morphologie sowie andererseits aus spezialisierten Analysen wie Immunphänotypisierung, Molekulargenetik und Zytogenetik besteht. Nur die zusammenführende Bewertung dieser Befunde erlaubt eine präzise Diagnostik mit höchstmöglicher prognostischer Aussage für den Patienten. Als Referenz gilt die im Jahre 2008 publizierte vierte Edition der WHO-Klassifikation hämatopoietischer und lymphatischer Neoplasien [1].

## **AML-typische Veränderungen sind diagnostisch wegweisend**

Bei der akuten myeloischen Leukämie (AML) handelt es sich um eine ausgesprochen heterogene Gruppe von Erkrankungen mit sehr unterschiedlichen Prognosen. Das neben dem Alter und dem Ausmass an Komorbiditäten wichtigste Kriterium zur Beurteilung der Prognose sind die bei Erstdiagnose detektierbaren

genetischen Veränderungen. Dies hat dazu geführt, dass ein Teil der AML-typischen genetischen Veränderungen diagnostisch wegweisend ist. Dies teilweise unabhängig vom blastären Anteil im Blut und im Knochenmark. In der aktuellen WHO-Klassifikation werden 9 verschiedene AML-Entitäten mit rekurrenter genetischer Anomalie unterschieden (Tabelle 1), wobei zwei (AML mit mutiertem *NPM1*, AML mit mutiertem *CEBPA*) nur mittels molekulargenetischen Analysen detektiert werden können. Oft eignen sich diese bei Erstdiagnose festgestellten genetischen Veränderungen sehr gut, um den Remissionsstatus der Krankheit unter Therapie und nach Therapieabschluss mittels quantitativer PCR-Analytik zuverlässig zu verfolgen. Dies gelingt meist wesentlich sensitiver als mit der alleinigen morphologischen und immunphänotypologischen MRD-Diagnostik. Bezüglich den zusätzlichen zukünftig relevanten genetischen Markern in der AML-Diagnostik (*DNMT3A*, *IDH1*, *IDH2*, *NRAS*, *KRAS*, *RUNX1*, *TET2*, *TP53*, *WT1*, *PTPN11*, *KIT*) kann auf eine

**Oft eignen sich bei Erstdiagnose festgestellte genetische Veränderungen sehr gut, um den Remissionsstatus der Krankheit mittels quantitativer PCR-Analytik zu verfolgen.**

von der reinen Forschungsanalytik zur Diagnostik in der klinischen Routine befinden.

## **Leukämiediagnostik, Routine- und Spezialanalysen, Hand in Hand**

Die akuten Leukämien und die myeloproliferativen Neoplasien (MPN) stellen in der genetischen Analytik herausragend wichtige Krankheitsentitäten dar. Für eine optimale Diagnostik muss eine genügende Anzahl an Zellen gewonnen und möglichst frisch untersucht werden. Wenn Blutproben verschickt werden müssen, ist deswegen die Probengewinnung an ei-

**Tabelle 1: Derzeit gültige WHO-Klassifikation von 2008 der akuten myeloischen Leukämien mit rekurrenten genetischen Veränderungen (adaptiert nach [1]):**

AML mit t(8;21)(q22;q22), <i>RUNX1-RUNX1T1</i>
AML mit inv(16)(p13.1q22) oder t(16;16)(p13.1;q22), <i>CBFB-MYH11</i>
Akute Promyelozytenleukämie mit t(15;17)(q22;q12), <i>PML-RARA</i>
AML mit t(9;11)(p22;q23); <i>MLLT3-MLL</i>
AML mit t(6;9)(p23;q34); <i>DEK-NUP214</i>
AML mit inv(3)(q21q26.2) oder t(3;3)(q21;q26.2); <i>RPN1-EVI1</i>
AML (megakaryoblastisch) mit t(1;22)(p13;q13); <i>RBM15-MKL1</i>
AML mit mutiertem <i>NPM1</i> (provisorische Entität)
AML mit mutiertem <i>CEBPA</i> (provisorische Entität)

<sup>1</sup> Dr. med. Jeroen S. Goede, Klinik für Hämatologie, UniversitätsSpital Zürich

## Applications génétiques en hématologie

Les applications génétiques sont devenues une composante centrale du diagnostic de routine pour de nombreuses néoplasies hématologiques. Elles sont utilisées pour la pose du diagnostic en apportant des critères diagnostiques et/ou pronostiques pertinents, mais également pour évaluer l'évolution de la maladie sous traitement. Les développements dans ce domaine sont fulgurants, avec la découverte incessante de nouveaux marqueurs et de méthodes toujours plus performantes. Au cours des prochaines années, l'enjeu sera de reconnaître et d'établir précocement les marqueurs pertinents et les méthodes innovantes.

kürzlich im NEJM erschienene Publikation zur AML verwiesen werden, die einen sehr schönen Überblick dazu bietet [2].

### Diagnose ohne Knochenmarkuntersuchung

Unter den MPN sind besonders die chronisch myeloische Leukämie (CML) und die Polyzythämia vera (PV) zu erwähnen. Bei der CML muss bei Erstdiagnose obligat das Fusionstranskript *BCR-ABL1* nachgewiesen werden. Dieses wird initial qualitativ zur Identifizierung des genauen Bruchpunktes (p210 → meist e14a2 oder e13a2; p190 → e1a2) und anschliessend auch mittels quantitativer PCR-Analytik als Ausgangspunkt für die Verlaufskontrollen unter Therapie untersucht. Das zytogenetische und molekulare Ansprechen einer CML unter Therapie mit Imatinib hat einen wesentlichen Einfluss auf die weitere Prognose der Erkrankung. In den im Jahre 2010 überarbeiteten ELN-Empfehlungen sind die zu erreichenden hämatologischen, zytogenetischen und molekulargenetischen Ziele in der Therapie der CML definiert. Werden diese nicht erreicht, muss eine Änderung der Therapie besprochen werden.

Die Entdeckung, dass bei ca. 95% der Patienten mit PV die *JAK2-V617F*-Mutation detektierbar ist, hat bewirkt, dass die Feststellung dieser Mutation zu einem Diagnose-Hauptkriterium der PV geworden ist. Somit kann bei

Nachweis einer signifikant erhöhten Erythrozytenmasse in Kombination mit einem mutierten *JAK2*-Gen und supprimiertem endogenen Erythropoietin-Spiegel die Diagnose einer PV formal ohne Knochenmarkuntersuchung gestellt werden. Auch bei weiteren MPN spielt die genetische Analytik eine wichtige Rolle für die diagnostischen Kriterien: *JAK2* bei Essentieller Thrombozythämie und primärer Myelofibrose, *KIT* bei Mastozytose.

### Genetische Untersuchungen bei lymphoproliferativen Erkrankungen

Auch bei lymphoproliferativen Erkrankungen sind genetische Untersuchungen sowohl im Rahmen der Primärdiagnostik als auch zur Risikobeurteilung von Relevanz. Zur prognostischen Einordnung einer chronischen lymphatischen Leukämie (CLL) bei Erstdiagnose oder spätestens vor Therapiebeginn sollten die Lymphozyten mindestens mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) untersucht werden. In rund 80% der CLL-Patienten können genetische Veränderungen festgestellt werden, wobei die Deletion des langen Armes von Chromo-

som 13 (13q-) die häufigste genetische Anomalie darstellt. Als singuläre Veränderung ist die 13q-Deletion mit einem prognostisch eher günstigen Verlauf assoziiert. Die wohl wichtigste zytogenetische Alteration bei CLL ist die Deletion des kurzen Armes von Chromosom 17 (17p-). Diese Veränderung ist mit einer schlechten Prognose vergesellschaftet und CLL-Patienten mit 17p- sollten nicht mit Fludarabin behandelt werden (hohe Resistenzrate). Auch bei anderen lymphoproliferativen Erkrankungen hat die molekulargenetische Analytik an Bedeutung gewonnen: Mutation *BRAF V600E* bei der Haarzell-Leukämie (NEJM 2011), Mutation *MYD88 L265P* beim Morbus Waldenström (NEJM 2012).

Korrespondenz:  
Jeroen.Goede@usz.ch

#### Literatur

- 1 Swerdlow SH et al. WHO Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues; 4th Edition, International Agency for Research on Cancer, 2008
- 2 The Cancer Genome Atlas Research Network; N Engl J Med. 2013 May 1 [Epub ahead of print].



Mais? Je suis sur la liste des invités!