

Neue molekularbiologische Methoden

Prof. Dr. med. Justus Duyster

Med. Klinik und Poliklinik III, Klinikum rechts der Isar TUM

Zytologie, Histologie, Immunphänotypisierung, Immunhistochemie und klassische Zytogenetik haben schon seit vielen Jahren einen festen Stellenwert in der Diagnose, Therapieentscheidung und für das Monitoring maligner Erkrankungen. Insbesondere im Bereich der hämatologischen Neoplasien spielt die Zytogenetik für die Diagnostik und als Prognosefaktor eine wichtige Rolle. Mit der Einführung molekular definierter Substanzen wie z.B. Tyrosinkinaseinhibitoren (TKI) in die Klinik gewinnen molekularbiologische Diagnosemethoden zunehmend an Bedeutung und haben bereits jetzt einen festen Stellenwert im Routinemanagement bestimmter maligner Erkrankungen.

Einer der ersten malignen Erkrankungen bei der TKI's erfolgreich therapeutisch eingesetzt wurden ist die chronisch myeloische Leukämie (CML). Die CML ist eine monogenetisch bedingte Erkrankung bei der allein das Bcr-Abl Fusionsgen für die Pathophysiologie entscheidend ist. Daher ist die CML eine ideale Erkrankung für den Einsatz spezifischer Bcr-Abl Kinaseinhibitoren.

Der Bcr-Abl Inhibitor imatinib wird nun seit mehr als 6 Jahren als Goldstandard in der Therapie der CML eingesetzt. Klinische Studien zeigen, dass unter der Therapie mit dieser hochwirksamen Substanz nicht nur hämatologische und zytogenetische Vollremissionen erzielt werden können, sondern auch molekulare Remissionen. Eine molekulare Remission, das heißt eine signifikante Verminderung der Bcr-Abl Transkriptmenge, die durch quantitative PCR bestimmt werden kann, ist ein wichtiger prognostischer Faktor für das progressionsfreie Überleben und deshalb primäres Therapieziel bei der CML. CML Patienten werden deshalb schon heute routinemäßig durch quantitative Bcr-Abl PCR überwacht.

Kommt es bei einem CML Patienten zu einem signifikanten Anstieg der Transkriptmenge muss eine Therapieresistenz vermutet werden. Diese Resistenzen sind häufig durch spezifische Mutationen in der imatinib Bindungsstelle bedingt und deshalb sollte in dieser Konstellation eine Mutationsanalyse durchgeführt werden. Dies kann durch Bcr-Abl PCR und anschließende klassische Sequenzierung oder durch DHPLC (denaturing high-performance liquid chromatography) basierte Methoden durchgeführt werden. Mehr als 50 verschiedene Mutationen sind bei imatinib resistenten Patienten beschrieben worden. Diese Mutationen weisen eine unterschiedlich ausgeprägte Resistenz gegenüber imatinib und auch alternativen Bcr-Abl Inhibitoren wie nilotinib oder dasatinib auf. Aufgrund der Mutationsanalyse kann deshalb heutzutage eine rationale Therapieentscheidung basierend auf dem individuellen Mutationsstatus des Patienten getroffen werden.

TKI's werden zunehmend auch bei andern malignen Erkrankungen eingesetzt. Beispiele sind gastrointestinale Stromatumoren (GIST), hypereosinophiles Syndrom (HES) und chronische Eosinophilenleukämie (CEL), nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom (NSCLC), akute myeloische Leukämie (AML), Mamakarzinom, Nierenzellkarzinom, Leberzellkarzinom und viele weitere Neoplasien. Auch hier ist häufig der Nachweis spezifischer Mutationen und Deletionen die zur Aktivierung onkogener Tyrosinkinasen führen nur über molekularbiologische Methoden möglich und in einigen Fällen für Diagnostik und Therapie zwingend erforderlich. Ähnlich wie bei der CML sind Resistenzen mit spezifischen Sekundärmutationen assoziiert, die z.B. bei HES, NSCLC oder GIST nachgewiesen werden können. Inwieweit auch bei diesen Erkrankungen spezifische Resistenzmutationen zu

individualisierten TKI Therapien führen sollten wird zur Zeit in prospektiven Studien untersucht. Die Erfahrungen mit TKI Resistenz bei der CML lassen aber vermuten, dass dies auch bei anderen Neoplasien in naher Zukunft der Fall sein wird.

Viele zur Zeit durchgeführte Studien bei AML, NSCLC, GIST und anderen Neoplasien stratifizieren darüber hinaus Patienten aufgrund von spezifischen Mutationen in Protoonkogenen oder weisen Patienten aufgrund molekular erhobener minimaler Resterkrankung bestimmten riskoadaptierten Behandlungsarmen zu.

Zusammenfassend ist daher davon auszugehen, dass die Molekulardiagnostik in den nächsten Jahren einen festen und zunehmenden Stellenwert im Management vieler maligner Erkrankungen haben wird.