

Diagnose und klinisches Management des MDS - mit oder ohne Zytogenetik?

Detlef Haase

Abteilung Hämatologie und Onkologie, Universitätsmedizin

Georg-August-Universität Göttingen

Robert-Koch-Str. 40

37075 Göttingen

Haase.onkologie@med.uni-goettingen.de

Zu einer adäquaten diagnostischen Aufarbeitung myelodysplastischer Syndrome gehören die differenzial-diagnostische Abgrenzung gegenüber anderen klonalen hämatologischen und nicht-hämatologischen Erkrankungen, eine Klassifikation nach WHO-Kriterien (Bruning et al., 2008) und eine Risikoeinschätzung nach IPSS und/oder WPSS (Greenberg, 1997 und Malcovati, 2007). Diese umfassende Diagnostik, die ohne eine Chromosomenanalyse nicht möglich ist, zielt letzten Endes darauf ab, eine Risiko-adaptierte Therapie durchführen zu können. In den letzten Jahren entwickelt sich zunehmend u.a. durch die Einführung neuer epigenetischer und immunmodulierender Substanzen auch die Möglichkeit (zyto)genetisch charakterisierte Patientensubgruppen einer maßgeschneiderten Therapie zuzuführen. In Zukunft ist zu erwarten, dass auch für MDS zielgerichtete (sog. „targeted“) Therapien etabliert werden, die sich gegen genetisch definierte Zielstrukturen richten (Folie3).

Die aktuelle Version der WHO-Klassifikation (Folie 4) unterscheidet die 7 Subgruppen RCUD, RARS, RCMD, RAEB-1 und RAEB-2 sowie die MDS mit isolierter 5q-Deletion und unklassifizierbare MDS. Für die Diagnosestellung der beiden letzteren Subtypen ist eine Chromosomenbänderungsanalyse, d.h. die komplette Untersuchung von möglichst 20-25 Metaphasen aus Knochenmarkaspirat unerlässlich. Beim Nachweis der MDS-typischen Anomalien (-5/5q-, -7/7q-, 9q-, 11q-, 12p-/t(12(p)), -13/13q-, iso(17q)/t(17p)/17p-, 20q- und idic(X)(q13)) kann dann ein MDS diagnostiziert werden, auch wenn Dysplasien in weniger als 10% der Zellen einer oder mehrerer Zellreihen vorliegen. Der Verlust des Y-Chromosoms und eine Trisomie 8 werden bei Fehlen eindeutiger Dysplasiekriterien nicht als ausreichende zytogenetische Marker angesehen, um ein MDS festzustellen (Bruning et al., 2008).

Drei Fallbeispiele (Folien 5 – 8) aus unserer klinischen Arbeit sollen das differenzialdiagnostische Potenzial der Zytogenetik verdeutlichen: 1. Zur weiteren diagnostischen Abklärung wurde uns eine 76-jährige Patientin mit unklarer Anämie, Thrombozytose und grenzwertig hohen Leukozyten vorgestellt. Im Knochenmarkausstrich

zeigte sich ein hyperzelluläres Knochenmark mit einer gesteigerten Myelo- und Megakaryopoese. Es fand sich eine trilineäre Dysplasie, wobei ein hoher Anteil an dysplastischen Megakaryozyten mit Mikrokaryozyten und einzelnen drehrunden, exzentrisch liegenden Zellkernen in der Zusammenschau mit der Thrombozytose den hochgradigen Verdacht auf Vorliegen eines 5q-Syndroms, bzw. eines MDS mit isolierter 5q-Deletion (nach WHO) ergab. Wir waren überrascht, als sich dann in der Chromosomenbänderungsanalyse in 25 von 25 Metaphasen eine reziproke Translokation $t(9;22)(q34;q11)$ zeigte. Die therapeutische Konsequenz mit dem Einsatz von Imatinib, auf die die Patientin mit einer schnellen kompletten hämatologischen und zytogenetischen Remission ansprach, ist in diesem Fall besonders evident.

2. Zur diagnostischen Abklärung erhielten wir Knochenmarkausstriche und Knochenmarkaspirat von einer 69-jährigen Patientin mit einer Anämie unklarer Genese. In der Zytomorphologie zeigte sich ein weitgehend normales morphologisches Bild mit allenfalls sehr diskreten Dysplasien in deutlich unter 10% der Zellen. In der Chromosomenbänderungsanalyse konnte dann allerdings mit dem Nachweis einer klonalen Deletion 11q ein für MDS typischer chromosomaler Marker identifiziert werden.

3. Zur Abklärung eines besonders interessanten Falles wurden wir um konsiliarische Stellungnahme durch unsere Kollegen aus der Abteilung für Allgemeinchirurgie gebeten: Hierbei ging es um eine 74-jährige Patientin, bei der 2005 die Erstdiagnose eines hepatisch metastasierten Rektumkarzinoms gestellt wurde. Es erfolgte eine Tumorexstirpation gefolgt von einer adjuvanten Radiochemotherapie. Im Jahr 2006 erhielt die Patientin außerdem im Rahmen einer Therapiestudie 2 Zyklen einer Anti-CEA Radioimmuntherapie. Im September 2009 fiel im Rahmen der Nachsorge eine Panzytopenie auf. Zur Abklärung wurde eine Knochenmarkpunktion (KMP) durchgeführt. Zytomorphologisch ergab sich das Bild einer hochgradigen Hypoplasie ohne Dysplasien und ohne Blastenvermehrung, differenzialdiagnostisch wurde auch eine aplastische Anämie erwogen. Um der Patientin eine erneute KMP zu ersparen und die diagnostischen Möglichkeiten weiter auszuschöpfen, wurde eine FISH-Analyse mit einem Sondenpanel für MDS an immunomagnetisch angereicherten CD34+ Blutzellen durchgeführt (Braulke, 2010). Hierbei konnten wir in 90% der Zellen eine partielle bzw. komplette Monosomie 7 (Folie 7) und in 70% der Zellen einen P53-Allelverlust nachweisen. Somit konnte letzten Endes bei dieser Patientin nur mit Hilfe der Zytogenetik die Diagnose eines therapieassoziierten MDS mit ungünstiger Prognose gestellt werden (Folie 8).

Goldstandard für die Prognoseeinschätzung myelodysplastischer Syndrome ist nach wie vor das internationale prognostische Scoring System (IPSS) (Greenberg, 1997). Für die Etablierung des Prognosesystems wurden Daten von 816 Patienten mit de novo MDS zusammengetragen, von denen 327 klonale Chromosomenanomalien aufwiesen. Für 12 zytogenetische Kategorien wurde in univariaten Analysen das mediane Überleben und die Zeit bis zum Übergang in eine AML bei 25% der jeweiligen Patienten berechnet (Folie 9). In der Multivarianzanalyse erwies sich die Zytogenetik neben dem Blastenanteil und dem Ausmaß der Zytopenien als relevantester unabhängiger Prognoseparameter. Auf der Basis dieser Analysen wurde ein prognostisches Scoring System etabliert. Hierbei wurden 3

zytogenetische Prognosegruppen gebildet (Folie 10). Als günstig wurden isolierte Deletionen von 5q und von 20q, ein Y-Chromosomenverlust sowie ein normaler Karyotyp identifiziert, als ungünstig jegliche Chromosom-7-Veränderung sowie komplexe, d.h. 3 oder mehr Anomalien. Alle Karyotypveränderungen, die weder in die günstige noch in die ungünstige Kategorisierung passten, wurden per definitionem als intermediär eingestuft. Der Anteil dieser Fälle liegt in größeren unselektierten Kohorten bei etwa 14% der MDS-Patienten. Innerhalb des IPSS nimmt also der Karyotyp eine wichtige unverzichtbare Position ein. Für einen günstigen Karyotyp werden 0 Scoringpunkte vergeben, für intermediäre Veränderungen 0,5 und für ungünstige 1,0 Punkte (Folie 11). Der WPSS (WHO-classification based prognostic scoring system) stellt eine Weiterentwicklung des IPSS dar (Folie 12). Als Prognoseparameter werden hier der WHO-Subtyp, der Karyotyp und der Transfusionsbedarf für Erythrozytenkonzentrate berücksichtigt. Im Vergleich zum IPSS ist hier die prognostische Gewichtung einer ungünstigen Zytogenetik höher und damit meines Erachtens adäquater als im IPSS (Malcovati, 2007). Die Erstellung einer prognostischen Einschätzung auf der Basis des IPSS oder WPSS verlangt somit zwingend die Durchführung einer Chromosomenanalyse. Der IPSS und zunehmend in einigen Bereichen auch der WPSS ist nicht nur extrem hilfreich für eine individuelle Einschätzung des Erkrankungsverlaufs sondern auch unerlässlich für den Einschluss in aktuelle Therapiestudien, für eine Entscheidung zur Durchführung einer allogenen Stammzelltransplantation, aber auch für die zulassungsgemäße Verordnung von neuen Substanzen wie Vidaza® und Exjade® (siehe entsprechende Beipackzettel).

In den letzten Jahren wurden zunehmend Schwächen des IPSS identifiziert und kritisiert (Folie 14). Zum einen basieren die zytogenetischen Prognosedaten auf der relativ geringen Zahl von 327 Patienten mit nachgewiesenen klonalen Chromosomenaberrationen (Greenberg, 1997). Zum anderen ist zu kritisieren, dass die zytogenetische Gruppe mit intermediärem Risiko allein durch Exklusion (weder günstig noch ungünstig) und nicht basierend auf realen klinischen Daten etabliert wurde. Desweiteren ist die prognostische Bedeutung seltenerer Anomalien, die bei MDS relativ häufig sind (Haase, 2007) nach wie vor unklar und die Bedeutung sekundärer Anomalien nicht berücksichtigt. Ein weiterer Schwachpunkt ist die relative prognostische Unterbewertung ungünstiger Chromosomenbefunde im Vergleich zum Blastenanteil im Knochenmark (Schanz, 2010). Derzeit erarbeiten wir im Rahmen einer internationalen Kooperation, basierend auf einem Datensatz von 2900 Patienten mit supportiv behandelten primären MDS ein neues umfassendes zytogenetisches Scoring-System, das eine bessere prognostische Einordnung seltener und kombinierter Chromosomenaberrationen und eine präzisere Einschätzung des Erkrankungsverlaufes von bisher nur unzureichend charakterisierten zytogenetischen Subgruppen erlaubt (Schanz, EHA 2010) (Folie 15).

Neben der bisher diskutierten diagnostischen und prognostischen Relevanz kommt der Zytogenetik auch eine zunehmende Bedeutung für Therapieentscheidungen zu. Dieses soll exemplarisch für die 5q-Deletionen und Fälle mit partieller bzw. kompletter Monosomie 7 dargestellt werden: Patienten mit einer 5q-Deletion können generell mit einem günstigen Verlauf rechnen, es sei denn die Veränderung ist Bestandteil komplexer Anomalien. Bei

isolierter 5q-Deletion liegt das mediane Gesamtüberleben bei ca. 80 Monaten und bei einer Zusatzanomalie bei knapp 4 Jahren. Hat die 5q-Deletion mehr als 1 Zusatzanomalie hingegen wird die Prognose mit einer medianen Überlebenszeit von lediglich 7 Monaten sehr ungünstig (Folie 17) (Haase, 2007). Allerdings konnte gezeigt werden, dass selbst bei Vorliegen einer isolierten del(5q) die betroffenen Männer einen Lebenszeit-Verlust von 8 Jahren und Frauen von 10 Jahren im Vergleich zu einer alters-„gematchten“ Kontrollpopulation erleiden (Giagounidis, 2004). Desweiteren steht bei diesen Patienten aufgrund der relativ guten Prognose und der sich im langen Erkrankungsverlauf regelhaft entwickelnden transfusionsbedürftigen Anämie eine progressive Eisenüberladung mit den entsprechenden klinischen Konsequenzen im Vordergrund. Aus diesen Gründen besteht auch für diese Patientensubgruppe ein hoher Bedarf für therapeutische Innovationen, in erster Linie mit dem Ziel einer Beeinflussung des Transfusionsbedarfs. Dass dieses prinzipiell mit dem Einsatz von Lenalidomid, einer immunmodulatorischen Substanz möglich ist, konnte im Rahmen von Therapiestudien mit einem präferentiellen Ansprechen von Patienten mit 5q-Deletionen überzeugend gezeigt werden (Folie 18) (List, 2005 und 2006). Bei 75- 83% der Patienten mit 5q-Deletionen konnte ein erythroides Ansprechen mit signifikanter Hb-Verbesserung erreicht werden. Zwei Drittel der Patienten wurden sogar unabhängig von EK-Transfusionen. Ein zytogenetisches Ansprechen konnte bei 71% der Patienten mit alleiniger 5q-Deletion, bei 65% mit einer Zusatzanomalie und bei 75% mit komplexen Veränderungen beobachtet werden. Aufgrund von Sicherheitsbedenken bezüglich einer fraglich erhöhten Rate von AML-Übergängen von Seiten der EMEA liegt allerdings bisher für Deutschland keine Zulassung vor. Derzeit ist eine multizentrische Studie angelaufen (Le-Mon-5-Studie, Studienleiter Prof. Dr. U. Germing, Universitätsklinikum Düsseldorf), die u.a. dieser Frage mit einem umfangreichen wissenschaftlichen Begleitprogramm nachgeht.

Nicht umstritten ist der Nutzen einer anderen neuen Therapieoption speziell für Patienten mit einer Monosomie 7 (Folien 19 und 20). Patienten mit 7q-Deletion oder kompletter Monosomie 7 werden gemäß IPSS (Greenberg, 1997) als Patienten mit erhöhtem Risiko angesehen. Diese Veränderungen treten sowohl bei de novo Erkrankungen aber auch häufig nach Mutagen-Exposition auf. Die mediane Überlebenszeit mit dieser Art von Aberrationen liegt bei nicht komplexen Aberrationen zwischen 12 und 16 Monaten (Haase, 2005). Die betroffenen Patienten profitieren überwiegend nicht von einer „AML-like“ intensiven Chemotherapie (Knipp, 2007) oder einer immunsuppressiven Behandlung (Sloand, 2007). Bei Patienten mit Chromosom 7-Veränderungen wurde außerdem über ein gehäuftes Auftreten infektiöser Komplikationen berichtet. Der bisher einzige kurative Therapieansatz besteht in einer myeloablativen Therapie gefolgt von einer allogenen Stammzelltransplantation, wobei allerdings die Anomalien auch hier hinsichtlich des Therapieerfolges als Hochrisiko-Marker gelten und aufgrund des hohen Durchschnittsalters nur relative wenige Patienten für diese Behandlungsoption in Frage kommen (Nevill, 1998). Neue Hoffnung für Patienten mit Chromosom-7-Aberrationen versprechen Daten zu epigenetischen Therapien speziell bei dieser zytogenetisch definierten Patientensubgruppe, die in den letzten 3 Jahren publiziert wurden. So berichtete die Arbeitsgruppe von Mufti vom King's College in London über ein

gutes Ansprechen von MDS-Patienten mit unbalancierten Chromosom-7-Veränderungen auf eine Therapie mit Azacitidine (Raj, 2007). Die Gruppe um Lübbert aus Freiburg konnte ein präferenzielles Ansprechen auf i.v. low-dose Decitabine bei Patienten mit Monosomie 7 beobachten (Rüter, 2007). Die bisher am besten gesicherten Daten stammen aus der multizentrischen AZA-001-Phase-III-Studie in der in multivariaten Analysen die Patientensubgruppe mit Monosomie 7 oder Deletion 7q den größten Vorteil hinsichtlich des Gesamtüberlebens durch die Therapie mit Azacitidine hatte (Folie 21) (Fenaux, 2009). Weitere Chromosomenaberrationen, die mit einem präferenziellen Ansprechen auf distinkte Therapien assoziiert sind, sind die Trisomie 8, die Trisomie 13 und komplexe Anomalien (Folie 22). Daten für eine hohe Wahrscheinlichkeit für ein Ansprechen auf eine immunsuppressive Therapie und erste Hinweise auf ein präferenzielles Ansprechen auf den Cyclin D1-Inhibitor 01910.Na wurde von der Arbeitsgruppe von Sloand und Young vorgestellt (Sloand, 2002 und 2007). Für komplexe Chromosomenanomalien, die die ungünstigste Prognose aller Karyotypveränderungen bei MDS haben, mit konventioneller intensiver Chemotherapie nicht zielführend behandelbar sind (Knipp, 2007) und bei etwa 15% aller MDS Patienten auftreten (Haase, 2007) wurde von mehreren Gruppen ein vielversprechendes Ansprechen auf demethylierende Substanzen berichtet (Lübbert, 2001; Fenaux, 2009, Braulke 2010). In den von List publizierten Studiendaten zu Lenalidomid bei MDS finden sich ebenfalls Hinweise darauf, dass Patienten mit komplexen Anomalien auf Lenalidomid ansprechen können (List, 2005 und 2006). Schließlich wurde für Patienten mit Trisomie 13 bei AML komplette Remissionen unter Lenalidomid berichtet (Fehninger, 2009). Die bisher genannte Bedeutung der Zytogenetik für das klinische Management bei Patienten mit MDS legt die Frage nahe, ob es Möglichkeiten gibt, eine verlässliche Chromosomenanalyse durchzuführen, wenn der Patient eine KMP ablehnt, der behandelnde Arzt diese dem Patienten aus medizinischen Gründen nicht zumuten will oder sich z.B. bei punctio sicca kein Knochenmark aspirieren lässt (Folie 23). Hier liegen aus unserer Arbeitsgruppe jetzt publizierte Daten vor, die zeigen, dass eine Analyse mit einem FISH-Sondenpanel an immunomagnetisch angereicherten CD34 positiven Zellen aus dem peripheren Blut, der die meisten Anomalien bei MDS erfasst, eine verlässliche Alternative zur Chromosomenbänderungsanalyse unter den o. g. Voraussetzungen sein kann (Folie 24) (Braulke, 2010). Zusammenfassend ergibt sich aus den vorliegenden Daten, dass die initiale diagnostische Aufarbeitung und die weitere klinische Betreuung eines MDS-Patienten immer mit einer Zytogenetik erfolgen sollten.

Literatur

Braulke F, Schanz J, Jung K, Shirneshan K, Schulte K, Schuetze C, Steffens R, Truemper L, Haase D (2010) FISH analysis of circulating CD34+ cells as a new tool for genetic monitoring in MDS: Verification of the method and application to 27 MDS patients. *Leukemia Research* doi:10.1016/j.leukres.2010.01.010

Brunning R, Orazi A, Germing U et al.. Myelodysplastic syndromes/neoplasms. In Swerdlow S, et al. (Eds.). *WHO classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. IARC Press, Lyon, 2008)

Fehniger TA, Byrd JC, Marcucci G, Abboud CN, Kefauver C, Payton JE, Vij R, Blum W (2009) Single-agent lenalidomide induces complete remission of acute myeloid leukemia in patients with isolated trisomy 13. *Blood* 113(5):1002-5

Fenaux P, Mufti GJ, Hellstrom-Lindberg E, Santini V, Finelli C, Giagounidis A, Schoch R, Gattermann N, Sanz G, List A, Gore SD, Seymour JF, Bennett JM, Byrd J, Backstrom J, Zimmerman L, McKenzie D, Beach CL, Silverman LR, International Vidaza High-Risk MDS Survival Study Group (2009) Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. *Lancet Oncology* 10:223-232

Giagounidis AA, Germing U, Wainscoat JS, Boulwood J, Aul C (2004) The 5q- syndrome. *Hematology*, 9(4):271-7.

Greenberg P, Cox C, Le Beau MM, Fenaux P, Morel P, Sanz G, Sanz M, Vallespi T, Hamblin T, Oscier D, Ohyashiki K, Toyama K, Aul C, Mufti G, Bennett J (1997) International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood* 89:2079-2088

Haase D, Germing U, Schanz J, Pfeilstöcker M, Nösslinger T, Hildebrandt B, Kundgen A, Lübbert M, Kunzmann R, Giagounidis AAN, Aul C, Trümper L, Krieger O, Stauder R, Müller TH, Wimazal F, Valent P, Fonatsch C, Steidl C (2007) New insights into the prognostic impact of the karyotype in MDS and correlation with subtypes: evidence from a core dataset of 2124 patients. *Blood* 110:4385-4395

Knipp S, Hildebrandt B, Kundgen A, Giagounidis A, Kobbe G, Haas R, Aul C, Gattermann N, Germing U (2007) Intensive chemotherapy is not recommended for patients aged > 60 years who have myelodysplastic syndromes or acute myeloid leukemia with high-risk karyotypes. *Cancer* 110:345-352

List A, Dewald G, Bennett J, Giagounidis A, Raza A, Feldman E, Powell B, Greenberg P, Thomas D, Stone R, Reeder C, Wride K, Patin J, Schmidt M, Zeldis J, Knight R, Myelodysplastic S (2006) Lenalidomide in the myelodysplastic syndrome with chromosome 5q deletion. *New England Journal of Medicine* 355:1456-1465

List A, Kurtin S, Roe DJ, Buresh A, Mahadevan D, Fuchs D, Rimsza L, Heaton R, Knight R, Zeldis JB (2005) Efficacy of lenalidomide in myelodysplastic syndromes. *New England Journal of Medicine* 352:549-557

Lübbert M, Wijermans P, Kunzmann R, Verhoef G, Bosly A, Ravoet C, Andre M, Ferrant A (2001) Cytogenetic responses in high-risk myelodysplastic syndrome following low-dose treatment with the DNA methylation inhibitor 5-aza-2'-deoxycytidine. *British Journal of Haematology* 114:349-357

Malcovati L, Germing U, Kuendgen A, Della Porta MG, Pascutto C, Invernizzi R, Giagounidis A, Hildebrandt B, Bernasconi P, Knipp S, Strupp C, Lazzarino M, Aul C, Cazzola M (2007) Time-dependent prognostic scoring system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes. *JCO*,25(23):3503-10

Nevill TJ, Fung HC, Shepherd JD, Horsman DE, Nantel SH, Klingemann HG, Forrest DL, Toze CL, Sutherland HJ, Hogge DE, Naiman SC, Le A, Brockington DA, Barnett MJ (1998) Cytogenetic abnormalities in primary myelodysplastic syndrome are highly predictive of outcome after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 92:1910-1917

Raj K, John A, Ho A, Chronis C, Khan S, Samuel J, Pomplun S, Thomas NSB, Mufti GJ (2007) CDKN2B methylation status and isolated chromosome 7 abnormalities predict responses to treatment with 5-azacytidine. *Leukemia* 21:1937-1944

Rüter B, Wijermans P, Claus R, Kunzmann R, Lübbert M (2007) Preferential cytogenetic response to continuous intravenous low-dose decitabine (DAC) administration in myelodysplastic syndrome with monosomy 7. *Blood* 110:1080-1082

Schanz J, Estey EH, Steidl C, Germing U, Hildebrandt B, Garcia-Manero G, Kantarjian HM, Haase D (2010) Multivariate analysis suggests that the prognostic impact of poor cytogenetics is potentially underestimated in the IPSS. *Journal of Clinical Oncology*, in press

Schanz J, Tüchler H, Sole F, Mallo M, Hildebrandt B, Slovak M, Ohyashiki K, Steidl C, Fonatsch C, Pfeilstöcker M, Nösslinger T, Valent P, Giagounidis A, Aul C, Lübbert M, Stauder R, Krieger O, LeBeau M, Bennett J, Greenberg P, Germing U, Haase D. Proposal of a new, comprehensive cytogenetic scoring system for primary MDS (2010). 15th Annual Meeting of the European Hematology Association, Abstract 0535

Sloand EM, Pfannes L, Reddy R, Reddy P, Groopman JS, Young NS (2007) Suppression of cyclin D1 by on 01910.Na is associated with decreased survival of trisomy 8 myelodysplastic bone marrow progenitors: A potential targeted therapy. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 110:822

Sloand, E.M., Kim, S.,Fuhrer, M., Risitano, A.M., Nakamura, R., Maciejewski, J.P., Barrett, A.J., and Young, N.S. (2002) Fas-mediated apoptosis is important in regulating cell replication and death in trisomy 8 hematopoietic cells but not in cells with other cytogenetic abnormalities *Blood* **100**, 4427-32

