

Vorstand: Prof. Dr. R. Hehlmann (Koordinator), Prof. Dr. D. Hoelzer (stellv. Koordinator), Prof. Dr. C. Aul, Prof. Dr. Th. Büchner, Prof. Dr. H. Döhner, Prof. Dr. G. Ehninger, Prof. Dr. A. Ganser, Prof. Dr. K. Überla.

Vorwort	Seite 1
DNA-Chiptechnologie	Seite 2
Gemeinsame AML-Studie in Deutschland: Aktueller Stand	Seite 4
Neuerungen in der Supportivtherapie bei Leukämien	Seite 4
Zentrale Diagnostik: Berichte aus den Projekten	Seite 5
Informationsstand auf der DGHO/ÖGHO-Jahrestagung	Seite 8
Termine - Impressum	Seite 8

Vorwort

Liebe Kolleginnen und Kollegen,
sehr geehrte Damen und Herren,
eine ereignisreiche Jahreshälfte liegt hinter uns: dabei war sicherlich ein Höhepunkt die Gemeinsame Jahrestagung der Deutschen und Österreichischen Gesellschaften für Hämatologie und Onkologie in Mannheim vom 30.09.-3.10.2001. Alle drei hämato-onkologischen Netzwerke waren mit einem Symposium vertreten. Das Kompetenznetz „Akute und chronische Leukämien“ hatte sein Symposium dem Thema „DRGs in der Hämatologie“ gewidmet. Mehr als 300 Kolleginnen und Kollegen haben an diesem Symposium teilgenommen. Die erfreulich hohe Teilnehmerzahl verdeutlicht einmal mehr, dass die Einführung dieser Fallpauschalregelung für die klinisch tätigen Hämato-Onkologen ein wichtiges Thema darstellt. Zum anderen zeigt es aber auch, dass die Arbeiten und Aufgaben der Kompetenznetze vielfältig sind und auch berufspolitische Themen beinhalten.

Besonders freue ich mich, dass die Bundesministerin für Bildung und Forschung, Frau Edelgard Bulmahn, voraussichtlich am 15. Januar die Zentrale des Kompetenznetzes Leukämien in Mannheim im Rahmen einer Rundreise zur Gesundheitsforschung besuchen und sich vor Ort über unsere Arbeit informieren wird. Wir hoffen, dass dies dazu beitragen wird, auch der breiten Öffentlichkeit die Bedeutung und Wichtigkeit der klinischen Forschung im Bereich der hämato-onkologischen Erkrankungen näher zu bringen. Wir beobachten mit Sorge, dass einzelne Krankenkassen die Behandlungen von Patienten in Therapieoptimierungsstudien nicht mehr erstatten wollen. Dabei handelt es sich nicht um die studienspezifischen Kosten, sondern um die Übernahme der Kosten für den normalen Versorgungsanteil.

Abschließend möchte ich Sie gerne zum Jahressymposium des Kompetenznetzes vom 22. bis 24. Januar 2002, das wieder im DKFZ in Heidelberg stattfinden wird, herzlich einladen. Neben unserem gemeinsamen Arbeitsprogramm erwarten uns zahlreiche interessante Vorträge nationaler und internationaler Wissenschaftler zum Thema: Leukämien – Neue diagnostische Verfahren. Ich würde mich sehr freuen, Sie in Heidelberg begrüßen zu können und wünsche Ihnen eine spannende Lektüre unseres 3. Rundbriefes.

Ihr

Prof. Dr. R. Hehlmann
Koordinator des Kompetenznetzes



DNA-Microarrays - eine neue Chance für Diagnostik und Therapie von Leukämien

A. Neubauer (Marburg) für Projekt 28

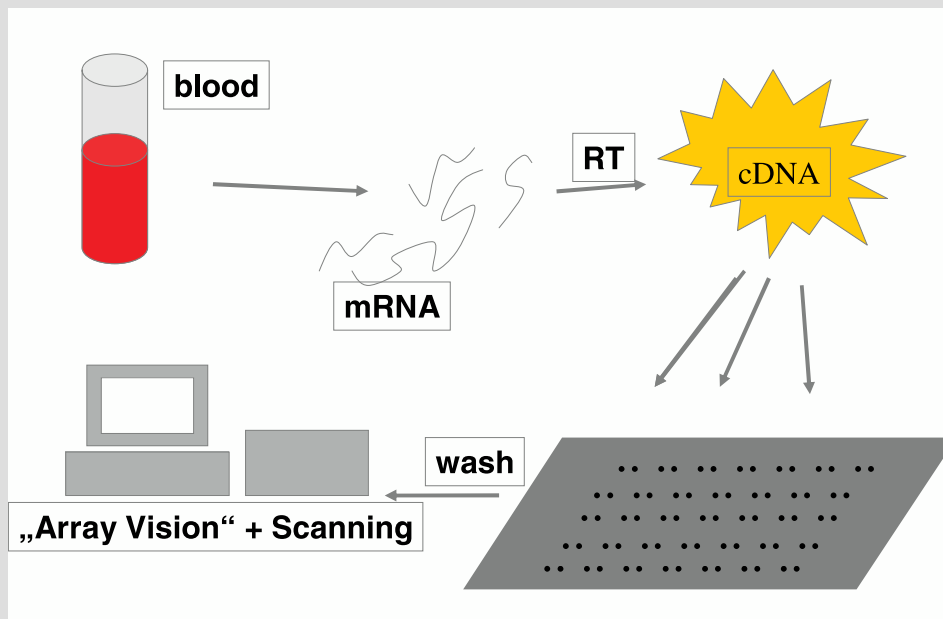
Leukämien sind seit ihrer Erstbeschreibung in gewisser Weise Modellerkrankungen. Leukämien waren die ersten bösartigen Erkrankungen, bei denen eine klare Assoziation eines genetischen Markers mit einer Krankheit gezeigt wurde. Seit der Entdeckung des Philadelphiachromosoms in den frühen 60iger Jahren hat sich das Wissen um die molekularen Ursachen der Leukämien sprunghaft vervielfältigt. Heute wissen wir, daß bestimmte genetische Translokationen die *Conditio sine qua non* für die Entstehung bestimmter Leukämien darstellen. Morphologisch definierte Leukämieentitäten sind häufig mit spezifischen chromosomalen Veränderungen assoziiert. Als Beispiel seien genannt: Die AML-M3 und die Translokation t(15;17); die AML-M2 mit der Translokation t(8;21); die AML-M4 Eo mit der Inversion inv (16).

die Kausalität zwischen genetischer Translokation und entstehender klinisch sichtbarer Leukämie eindeutig und klar ist, sind diese Beziehungen bei anderen Entitäten noch unklar. Ca. 50% aller AML weisen z.B. einen normalen Karyotyp auf. Dieses deutet daraufhin, daß es wichtig sein wird, Unterschiede zwischen leukämischen Zellen und korrespondierenden normalen hämatopoetischen Zellen mit anderen molekularbiologischen Techniken zu detektieren.

Die molekulare Onkologie kennt neben den bei soliden Tumoren häufig alterierten Tumorsuppressorgenen, die im Prinzip rezessiver Natur sind, die dominant wirkenden Onkogene. Diese sind häufig bei Leukämien und Lymphomen alteriert. Von

eine leukämogene Stammzelle begleiten. Häufig führen Veränderungen in der Signaltransduktion zu konsekutiven Expressionsmodulationen von Genen, die in der Signaltransduktionskaskade stufenabwärts (down stream) von dem eigentlich alterierten Gen sitzen. Erkenntnisse des humanen Genomprojektes lassen vermuten, daß menschliche Zellen zwischen 40.000 und 50.000 Gene beherbergen. Die Komplexität der Modulation einzelner Aberrationen in Tumorzellen kann mittels moderner molekularbiologischer und informationstechnologischer Verfahren erfaßt werden. Eine Technik, die sich in den letzten Jahren gerade in der Untersuchung der genetischen Veränderung maligner Erkrankungen mit teilweise bahnbrechenden Erkenntnissen durchgesetzt hat, ist die Gen-Array-Technologie.

Bei der Gen-Array-Technik werden mehrere tausend Gene in Form entweder von Oligonukleotiden (sogn. Affymetrix-technologie) oder cDNA-Klonen auf einer Matrix wie einem Filter oder einem Glasobjektträger aufgebracht. Das Aufbringen der Gensonden auf der Matrix, also dem Filter oder dem Objektträger, erfolgt entweder direkt durch einen Drucker oder mittels anderer Verfahren. Anschließend wird die entweder radioaktiv oder heute sehr viel häufiger mittels Fluoreszenzfarbstoffen markierte Probe, z.B. einer Leukämie, mit den auf der Matrix aufgegebenen Sonden hybridisiert. Bei den heute üblichen Verfahren wird die Patientenprobe z.B. mit einem grünen Farbstoff markiert, die Referenzprobe aus einer Zelllinie oder dem korrespondierenden Normalgewebe mit einer anderen Farbe, z.B. rot, markiert und diese dann kompetitiv mit den Sonden hybridisiert. Für die Markierung ist die Präparation einer guten RNA aus der Patientenprobe bzw. der Referenzzelllinie erforderlich. Hierfür waren bisher große Mengen präparierter RNA notwendig. Daher war es für die Anwendung der Chiptechnologie für klinische Fragestellungen unabdingbar, verlässliche RNA-Präamplifikationstechniken zu entwickeln. Aus klinischem Material, z.B. Biopsien oder sortierten Zellen, ist es häufig nicht möglich, die für die bisherige Chiptechnologie notwendige RNA-Menge



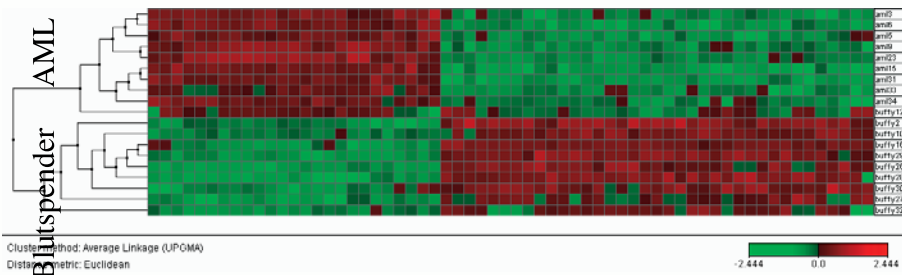
Prinzip der Gen-Array-Technologie aus einer Blutprobe

Man geht heute davon aus, daß diese Chromosomenveränderungen eine Voraussetzung für die Entstehung des leukämogenen Transformationsprozesses sind, daß jedoch weitere Veränderungen notwendig sind, um eine Zelle, die von dieser Translokation betroffen ist, zu einem expandierenden Leukämiezellklon auszuwachsen zu lassen.

Onkogenen kodierte Proteine greifen an verschiedenen Stellen der Signaltransduktionen, vom Zelloberflächenrezeptor mit Tyrosinkinaseaktivität wie dem C-Kit (CD117) über signalmodulierende Proteine wie z.B. dem p21 ras oder dem RAF-Protein bis zu Transkriptionsfaktoren, wie z.B. FOS, MYC oder AML1 an. Dabei wird selten ein Protein allein alteriert. Viel häufiger dürfte es sich um die kumulative Anhäufung multipler Aberrationen handeln, die den Prozess der Umwandlung einer normalen hämatopoetischen Stammzelle in

Während bei einigen Leukämien, wie z.B. der chronischen myeloischen Leukämie

Genarray bei AML



verschiedene Gene

Ausschnitt aus einem Gen-Array. Gezeigt sind 69 Gene bei 9 AML-Patienten und 10 gesunden Blutspendern, die in der Clusteranalyse als signifikant unterschiedlich bestimmt werden konnten.

in guter Qualität zu gewinnen. Die zur Zeit verfügbaren RNA-Präamplifikationsprotokolle scheinen diese Probleme überwinden zu helfen. Eigene, bisher unpublizierte Daten zeigen, daß die Präamplifikation auch aus klinischen Proben funktioniert und Hybridisierungen ohne massive Veränderungen des Ergebnisses mit präamplifiziertem Material möglich sind. Damit sind die Voraussetzungen gegeben, bei einer großen Zahl menschlicher Tumorerkrankungen die Expressionsprofile tausender bekannter und unbekannter Gensequenzen zu überprüfen und diese möglicherweise mit dem klinischen Verlauf zu korrelieren. Hierfür sind große informationstechnische Anstrengungen nötig (Eisen, MB et al., PNAS 95: 14863-8, 1998).

Die ersten Studien, die Genexpressionsprofile bei malignen Erkrankungen bestimmten, kamen aus dem hämatopoetischen System. In einer ersten Studie konnte gezeigt werden, daß es mit Hilfe der Genexpressionsprofilanalyse möglich ist, bekannte Leukämiecluster auch hinsichtlich des Genexpressionsprofils signifikant zu unterscheiden (Golub, TR et al., Science 286: 531-7, 1999). Diese Arbeit zeigte erstmals, daß in blinder Analyse mittels Clustertechnik Genexpressionsprofile benutzt werden können, um bekannte Unterschiede auch hinsichtlich des Expressionsmusters zu unterscheiden.

In weiteren Arbeiten konnte dann gezeigt werden, daß bisher als einheitlich angesehene maligne Erkrankungen mittels Genexpressionsanalyse unter der Bestimmung mehrerer tausend Gene eine Heterogenität erkennen ließen, die teilweise klinische Relevanz besaß (Perou CM et al., Nature 406: 747-52, 2000, Bittner M et al., Nature 406: 536-40, 2000). Eine Arbeit widmete sich der AML und konnte hier zeigen, daß Genexpression bei AML mit normalem Karyotyp und AML mit Trisomie 8 signifikant unterschiedlich war (Virtaneva K et al., PNAS 98: 1124-39, 2001). Bisher existieren nur wenige Arbeiten, die das Genexpressionsprofil bei malignen Erkrankungen mit der Prognose des Patienten korrelierten. Etwas detaillierter soll hier die Arbeit von Staudt et al. bei diffus großzelligen Lymphomen dargestellt werden.

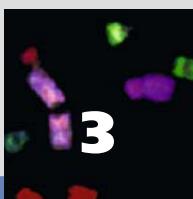
Diese Autoren stellten die Frage, ob das histologisch als einheitlich angesehene diffus großzellige Lymphom auch einheitlich hinsichtlich des Genexpressionsprofils sei. Mittels eines sogenannten Lymphochips, eines eigens hierfür hergestellten DNA-Arrays mit über 18.000 Genen, der auch Gene aus Genbanken von aktivierten Lymphozyten und Keimzentrumszellen benutzte, konnten die Autoren zeigen, daß bei diffus großzelligen Lymphomen trotz einheitlicher Histologie 2 Genexpressionscluster existieren: Eine

Gruppe von Patienten, deren Tumorzellen ein keimzentrumsartiges Expressionsprofil aufwiesen (Alizadeh et al., Nature 403: 1503-11, 2000). Im Gegensatz dazu standen Tumorzellen von Patienten, die eher an aktivierte B-Zellen erinnerten. Interessanterweise unterschied sich die Prognose dieser beiden Patientenkollektive signifikant voneinander: Während die Patienten, deren Tumorzellen eher einem Keimzentrumsprofil entsprachen, eine bessere Prognose hatten, zeigten die Patienten, deren Tumorzellen einem aktivierten B-Zelltyp entsprachen, ein signifikant schlechteres Überleben. Diese Studie zeigt erstmals, daß Genexpressionsprofilmessungen für die Prognoseabschätzung hochattraktiv sein können. Zur Zeit laufen Studien, die ähnliche Fragestellungen z.B. beim Mammakarzinom evaluieren (Sorlie T et al., PNAS 98: 10869-74, 2001). Eigene Untersuchungen führten wir bei der AML durch. Mit einem in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von M. Eilers entworfenen Marburger Gen-Array konnten wir 64 von 4608 Genen finden, die sich mittels Clusteranalyse signifikant von normalen Blutzellen unterschieden. Dieses Projekt läuft als Teilprojekt 28 im Rahmen des Kompetenznetzes "Akute und chronische Leukämien" und wird zur Zeit durch 1/2 technische Assistentinnenstelle vom BMBF gefördert. Möglicherweise führen solche Studien zur Aufdeckung neuer Signaltransduktionskaskaden, die bei der Pathogenese der AML eine Rolle spielen. Unbekannt ist, ob die hier gewonnenen Daten zu einem späteren Zeitpunkt klinische Relevanz bekommen werden. Ob dann, ähnlich wie beim diffus großzelligen Lymphom, Genexpressionsprofilbestimmungen auch zu unterschiedlichen Risikostratifizierungen führen und ob dann unterschiedliche therapeutische Interventionen für diese Patienten gewählt werden, muß in prospektiven Studien evaluiert werden.

Danksagung: Der Autor dankt dem BMBF für die Unterstützung des TP 28, und Dr. Markus Ritter sowie der AG Prof. Eilers und O. Hartmann für die Hilfe bei der Durchführung der Studien.

Nützliche Internet-Adressen zur Microarray-Technologie

- <http://www.hhmi.org/news/brown2.html>
- <http://cmgm.Stanford.edu/pbrown/>
- <http://genome-www.stanford.edu/molecularportraits/>
- <http://genome-www4.stanford.edu/MicroArray/SMD/>
- <http://genome-www4.stanford.edu/MicroArray/SMD/restech.html>



German AML Intergroup:

Vernetzungsstudie zur Therapieoptimierung und Prognoseforschung bei akuter myeloischer Leukämie (AML) der fünf deutschen AML-Studiengruppen

Th. Büchner (Münster) für das Board of Investigators

Einführung

Als häufigste akute Leukämie, durch ihre hohe Lebensbedrohlichkeit und ihre Heilbarkeit von erst 30-40 % bedeutet die AML eine besondere Herausforderung. Die German AML Intergroup bildet hierfür eine neuartige Form der Zusammenarbeit und ein Kernstück des Kompetenznetzes „Akute und chronische Leukämien“. Ziel dieser Zusammenarbeit ist es, die klinische Forschung über AML effizienter zu machen und den therapeutischen Fortschritt zu beschleunigen.

Board of Investigators

AMLCG: Th. Büchner, W.E. Berdel, Münster;
W. Hiddemann, München;
E. Lengfelder, R. Hehlmann, Mannheim

AML HD: H. Döhner, R.F. Schlenk, Ulm;
M. Kneba, Kiel

SHG Dresden: G. Ehninger, Dresden;
A. Neubauer, Marburg;
M. Gramatzki, Erlangen

SHG Hannover: A. Ganser, G. Heil, Hannover;
D. Hoelzer, Frankfurt

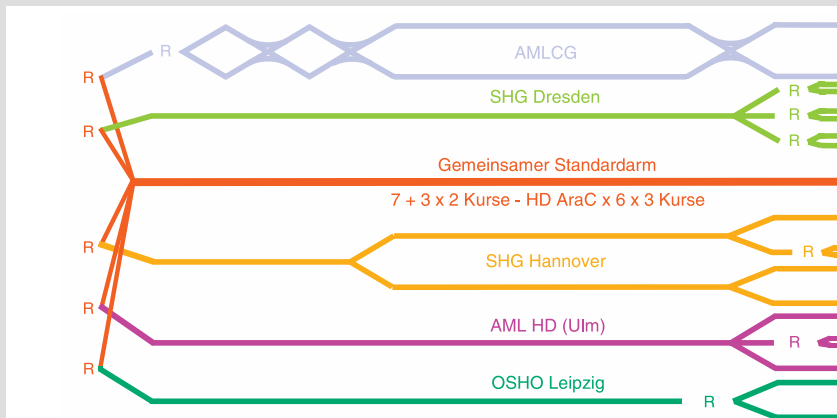
OSHO: D. Niederwieser, L. Uharek, Leipzig
Biometrie: J. Hasford, München

Grundlagen

Die letzten Jahre brachten wesentliche Erkenntnisse zur Biologie, Prognose und spezifischen Therapie der AML insgesamt und in einzelnen Subklassen. Hierzu haben die deutschen Studiengruppen nicht unerheblich beigetragen (s. Literatur), wobei sich die Unterschiede in den Forschungsansätzen, Zielgruppen und Therapiestrategien als fruchtbar erwiesen haben. Erfahrung und Konzepte der Studiengruppe basieren auf einschlägigen multizentrischen Therapiestudien. Um ihre Kreativität und Effizienz weiter zu steigern, haben die fünf AML Studiengruppen beschlossen, sich untereinander zu vernetzen, um ihr Know-how auszutauschen, spezielle Forschungsschwerpunkte und Technologien gemeinsam zu nutzen und ihre unterschiedlichen Therapiestrategien miteinander zu vergleichen. Die Intergroup kann jährlich 1000 Patienten mit AML rekrutieren. Das entspricht der Hälfte aller AML in Deutschland, eine international hohe Erfassungsrate.

Studiendesign

Um eine Vergleichbarkeit zwischen den Therapiestrategien herzustellen,



Vernetzungsstrategie von 5 Studien der German AML Intergroup.

In allen Studien erfolgt vor Therapiebeginn jedes Patienten eine upfront Randomisation zwischen Therapie nach dem studieneigenen Protokoll (90% der Patienten) oder nach dem gemeinsamen Standardarm (10%). Der Standardarm besteht aus Doppelinduktion mit 2 Kursen AraC 100 mg/m²/Tag x 7 plus Daunorubicin 60 mg/m²/Tag x 3 und aus Postremissionstherapie mit AraC 3 g/m² alle 12 h x 6 in drei Kursen. Innerhalb der studieneigenen Strategien beruht die Therapieverzweigung auf Randomisation (= R) oder auf Therapieentscheidung abhängig von Risikofaktoren bzw. Spenderverfügbarkeit (= Verzweigung ohne R).

wurden als verbindende Elemente der fünf Studien eine generelle Upfront-Randomisation und ein gemeinsamer Standardarm eingeführt.

Angleichung der Studien

Um das neue Kooperationsmodell zu verwirklichen, wurden weitest mögliche Gleichzeitigkeit der beteiligten Studien hergestellt, Studienprotokolle überarbeitet,

Dokumentationsmaterial vereinheitlicht, Patienteninformationen ergänzt und Ethikvoten erweitert. Eine eigene zentrale Biometrie gewährleistet den „Intergroup“-Vergleich der Therapiestrategien.

Literaturverzeichnis sowie weitere Informationen über die German AML Intergroup finden Sie unter www.kompetenznetz-leukaemie.de

Neuerungen in der Supportivtherapie

A. Böhme (Frankfurt) für Projekt 22

Die Komplikationen intensiver Chemotherapie, die zur erfolgreichen Behandlung akuter Leukämien erforderlich ist, sind nur durch sorgfältige und konsequente supportive Maßnahmen möglich. Nach wie vor stellen Infektionen die bedrohlichsten Komplikationen dar. Insbesondere auf dem Gebiet der Diagnostik und Therapie von Infektionen sind bedeutende Fortschritte erzielt worden.

Durch die Etablierung der hochauflösenden Computertomographie sowie ermutigenden Ansätze in der serologischen und molekularbiologischen Diagnostik, die derzeit noch validiert werden, sind die gefürchteten Aspergilluspneumonien früher diagnostizierbar. Hierdurch sowie durch die zunehmende Akzeptanz der frühen empirischen antimykotischen Therapie konnte die Letalität dieser Schimmelpilzinfektion deutlich gesenkt

werden. Die chirurgische Sanierung von Pilzherden und konsequente antimykotische Prophylaxe ermöglichen die für die Heilung der Grunderkrankung unerläßliche Fortsetzung auch intensiver Therapien, insbesondere allogener Stammzelltransplantationen. In einer Studie konnte kürzlich gezeigt werden, daß die Toxizität des konventionellen Amphotericin B durch längere Infusionsdauer (24 Stunden) reduziert werden kann. Einen Fortschritt in der Behandlung invasiver Mykosen stellen auch die neuen Antimykotika Voriconazol (gute Liquorgängigkeit!) und Caspofungin (sehr gute Verträglichkeit) dar. Voriconazol wird in Deutschland in Kürze zugelassen, Caspofungin ist zwischenzeitlich zugelassen. Beide Substanzen sind aktiv gegen Aspergillus spp und non-albicans-Candida spp, wobei insbes. letztere zunehmend Probleme aufwerfen.

Ein neues Studienprotokoll zur Therapie von Aspergillosen mit Voriconazol wird derzeit erarbeitet. Die neuen Azole Posaconazol und Ravuconazol stehen ebenfalls in klinischen Prüfungen. Der Benefit von Granulozytentransfusionen in Prophylaxe und Therapie lebensbedrohlicher Infektionen wird in Studien geprüft.

Die Sensibilisierung der Ärzte für die Entwicklung von Antibiotikaresistenzen (vor allem bei Fluorochinolonen und Glykopeptiden) führte zu differenzierten Therapierichtlinien. Allgemein gewinnt die Erarbeitung von Leitlinien auf dem Gebiet des Infektionsmanagements, die sowohl internationale Standards, klinikspezifische als auch ökonomische Faktoren berücksichtigen und eine rasche Adaptation an neue Entwicklungen ermöglichen, zunehmend an Bedeutung. Das Projekt „SUPPORTIVE CARE“ hat durch Kooperation und Vernetzung mit den entsprechenden Fachgesellschaften maßgeblich zur Etablierung und Verbreitung umfassender Leitlinien beigetragen.

Über die Arbeitsgemeinschaft Infektionen in der Hämatologie und Onkologie der DGHO (AGIHO) werden in jährlichem Wechsel interdisziplinäre Seminare (im Rahmen des Kongresses „Acute Leukemias“) zu einem infektiologischen Thema und Workshops (Wilsede) zum Infektionsmanagement durchgeführt. Auf dem Gebiet der Transfusionsmedizin wurde die Substitution von gepoolten Thrombozyten durch die in-line-Leukozytendepletion, die zu einer höheren CMV-Sicherheit führt, wesentlich erleichtert. Der Grenzwert von Thrombozyten $< 10.000/\mu\text{L}$ für die rein prophylaktische Transfusion ist inzwischen etabliert. Aktualisierte Transfusionsrichtlinien wurden in diesem Jahr von der Bundesärztekammer herausgegeben.

Neues (Leitlinien zu verschiedenen Gebieten der Supportivtherapie, aktuelle Studien, Veranstaltungskalender etc) finden Sie auf der Seite des Projekts 22 unter www.kompetenznetz-leukaemie.de sowie in der Website der AGIHO www.DGHO-Infektionen.de

Spezial-Diagnostik bei akuten und chronischen Leukämien

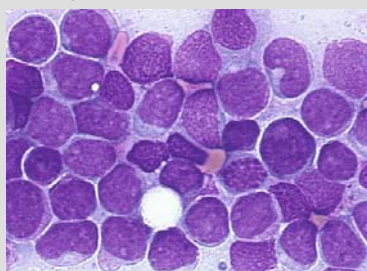
Die Standarddiagnostik bei Leukämien umfaßt Morphologie/Zytologie, Immunphänotypisierung, Zytogenetik, Molekulargenetik und in zunehmendem Umfang Methoden zur Erfassung der minimalen Resterkrankung. Die Durchführung dieser Spezialuntersuchungen auf qualitativ hohem Niveau ist von großer Bedeutung nicht nur für die Diagnosesicherung sondern auch für die Identifikation von Prognosefaktoren und die Untersuchung pathogenetischer Mechanismen. Im Kompetenznetz „Akute und chronische Leukämien“ sind daher Expertengruppen aus dem Bereich der Leukämiediagnostik vertreten, in denen alle führenden Speziallabors kooperieren. Diese Labors sind auch an der zentralen Diagnostik der Therapiestudien im Kompetenznetz beteiligt. Im Folgenden berichten die Leiter der Expertengruppen über die Fortschritte der Teilprojekte.

Zentrale morphologische Leukämiediagnostik

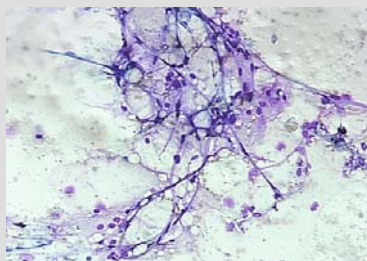
W. Gassmann (Siegen) für Projekt 3

Vernetzung der Labors für zentrale Diagnostik: Die bessere/elektronische Vernetzung der Labors ist erforderlich, um die an verschiedenen Orten erhobenen Befunde eines Patienten mit neudiagnostizierter Leukämie zusammenzuführen und die optimale Therapie schnellstmöglich festlegen zu können. An der Vernetzung der morphologischen Diagnostik mit den Labors für Immunologie, Zytogenetik, Molekularbiologie und minimale residuale Erkrankung wird intensiv insbesondere von Seiten des zentralen Informationsservers gearbeitet.

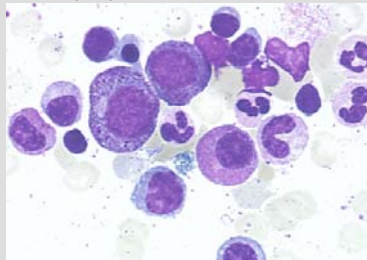
Zytologischer Verlauf einer AML M3 t(15;17)



Bei Diagnosestellung



Nach Therapie: Aplastisches Knochenmark



In kompletter Remission: Normales Knochenmark

Im Januar 2002 soll ein Vorschlag abschließend diskutiert und seine Erprobung gestartet werden.

Telemedizinische Vernetzung: Die telemedizinische Vernetzung wurde weiter ausgebaut. Kompetenznetz-Mitglieder können zweiseitig sowie in einer wöchentlichen Konferenz mit jetzt bis zu 20 Teilnehmern per ISDN miteinander Blut- und Knochenmarkausstriche diskutieren. Gegenwärtig wird mit der Firma AVT-Horn, Aalen, an einem neuen optimierten System gearbeitet, das eine bessere Bildqualität bei allerdings etwas geringerer Übertragungsgeschwindigkeit bietet. Kompetenznetz-Teilnehmer können für den Kauf eines Telemikroskopie-Systems einen Investitionszuschuß in Höhe von 3000 DM erhalten.

Standardisierung der mikroskopischen Leukämiediagnostik: Mikroskopische Leukämiediagnostik ist im wissenschaftlichen Sinn eine nur begrenzt exakte Disziplin; subjektive Einschätzungen spielen eine große Rolle. Andererseits aber werden quantitative Aspekte wie zum Beispiel der Blasten-Prozentsatz zur Unterscheidung zwischen akuter myeloischer Leukämie und Myelodysplasie genutzt. Daraus ergibt sich für die im Kompetenznetz zusammengeschlossenen Studiengruppen die Notwendigkeit, zu untersuchen, inwieweit die Diagnosen auch in der Subkategorisierung übereinstimmen und wo Differenzen bestehen. Gegenwärtig läuft dafür ein erster Ringversuch; es schließt sich im Januar 2002 eine erste Konsensus-Konferenz der mikroskopischen Referenzzentren an.

Mikroskopierkurse: Mikroskopierkurse für Anfänger und Fortgeschrittene wurden wie in den Jahren zuvor von Professor Dr. Fuchs, Eschweiler, durchgeführt. Der Kieler Mikroskopierkurs, projektiert für Kollegen mit umfangreicher Diagnostik-Erfahrung, fand dieses Jahr mit 130 Teilnehmern in Siegen statt.

Zum kostenfreien Bestellen über die Netzwerkzentrale:

Ab sofort: DVD des Mikroskopierkurses in Siegen
 Ab 2/2002: DVD der morphologischen Konsensuskonferenz

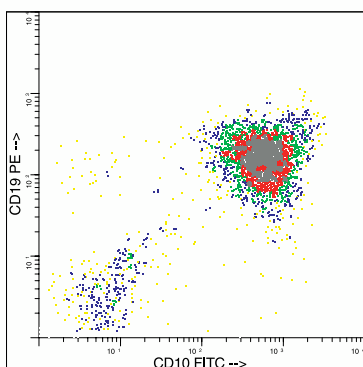
Didaktik-Medien: Intensiv gearbeitet wurde an der Weiterentwicklung der Didaktik-Medien für die mikroskopische Leukämie-Diagnostik. Bild-CDs von charakteristischen Blut- und Knochenmarkbefunden stehen schon seit einigen Jahren zur Verfügung. Als Ergänzung wünschenswert sind bewegte Bilder, die den Mikroskopiervorgang an sich darstellen. Dabei wird in besonderer Weise deutlich, wie unterschiedlich sich ein bestimmter Zelltyp unter bestimmten Bedingungen an verschiedenen Stellen des Knochenmarkpräparates darstellen kann. Die seit kurzem zur Verfügung stehende DVD-Technik bietet wesentlich größere Speicherkapazität als CDs. Wir haben dieses neue Medium getestet; es hat sich als sehr gut geeignet erwiesen. Die Videos können auf PCs und über Fernsehapparate abgespielt werden. Unklar ist noch mit welchem Aufnahmeverfahren die bestmögliche Bildqualität erreicht wird. Die Videomikroskopie-Sitzungen des Mikroskopierkurses in Siegen wurden mit einem professionellen Betacam-System aufgezeichnet, anschließend digitalisiert und auf eine DVD gebrannt. Auf die DVD passten Bild und Ton von 60 Minuten. Die Bildqualität ist gut bis sehr gut; die DVD kann bei der Netzwerkzentrale bestellt werden. Alternativ kann man DVDs mit konventionellen DVD-Recordern erstellen, die seit kurzem käuflich erhältlich sind. Hier wird das mikroskopische Bild ohne zwischengeschaltete Kopiervorgänge aufgezeichnet. Problem ist, dass hier nur das konventionelle Videosignal verwendet wird. Die Bildqualität ist zufriedenstellend, aber nicht so gut wie bei Nutzung des RGB-Signals. Ende Februar 2002 wird eine DVD von der morphologischen Konsensus-Konferenz zur Verfügung stehen; sie kann ebenfalls bei der Netzwerkzentrale bestellt werden.

Zentrale Immunphänotypisierung bei Leukämien

R. Schabath und W.-D. Ludwig für Projekt 4

Die Immunphänotypisierung gilt heute, neben Morphologie, Zytochemie, Zytogenetik und Molekularbiologie, als integraler Bestandteil in der Diagnostik akuter Leukämien. Im September 1999 fand das erste konstituierende Treffen des Teilprojekts IV „Zentrale Immunphänotypisierung“ statt. Seitdem erfolgten regelmäßige weitere Meetings, bei denen Vorgehen zur Vereinheitlichung von Diagnostik und Datenerfassung debattiert wurden. Seit Januar 2001 befindet sich ein Konsensuspanel zur Diagnostik akuter Leukämien im Rahmen des Kompetenznetzes in der Erprobungsphase. Das Panel hat den Anspruch mit einer Basis-kombination von Antikörpern therapeutisch relevante Sub- und Risikogruppen zu identifizieren sowie morphologisch und zytochemisch undifferenzierte Leukämien einer Zellreihe zuzuordnen.

Abbildung: Beispiel einer CD10/CD19-positiven common-ALL



Es besteht aus 11 Dreifachfärbungen: 3 intrazytoplasmatischen- und 8 Oberflächenfärbungen, jeweils mit einer eigenen Negativkontrolle (siehe Tabelle). Um methodische Probleme zu vermeiden, wird eine Datenbank mit geeigneten

Tabelle: Konsensus-Markerpanel zur Diagnostik akuter Leukämien

	FITC	PE	Cy5
Cy1	cy-NK	cy-NK	cy-NK
Cy2	TdT	cyCD79	cyCD3
Cy3	MPO	CD34	CD45
S1	NK	NK	NK
S2	CD10	CD19	CD13
S3	CD7	HLA-DR	CD33
S4	Kappa	Lambda	CD19
S5	CD2	CD1	CD3
S6	CD34	"7.1"	CD117
S7	CD65	CD56	CD45
S8	CD61	CD14	CD45

S=Oberflächenmarker, Cy=Intrazytoplasmatisch

Antikörperklonen erstellt. Auf dem Treffen des Teilprojekts Ende September in Mannheim wurden erste Ergebnisse und Erfahrungsberichte mit diesem Panel vorgestellt. Im Vorfeld kommender Ringversuche werden nun in einem Vorlauf Stichproben der einzelnen Labore zentral ausgewertet. Weitere Aktivitäten bestehen in der Einrichtung eines gemeinsame Internetangebots, das allen beteiligten Zentren ermöglichen wird, Probleme und Fragen bei der Immunphänotypisierung zur internen Diskussion zu stellen. Des weiteren wird derzeit eine Eingabemaske erstellt, die als Schnittstelle zur Befundübermittlung in eine zentrale Datenbank zusammen mit Befunden aus Morphologie, Zytochemie, Zytogenetik und Molekularbiologie dienen soll. Die Anforderungen an diese Schnittstelle wurden nach Diskussion in Mannheim genauer spezifiziert, die Erprobung kann voraussichtlich nach dem nächsten Treffen des Teilprojekts am 23.01.2002 in Heidelberg beginnen. Eine Ergänzung des Basispanels mit zusätzlichen Antikörperkombinationen, um zukünftig auch effektiver MRD mittels multiparametrischer Durchflußzytometrie zu erkennen, wird dort ebenfalls diskutiert werden.

Zentrale Zytogenetik

H. Rieder und J. Bradtke (Marburg) für Projekt 5

Das Teilprojekt „Zentrale Zytogenetik“ nutzt die Entwicklungen der Informationstechnologie für Verbesserungen auf dem Gebiet der Zytogenetik der Leukämien. Im Einzelnen werden folgende Ziele verfolgt:

- umfassende Verwertungsmöglichkeit zytogenetischer Befunde zur Bearbeitung wissenschaftlicher Fragestellungen durch eine studienübergreifende Verfügbarkeit der Daten

- Optimierung der Versorgung mit zytogenetischer Diagnostik durch online Datenabgleich der Untersuchungsstellen untereinander und zwischen den Teilnehmern der zentralen Diagnostik unterschiedlicher Studien sowie durch die zentrale Bereitstellung spezialisierter Untersuchungstechniken.
- Qualitätssicherung zytogenetischer Diagnostik durch die Entwicklung und Umsetzung minimaler Standards bei

den Untersuchungstechniken und der Befunddokumentation sowie durch die online-Bereitstellung von Fortbildungsinhalten und Fallsammlungen.

Die detaillierte Chromosomenbandenanalyse, der Einsatz molekularzytogenetischer Techniken an Interphasezellkernen und Metaphasechromosomen sowie die Untersuchungen mittels Techniken der reversen Zytogenetik wie der vergleichenden Genomhybridisierung und der chromosomalen Mikrodisektion tragen zu immer komplexeren Befunden und einer rapide wachsenden Datenmenge auf dem Gebiet der zytogenetischen Diagnostik bei Leukämien bei. Darüber hinaus ist die verfügbare Nomenklatur der Befunde nur begrenzt für eine automatische Datenauswertung geeignet und speziell für die Abgrenzung der prognostisch bedeutsamen Untergruppe der komplexen Chromosomenveränderungen werden unterschiedliche Definitionen gebraucht. Die Qualitätssicherung und die Beurteilung von abnormen Befunden bei der molekularzytogenetischen Analyse erfordert eine umfangreiche Dokumentation unterschiedlicher Signalmuster. Im ersten Abschnitt des Projektes lag daher der Schwerpunkt auf der Entwicklung einer Leukemia Cytogenetics Database (LCD), mit der komplexe zytogenetische Daten flexibel gehandhabt und automatisch ausgewertet werden können. Hierzu wurde eine eigene zytogenetische Nomenklatur für die Zusammenfassung der mittels unterschiedlicher zytogenetischer Techniken generierten Befunde sowie ein Scoresystem für die Bewertung eines komplex aberranten Karyotyps entwickelt. Damit wurde zugleich die Basis für den Austausch und die Analyse von zytogenetischen Befunden im Netzwerk geschaffen. Die spezielle Untersuchungstechnik der 24-Farben-Darstellung von Chromosomen hat sich als wertvoller Bestandteil der zytogenetischen Diagnostik bewährt und ist durch die zentrale Bereitstellung für alle Studienteilnehmer verfügbar. Die online-Abrufbarkeit von zytogenetischen Befunden zur Optimierung der Gesundheitsversorgung geht nach Lösung der datenschutzrechtlichen Probleme mit Beginn 2002 der Realisation entgegen. Erste Schritte zur Qualitätssicherung wurden mit einem dreitägigen Workshop „Tumorzytogenetik – Hämatologische Neoplasien“ sowie mit dem Prototyp eines Internet-Portals zur Weiterbildung auf dem Gebiet der Zytogenetik der Leukämien unternommen.

Zentrale Molekulargenetik und Untersuchung der minimalen Resterkrankung

Th. Raff und M. Kneba (Kiel) für Projekt 6

Als im Zusammenhang mit den Planungen für das „Kompetenznetzwerk akute und chronische Leukämien“ die Idee eines Teilprojektes „Molekulare Genetik minimale Resterkrankung“ als Teil der zentralen Diagnostik Gestalt annahm, waren von Anfang an zwei Zielsetzungen vorgegeben: Zum einen, eine Plattform zu schaffen, mit Hilfe derer sich die auf diesem Gebiet arbeitenden Kollegen über die eingesetzten Methoden die damit erreichbaren Ergebnisse und deren Bedeutung austauschen können (horizontale Vernetzung), zum anderen klinisch tätigen Kollegen und anderen Interessenten kompetente Auskunft und Ansprechpartner anzubieten (vertikale Vernetzung).

Die besondere Situation in diesem Teilprojekt bestand darin, daß – anders als andere diagnostische Methoden – die molekulare Genetik in nur wenigen Jahren den Sprung von einer ausschließlich forschungsorientierten zu einer immer mehr therapie-relevanten Untersuchungsmethode vollzogen hat. Dieser rasanten methodischen Entwicklung hinkte die Organisationsstruktur der diese Untersuchungen durchführenden Laboratorien aber auch die notwendige Validierung der in der Regel unizentrisch an einer kleinen Zahl von ausgewählten Patienten erhobenen Ergebnisse hinterher. Im Rahmen des Kompetenznetzes haben wir daher begonnen, die Methoden schrittweise für einzelne Zielgene sowohl hinsichtlich ihrer Bedeutung als auch hinsichtlich der Übereinstimmung zwischen den Laboren im Rahmen von Ringversuchen zu überprüfen und – wenn nötig – zu optimieren und anzugleichen.

Dies gilt dabei sowohl für die Labor-methodik als auch für die Übermittlung und Interpretation der erhobenen Befunde. Unser Ziel ist es, daß der behandelnde Arzt mit dem Befund eine zuverlässige und verständliche Aussage erhält, die er interpretieren kann, gleich aus welchem Labor das Ergebnis stammt. Die erste in diesem Rahmen untersuchte molekulare Zielstruktur (target) war das bcr-abl Fusionsgen, das sich zur molekularen Diagnostik bei der chronischen myeloischen Leukämie und bei einem Teil der Patienten mit akuter lymphatischer Leukämie eignet. Dabei ist ins-

besondere die im Verlauf der Erkrankung wiederholt bestimmte (Rest-)Last an Tumorzellen, die minimale Resterkrankung (MRD) für den Patienten und den ihn behandelnden Arzt von Bedeutung. Entsprechend wurde in dem unter Federführung von PD Dr. Andreas Hochhaus und Dr. Andreas Weissner, Mannheim, durchgeführten Ringversuch die MRD-Situation durch Beimischen von Zellen einer bcr-abl-positiven Tumorzelllinie in gesundes Spenderblut simuliert. Aufgabe der Labore war es, die Anwesenheit von Tumorzellen im Material nachzuweisen (qualitative Analyse) und die einzelnen Proben hinsichtlich der Tumorzelllast zu ordnen (quantitative Analyse). Bei der Auswertung ließ sich eine erfreulich gute Übereinstimmung der Labors untereinander und sowohl in qualitativer Hinsicht als auch bezüglich der quantitativen Resultate feststellen.

Kritischer Überprüfung bedürfen einzelne Ergebnisse, bei denen trotz fehlender bzw. sehr weniger Tumorzellen im Ausgangsmaterial ein hohes MRD Niveau detektiert wurde. Darüber hinaus sind die quantitativen Daten verschiedener Proben bisher nur direkt vergleichbar, wenn sie in demselben Labor untersucht wurden, so daß auch hier hinsichtlich der Vergleichbarkeit der Daten verschiedener Laboratorien noch Verbesserungsbedarf besteht. Nach erfolgreichem Abschluß dieses Teilprojektes wollen wir als nächstes die Untersuchung der minimalen Resterkrankung bei akuten myeloischen Leukämien optimieren. Abschließend bleibt zu erwähnen, daß wir uns darüber freuen würden, wenn weitere Interessierte, die molekulare Diagnostik bei Leukämien betreiben (wollen), in dem Teilprojekt mitarbeiten.



Informationsstand auf der DGHO/ÖGHO-Jahrestagung

U. Berger (Mannheim) für die Netzwerkzentrale

Das Kompetenznetz Leukämien war auf der Gemeinsamen Jahrestagung der Deutschen und Österreichischen Gesellschaften für Hämatologie und Onkologie vom 30.9. – 3.10.2001 in Mannheim erstmals mit einem Informationsstand vertreten. Mitarbeiter der Netzwerkzentrale informierten zahlreiche interessierte Ärzte, Betroffene und Angehörige über die Ziele und die bisher geleistete Arbeit im Netz. In einer umfangreichen Dia-Präsentation wurden die Inhalte der 26 Teilprojekte vorgestellt.



Der Kompetenznetzstand
v.l. PD Dr. A. Hochhaus, Dr. U. Berger, Prof. Dr. R. Hehlmann

TERMINE

Symposien / Studientreffen

Jahressymposium des Kompetenznetzes „Akute und chronische Leukämien“
Netzwerkkoordinator: Prof. Dr. R. Hehlmann
22.01. – 24.01.2002, DKFZ, Heidelberg

Deutsche ALL-Studiengruppe und AMLCG-Studiengruppe
Prof. Dr. D. Hoelzer, Prof. Dr. Th. Büchner
08.02. – 10.02.2002, Schloß Reinsburg

Gemeinsames Symposium der Kompetenznetze „Leukämien“ und „Lymphome“ anlässlich des 108. Kongresses der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin:
Die Therapie älterer Patienten
Prof. Dr. R. Hehlmann, Prof. Dr. V. Diehl
10.04.2002, 14.30-16.30
Rhein-Main-Hallen Wiesbaden

Deutsche ALL-Studiengruppe
Prof. Dr. D. Hoelzer
05.07.2002, Frankfurt
15.11.2002, Frankfurt

AML-HD Ulm
Prof. Dr. H. Döhner
11.04.2002, Ulm

AML-OSHO-Studiengruppe
Prof. Dr. D. Niederwieser
03.05. – 04.05.2002, Wörlitz

Deutsche CML-Studiengruppe und 11th International Workshop
Prof. Dr. R. Hehlmann
28.06. – 29.06.2002, DKFZ, Heidelberg

Treffen der Süddeutschen Hämoblastose-Gruppe
Prof. Dr. L. Bergmann
03.05.2002, Wiesbaden; 22.11.2002, Tübingen

Kongresse

7th Meeting of the European Haematology Association
Kongresspräsident: Prof. Dr. P.M. Mannucci
06.06. – 09.06.2002, Florenz
Internet: www.eurocongress.com/eha2002

Gemeinsame Jahrestagung der Deutschen und Österreichischen Gesellschaften für Hämatologie und Onkologie
Kongresspräsident: Prof. Dr. W. Hiddemann
26.10.-30.10.2002, München
Internet: www.dgho-muenchen2002.de

IMPRESSUM

Herausgeber:
Kompetenznetz
„Akute und chronische Leukämien“
Koordinator: Prof. Dr. R. Hehlmann
Geschäftsführerin: Dr. U. Berger
Redaktion:
Dr. N. Gökbüget, Prof. Dr. D. Hoelzer
Unter Mitarbeit von:
Dr. U. Berger, PD Dr. A. Böhme, Dr. J. Bradtke, Prof. Dr. Th. Büchner, Prof. Dr. W. Gassmann, Prof. Dr. M. Kneba, Prof. Dr. W.-D. Ludwig, Prof. Dr. A. Neubauer, Dr. Th. Raff, PD Dr. H. Rieder, Dr. R. Schabath, und den Leitern der Studiengruppen im Kompetenznetz
Gestaltung und Realisation:
Schäfer & Partner Werbeagentur
Telefon 06203 107182
www.werbeagentur-schaefer.com
Copyright: Kompetenznetz
„Akute und chronische Leukämien“
Bezugsquelle:
Der Rundbrief erscheint halbjährlich und kann kostenlos bei der Netzwerkzentrale angefordert werden.
Anschrift der Netzwerkzentrale:
Dr. U. Berger
III. Medizinische Universitätsklinik
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Wiesbadener Straße 7-11
68305 Mannheim
Telefon 0621 383 4234/4233
Telefax 0621 383 4239
eMail: zentrale@kompetenznetz-leukaemie.de
Anschrift des Informationszentrums:
Dr. N. Gökbüget
Medizinische Klinik III
Universitätsklinik
Theodor-Stern-Kai 7
60590 Frankfurt
Telefon 069 6301 6365
Telefax 069 6301 7463
eMail: goekbuget@em.uni-frankfurt.de