

---

## Kromosomavvik i solide svulster

---

REDAKSJONELT

HEIM S

---

Cytogenetiske undersøkelser er nå tilgjengelige i Norge

I flere år har cytogenetisk diagnostikk av leukemier og andre neoplastiske beinmargssykdommer vært en integrert del av moderne klinisk praksis også i vårt land (1). Forskningen er nå ved å flytte også solid tumor-cytogenetikken inn i universitetssykehusenes kliniske hverdag, i alle fall hva gjelder bløtvevssarkomer og, i særdeleshet, småcellede, rundcellede tumorer hos barn. For disse svulsters vedkommende kan en kromosomundersøkelse i gitte tilfeller være direkte avgjørende for at korrekt diagnose stilles. I erkjennelsen av dette forhold har vi ved Det Norske Radiumhospital satt opp solid tumor-cytogenetikk til klinisk bruk og informert kolleger ved regionsykehusene om at denne mulighet for diagnostikk nå foreligger. Virksomheten vil drives i nært samarbeid med tilsvarende forskning ved vår og andre institusjoner, hvilket er en forutsetning for at man hele tiden kan være i forkant hva gjelder valg av undersøkelsesmetoder og påliteligheten i vurderingen av de funn som gjøres.

Det er i dag bred enighet om at den somatiske mutasjonsteori gir den beste forklaringsmodellen for karsinogenese. Det er ervervede, stabile forandringer av arvestoffet i en eller flere kroppsceller (mutasjoner) som forårsaker at disse enten deler seg for hyppig eller ikke dør unna i en takt som bevarer balansen i vevet. Dermed oppstår en svulst. Noen av disse mutasjonene er så små at de ikke direkte kan studeres med annet enn DNA-kjemiske teknikker, men forbausende mange kan oppdages på cytogenetisk nivå. I praktisk talt alle typer svulster som er undersøkt, har man kunnet vise at slike kromosomale mutasjoner ikke er tilfeldig fordelt i genomet, men tvert imot involverer bestemte regioner i rearrangementer som ofte er meget karakteristiske for angjeldende svulsttype (2). Studiet av ervervede cytogenetiske forandringer i neoplastiske celler gir derfor ikke bare informasjon om hvilke tumorfremkallende mekanismer som benyttes, men åpner også for klinisk bruk av avviksmønsteret i diagnostikken. Inntil for få år sidentrodde man at dette gjaldt bare for hematologiske maligniteter, men tilsvarende forskning på solide svulster har nå kommet langt nok til at man også for disse kan hevde at tumors karyotype er en vesentlig både biologisk og klinisk parameter.

---

## Patogenetisk informasjon av solid tumor-cytogenetikk

Mutasjoner oppdaget på cytogenetisk nivå, kan enten være numeriske, hvilket betyr at hele kromosomkopier er kommettil eller tapt fra cellen, eller de kan representere strukturelle rearrangementer. Mens de numeriske avvikene alltid er ubalanserte, kan strukturelle forandringer også være balanserte, dvs. at kromosommorfologien er endret uten at dette har ført til netto tap eller gevinst av genetisk materiale. De vanligste balanserte strukturelle kromosomavvikene er translokasjoner (segmenter fra to eller flere kromosomer bytter plass) og inversjoner (rotasjon 180. av et segment innen samme kromosom). De viktigste ubalanserte kromosomavvikene er delesjoner, der et større eller mindrekromosomsegment er helt tapt fra cellen.

For to av disse tre prinsipielt forskjellige kromosomavvikene (relokasjon, tap eller gevinst av genetisk materiale) har vi gode forklaringer på DNA-nivå for hvordan de kan ha en onkogenetisk effekt. Ervervede balanserte translokasjoner og inversjoner i tumorceller kan aktivere protoonkogener til aktive onkogener. Dette kan skje enten ved at reguleringen av protoonkogenlocus modifiseres slik at det for øvrig normale allelet blir hyperaktivt, eller to loci kan fusjoneres til ett hybridlocus som produserer et kvalitativt nytt, onkogen proteinprodukt. Tap av genetisk materiale i tumorceller, enten det skjer gjennom delesjoner, ubalanserte translokasjoner eller tap av hele kromosomer, tror man virker gjennom tap av et locus for et antionkogen eller tumorsuppressorgen. Flere eksempler på onkogenaktivering og tap av tumorsuppressorgener kjennes fra både hematologiske og solide svulster, og det er ikke lenger grunn til å betvile at dette er viktige tumorigene mekanismer.

Men også tilkomst av genetisk materiale er en hyppig forandring i svulstceller. For amplifikasjoner av mindre områder er standardhypotesen at disse inneholder et onkogen og at det økede allelantall som amplifikasjonen leder til, også gir økte mengder onkogenprodukt. Men hva med de aller vanligste tilfellene, der man har en eller noen få kopier for mye av større delen av en kromosomarm eller et helt kromosom? Er virkelig den eneste betydningen av dette at antallet kopier i cellen av et bestemt protoonkogen øker fra to til tre eller fire? Sannheten er at vi i dag ennå ikke vet hvordan kromosomal ubalanse påvirker cellefysiologien, og det er fullt mulig at man må ty til mer kompliserte forklaringer enn de som fokuserer på effekten på ett enkelt gen.

Ofte inneholder svulstceller ikke ett, men mange kromosomavvik, hvilket er det karyotypiske beviset på at tumorigenese som regel er en flertrinnsprosess. I noen tumorer inneholder alle svulstceller samme kromosomavvik, men ikke sjelden finnes til dels betydelig variasjon, intratumor karyotypisk heterogenitet. Mens kjemiske teknikker forutsetter teoretiske gjennomsnittsceller, viser cytogenetiske undersøkelser hvordan forholdene er i virkelige enkeltceller (3). Derfor kan kromosombildet gi en god pekepinn om hvorvidt heterogeniteten oppstod primært (polyklonalt tumorigenese; de ulike karyotypisk abnorme klonene har intet felles kromosomavvik) eller om den oppstod sekundært under den klonale evolusjonen (i dette tilfellet har alle klonene samme primære kromosomavvik, mens de kan variere hva gjelder sekundærforandringene).

---

## Diagnostisk informasjon av solid tumor-cytogenetikk

For flere leukemi- og lymfomtyper vet vi at den diagnostiske karyotypen er meget karakteristisk, endogpatognomonisk, men er det ikke slik at kromosomavvikene i solide kreftsvulster er altfor komplekse og omfattende til at de kan brukes klinisk til noe som helst? Inntil for få år siden trodde de fleste at svaret på dette spørsmålet var ja. I dag vet man imidlertid at ikke alle karsinomer og sarkomer har en kaotisk kromosomprofil, men tvert imot relativt enkle karyotyper, og at mange av dem har et mønster som i informasjonsverdi ikke står noe tilbake for de sammenhengene vi kjenner fra hematologien (2).

Kanskje de sikreste cytogenetisk-patologiske korrelasjonene er funnet for småcellede, rundcellede svulster hos barn, en tumorgruppe der den fenotypiske differensialdiagnostikken ofte er uhyre vanskelig, men der samtidig en eksakt diagnose kan være avgjørende for valg av behandling. Flere av entitetene innen denne gruppen har meget typiske kromosomavvik. Mens Ewings sarkom har en spesiell translokasjon mellom kromosomene 11 og 22,  $t(11;22)(q24;q12)$ , eller isjeldne tilfeller variantranslokasjoner mellom kromosomene 22 og 21 eller 22 og 7, har primitive neuroektodermaletumorer ofte i (17q) (dette er et såkalt isokromosom som består av to kopier av den lange armen av kromosom 17, mens derimot den korte armen er tapt).

Videre har alveolære rhabdomyosarkomer en translokasjon mellom kromosomene 2 og 13, neuroblastom har delesjon i den korte armen av kromosom 1, mange hemangioepitheliomer har rearrangement av den lange armen av kromosom 12, gjerne i form av en translokasjon med kromosom 19, og non-Hodgkins lymfomer har ofte rearrangementer av kromosom 14. Blant de mest aktuelle differensialdiagnosene er det faktisk bare uddifferensiert osteosarkom som ennå ikke har noen kjente kromosommarkører som positivt kan benyttes diagnostisk.

Også mange andre maligne og benigne bein- og bløtvevssvulster har en karakteristisk karyotype. Det samme gjelder for flere epiteliale tumorer, inklusiv kvantitativt viktige kreftformer som brystkreft og tykktarmskreft (2). Enn så lenge er det imidlertid klart at det er for sarkomene at den diagnostiske nytten av kromosomundersøkelser er størst. Spesielt gjelder dette de uddifferensierte svulster hos barn. Foreløpig har vi for få data til å vite om tumorkaryotypen gir noen prognostisk informasjon utover den informasjonen vi får fra forbedret diagnostikk. For leukemier og lymfomer har imidlertid den diagnostiske karyotypen vist seg å være en uavhengig prognostisk parameter (2), og jeg synes ikke det er noen biologisk gode grunner til å vente noe annet for solide svulster.

---

# Cytogenetisk eller DNA-rekombinant teknikk: Hva skal man velge?

I den beste av alle verdener må det rette svaret så avgjort bli det Ole Brummske: Ja takk, begge deler. I tillegg til viktige praktiske forskjeller og den åpenbare ulikhet mellom de cytogenetiske og molekylærgenetiske tilnæringsmåtene som ligger i at de studerer enheter av forskjellig størrelse, er et annet aspekt minst like viktig: Spesifisiteten i undersøkelsene er vesensforskjellig. Mens båndfargingsanalyse av kromosomer er en screeningmetode, gir molekylærgenetiske undersøkelser kun informasjon om de spesielle forandringer som de anvendte prøber kan oppdage. DNA-rekombinantteknikken gir altså en dypere kunnskap. Den gir en beskrivelse på et detaljnivå som rett nok er uomgjengelig nødvendig for å forstå de molekylære mekanismene bak ervervede mutasjoner i kreftceller, og som er helt uoppnåelig med cytogenetiske metoder alene. Til gjengjeld er denne teknikken dessverre oftest begrenset til bare en eller få deler av mutasjonsspekteret. PCR- eller Southern blot-basert diagnostikk av selve det tumorigene rearrangementet er nå mulig for flere sarkomspesifikke translokasjoner (for eksempel påvisning av EWS/FLI1-fusjonsgenet ved Ewings sarkom og SSX1/SYT- eller SSX2/SYT-fusjonsgenet ved synovialt sarkom). Likevel oppnåes den mest uselekterte informasjonen og den største diagnostiske sikkerheten ved initialt å undersøke med cytogenetisk båndfargingsteknikk. Som overalt ellers i medisinsk diagnostikk: Det lønner seg å gå fra det store til det små, fra det globale til det spesifikke; man må ikke falle for fristelsen til å konsentrere seg om en detalj før man vet at det nettopp er denne som er viktigst.

Tilkomsten av ulike nye teknikker i grenselandet mellom "klassisk" cytogenetikk og molekylærgenetikk endrer ikke prinsipielt denne vurderingen. Fluorescerende in situ hybridisering er like spesifikk som blot-basert molekylærgenetiske teknikker, med de fordeler og ulemper som dette uvegerlig innebærer. Komparativ genomhybridiseringer derimot er en genuin screeningsteknikk, men oppdager kun genomiske ubalanser, ikke balanserte translokasjoner. For disse og andre nyvinninger gjelder derfor at de kan brukes i tillegg til den grunnleggende cytogenetiske utredningen av tumors aberrasjonsprofil, men de kan ikke erstatte denne.

*Sverre Heim*

---

## LITTERATUR

1. Møller P, Brøgger A. Cytogenetisk diagnostikk ved leukemi. Tidsskr Nor Lægeforen 1992; 112: 2073-7.
2. Heim S, Mitelman F. Cancer cytogenetics. 2. utg. New York: Wiley-Liss, 1995.
3. Heim S. Is cancer cytogenetics reducible to the molecular genetics of cancer cells? Genes chromosomes cancer 1992; 5: 188-96.
4. Mertens F, Mandahl N, Mitelman F, Heim S. Cytogenetic analysis in the examination of solid tumors in children. Pediatr Hematol Oncol 1994; 11: 361-77.

---

Publisert: 20. august 1996. Tidsskr Nor Lægeforen.

