

# ***Abschlussbericht des Aachener Registers für Telomeropathien und aplastische Syndrome***

## **Inhaltsverzeichnis**

Einleitung und Rationale des Registers:.....	2
Einleitung:.....	2
Was sind Telomeropathien ? .....	3
Warum ist es wichtig eine Telomeropathie zu identifizieren ?.....	4
Wie kann man eine Telomeropathie diagnostizieren ?.....	4
Warum besteht die Notwendigkeit eines Registers ? .....	6
Ergebnisse:.....	7
Struktur und Aufbau des Registers:.....	7
Stand des Registers:.....	11
Screening Algorithmus: .....	13
Zusammenfassung und Ausblick des bisherigen Projekts: .....	14
Publikationen und Kongressbeiträge (Stand September 2016):.....	15

## Einleitung und Rationale des Registers:

### Einleitung:

Telomere stellen die Enden linearer Chromosomen dar und bestehen in Vertebraten aus repetitiven (TTAGGG)<sub>n</sub> Sequenzen. Aufgrund des sog. „End-Replikationsproblems“ verkürzen sich die Telomere mit jeder Teilung um schließlich (bei Erreichen einer kritischen Länge) aufgrund zunehmender genetischer Instabilität eine DNA-Schadensantwort zu induzieren, in deren Folge die Zellen die Teilungsaktivität einstellen und entweder in einen postmitotischen Ruhezustand (Seneszenz) eintreten oder den programmierten Zelltod (Apoptose) durchlaufen. Damit besitzen die Telomere eine Tumorsuppressorfunktion, d.h. sie hindern eine Zellen daran, bösartig zu entarten. Normale somatische Zellen können sich ca. 40-60 teilen bevor sie sich auf Grund des sogenannten „Hayflick-limits“ aufhören sich zu teilen. Stammzellen müssen sich jedoch weit häufiger teilen und können ihre Telomerlänge mit Hilfe des Enzyms „Telomerase“, welches in der Lage ist, Telomer-DNA *de novo* zu synthetisieren und damit die Telomerlänge zu stabilisieren, zumindest teilweise aufrecht erhalten.

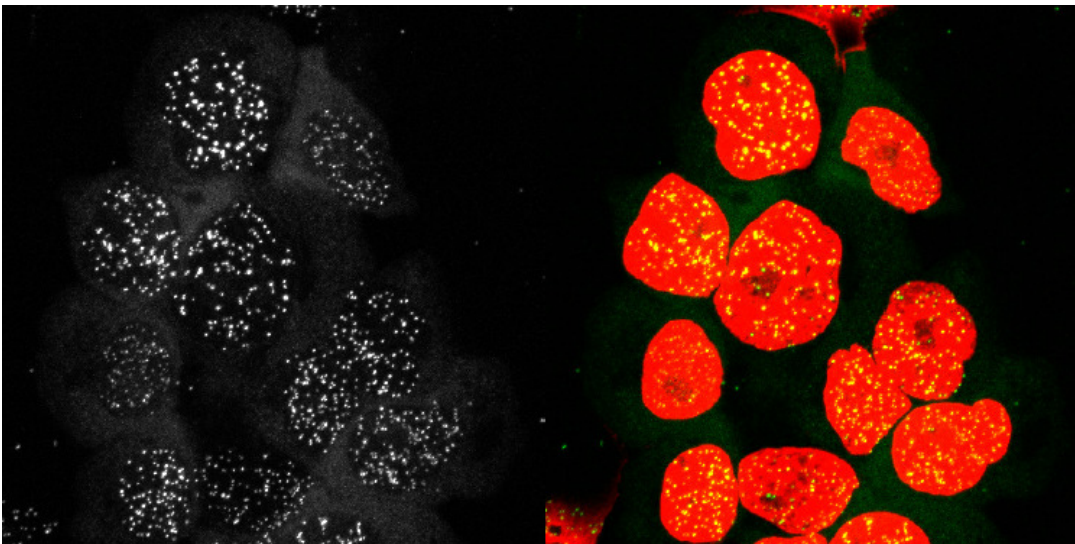


Abbildung 1: Beispiel von Telomeren in einer Zelle

## Was sind Telomeropathien ?

Die Telomeropathien stellen eine seltene Erbkrankheit dar, die durch eine gestörte „Telomerhomöostase“ gekennzeichnet ist. In Abhängigkeit vom jeweiligen, spezifischen Vererbungsmodus sind hierbei entweder Untereinheiten der Telomerase (hTERC oder hTERT) oder die Telomerase bindende Proteine (*DKC1*, *NHP2*, *NOP10* und *TINF2*) genetisch so verändert, sodass es zu einer akzelerierten, d.h. beschleunigten Telomerverkürzung und vorzeitigen Alterserscheinungen insbesondere des blutbildenden Systems aber auch der Haut, Schleimhäute und der Nägel kommt. Die oben erwähnten Kandidatengene werden für 50% der Fälle von Telomeropathien verantwortlich gemacht. Die Telomeropathien können in drei Krankheitsvarianten eingeteilt werden:

1.) Die *klassische Variante*, auch Dyskeratosis congenita genannt: Klinisch zeigen die Patienten im Jugendalter bzw. jungen Erwachsenenalter (bis zum ca. 40 Lebensjahr) ein aplastisches Syndrom mit Knochenmarksversagen (ein sogenanntes hereditäres aplastisches Syndrom), Hautveränderungen (Nageldystrophie, Leukoplakie und Pigmentstörungen) und ein deutlich erhöhtes Krebsrisiko.

2.) Die *schwerverlaufende Variante*, auch Revesz-Syndrom, Hoyeraal-Hreidarsson-Syndrom genannt: Klinisch zeigen die Patienten im frühen Kindesalter ein aplastisches Syndrom mit Knochenmarksversagen und häufig eine cerebelläre Hypoplasie und Wachstumsstörungen.

3.) Die *kryptische Variante*: Klinisch zeigen die Patienten im späteren Erwachsenenalter nur ein Symptom der DKC, d.h. am häufigsten ein **alleiniges aplastisches Syndrom** mit Knochenmarksversagen, aber auch eine Lungenfibrose oder eine Leberfibrose. Zusätzlich ist die DKC auch mit einem hochsignifikant erhöhten Auftreten von, bezogen auf das Lebensalter, deutlich zu früheres Auftreten von bösartiger Erkrankungen des hämatopoetischen Systems gekennzeichnet.

## **Warum ist es wichtig eine Telomeropathie zu identifizieren ?**

Es wird heute davon ausgegangen, dass auch einer Reihe von Erkrankungen (aplastische Syndrome, Lungenfibrosen, Leberzirrhose, MDS, Kopf-Hals-Tumore, etc) des Erwachsenenalters in Wirklichkeit ein gestörter Telomererhalt im Sinne einer Telomeropathie zugrunde liegen.

Die Identifikation von Telomeropathiepatienten ist klinisch von äußerstem Nutzen. Am Beispiel von vermeintlich erworbenen „Aplastischen Syndromen“ ist dies bisher am besten gezeigt. Im Gegensatz zu Patient mit einer „idiopathischen aplastischen Anämie“ liegt bei diesen Patienten kein Autoimmunangriff auf die eigenen Blutstammzellen vor, der die Symptome verursacht. Bei Telomeropathien liegt eine Multisystemerkrankung vor, d.h. eine Erkrankung, die den gesamten Körper betrifft. Diese Patienten werden typischerweise eher nicht auf eine immunsuppressive Therapie (wie sie man sie bei der typischen, erworbenen AA erfolgreich durchführt) ansprechen.

Telomeropathiepatienten benötigen andere Therapieformen. Dies kann zum einen eine allogene Stammzelltransplantation sein, welche die nicht mehr teilungsfähigen blutbildenden Stammzellen ersetzen kann. Die korrekte Identifikation und Diagnostik einer Telomeropathie ist hier von besonderer Bedeutung, da betroffene Patienten besonders empfindlich auf einige verwendete Transplantationsprotokolle reagieren und diese entsprechend angepasst werden müssen.

Zusätzlich besteht noch die Möglichkeit die Telomerase mittels Testosteronderivaten zu stimulieren und somit die Telomeraseaktivität medikamentös zu erhöhen. Diese neue Therapieform ist äusserst vielversprechend, da sie die Ursache der Erkrankung nämlich die verminderte Telomeraseaktivität behandelt.

Zusammenfassend ist eine Identifikation von Patienten mit Telomeropathie klinisch von grösster Relevanz für die Einleitung der korrekten Therapie und zur Vermeidung von Nebenwirkung bzw. Therapietoxizitäten.

## **Wie kann man eine Telomeropathie diagnostizieren ?**

Die aktuell beste zur Verfügung stehende Methode zur Telomerlängenbestimmung ist der sogenannte flow-FISH. Die Kombination aus *Fluoreszenz in situ Hybridisierung*

(FISH) und Durchflusszytometrie erlaubt eine genaue Bestimmung der Telomerlänge in den Lymphzyten und Granulozyten des peripheren Blutes. Die Technik ist in Aachen etabliert und wird aktuell regelhaft zur Telomerlängenmessung eingesetzt. Die Technik nutzt die Eigenschaft der Erkankung zu einer vorzeitigen Telomerverkürzung zu führen. Einer Telomeropathie zeigt verkürzte Telomere im Vergleich zur gesunden Normalbevölkerung (siehe Abbildung 2). Diese liegen regelhaft unterhalb der sogenannten 1% Percentile. Diese besonders ausgeprägte Telomerverkürzung gegenüber den altersadaptierten Referenzwerten, macht man sich diagnostisch zu Nutze.

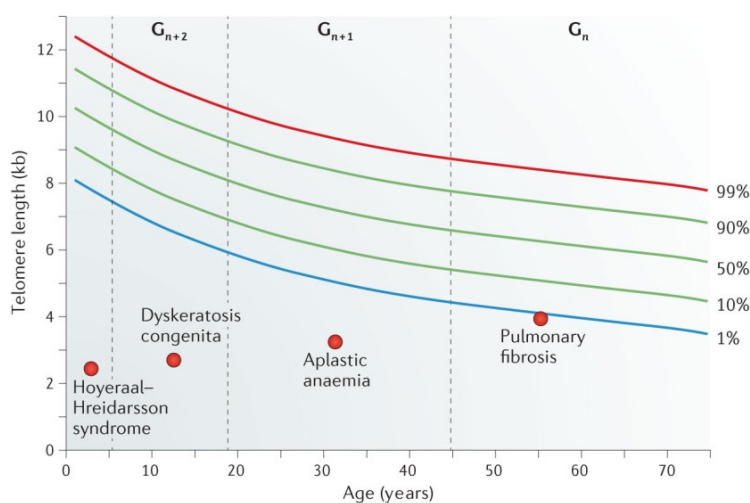


Abbildung 2: Telomerlängenscreening (aus Armanios et al. Nat Rev. Gen. 2013)

Zusätzlich zum Flow-FISH, welche die funktionelle Auswirkung im Sinne einer vorzeitigen Telomerverkürzung einer Telomeropathie-auslösenden Mutation untersucht, kann zusätzlich eine genetische Mutationsanalyse erfolgen. Diese wird häufig mittels „next generation sequencing“ (NGS) durchgeführt. Hierbei kann man meist bis zu 10 Gene und mehr gleichzeitig in einem 1 Patienten zielsicher auf eine mögliche Telomeropathie-auslösende Mutation untersuchen.

## **Warum besteht die Notwendigkeit eines Registers ?**

Das bisher verfügbare Wissen über Telomeropathien, deren Verlauf, die Prognose und bestmögliche Behandlung basiert auf sehr kleinen Fallzahlen und Einzelfallberichten. Ziel dieses Registers ist es neben der Verbesserung der Diagnostik und der diagnostischen Kriterien einer Telomeropathie auch das zusätzliche Wissen über Patientencharakteristica, Therapiemöglichkeiten, deren Verlauf und Erfolg zu sammeln.

Die gewonnenen Erkenntnisse werden zum einen publiziert und somit dem Fachpublikum zu Verfügung gestellt. Zum anderen soll den betroffenen Patienten und den betreuenden Ärzten ein zentraler Anlaufpunkt zu Verfügung stehen, an dem einerseits Rat und Expertenmeinung eingeholt werden können und andererseits auf die durch das Register gewonnene Expertise zurückgriffen werden kann.

## Ergebnisse:

### Struktur und Aufbau des Registers:

Beginn der Registrierung und Start der Rekrutierung erfolgte ab dem November 2014. Aktueller Stand des Registers (15.09.2014) wurden 187 Patienten auf eine Telomeropathie hin gescreent. Bei kontinuierlichen Rekrutierungszahlen gehen wir aktuell von knapp 10 gescreenten Patienten pro Monat aus (s. auch Abbildung 3).

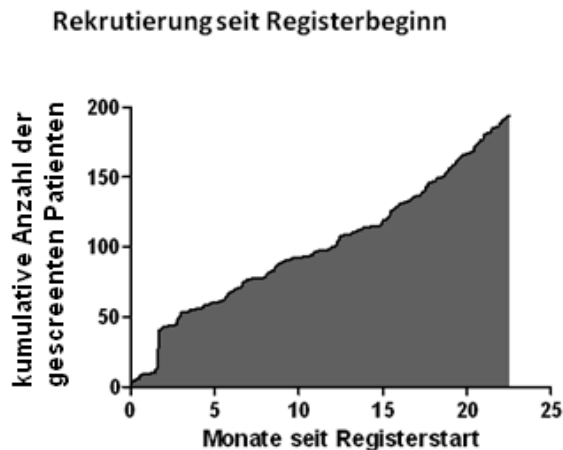


Abbildung 3: Registerrekrutierung seit Start des Registers November 2014

Aktuell verantwortlich für die Komplettierung des klinischen Registers und Komplettierung der klinischen Daten sind am Universitätsklinikum Dr. med. Fabian Beier, Anne-Sophie Bouillon als wissenschaftliche Mitarbeiterin der Med. Klinik IV (Hämatologie und Onkologie) der Uniklinik Aachen und Insa Halfmeyer als medizinische Doktorandin.

Die Einsendung des Registers ist bis dato aus 51 verschiedenen Klinik erfolgt. Die Uniklinik Aachen hat hierbei 37 % der Proben beigetragen, 42 % kamen aus universitären Häusern/Einrichtungen und 21 % kamen aus nicht-universitären Einrichtungen (siehe Abbildung 4).

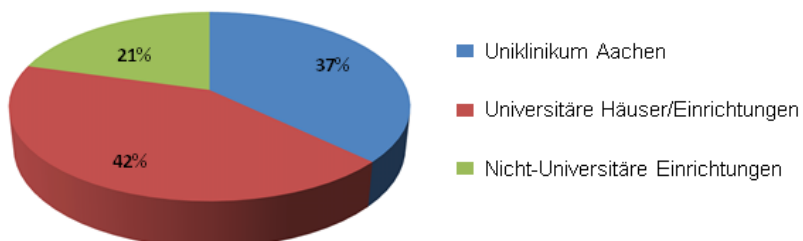


Abbildung 4: Herkunft der Proben

Die genaue Auflistung der einzelnen Einsender finden sich in der folgenden Tabelle (Tabelle 1). Aktuell nehmen an dem Register mehrheitlich Einsender aus Deutschland teil (47/51 Einsender) sowie 2 Einsender aus Österreich und 2 aus der Schweiz.

<b>Universitäre Einsender</b>	<b>Nicht-universitäre Einsender</b>
Uniklinik Aachen	KH Asklepios St. Georg
Charite	KH Bad Bramstedt
Uniklinik Dresden	KH Berlin
Uniklinik Erlangen	KH Chemnitz
Uniklinik Essen	KH Deggingen
Uniklinik Frankfurt	KH Dortmund
Uniklinik Freiburg	Gemeinschaftsklinikum Mittelrhein
Uniklinik Giessen und Marburg	KKH Göppingen
Uniklinik Eppendorf	KH Hamburg
MH Hannover	KH Heilbronn
Uniklinik Heidelberg	Klinikum Potsdam
Uniklinik Saarland	KH St. Vincent Limbur
Uniklinik Mainz	KH Krefeld
Uniklinik Regensburg	KH Leer
Uniklinik Halle	Marienhospital Düsseldorf
Uniklinik Kiel	Prosper-Hospital Recklinghausen
Uniklinik Köln	Rems-Murr-Kliniken Winnenden
Uniklinik Ulm	Robert-Bosch KH Stuttgart
Uniklinik Jena	Städtisches Klinikum Karlsruhe
Uniklinik Mannheim	Ulm Blutspende
Uniklinik Graz	KH Wetzlar
Uniklinik Salzburg	Städtisches Spital Zürich
Universitätsspital Zürich	Kantonsspital Glarus
	Städtisches KH München
	Klinikum Bad Bramstedt
	MVZ Mönchengladbach

*Tabelle 1: Liste der bisherigen Einsender (Stand September 2016)*



Die universitären Einsender sind in der folgenden Abbildung mit den dazugehörigen Einsendungszahlen aufgeführt (Abbildung 5).

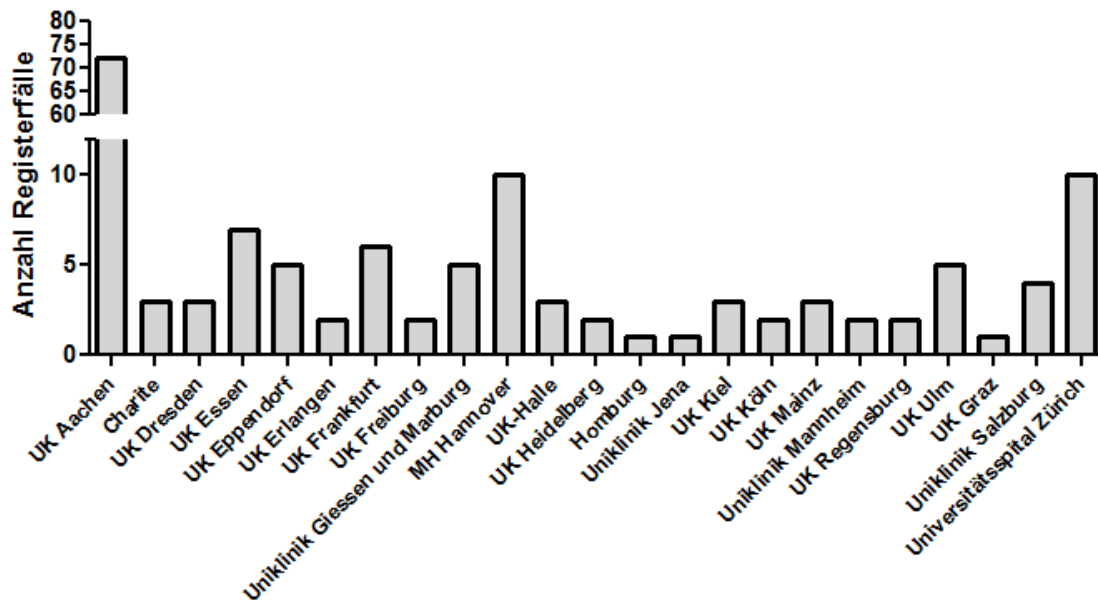


Abbildung 5: Zahl der eingesandten Proben der universitären Einsender

Die nicht-universitären Einsender sind wie folgt in Abbildung 6 aufgeführt.

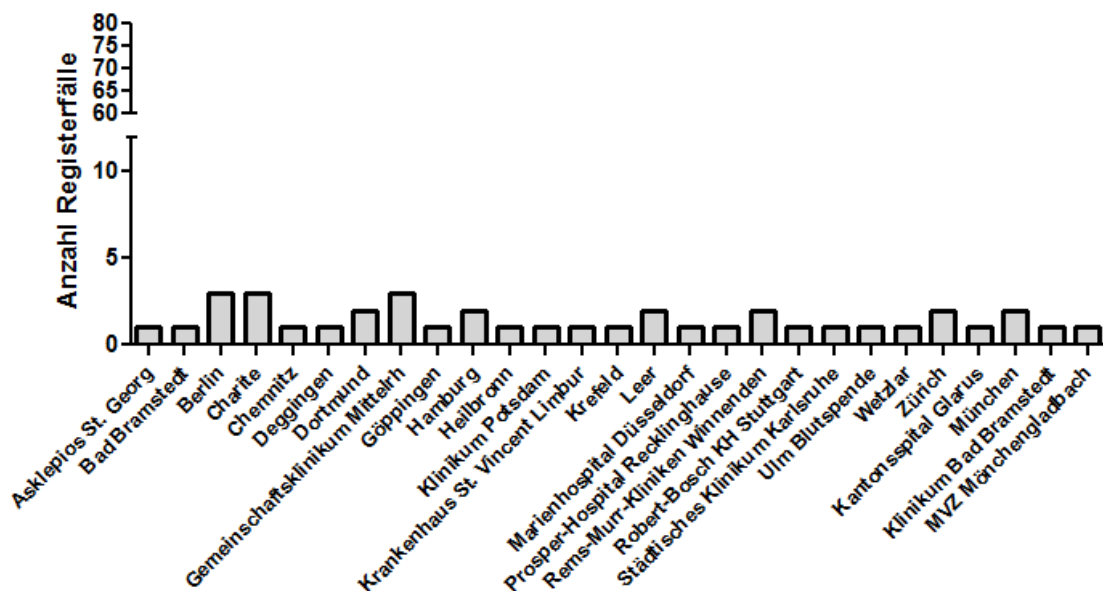


Abbildung 6: Zahl der eingesandten Proben der nicht-universitären Einsender

In der folgenden Abbildung (Abbildung 7) ist die geographische Verteilung der Einsender im deutschsprachigen Raum aufgezeichnet.



Abbildung 7: Überblick über die geografische Herkunft der Proben

## Stand des Registers:

Hinsichtlich der zugesandten Einsendediagnosen ergab sich folgende Aufschlüsselung anhand der Eingangsd Diagnosen: 39 % Aplastische Anämie, 9 % Telomeropathie (hochgradiger klinischer Verdacht auswärtiger Mutationsnachweis, Familienscreening), 5 % Paroxysmale Nächtliche Hämoglobinurie, 10 % Myelodysplastisches Syndrom, 3 % Akute Myeloische Leukämie, 6 % Kopf-/Hals-Tumore, 11 % unklare Zytopenie, 17 % andere weitere Erkrankungen (Diamond-Blackfan-Anämie, Dubowitz-Syndrom, Idiopathische Lungenfibrose etc.).

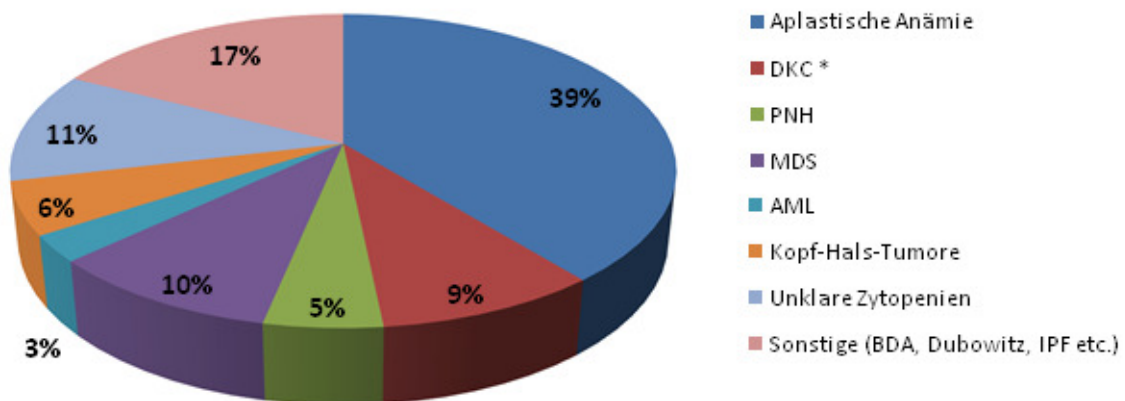


Abbildung 8: Häufigkeit der Einsendediagnosen

In der folgenden Abbildung ist als Zeitachse der bisherige Etablierungsverlauf des Registers aufgezeigt. Als wichtige Neuerung ist die Etablierung des next generation sequencing für Telomeropathie Ende 2015 in unserer Abteilung zu nennen sowie die Etablierung einer interdisziplinären Telomeropathie-Sprechstunde im August 2016.

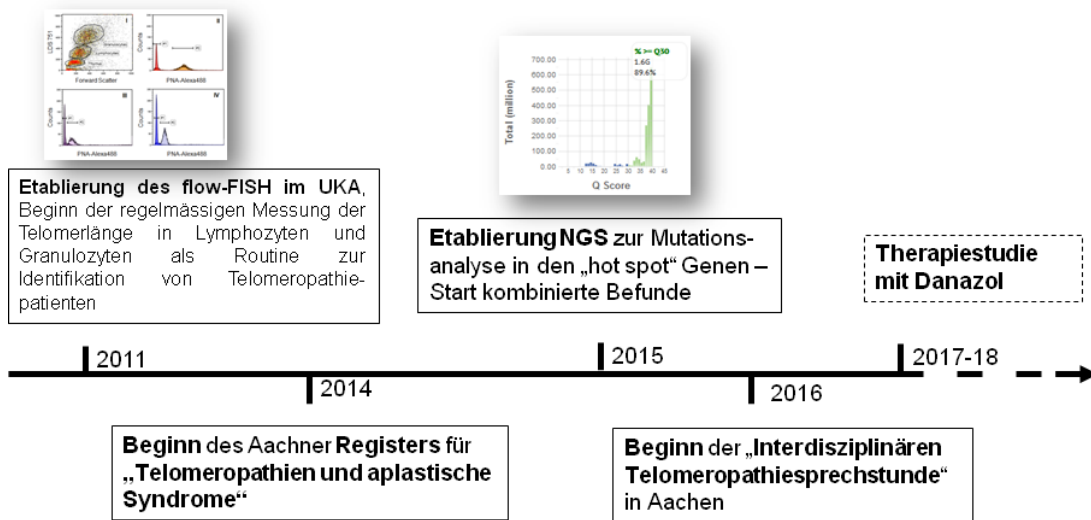
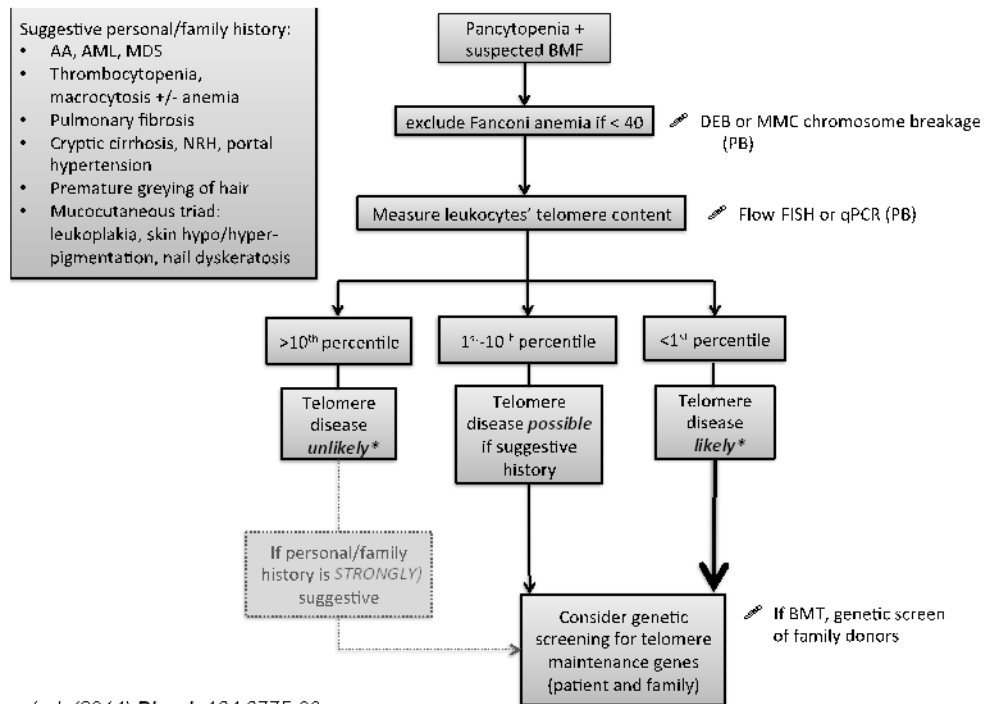


Abbildung 9: Zeitachse der bisherigen Registerentwicklung mit den wichtigsten Meilensteinen

## Screening Algorithmus:



Townsley et al. (2014) *Blood* 124:2775-83  
 siehe auch: *Onkopedia Leitlinie AA 2013*

Abbildung 10: Übersicht des bisher angewandten Screening Algorithmus

Aktuell wird von uns der Screeningalgorithmus von Townsley et al. (Abbildung 14) als einziger bisher publizierter Algorithmus verwendet. Ziel ist es demnächst einen eigenen, speziell für Erwachsene angepassten Algorithmus zu verwenden.

## **Zusammenfassung und Ausblick des bisherigen Projekts:**

In dem bisherigen von Lichterzellen geförderten Projekt konnte erfolgreich ein Register für eine seltene Entität etabliert werden. Aufgrund der völlig unklaren Inzidenz von Telomeropathien erfolgte eine breite Definition der Erkrankung, um keine Verdachtsfälle aufgrund einer zu eng gefassten Definition zu verpassen.

Zusammen mit dem funktionellen Screening mittels Telomerlänge und der genetischen Diagnostik per NGS wurde eine interdisziplinäre Sprechstunde zur Beratung und Betreuung von Telomeropathie-Patienten gegründet. In dieser Sprechstunde an der Uniklinik Aachen ist ein interdisziplinäres Behandlungskonzept unter Einschluss von Pulmonologen, Pädiatern, Dermatologen, Gastroenterologen, Hämato-Onkologen und Humangenetikern angedacht und somit eine optimalste Betreuung der Patienten möglich. Im weiteren zeitlichen Horizont ist eine klinische Studie zur prospektiven Evaluierung möglicher zielgerichteten Therapien, insbesondere mit Danazol, aktuell in Planung. Ziel ist es, Diagnostik, Register und Therapiestudien in einem Zentrum unterzubringen.

## **Publikationen und Kongressbeiträge (Stand September 2016):**

*Selten sofort erkannt: Zytopenien als Erstmanifestation einer Telomeropathie im Erwachsenenalter.* Schmitt K, Beier F, Panse P, Brümmendorf TH, **Deutsche Medizinische Wochenschrift**, Epub November 2016

*DNA methylation in PRDM8 is indicative for dyskeratosis congenita.* Weidner CI, Lin Q, Birkhofer C, Gerstenmaier U, Kaifie A, Kirschner M, Bruns H, Balabanov S, Trummer A, Stockklausner C, Höchsmann B, Schrezenmeier H, Wlodarski M, Panse J, Brümmendorf TH, Beier F, Wagner W. **Oncotarget**. 2016 Mar 8;7(10):10765-72

*“Oral cavity carcinomas as primary manifestation of telomere maintenance disorders (telomeropathies)”.* Beier F, Schmitt K, Bouillon AS, Hasenbank C, Vankann L, Wiltfrang J, Hoffmann T, Fietkau R, Panse J, Brümmendorf TH **Jahrestagung der Deutschen, Österreichischen und Schweizerischen Gesellschaften für Hämatologie und Medizinische Onkologie** 2016 in Leipzig

*“Case report: a patient with acute myeloid leukemia and dyskeratosis congenita undergoing allogeneic stem cell transplantation: implications for treatment”.* Bouillon AS, Beier F, Ferreira MS, Kersten A, Küpper K, Schemionek S, Crysandt M, Silling G, Panse J, Wilop S, Brümmendorf TH, Jost E **Jahrestagung der Deutschen, Österreichischen und Schweizerischen Gesellschaften für Hämatologie und Medizinische Onkologie** 2016 in Leipzig

*Knochenmarkversagen: Wir sehen nur die "Spitze des Eisbergs"* Brümmendorf TH **Jahrestagung der Deutschen, Österreichischen und Schweizerischen Gesellschaften für Hämatologie und Medizinische Onkologie** 2016 in Leipzig