

## Kosten-optimierte sequentielle Anwendung von klinischen Kriterien, Immunhistochemie und Mikrosatellitenanalyse in der molekularen Diagnostik des erblichen nicht-Polyposis-assoziierten kolorektalen Karzinoms

Engel C<sup>1</sup>, Forberg J<sup>1</sup>, Holinski-Feder E<sup>2</sup>, Pagenstecher C<sup>3</sup>, Plaschke J<sup>4</sup>, Kloor M<sup>5</sup>, Poremba C<sup>6</sup>, Pox CP<sup>7</sup>, Rüschoff J<sup>8</sup>, Keller G<sup>9</sup>, Dietmaier W<sup>10</sup>, Rümmele P<sup>10</sup>, Friedrichs N<sup>11</sup>, Mangold E<sup>3</sup>, Büttner R<sup>11</sup>, Schackert HK<sup>4</sup>, Kienle P<sup>12</sup>, Stemmler S<sup>13</sup>, Möslein G<sup>14</sup>, Löffler M<sup>1</sup>, für das Verbundprojekt "Erblicher Darmkrebs" der Deutschen Krebshilfe

<sup>1</sup>Institut für Medizinische Informatik, Statistik und Epidemiologie, Universität Leipzig, Deutschland

<sup>2</sup>Institut für Humangenetik, Ludwig-Maximilians-Universität München, Deutschland

<sup>3</sup>Institut für Humangenetik, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Deutschland

<sup>4</sup>Abteilung Chirurgische Forschung, Technische Universität Dresden, Deutschland

<sup>5</sup>Abteilung für Angewandte Tumorbiologie, Pathologisches Institut, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Deutschland

<sup>6</sup>Institut für Pathologie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Deutschland

<sup>7</sup>Medizinische Klinik, Knappschafts-Krankenhaus Bochum-Langendreer, Ruhr-Universität Bochum, Deutschland

<sup>8</sup>Institut für Pathologie, Klinikum Kassel, Deutschland

<sup>9</sup>Institut für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie, Klinikum rechts der Isar, Technische Universität München, Deutschland

<sup>10</sup>Institut für Pathologie, Universität Regensburg, Deutschland

<sup>11</sup>Pathologisches Institut, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Deutschland

<sup>12</sup>Chirurgische Klinik, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Deutschland

<sup>13</sup>Institut für Humangenetik, Ruhr-Universität Bochum, Deutschland

<sup>14</sup>St. Josefs-Hospital Helios-Klinik Bochum-Linden, Deutschland

christoph.engel@imise.uni-leipzig.de

**Einleitung und Fragestellung:** Das erbliche nicht-Polyposis-assoziierte kolorektale Karzinom (HNPCC, "Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer") ist eine autosomal-dominant vererbte Tumordisposition mit hoher Penetranz. Charakteristisch für das Syndrom ist das familiär gehäufte und frühe Auftreten von überwiegend rechtsseitig lokalisierten kolorektalen Karzinomen, sowie von Karzinomen anderer Organlokalisationen (Endometrium, Nierenbecken und ableitende Harnwege, Dünndarm, aber auch Magen, Ovarien, Gallengang, Gehirn und Haut). Tumoren von HNPCC-Patienten zeigen häufig eine Mikrosatelliten-Instabilität, die auf Replikationsfehler während der Tumorgenese schließen lässt. In einem Teil der Patienten findet man pathogene Keimbahnmutationen in Genen, die für Proteine des DNA-Mismatch-Reparatur (MMR)-Systems kodieren (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*). Die Identifikation von Keimbahnmutationen in solchen Familien ist von großer Bedeutung, da sie die gezielte molekulargenetische Testung von nicht erkrankten Familienmitgliedern und damit deren gezielte Zuführung in engmaschige Früherkennungsprogramme erlaubt. Aufgrund der derzeit hohen Kosten und der relativ niedrigen Prävalenz ist eine allgemeine Mutationsanalyse erkrankter Personen nicht kosteneffektiv. Durch geeignete Vorauswahl kann die Wahrscheinlichkeit für die Identifikation einer Keimbahnmutation jedoch deutlich erhöht werden. Zur Verfügung stehen hierfür klinische Kriterien, der Nachweis der Instabilität durch Mikrosatellitenanalyse (MSA), sowie der immunhistochemische (IHC) Nachweis eines Expressionsverlustes der MMR-Proteine. Momentan werden MSA und IHC parallel durchgeführt, wobei nur auffällige Patienten einer weiteren Mutationsanalyse zugeführt werden. Ziel dieser Arbeit war es, die Strategie der Vorauswahl durch eine geeignete sequentielle Anwendung von MSA und IHC zu optimieren.

**Material und Methoden:** Zur Analyse wurden klinische und molekulardiagnostische Daten von Indexpatienten aus 1119 Familien mit klinischem Verdacht auf HNPCC herangezogen, die im Rahmen des interdisziplinären Verbundprojektes "Familiärer Darmkrebs" der Deutschen Krebshilfe an 6 universitären Standorten in standardisierter Weise erhoben und zentral erfaßt wurden. Das Verbundprojekt vereint Humangenetiker, Pathologen, Gastroenterologen und Chirurgen mit dem Ziel, betroffenen Patienten eine umfassende Beratung, molekulare Diagnostik und standardisierte Früherkennung anzubieten. Der Einfluß von Familien in das Verbundprojekt erfolgt in Anlehnung an internationale klinische Kriterien (sog. "Amsterdam-Kriterien" und "Bethesda-Richtlinien"). Alle Tumoren des untersuchten Kollektivs wurden standardisiert mittels MSA auf Instabilität und mittels IHC auf Verlust der MMR-Protein-Expression von *MLH1* und *MSH2* untersucht. Nur im Falle eines hinweisenden Ergebnisses in mindestens einer dieser Untersuchungen wurde eine Mutationsanalyse zur Identifikation pathogener Keimbahnmutationen in den Genen *MLH1* und *MSH2* durchgeführt. Es wurden die Kosten für MSA und IHC für drei verschiedene sequentielle Strategien miteinander verglichen. Mittels multivariater logistischer Regressionsmodelle wurde der Stellenwert klinischer Informationen für diagnostische Entscheidungen analysiert.

**Ergebnisse:** Die Mutationsdetektionsrate im untersuchten Kollektiv betrug 20,6% (95%CI: 18,3% - 23,0%). Etwa zwei Drittel (66,8%) der untersuchten Patienten zeigten ein auffälliges Ergebnis in der MSA oder IHC. Innerhalb dieser Gruppe betrug die Mutationsdetektionsrate 61,8% (95%CI: 56,8% - 66,6%). Die IHC war hoch prädiktiv (99,1%) und hoch spezifisch (99,6%) bezüglich des Ergebnisses des MSA. Jedoch wurden 14 von 230 pathogenen Mutationen (6%) durch die IHC nicht erkannt. Aufgrund dieser Eigenschaften kann die MSA nicht durch die IHC vollständig ersetzt werden. Andererseits weist die IHC im Gegensatz zur MSA spezifisch auf das möglicherweise betroffene Gen hin. In einer sequentiellen Strategie A wird der Patient zunächst mittels IHC untersucht und nur unauffällige Patienten (zur Kompensation der mangelnden Sensitivität der IHC) einer MSA zugeführt. In einer sequentiellen Strategie B wird dagegen jeder Patient zunächst mittels MSA untersucht und nur auffällige Patienten der IHC zugeführt (um Informationen über das betroffene Gen zu gewinnen). Die Kosten in Abhängigkeit vom Verhältnis der tatsächlichen Kosten für MSA und IHC zeigen eine Überkreuzung, wobei die Stelle der Kostengleichheit von der Wahrscheinlichkeit eines auffälligen Ergebnisses in MSA und IHC in der betrachteten Population abhängt. Auf der Basis des momentanen Kostenverhältnisses zwischen MSA und IHC sowie der gefundenen Wahrscheinlichkeiten auffälliger Befunde ist Strategie A kostengünstiger bei gleicher Effektivität verglichen mit der bisherigen parallelen Strategie. Die logistische Regressionsanalyse zeigt, daß sowohl das Ergebnis für MSA als auch IHC signifikant vom Ersterkrankungsalter als auch der Anzahl erfüllter klinischer Kriterien abhängt. Dies kann dazu genutzt werden, Patienten individuell entweder der Strategie A oder B zuzuführen. In der untersuchten Population kann damit insgesamt eine Kosteneinsparung von etwa 25% gegenüber der bisherigen parallelen Anwendung von IHC und MSA erzielt werden.

**Diskussion:** Die Analyse der molekulardiagnostischen Daten des Verbundprojektes zeigt, daß sowohl MSA als auch IHC unverzichtbare Bestandteile der molekularen HNPCC-Diagnostik sind, wobei deren parallele Anwendung jedoch nicht kostenoptimal ist. Durch die generelle Erstanwendung der IHC und selektive Anwendung der MSA läßt sich im Mittel eine Kostenersparnis bei gleicher diagnostischer Effektivität erzielen. Diese Strategie ist jedoch für Patienten mit einer geringen Wahrscheinlichkeit für ein auffälliges Screening-Ergebnis nicht optimal. Die Hinzunahme von individuellen klinischen Informationen in den diagnostischen Entscheidungsprozeß führt zu einer weiteren Optimierung der Kosten durch Auswahl der jeweils kostengünstigsten sequentiellen Abfolge von MSA und IHC. Seit 2006 folgt das Verbundprojekt dem hier vorgeschlagenen diagnostischen Entscheidungsmodell.

**Danksagung:** Das Verbundprojekt "Erblicher Darmkrebs" wird durch die Deutsche Krebshilfe, Bonn, finanziell unterstützt