

senere i patientens liv. Navlesnorsblodcellernes differentieringspotentiale afventer endnu at blive fuldt afdækket.

Konklusion

Terapeutisk kloning placerer sig som et biologisk og etisk udfordrende perspektiv i forbindelse med tilvirkning af celler til autolog transplantation. Der imødeses stadig mange tekniske forhindringer i form af optimering af den lave succesrate af kernetransplantationsteknikken og ikke mindst i kontrollen af de producerede stamcellelinjers opførsel både i forbindelse med deres differentiering og deres integration i organismen efter en transplantation. Der findes en række alternative veje til autolog stamcelleterapi, hvis potentiale må vurderes sideløbende med den mulige udforskning af den terapeutiske kloning. Disse teknikker skal imidlertid ikke ses som konkurrenter, men snarere som supplement til hinanden, idet visse lidelser måske vil kunne behandles med stamceller fra den voksne krop, fra navlesnorsblod eller ved transdifferentiering, mens andre kan kræve brugen af celler med større differentieringspotentiale fra rekonstruerede embryoner. Endelig kan den grundlæggende biologi ved den genomiske reprogrammering, som er nøglen i kloning ved kernetransplantation, gemme nøglen til at styre transdifferentiering af celler.

Summary

Poul Maddox-Hyttel: Therapeutic cloning – biology, perspectives, and alternatives.

Ugeskr Læger 2003;165:889-92.

Certain diseases are caused by or cause irreversible loss of cells and may in the future be treated by cell-based therapies where spare cells are introduced into the body. Therapeutic cloning constitutes a scientifically and ethically challenging route to the generation of autologous patient specific spare

cells: Stem cells for subsequent differentiation and transplantation are isolated from one week old embryos, which are produced by cloning by nuclear transfer from normal cells retrieved from a patient. Research in therapeutic cloning should be pursued in line with alternative strategies for obtaining stem cells. Finally, the molecular biology of cloning by nuclear transfer may hold the key to understanding trans-differentiation, which ultimately may allow for de-differentiation and subsequent re-differentiation of adult somatic cells for therapeutic purposes.

Reprints: *Poul Maddox-Hyttel*, Institut for Anatomi og Fysiologi, Den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskole, Grønnegaardsvej 7, DK-1870 Frederiksberg C.

Antaget den 19. december 2002.

Den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskole, Institut for Anatomi og Fysiologi.

Litteratur

1. Rideout WM 3rd, Hoechedlinger K, Kyba M et al. Correction of a genetic defect by nuclear transplantation and combined cell and gene therapy. *Cell* 2002;109:17-27.
2. Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J et al. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 1997;385:810-3.
3. Robertson EJ. Embryo-derived stem cell lines. I: Robertson EJ, ed. *Teratocarcinomas and embryonic stem cells, a practical approach*. Oxford: IRL Press, 1987:71-112.
4. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998;282:1145-7.
5. Colman A, Kind A. Therapeutic cloning: concepts and practicalities. *Tibtech* 2000;18:192-6.
6. Burley J. The ethics of therapeutic and reproductive cloning. *Semin Cell Dev Biol* 1999;10:287-94.
7. Reik W, Dean W, Walter J. Epigenetic reprogramming in mammalian development. *Science* 2001;293:1089-93.
8. Mann MRW, Bartolomei MS. Epigenetic reprogramming in the mammalian embryo: struggle of the clones. *Genome Biol* 2002;3:1003.1-4.
9. Humpherys D, Eggan K, Akutsu H et al. Epigenetic instability in ES cells and cloned mice. *Science* 2001;293:95-7.

Ovenstående artikel bygger på en større litteraturgennemgang end litteraturlistens ni numre. Oplysninger om denne baggrundslitteratur kan fås fra forfatteren.

Kromosomanalyse/cytogenetisk analyse ved neoplasier og medfødte sygdomme

OVERSIGTSARTIKEL

Gitte Birk Kerndrup & Eigil Kjeldsen

Resumé

Udviklingen inden for human cytogenetik er i de seneste 20 år gået meget stærkt og har bidraget med viden om, hvordan menneskets arvemasse er sammensat, samt givet indblik i nye sygdomsmekanismer. Vi ved nu, at der blandt de medfødte kromosomsygdomme er mere end 60 forskellige

specifikke syndromer, som kan tilskrives bestemte kromosomforandringer, og blandt de erhvervede neoplastiske sygdomme er der nu akkumuleret mere end 27.000 forskellige kromosomforandringer. Kromosomforandringer resulterer i genomisk ubalance (tab/gevinst af kromosommateriale), positionseffekt (dannelse af nye gener/ændret genekspression) eller kombinationer heraf, som har betydning for diagnose, prognose og behandlingsstrategi ved mange sygdomme. Molekylær cytogenetik har medført, at også meget små kromosomforandringer nu kan diagnosticeres, og DNA-chip-teknologien er den seneste udvikling, som yderli-

gere vil forøge resolutionen. En kombination af relevante metoder vil give yderligere indsigt i og forståelse for patogenetiske mekanismer.

Faget human cytogenetik tog sin begyndelse i 1882, hvor østrigeren *Walther Flemming* publicerede de første illustrationer af humane kromosomer. I 1888 introducerede *Waldayer* begrebet kromosom, som kommer af det græske *chromos* = farve og *zoma* = legeme (1). I de efterfølgende år formuleredes teorien om, at arvemæssige faktorer blev båret af kromosomerne, *chromosome theory of inheritance*. Disciplinerne cytologi og genetik blev nu kombineret til studier af kromosomerne og faget cytogenetik opstod, hvor man i de tidlige dage studerede kromosomernes morfologi og adfærd gennem celledelingen.

Man fandt bl.a., at metafasekromosomerne bedst kan ses i celledelingens metafase, hvor kromosomerne er maksimalt kontraherede, før de ved hjælp af tentrådene, som er tilhæftet centromeret (kromosomets indsnævringssted), bliver delt i et ligeligt antal til hver dattercelle.

På grund af metodologiske problemer var det dog svært at fastslå kromosomtallet bl.a. hos mennesket, og der blev publiceret mange artikler med forskellige estimater af antallet, f.eks. beskrev *von Winiwater* i 1912, at mænd havde 47 kromosomer og kvinder 48. I 1923 kunne *Painter* fastslå, at både mænd og kvinder havde 48 kromosomer, og han fastslog yderligere, at Y-kromosomet er den mekanisme, der differentierer kønnene hos mennesket (2). Et år senere formulerede *Levitsky* begrebet karyotype, som refererer til det ordnede parvise arrangement af kromosomerne (3).

Det var først i 1956, at *Tijo & Levan* (4) endeligt kunne gøre op med dogmet om, at mennesket havde 48 kromosomer, og fastslå, at det korrekte kromosomantal for mennesket er 46, hvilket i deres publikation er formuleret på følgende diplomatiske måde: »... we do not wish to generalize our present finding into a statement that the chromosome number of man is $2n = 46$, but it is hard to avoid the conclusion that this would be the most natural explanation for our observations«.

Tre år senere i 1959 tog faget klinisk cytogenetik sin begyndelse, idet *Lejeune et al* kunne beskrive, at *enfants mongoliens* (børn med mongolisme, nu kendt som Downs syndrom eller trisomi 21) har et overtalligt kromosom 21 og altså i alt 47 kromosomer (5). I 1960 skete der ligeledes et betydeligt fremskridt inden for cancerytogenetikken, idet *Nowell & Hungerford* (6) beskrev, at en bestemt kromosomforandring var konsistent forbundet med kronisk myeloid leukæmi (CML). Denne kromosomforandring bestod i tilstedeværelsen af et lille kromosom, som blev benævnt Philadelphia-kromosomet (eller Ph-kromosomet) efter byen, hvor opdagelsen blev gjort, og denne var den første specifikke kromosomabnormitet, der blev beskrevet ved neoplasia hos mennesker.

De forbedrede metoder til dyrkning af cellerne (for at få mange celler i metafase) og efterfølgende høst (bedre spredning af kromosomerne) gjorde det også muligt at inddele kromosomerne parvis efter størrelsen og centromerets placering, hvilket giver en relativ grov beskrivelse af kromo-

somernes morfologi. I 1970 introduceredes det, som skulle blive en revolution inden for cytogenetikken, idet *Caspersson et al* (7) viste, at hvert kromosompar hos mennesket efter farvning med det fluorescerende quinacrine mustard og efterfølgende fluorescensmikroskopi har sit unikke båndmønster, dvs. en række bånd ned over kromosomerne, som fungerer som en slags streghode til identifikation og analyse af hvert enkelt kromosompar, idet båndmønsteret er ens hos normalpersoner. I de efterfølgende år blev der udviklet andre og bedre farvemethoder, som vi i dag fortsat anvender stort set uændrede til standardfarvning af metafasekromosomer (8) (Fig. 1A og 1B).

I 1976 og 1981 udvikledes en såkaldt højresolutionsteknik (9, 10), som muliggør studiet af kromosomerne på et tidligere stadium i mitosen (prometafase/profase), hvor kromosomerne er mindre kontraherede og dermed er længere og har flere bånd. Denne undersøgelse har dog vist sig ikke at være praktisk anvendelig i daglig klinisk diagnostik.

Fra midten af 1980'erne blev der udviklet en helt ny type af cytogenetiske undersøgelser, som kombinerer cytogenetikken med de nye molekylærbiologiske metoder (11). Denne type af undersøgelser benævnes fluorescens in situ hybridisering (FISH)-analyser.

Princippet i undersøgelsen er, at man anvender en fluorescensopmærket DNA-sekvens, en såkaldt DNA-probe, som gøres enkeltstrenget og tilsættes (hybridiseres) det væv/kromosomer, som også er gjort enkeltstrenget og er beliggende på et mikroskopiglas. En af de store fordele ved anvendelse af en af FISH-teknikkerne er, at den også kan udføres på celler, der ikke kan dele sig, f.eks. fikseret væv, ved anvendelse af interfasekerne-FISH-undersøgelsen (Fig. 1E). Der findes tre hovedtyper af DNA-sekvenser, som kan anvendes: 1) satellitsekvensprober, som findes i de enkelte centromerer for hvert enkelt kromosom; 2) *whole chromosome paint probes*, der er DNA-sekvenser, som repræsenterer et helt kromosom eller dele heraf; og 3) locus-specifikke sekvensprober, som udgøres af regioner i genomet, der kan kode for et eller flere gener. Herudover kan hele genomet anvendes som DNA-probe, hvor dette anvendes i et kompositions-hybridiserings-assay (CGH).

En af fordelene ved at anvende fluorescens er den høje signalintensitet, og at man kan anvende forskellige DNA-prober samtidig, efter at de er opmærket med hver sit fluorescerende farvestof – såkaldt *multicolour-FISH* (Fig. 1C og 1D). Med FISH-undersøgelsen blev det ikke bare muligt at opnå højere resolution, nu er det heller ikke længere absolut nødvendigt, at vævet, der skal undersøges, kan dyrkes med henblik på at fremstille metafaser, sådan at f.eks. cellekerner i vævssnit fra patologipræparater nu også kan undersøges detaljeret.

ISCN – et internationalt system for cytogenetisk nomenklatur
Efter at båndfarvningsteknikkerne var blevet indført og anvendt bredt af cytogenetikere, blev det klart, at et internationalt system til beskrivelse (nomenklatur) af kromosomerne var nødvendigt, således at forskere og klinikere inden for dette felt havde et fælles sprog, der muliggjorde sammenligning og samling af cytogenetiske data. Den første

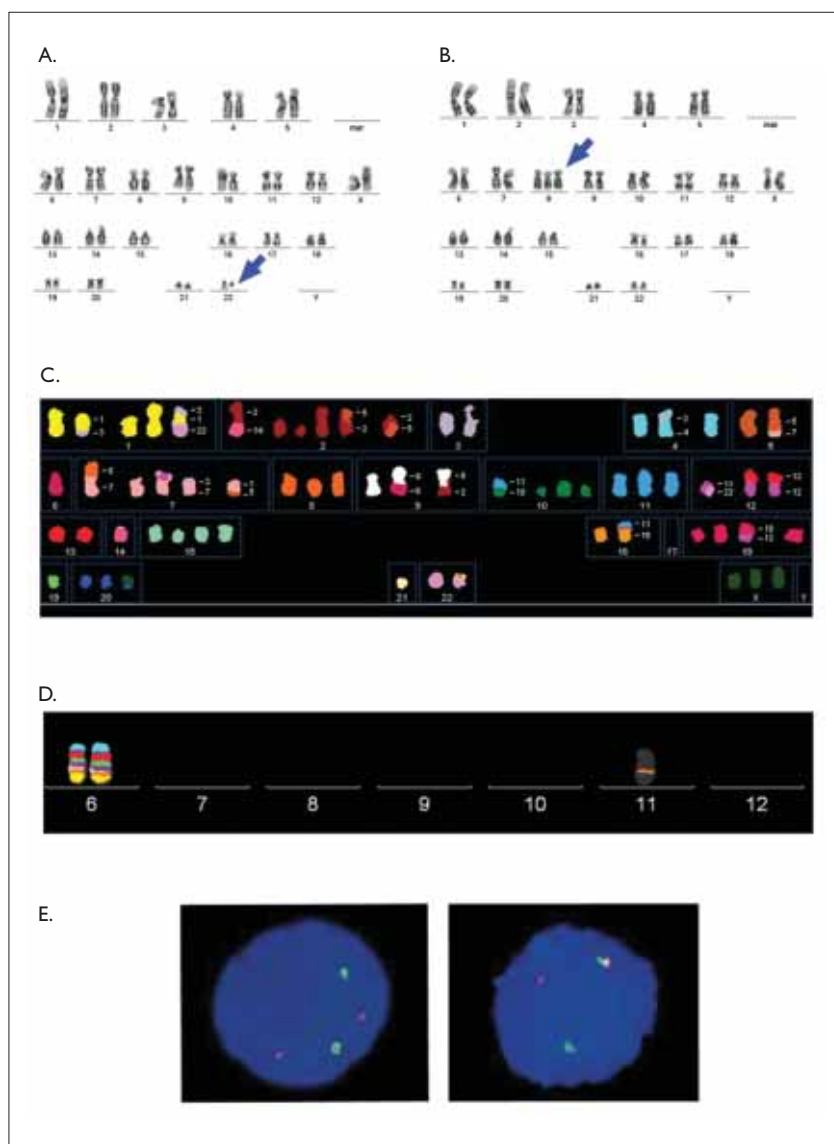
Fig. 1. A. G-bånd-skaryotype fra patient som er i Glivec-behandling pga. kronisk myeloid leukæmi, hvor der i aktuelle prøve er Philadelphia-kromosom i en metafase (pil) som følge af den klassiske translokation $t(9;22)(q34;q11)$, hvor der er sket en balanceret ombytning med en lille del af kromosom 9 og en større del af kromosom 22.

B. G-bånd-skaryotype fra samme patient og undersøgelse, men en anden metafase, som viser, at denne klon har et ekstra kromosom 8 (pil) og ikke Ph-kromosom.

C. 24-colour-karyotypering efter SKY-analyse viser et komplekst kromosomalt rearrangement hos en patient med højmaligt lymfom – de små tal ved translokationskromosomerne refererer til oprindelsen.

D. Multicolour banding-teknik, som viser to kromosom 6, hvor en del af det »orange« område fra det ene kromosom 6 er flyttet til kromosom 11.

E. Interfasekerne FISH-undersøgelse med prober nær brudpunkterne på kromosom 9 og kromosom 22. Cellekernen til venstre viser normalt mønster med to røde og to grønne signaler. Cellekernen til højre viser et fusionsignal, hvor det ene røde signal går sammen med det ene grønne signal, når der er Ph-kromosom som følge af translokation som vist i A.



udgave af nomenklatursystemet kom i 1971, og den seneste er fra 1995 (12). Den inkluderer også en nomenklatur for FISH-undersøgelserne.

Kromosom-mapping

I 1940'erne formuleredes hypotesen om at generne ligger fordelt ned over kromosomerne, og med båndfarvningsteknikkerne blev det muligt at allokere specifikke gener til bestemte kromosomer og områder herpå. Ved hjælp af FISH-teknikkerne blev det muligt i langt højere grad at finallokere de enkelte gener til mere specifikke kromosomområder samt at bestemme, hvordan de enkelte gener er beliggende indbyrdes.

Det humane genom blev under stor mediebevågenhed offentliggjort i februar 2001 (13, 14). Med dette har man nu de enkelte dele af genomet kortlagt, og man kender ca. 85% af den samlede DNA-sekvens samt har hele genomet repræsenteret som klonede DNA-fragmenter hver med en størrelse på ca. 1 mio. basepar. Det humane genom består af ca. 6 mia. basepar svarende til de 23 kromosompar, og det er

estimeret, at mennesket har mellem 30.000 og 40.000 gener. Dette betyder, at et gennemsnitskromosombånd indeholder ca. 100 gener. Man har dog fundet, at visse områder på kromosomerne har en højere koncentration af gener end andre, bl.a. er det sådan, at lige før kromosomenderne (såkaldte subtelomerregioner) er der langt flere gener end tæt på centromeret.

Cytogenetikens rolle i diagnostik

Vi ved i dag, at forskellige kromosomforandringer bl.a. er årsag til hovedparten af de meget tidlige spontane aborter, mange medfødte misdannelser og mental retardering, samt at de spiller en væsentlig rolle i patogenesen af maligne tilstande.

Man skelner mellem kromosomsygdomme der er medfødte (konstitutionelle/kongenitte) og dem, der er erhvervede, hvor de sidstnævnte typisk ses ved forskellige neoplasier, som kan være både maligne og benigne.

Blandt de medfødte er der beskrevet mere end 60 forskellige specifikke syndromer, som kan tilskrives bestemte kro-

mosomforandringer, og yderligere er flere hundrede potentielt sygdomsfremkaldende kromosomforandringer opgjort (15). Blandt de erhvervede er der i Cancer Chromosome Data Bank nu akkumuleret mere end 27.000 forskellige kromosomforandringer fra forskellige typer neoplasier (16).

Udvekslingen af genetisk materiale mellem homologe kromosomer (dvs. inden for samme par) er en normal foreteelse i kønscellerne under gametdannelsen. Dette sikrer bl.a., at der sker en opblanding af det genetiske pool, og det er måske endda obligatorisk for normal kønscelledeling. Når udvekslingen sker mellem ikkehomologe kromosomer, opstår der strukturelle kromosomforandringer som f.eks. translokation, hvor en del af et kromosom byttes ud med en del af et andet kromosom, efter at der er opstået en bruddannelse med efterfølgende forkert samling. Kromosombruddene kan teoretisk ske hvor som helst i genomet. I praksis er der dog bestemte områder, som oftere end andre er involveret i bruddannelse og efterfølgende rearrangement. Tilstedeværelsen af en bestemt type DNA-sekvens, et fragilt sted og/eller bestemte DNA-strukturer kan påvirke sandsynligheden for, at en bestemt kromosomregion er involveret i et strukturelt rearrangement.

Strukturelle rearrangementer kan være enten balancerede eller ubalancerede. De balancerede har intet nettotab eller -gevinst af genetisk information. Bestemmelse heraf afhænger dog af den anvendte metodes resolution, som i de bedste tilfælde ved standardkromosomundersøgelsen ligger på 4-5 Mb. Vi ved i dag, at der eksisterer tilsyneladende balancerede rearrangementer, der er bestemt ved standardkromosomundersøgelse, men hvor man ved anvendelse af FISH-undersøgelse nu kan bestemme, at der rent faktisk foreligger f.eks. tab af et mindre genområde i størrelsen <1 Mb (såkaldt mikrodeletion). Endvidere ved vi, at der også forekommer kryptiske rearrangementer, som kun kan identificeres ved anvendelsen af FISH-teknikker.

Sygdomsmekanismen for kromosomsygdommene kan inddeles på følgende måde:

1. Genomisk ubalance
 - a. For lidt arvemasse (tab af et eller flere kromosomer eller dele heraf)
 - b. For meget arvemasse (gevinst af et eller flere kromosomer eller dele heraf)
2. Positionseffekt
 - a. Dannelse af nye gener (f.eks. fusionsgener)
 - b. Ændret genekspression

Der kan forekomme simple kromosomrearrangementer, hvor der typisk kun vil være mellem en og fire kromosomforandringer. Ved mere komplekse rearrangementer forekommer der mere end fire af førnævnte forandringer. Det er ofte sådan, at de komplekse kombinationer oftest findes i gruppen af erhvervede kromosomsygdomme, hvor de mere simple oftere tilhører de konstitutionelle.

Afhængig af den diagnostiske situation suppleres den konventionelle kromosomundersøgelse med en række forskellige FISH-metoder (11). Disse kan inddeles i to hovedgrupper:

1. Helgenomscreening
 - a. 24-multicolour-FISH karyotypering (SKY (17)/mFISH (18))
 - b. *Comparative genomic hybridization* (CGH) (19)
2. Locus/regionspecifik undersøgelse
 - a. Mikrodeletioner
 - b. Centromerspecifikke
 - c. *Whole chromosome painting*
 - d. *Multicolour banding* (20)

Hver af disse typer undersøgelser har deres fordele og ulemper (11).

Cytogenetik inden for klinisk genetik

Standardkromosomundersøgelsen foretages dels prænatalt i form af moderkageprøve eller fostervandsprøve og dels postnatalt i form af blodprøve. Der kan også foretages kromosomundersøgelse på navlestrengsblod, der er hentet intrauterint. Frekvensen med abnorm karyotype kan opgøres til: 1) 50% hos førstetrimesteraborter, 2) 2% af fostrene hos mødre >35 år og 3) 0,65% hos levendefødte (21).

De prænatale undersøgelser foretages primært med udgangspunkt i tilfælde, hvor der er en forøget risiko for at føde børn med alvorlige handicap som følge af genomisk ubalance, der kan opstå dels som følge af høj maternel alder (>35 år), høj paternel alder (>50 år), og dels hvis der er fundet kromosomabnormitet hos par med tidligere abort/fødsel, hvor eksempelvis en af forældrene er asymptomatisk bærer af et kromosomalt rearrangement.

De postnatale undersøgelser foretages typisk i forbindelse med udredning af mental/motorisk retardering med/uden dysmorfologi samt i tilfælde, hvor der forekommer infertilitet. Ved mental retardering ± dysmorfologi har man ved nyere undersøgelser vist, at standardkromosomundersøgelsen ofte viser normale forhold, men i ca. 12% af tilfældene kan man dog med anvendelsen af CGH-undersøgelsen finde kromosomale tab, som ikke kunne findes ved den almindelige kromosomundersøgelse (22, 23). Ligeledes er det vist, at i ca. 7% af tilfældene forekommer der forandringer i de subtelomere regioner, som aktuelt kun kan findes ved anvendelse af FISH-teknikker (24).

Cytogenetik ved neoplasier

Inden for cancercytogenetikken er det muligt at foretage standardkromosomundersøgelse på relevant væv. Ved leukæmier (både de akutte og kroniske former) bruges celler, der er udtaget fra knoglemarven, mens det ved lymfomer er relevant at undersøge celler fra bl.a. lymfeknuderne. Ved andre solide tumorer er det relevant at undersøge celler, der er udtaget fra det ramte væv.

Kromosomforandringerne ved neoplasi kan inddeles i to hovedgrupper: primære og sekundære forandringer. De primære forandringer er ofte forbundet med en specifik tumortype og kan have betydning for de tidligste stadier i tumorudviklingen, mens de sekundære forandringer er mindre sygdomsspecifikke og er hændelser, som optræder senere i forløbet, og som kan have relevans for tumorprogressionen. Man kan i disse situationer finde metafaser med for-

skellige kromosomforandringer fra samme tumor, hvilket betyder at tumoren er heterogen.

Det anbefales derfor internationalt, at kromosomundersøgelse bør foretages dels på diagnosetidspunktet for at klarlægge de tilstedeværende kromosomale forandringer bl.a. med henblik på stratifikation af behandlingen og dels i forbindelse med remission/relapsvurdering. For eksempel ved akut myeloid leukæmi har man således identificeret tre forskellige prognostiske grupper af primære cytogenetiske forandringer, som har betydning for behandlingsforløbet (25), og fund af t(9;22) ved akut lymfatisk leukæmi vil føre til allogen knoglemarvstransplantation i første komplette remission (26).

Kromosomerne ved de neoplastiske sygdomme har ofte en mere ulden og uskarp struktur, hvilket kan vanskeliggøre kromosomundersøgelsen betydeligt, hvorfor det kan være nødvendigt også at udføre 24-colour-karyotypering (27). Det er f.eks. vist, at i 73% af undersøgelserne ved ondartet lymfeknude-svulst får man en bedre diagnostik med 24-colour-karyotypering end med standardkromosomundersøgelser.

For at kunne foretage standardkromosomundersøgelse skal de udtagne tumorceller kunne dele sig. Der kan være situationer, hvor de forskellige tumorceller deler sig med forskellig hastighed, eller visse tumorceller vokser meget langsomt i cellekulturer. I disse situationer kan man med fordel anvende interfasekerne FISH-undersøgelse eller CGH-analyse, idet det ved disse undersøgelser ikke kræves, at cellerne kan dele sig (11).

Efter den diagnostiske kromosomundersøgelse vil man typisk følge behandlingsforløbet med regelmæssige mellemrum, hvor der enten kan udføres standardkromosomundersøgelse eller relevant FISH-undersøgelse. Såfremt behandlingen er succesfuld, vil de maligne celler med kromosomforandringerne forsvinde, og såfremt der forekommer relaps, vil disse maligne celler komme igen eventuelt indeholdende nye sekundære kromosomale forandringer. Ved akut lymfoblastær leukæmi, hvor der kan forekomme t(4;11), vil man efter behandling typisk ikke kunne finde restsygdom, mens man ved andre sygdomme som f.eks. CML selv med den nyeste behandling stadig vil kunne finde maligne celler (i størrelsesordenen 1:10.000), der indeholder Ph-kromosomet.

Hæmatologisk versus nonhæmatologisk neoplas

Ud fra kataloget over de mange kromosomanalyser, der er beskrevet ved neoplas hos mennesker (16), fremgår det klart, at der generelt er forskel på hæmatologiske neoplasier og solide svulster i cytogenetisk henseende.

For førstnævnte sygdommes vedkommende er det relativt nemt ved korttidsdyrkning eller direkte høst af celler i mitose, og karyotyperne er sjældent komplekse. Det modsatte er oftest tilfældet ved solide svulster, hvilket sandsynligvis har betydet, at der er langt færre publikationer vedrørende denne type svulster. Det er dog interessant, at den kontinuerlige optimering af metoderne har bevirket, at den procentuelle andel af publicerede cytogenetiske undersøgelser af de solide svulster er øget støt fra 1983- til 1994-udgaven af Mitelmans katalog (fra 2% til 27%).

En sådan systematisk registrering af kromosomforandringer i neoplastiske celler har været uundværlig for påvisningen af, at der ved specielle lidelser findes ikke tilfældigt forekommende (*non random*) kromosomafvigelse ved en lang række sygdomme, og at nogle af disse når op på Ph-kromosomets hyppighed ved CML. Eksempelvis kan nævnes t(X;18) ved synovialt sarkom og t(11;22) ved Ewing-sarkom, som ses i mere end 90% af tumorerne.

Kvalitetssikring og -udvikling inden for cytogenetikken

Det er vigtigt, at der er en høj kvalitetsmæssig standard ved de forskellige kromosomundersøgelser, og der er derfor internationalt udarbejdet retningslinjer for, hvad de enkelte analyser skal indeholde, afhængig af den kliniske problemstilling.

Perspektiver

De konventionelle båndfarvningsanalyser af kromosomerne kan ikke umiddelbart forventes at blive erstattet af de molekylært orienterede undersøgelser, som ofte kun kan give få, men til gengæld specifikke svar. Mange af de molekylære undersøgelser er ofte også meget dyre på grund af arbejdskrævende processer – her tænkes bl.a. på CGH-undersøgelsen. Der er også udviklet *polymerase chain reaction* (PCR)-baserede teknikker, som kan give oplysninger om enkelte specifikke kromosomale rearrangementer (multiplex PCR). De er relativt prisbillige, men i modsætning til den konventionelle teknik giver de kun oplysning om en eller få genomændringer. Til gengæld har de en høj grad af sensitivitet, idet man ved hjælp af dem kan opdage et givent kromosomalt rearrangement i en ud af 1 mio. celler. Til forskel fra de molekylære giver de kromosomale analyser oplysning om hele genomet på én gang, også sådanne oplysninger, som man ikke umiddelbart kunne forudse hos en patient med en specifik sygdomsentitet.

Båndanalyserne og FISH-teknikkerne komplementerer hinanden og danner fortsat basis for cytogenetisk karakteristisk af specielle forandringer, der kan anvendes til: 1) diagnostik, 2) behandlingsvalg, 3) opfølgning af den enkelte patient i et behandlingsforløb og 4) detektion af tidligt relaps.

DNA-chip-undersøgelser er en gruppe af nye og meget lovende teknikker, der er under udvikling, og med hvilke man kan undersøge dels for genomisk ubalance og dels for ændret genekspression af mange tusinder gener på én gang. Implementering af disse teknikker i kombination med ovenstående kan forudses at forbedre diagnostikken med henblik på behandlingsstratifikation og dermed forbedre prognosen ved en lang række sygdomme i fremtiden.

Summary

**Gitte Birk Kerndrup & Eigil Kjeldsen:
Chromosome analysis/cytogenetic analysis in
neoplastic and hereditary diseases.**

Ugeskr Læger 2003;165:892-7.

The development of human cytogenetics has gained momentum during the past 20 years and many chromosome aberrations have been described to be specifically associated with

more than 60 constitutional syndromes and more than 27,000 acquired neoplastic diseases. Chromosome analysis has in later years been further refined by the application of fluorescent in situ hybridisation technologies which enables the detection of genetic rearrangements, depending on the method employed down to single gene levels. Chromosome analysis is not only important in the diagnostic situation, but even more so in the prognostication of a wide range of diseases and especially with regard to malignant diseases in the follow-up to monitor treatment response. In addition, cytogenetics play an important role for unravelling the biology of neoplastic disease and the addition of relevant fluorescent in situ hybridisation and chip technologies will contribute with important information on pathogenetic mechanisms of both constitutional and acquired disease states.

Reprints: *Eigil Kjeldsen*, Klinisk Genetisk Afdeling, Århus Kommuneskøbshospital, Århus Universitetshospital, DK-8000 Århus C.

Antaget den 23. januar 2003.

Odense Universitetshospital, Patologisk Institut, og Århus Universitetshospital, Klinisk Genetisk Afdeling.

Litteratur

1. Waldeyer W. Über Karyokinese und ihre Beziehung zu den Befruchtungsvorgängen. *Arch Mikr Anat* 1888;32:1.
2. Painter TS. Studies in mammalian spermatogenesis. II. The spermatogenesis of man. *J Exp Zool* 1923;37:291-336.
3. Levitsky GA. Materielle Grundlagen der Vererbung. Kiew: Staatsverlag, 1924.
4. Tijo JH, Levan A. The chromosome number of man. *Hereditas* 1956;42:1-6.
5. Lejeune J, Gautier M, Turpin R. Études des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens. *Compt Rend Acad Sci* 1959;248:1721-2.
6. Nowell PC, Hungerford DA. A minute chromosome in chronic granulocytic leukemia. *Science* 1960;132:1497.
7. Casperson T, Zech L, Johansson C. Differential binding of alkylating fluorochromes in human chromosomes. *Exp Cell Res* 1970;60:315-19.
8. Sumner AT. Chromosome banding. London: Unwin Hyman Ltd., 1990.
9. Yunis JJ. High resolution of human chromosomes. *Science* 1976;191:1268-70.
10. Yunis JJ. New chromosome techniques in the study of human neoplasia. *Hum Pathol* 1981;12:540-9.
11. Kjeldsen E, Kølvrå S. FISH techniques, FISH probes and their applications in medicine and biology – an overview. I: Rautenstrauss B, Liehr T, eds. *FISH technology*. Heidelberg: Springer Lab Manual, 2002: 3-50.
12. Mitelman F, ed. *ISCN 1995: An international system for human cytogenetic nomenclature*. Basel: S. Karger; 1995.
13. Venter JC, Adams MD, Myers EW et al. The sequence of the human genome. *Science* 2001;291: 1304-51.
14. Lander ES, Linton LM, Birren B et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001;409:860-921.
15. Schinzel A. *Catalogue of unbalanced chromosome aberrations in man*. 2nd ed. Berlin: Walter de Gruyter and Co., 2001.
16. Mitelman F. *Catalog of chromosome aberrations in cancer*. 5th ed. New York: Wiley-Liss; 1994. <http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman/> jan. 2003.
17. Schröck E, du Manoir S, Veldman T et al. Multicolor spectral karyotyping of human chromosomes. *Science* 1996;273:494-7.
18. Speicher MR, Ballard SG, Ward DC. Karyotyping human chromosomes by combinatorial multi-fluor FISH. *Nat Genet* 1996;12:368-75.
19. Kallioniemi A, Kallioniemi O-P, Sudar D et al. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumours. *Science* 1992;258:818-28.
20. Chudoba I, Plesch A, Lorch T et al. High resolution multicolor-banding: a new technique for refined FISH analysis of human chromosomes. *Cytogenetic Cell Genet* 1999;84:156-60.
21. Harper PS. *Practical genetic counselling*. 5th ed. Oxford: Butterworth-Heinemann, 1999.
22. Joly G, Lapierre JM, Ozilou C et al. Comparative genomic hybridization in mentally retarded patients with dysmorphic features and a normal karyotype. *Clin Genet* 2001;60:212-9.
23. Kirchhoff M, Rose H, Gerdes T et al. Påvisning af submikroskopiske kromosomfejl med komparativ genomisk hybridisering *Ugeskr Læger* 2001;163:5652-7.
24. De Vries BBA, White SM, Knight SJL et al. Clinical studies on submicroscopic subtelomeric rearrangements: a checklist. *J Med Genet* 2001;38:145-50.
25. Grimwade D, Walker H, Oliver F et al. The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1,612 patients entered into the MRC AML 10 trial. *Blood* 1998;92:2322-33.
26. Forestier E, Johansson B, Gustafsson G et al. Prognostic impact of karyotypic findings in childhood acute lymphoblastic leukemia: a Nordic series comparing two treatment periods. For the Nordic Society Of Paediatric Haematology and Oncology (NOPHO) Leukemia Cytogenetic Study Group. *Br J Haematol* 2000;110:147-53.
27. Kernstrup G, Kjeldsen E. Acute leukemia cytogenetics: an evaluation of combining G-band karyotyping with multi-colour spectral karyotyping. *Cancer Genet Cytogenet* 2000;124:7-11.

Molekylær cancerbiologi – fra forskning til klinik

STATUSARTIKEL

Finn Cilius Nielsen

Cancer er i takt med den stigende levealder blevet en af de hyppigste dødsårsager i den vestlige verden. Begrebet dækker over en mangearartet gruppe af tilstande, der alle er karakteriseret ved en ukontrolleret og invasiv cellevækst. Med få undtagelser opstår cancer i en enkelt celle. Overgangen fra normal til transformeret celle skyldes akkumulerede genetiske eller epigenetiske defekter i protoonkogener eller så-

kaldte tumorsuppressorgener, pga. en genetisk prædisposition, miljøfaktorer, mikroorganismer eller aldring. I artiklen beskrives eksempler på molekylære aspekter af cancer og deres anvendelse i cancerdiagnostik og -terapi (1).

Protoonkogener, onkogener og tumorsuppressorgener
Onkogenbegrebet stammer fra slutningen af 1960'erne, hvor man fandt, at en række virale gener kunne transformere celler i kultur. Der kendes nu mere end 50 forskellige protoonkogener og onkogener. Stort set alle koder for proteiner, der er centrale i reguleringen af cellevækst, såsom