

KLONALE EVOLUTION BEI DER CHRONISCHEN LYMPHATISCHEN LEUKÄMIE

Prof. Dr. Rainer Claus

Comprehensive Cancer Center Augsburg, Universitätsklinikum Augsburg

VNR: 2760909012038790014 | Gültigkeit: 25.07.2022 – 25.07.2023

1 EINLEITUNG

Die relativ hohe Prävalenz sowie die einfache Verfügbarkeit von analysierbaren Tumorzellen im peripheren Blut von Patienten hat die chronische lymphatische Leukämie (CLL) zu einer für die Wissenschaft wichtigen Modellkrankheit gemacht, um molekulare Prinzipien, die der Evolution von Krebszellen zugrunde liegen, aufzudecken. Die Implementierung modernster molekulargenetischer Technologien bei der Untersuchung der CLL hat in den letzten Jahrzehnten das Verständnis der Ursachen und die Prognose der Krankheit revolutioniert: von der Entdeckung häufig vorkommender Chromosomenaberrationen mittels Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH) bis hin zum Nachweis von

Treibermutationen mit klinischen Implikationen anhand neuartiger Hochdurchsatz-Sequenzierungstechniken (*Next Generation Sequencing*, NGS) [Döhner et al. 2000, Landau et al. 2015].

Diese Fortbildung soll Ihnen fundierte Einblicke in die Mechanismen der klonalen Evolution bei CLL und der damit verbundenen Resistenzentwicklung gegenüber den verfügbaren Therapeutika geben. Abschließend werden potenzielle Lösungsvorschläge diskutiert, um Resistenzbildungen bei der Therapie der CLL zu vermeiden.

2 CHRONISCHE LYMPHATISCHE LEUKÄMIE

2.1 DEFINITION UND EPIDEMIOLOGIE

Die Klassifikation der Weltgesundheitsorganisation (WHO) beschreibt die CLL als indolentes B-Zell-Lymphom, das durch einen leukämischen Verlauf charakterisiert ist [Swerdlow et al. 2017]. Bei der CLL handelt es sich um die häufigste leukämische Erkrankung in den westlichen Industrieländern. In Deutschland treten pro Jahr ungefähr 5.600 Neuerkrankungen auf, was ungefähr 1,1 % aller invasiven Krebsneuerkrankungen (ohne sonstige Tumoren der Haut) entspricht [Wendtner et al. 2020].

Die CLL tritt meist in höherem Alter auf: Das mediane Erkrankungsalter liegt bei 72 Jahren für Männer und 75 Jahren für Frauen. Die Prognose der CLL ist zu meist gut. Die absolute Fünf-Jahres-Überlebensrate liegt bei 73,2 % (Frauen) und 71,2 % (Männer) und verbessert sich stetig durch die wachsende Anzahl moderner Therapieansätze [Wendtner et al. 2020].

2.2 PROGNOSE ANHAND DETEKTIERTER MUTATIONEN/TRANSLOKATIONEN

Nach der Diagnosestellung einer CLL erfolgen in der Regel Untersuchungen, welche die Prognose abzuschätzen helfen. Eine erste Einordnung erfolgt durch die klinischen Stadieneinteilungen nach Rai *et al.* oder nach Binet *et al.*, die auf dem körperlichen Untersuchungsbefund sowie der Beurteilung des Blutbilds beruhen [Binet *et al.* 1981, Rai *et al.* 1975]. Innerhalb der letzten 20 Jahre wurden zudem viele biologische und molekulare Biomarker beschrieben, die zusätzliche prognostische Aussagekraft besitzen [Landau *et al.* 2015, Lazarian *et al.* 2017].

Veränderungen im Tumorsuppressorgen *TP53*, welches auf dem kurzen Arm des Chromosoms 17 (17p) lokalisiert ist, gehören bei der CLL zu den stärksten negativen prädiktiven und prognostischen Biomarkern. Zum Funktionsverlust des p53-Proteins kommt es entweder durch einen Verlust bzw. eine Deletion des kurzen Arms von Chromosom 17 (del[17p]) und/oder durch eine Punktmutation (*TP53*-Mutation). Dieser Funktionsverlust führt zu einer Beeinträchtigung bei der Reparatur von DNA-Schäden sowie der Apoptoseregulation, dadurch zu einer erhöhten genetischen Instabilität, einer Akkumulation von weiteren Mutationen in anderen Genen und folglich zur vermehrten Entstehung von Resistenzen gegenüber Chemotherapeutika [Rossi *et al.* 2014, Stilgenbauer *et al.* 2014, Wiestner *et al.* 2020, Zenz *et al.* 2008, Zenz *et al.* 2010b]. Bereits subklonale, d. h. nur in einem geringen Anteil der Tumorzellen vorkommende Mutationen von *TP53* sind daher mit einem schlechteren Überleben assoziiert [Nadeu

et al. 2016]. Etwa 50 – 60 % der CLL-Patienten weisen zudem eine unmutierte schwere Kette des Immunglobulins (IGHV) auf [Damle *et al.* 1999, Hamblin *et al.* 2002]. Das progressionsfreie Überleben (PFS) und das Gesamtüberleben (*Overall Survival, OS*) sowie die Zeit bis zur Behandlungsintervention sind in dieser Patientengruppe signifikant kürzer. Laut aktuellen Arbeiten scheint dabei die Proliferationsrate der CLL-Zellen und der damit verbundene spezifische DNA-Reparaturmechanismus für die Entstehung von Mutationen im *IGHV*-Locus verantwortlich zu sein: In CLL-Zellen mit einer hohen Proliferationsrate ist primär ein sehr effizienter Reparaturmechanismus (*Homology-Directed Repair, HDR*) aktiv. In CLL-Zellen mit niedriger Proliferationsrate hingegen überwiegt ein wenig effizienter und ungenauer Reparaturmechanismus (*Non-Homologous End Joining, NHEJ*), der Mutationen zulässt und somit zu einem mutierten *IGHV*-Locus führt [Claus und Pfannes 2019, Rozovski *et al.* 2018]. Aktuellen Publikationen zufolge gelten neben *TP53*-Aberrationen und einem unmutierten *IGHV*-Status auch Mutationen der Gene *SF3B1* und *NOTCH1* als unabhängige, mit schlechterer Prognose assoziierte molekulargenetische Marker, die in ca. 17 bzw. 11 % der CLL nachgewiesen werden [Hu *et al.* 2019, Wang *et al.* 2011]. Zudem haben Untersuchungen gezeigt, dass ein komplexer Karyotyp mit ≥ 5 Aberrationen ein unabhängiger ungünstiger Faktor ist. Ein komplex aberranter Karyotyp mit drei oder vier Aberrationen ist dagegen nur mit einer ungünstigen Prognose assoziiert, wenn zusätzlich eine del(17p) und/oder eine *TP53*-Mutation vorliegen [Baliakas *et al.* 2019]. Auch die Bestimmung des Karyotyps der CLL-Zellen spielt daher immer noch eine wichtige Rolle bei der Therapieentscheidung [Rigolin *et al.* 2017, Wendtner *et al.* 2020].

3 BEHANDLUNGSOPTIONEN

Nicht alle CLL-Patienten benötigen eine Therapie. Aktuelle Leitlinien empfehlen weiterhin eine wachsame Beobachtung („*Watch and Wait*“) für Patienten mit asymptomatischer Erkrankung und ohne hämatopoetische Insuffizienz [Wendtner *et al.* 2020].

Für jene Patienten, welche eine Therapie benötigen, hat sich die Behandlungslandschaft der CLL in den

letzten zehn Jahren deutlich weiterentwickelt. Neben Chemoimmuntherapien (CIT) mit den Kombinationen aus Fludarabin, Cyclophosphamid plus Rituximab (FCR), Bendamustin plus Rituximab (BR) oder Chlorambucil plus Obinutuzumab (Clb-G) stehen mehr und mehr zielgerichtete Therapieoptionen zur Verfügung [Fischer *et al.* 2012, Goede *et al.* 2014, Hallek *et al.* 2010, Keating *et al.* 2005]. Als erste zielgerichtete

Therapie wurde der kovalente Bruton-Tyrosinkinase (BTK)-Inhibitor Ibrutinib zugelassen [Byrd et al. 2014, Munir et al. 2019]. Mittlerweile steht mit Acalabrutinib ein weiterer kovalenter BTK-Inhibitor zur Verfügung [Seymour et al. 2021a, Wen et al. 2021]. Neben den BTK-Inhibitoren können auch die Phosphoinositid-3-Kinase-(PI3K)-Inhibitoren Idelalisib und Duvelisib bei refraktären Patienten zum Einsatz kommen [Flinn et al. 2018, Furman et al. 2014]. Die am Signalweg des B-Zell-Rezeptors angreifenden BTK- und PI3K-Inhibitoren können als Dauertherapie mit oder ohne Anti-CD20-Antikörper verabreicht werden [Sharman et al. 2020].

Mit Venetoclax steht eine weitere zielgerichtete Substanz zur Verfügung, die durch Inhibition des bei CLL-Patienten häufig überexprimierten anti-apoptischen *B-Cell-Lymphoma-2*-(BCL-2)-Proteins wieder eine physiologische Apoptose in CLL-Zellen ermög-

licht. Venetoclax kann bei ausgewählten Patienten als dauerhafte Monotherapie eingesetzt werden oder als zeitlich begrenzte Behandlung bei therapie-naiven Patienten in Kombination mit Obinutuzumab (Ven-G). Bei rezidivierten bzw. refraktären Patienten wird die Kombination mit Rituximab (Ven-R) [Al-Sawaf et al. 2020, Kater et al. 2019, Kater et al. 2020] eingesetzt. Auch in Zukunft wird sich die Therapie der CLL weiterentwickeln: Neben weiteren kovalenten und nicht kovalenten BTK-Inhibitoren wie z. B. Zanubrutinib oder Pirtobrutinib werden vor allem neuartige Kombinationstherapien von Venetoclax mit verschiedenen BTK-Inhibitoren mit und ohne Anti-CD20-Antikörpern in klinischen Studien untersucht [Mato et al. 2021a, Tam et al. 2022b, Wierda et al. 2021]. Auch neue (T-)zellulär vermittelte Therapieansätze wie z. B. CAR-T-Zellen und bispezifische Antikörper gewinnen zunehmend an Bedeutung als mögliche Therapeutika bei rezidivierten und refraktären CLL-Patienten [Siddiqi et al. 2022].

4 GRUNDLAGEN DER KLONALEN EVOLUTION BEI NEOPLASTISCHEN (MALIGNEN) ERKRANKUNGEN

4.1 KLONALE EVOLUTION

Klonale Evolution wird wesentlich durch die zugrunde liegende intratumorale und molekulare Heterogenität ermöglicht. Dabei entstehen beim dynamischen Wachstum der klonalen Subpopulationen klonale

Muster (*Patterns*), die eine Erkrankung oder deren Fortschreiten charakterisieren können. So kann es z. B. im Rahmen der klonalen Evolution zu einem klonalen Equilibrium kommen, bei dem die relativen Anteile mehrerer Subklone in einer gemischten Tumorphilpopulation gleichwertig aufrechterhalten werden (Abbildung 1 A).

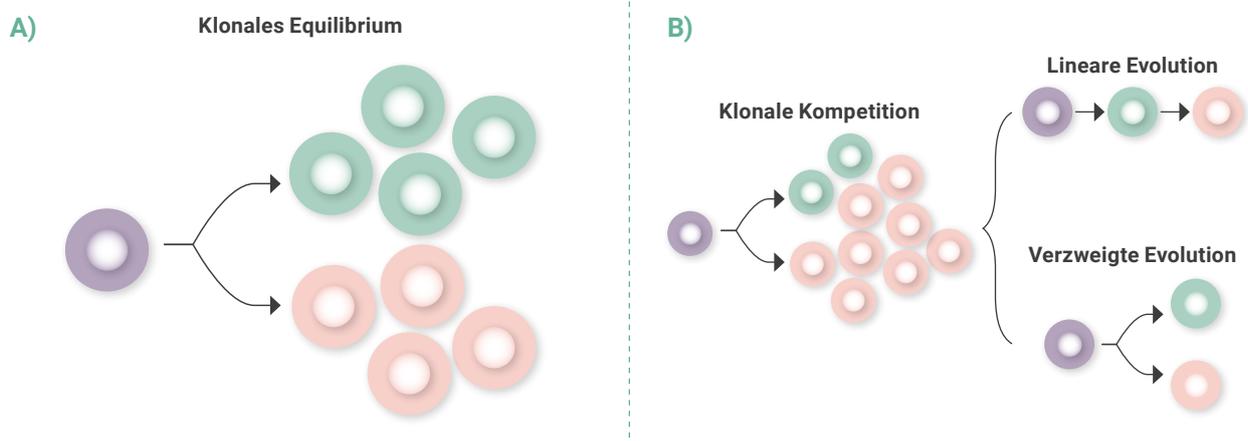


Abbildung 1: Evolutionäre Mechanismen als Grundlage der klonalen Evolution bei Krebserkrankungen; modifiziert nach [Gutierrez und Wu 2019].

Dagegen kommt es bei der klonalen Konkurrenz durch genetische oder epigenetische Veränderungen in einzelnen Subklonen zur Änderung der klonalen Fitness bzw. zu einem Überlebensvorteil gegenüber spezifischen Bedingungen, welcher die Prävalenz jedes Klon in einer Population beeinflusst. Hierbei konnten unterschiedliche evolutionäre Muster im Krankheitsverlauf beobachtet werden. Bei der linearen Evolution von Subklonen wird der parentale Klon vollständig durch einen Tochterklon ersetzt, der durch eine Veränderung einen Überlebensvorteil bekommen hat (Abbildung 1B). Eine solche Dynamik mit einer expansiven Proliferation eines bereits vorhandenen Klon aufgrund eines Selektionsvorteils durch eine erworbene Mutation bzw. epigenetische Veränderung wird als klonale Selektion bezeichnet [Gutierrez und Wu 2019]. Neben der linearen Evolution existieren auch andere Muster wie die verzweigte Evolution, bei der mehrere Subklone desselben Tumors koexistieren und um die klonale Dominanz konkurrieren (Abbildung 1B). Die verzweigte Evolution erhöht somit die molekulare Heterogenität des Tumors, die wiederum die Grundlage für weitere klonale Evolution und Expansion einzelner Subklone bildet. Solche verzweigten Muster können während passiver oder aktiver selektiver Bedingungen auftreten [Braggio et al. 2012, Landau et al. 2013]. Die unterschiedlichen Wachstumsdynamiken im Rahmen der klonalen Evolution konnten in den letzten Jahren dank moderner Techniken wie NGS und Einzelzelluntersuchungen bei verschiedenen Krebsarten gut dokumentiert werden.

4.2 MECHANISMEN DER KLONALEN EVOLUTION

Die Analyse mehrerer Biopsien desselben Tumors eines Patienten zu unterschiedlichen Zeitpunkten (z. B. vor und nach einer Therapie) kann die molekulargenetische Zusammensetzung und den evolutionären Verlauf der Entstehung neuer Subklone aufdecken. Dabei kann die klonale und subklonale Zusammensetzung des Tumors verwendet werden, um phylogenetische Stammbäume der klonalen Evolution zu konstruieren.

Durch bioinformatische Analysen können unterschiedliche Gruppen von Mutationen festgestellt werden: Mutationen, die in allen Proben eines Tumors vorhanden sind, wurden von frühen Zellen in der Tumorgenese (z. B. Stammzellen) erworben, die anschließend klonal expandiert sind. Diese sog. klonalen Mutationen werden im Stammbaum der analysierten Tumorzellen als Basis bzw. Stamm abgebildet. Mutationen, die nur in einer Teilmenge der entnommenen Proben vorhanden sind, werden als spätere Ereignisse betrachtet, die sich im Stammbaum als Verzweigungen darstellen. Diese Mutationen, die während oder nach der anfänglichen klonalen Expansion erworben wurden und in detektierten Subklonen enthalten sind, werden als subklonale Mutationen bezeichnet [Jamal-Hanjani et al. 2015, Mazor et al. 2016].

Als Treibermutationen (*Driver Mutations*) werden Mutationen bezeichnet, die einem leukämischen Zellklon einen Selektionsvorteil verleihen, der zu einer klonalen Expansion führt [Fittall und Van Loo 2019]. Diese können bereits im frühen Krankheitsstadium als grundlegende klonale Mutationen detektiert werden und prägen vor allem den initialen Verlauf der Erkrankung. Subklonale Treibermutationen spielen insbesondere bei selektivem Druck eine Rolle, da sie zu einer klonalen Expansion und folglich zur Entstehung einer Resistenz bzw. eines Rezidivs führen können.

4.3 DIE TREIBENDEN KRÄFTE DER KLONALEN EVOLUTION

Intrinsische klonale Dynamik (ohne Therapie)

Wie oben beschrieben sind intratumorale und molekulare Heterogenität Kennzeichen einer Krebserkrankung [Gutierrez und Wu 2019]. Daher ist schon bei einem unbehandelten Tumor mit der Entstehung unterschiedlicher klonaler Subpopulationen zu rechnen. Diese unterliegen auch ohne den Selektionsdruck einer medikamentösen Behandlung den verschiedenen Einflüssen der Tumorumgebung, die eine Grundlage für eine weitere klonale Evolution darstellen.

Tumormilieu

Das Mikromilieu in der Umgebung des Tumors hat tiefgreifende Auswirkungen auf die Entwicklung einer Krebserkrankung. Dabei wird das Krebswachstum durch viele verschiedene Faktoren wie beschränkte Nährstoffe (z. B. Glukose), die Präsenz von antitumoral wirkenden Immunzellen sowie nachteilige Wachstumsbedingungen in Form von z. B. Hypoxie und Azidose im Gewebe gehemmt. Dies erzeugt einen Selektionsdruck, der klonale Evolution fördert und den Tumorzellen die Eigenschaft verleihen kann, ein eigenes, vorteilhaftes Tumormilieu zu etablieren, welches die Tumorzellen vor schädlichen Auswirkungen der Umgebung schützt. Dies bedeutet, dass die Evolution maligner klonaler Erkrankungen ohne ein detailliertes Verständnis der verschiedenen Selektionsdrücke des Tumormilieus nicht vollständig nachvollzogen werden kann [McGranahan und Swanton 2017].

Behandlung

Die Behandlung von Krebserkrankungen mit Chemotherapie, Immuntherapie oder zielgerichteten

Therapeutika erzeugt einen selektiven Druck auf die Tumorzellpopulation. Dieser Selektionsdruck fördert die klonale Evolution anhand subklonaler Mutationen, die ggf. eine Resistenz bedingen und in der Folge eine klonale Expansion des resistenten Subklons verursachen können [McGranahan und Swanton 2017].

Immunsystem

Das menschliche Immunsystem kann Tumorzellen durch die Entstehung und Präsentation von Neo-Antigenen erkennen und eliminieren. Dabei hängt die Entstehung von Neoantigenen eng mit der Mutationslandschaft der Tumorzelle zusammen. Tumorzellen können jedoch unterschiedliche Mechanismen akquirieren, diese Anti-Tumor-Immunantwort zu umgehen. Klonale Evolution spielt daher auch eine Rolle bei der Entstehung subklonaler Tumorzellpopulationen, die in der Lage sind, die Expression von Neo-Antigenen zu modulieren oder sich auf andere Art und Weise dem Zugriff des Immunsystems zu entziehen und so eine Resistenz gegen eine Immunantwort aufzubauen [Anagnostou et al. 2017, Verdegaal et al. 2016].

5 ANALYSEVERFAHREN ZUM NACHWEIS KLONALER EVOLUTION AM BEISPIEL DER CLL

Bei der molekularen Charakterisierung der CLL wurden zahlreiche molekulargenetische Methoden eingesetzt, um dynamische Veränderungen der genetischen (und auch epigenetischen) Merkmale mit dem Krankheitsphänotyp zu verknüpfen. Da CLL-Zellen zwischen peripherem Blut, Lymphknoten und dem Knochenmark zirkulieren, ermöglicht die Entnahme von Blutproben die Gewinnung von Tumorzellen in hoher Reinheit und Anzahl. Dies erleichtert eine einfache und regelmäßig wiederholbare (longitudinale) Probenentnahme bei CLL-Patienten im Verlauf der Erkrankung. Die Analyse dieser sequenziellen Patientenproben liefert Serien an Momentaufnahmen der subklonalen Zusammensetzung der CLL, die eine Darstellung der klonalen Dynamik der CLL-Erkrankung über den zeitlichen Verlauf erlauben. Die Ergebnisse der Analyse können dann in Verbindung mit Messungen der Gesamtumorlast verwendet werden, um die klonale Fitness und die Wachstumskinetik zu bestimmen [Gruber et al. 2019, Landau et al. 2013].

Bulk-Genomanalyse

Obwohl die CLL, wie andere maligne Erkrankungen des Blutes, eine geringere Mutationslast aufweist als viele solide Tumoren, ist es möglich, die klonale Architektur und wahrscheinliche Phylogenien aus Analysen serieller Bulk-Proben von CLL-Patienten zu rekonstruieren. Bulk-Proben enthalten viele (in der Regel in der Größenordnung 10^3 bis 10^6), potenziell molekulargenetisch sehr unterschiedliche Tumorzellen. Eine serielle Probenentnahme zu drei oder mehr Zeitpunkten ist dabei bei der Rekonstruktion phylogenetischer Bäume sowie bei der Bestimmung der Dynamik der einzelnen Klone und der Wachstumsmuster im Verlauf der Erkrankung hilfreich [Wang et al. 2014]. Die Analyse von *Whole-Exome*- und *Whole-Genome*-Sequenzierungen von Bulk-Proben und die Software-basierte Berechnung der klonalen Krebszellfraktionen hat zu einem immer detaillierteren Verständnis von wiederkehrenden Treibermutationen

sowie der klonalen Kinetik bei der CLL beigetragen [Landau et al. 2014, Landau et al. 2013]. Allerdings ermöglicht eine Bulk-Analyse häufig keine präzise Rekonstruktion der klonalen Architektur mit entsprechender phylogenetischer Analyse, da hier letzten Endes nicht zweifelsfrei geklärt werden kann, ob Mutationen von seltenen subklonalen Krebszellfraktionen in ein und derselben oder in unterschiedlichen Zellen vorliegen. Zudem erlaubt eine Bulk-Analyse häufig nur unzureichend, die komplexe Heterogenität von Veränderungen auf genomischer, epigenomischer und transkriptomischer Ebene umfassend abzubilden, was für ein erweitertes Verständnis der komplexen evolutionären Mechanismen der Erkrankung essenziell ist. Angesichts dieser Einschränkungen der Bulk-Analyse wird in Zukunft die Einzelzell-Sequenzierung für die Analyse der klonalen Architektur und Dynamik bei der CLL von zunehmendem Interesse sein.

Einzelzellanalysen

Die serielle molekulare Charakterisierung von CLL-Proben auf Einzelzellebene kann eine detaillierte Sicht auf die reale klonale Zugehörigkeit (klonale Architektur) und die kausalen Zusammenhänge der

klonalen Fitness liefern, indem genetische und andere „OMICs“-Veränderungen einzelner (Sub-)Klone exakt identifiziert und einzelnen Zellen zugeordnet werden können [Gohil und Wu 2019]. Bis vor kurzem war dies jedoch durch einen geringen Durchsatz und hohe Kosten begrenzt.

Neue Vereinzelnungsverfahren ermöglichen mittlerweile die parallele Analyse mehrerer 1.000 einzelner Zellen aus einer Probe. Dank neuer Sequenzierungstechniken und hochentwickelter Analysealgorithmen sind zudem gleichzeitige integrative Analysen von genetischen, epigenetischen und transkriptionellen Veränderungen in Einzelzellen eines Tumors möglich [Gohil und Wu 2019, Macaulay et al. 2015, Wang et al. 2017, Yin et al. 2019]. Dies ermöglicht ein genaues „Lineage Tracing“ einzelner Subklone im Laufe einer CLL-Erkrankung sowie die genauere Bestimmung des Einflusses genetischer Veränderungen (z. B. Mutationen, Amplifikation, Translokationen) sowie nicht genetischer Veränderungen (transkriptionelle Eigenschaften/Clustering, DNA-Methylierung und Histon-Modifikationen) auf die Evolution einzelner Subklone der CLL [Nam et al. 2021].

6 MOLEKULARE VERÄNDERUNGEN UND KLONALE EVOLUTION BEI DER CLL

6.1 HÄUFIGE MUTATIONEN

Das Spektrum der bei CLL detektierten Mutationen ist bemerkenswert heterogen. Nur wenige Gene sind bei mehr als 5 % der Patienten bei der Diagnose mutiert (*NOTCH1*, *SF3B1*, *TP53*, *ATM*). Die große Mehrzahl der Mutationen tritt in niedriger Frequenz auf. Die wiederkehrenden Mutationen beeinflussen hauptsächlich Gene, die an der frühen Pathogenese und Progression der CLL beteiligt sind. Die betroffenen Gene clustern in einer überschaubaren Anzahl von Signalwegen. Dazu gehören u. a. Tumormikromilieu-abhängige Signalwege (*NOTCH1*, *FBXW7*), pro-inflammatorische Rezeptoren (*MYD88*), mitogenaktivierte Proteinkinasen (*BRAF*, *KRAS*, *NRAS*, *MAP2K1*) und NF- κ B-assoziierte Proteine (*BIRC3*, *TRAF3*, *NFKBIE*).

Zudem sind auch intrazelluläre Prozesse wie DNA-Reparatur und Zellzykluskontrolle (*ATM*, *TP53*, *SAMHD1*, *POT1*), Chromatinmodifikation (*HIST1H1E*, *CHD2*, *ZMYM3*), Transkription (*EGR2*, *IRF4*, *BCOR*, *MED12*) und RNA-Prozessierung (*XPO1*, *SF3B1*, *RPS15*) betroffen [Landau et al. 2015, Puente et al. 2015].

Chromosomenaberrationen wie die Deletion auf dem Chromosomenarm 13q14 (60 % der CLL-Fälle) oder eine Trisomie 12 (16 % der CLL-Fälle) sind in allen Phasen der Erkrankung detektierbar. Daher gelten diese genetischen Anomalien als frühe Treiber („*First Hit*“) der CLL-Entstehung [Schuh et al. 2012]. Weitere genetische Veränderungen stellen in der Regel „*Second Hit*“-Ereignisse dar, die im Rahmen der klonalen Evolution erworben und/oder selektiert werden

und in fortgeschritteneren Phasen der Krankheit auftreten. Die klonale Evolution bei der CLL führt häufig zur Entwicklung von konventionell zytogenetisch detektierbaren Veränderungen wie 17p13- oder 11q22–q23-Deletionen (Chromosomenbereiche, in denen wichtige Tumorsuppressorgene wie z. B. *TP53* bzw. *ATM* liegen), die mit ungünstiger Prognose vergesellschaftet sind. Die Entwicklung zusätzlicher *TP53*-Mutationen ist ebenfalls ein prognostisch relevanter Schritt in der klonalen Evolution der CLL und geht insbesondere mit Refraktärität gegenüber Chemotherapie und einem erhöhten Risiko zur Entwicklung eines Richter-Syndroms einher [Chigrinova et al. 2013]. Zusätzliche *SF3B1*-, *ATM*- und *BIRC3*-Mutationen, die mit einem aggressiveren klinischen Phänotyp korrelieren, können im weiteren Verlauf der CLL auftreten und so das Spektrum der Ereignisse klonaler Evolution erweitern [Condoluci und Rossi 2020].

Je größer die klonale Heterogenität der CLL innerhalb eines Patienten ist, desto schlechter ist die Prognose des weiteren Krankheitsverlaufs [Landau et al. 2015, Leeksa et al. 2019]. Die ungünstige Prognose von Patienten mit subklonalen Treiberänderungen (Mutationen und/oder Chromosomenaberrationen) konnte unter Berücksichtigung sowohl einzelner genetischer Anomalien als auch des gesamten Spektrums der kodierenden Mutationen wissenschaftlich belegt werden [Condoluci und Rossi 2020].

6.2 EPIGENETISCHE VERÄNDERUNGEN

Auch epigenetische Veränderungen tragen zur klonalen Evolution der CLL bei [Oakes et al. 2016]. Dabei kann u. a. DNA-Hypomethylierung in Bereichen der DNA stattfinden, an die krankheitsfördernde Transkriptionsfaktoren wie z. B. NFAT und TCF/LEF in der Folge leichter binden können [Beekman et al. 2018]. Auch DNA-Hypermethylierung der regulatorisch relevanten Regionen von Tumorsuppressor-Genen (TSG) kann zu verminderter Expression und damit meist zu einem Selektionsvorteil in den Tumorzellen führen. Eine aktuelle Arbeit, die mittels Bisulfit-Sequenzierungen DNA-Methylierungsmuster von CLL-Proben analysierte, konnte Methylierungs-Hotspots in mehreren relevanten TSG wie *DUSP22*, *RPRM* und *SASH1* identifizieren, die eine Rolle bei der Entstehung sowie

einem möglichen Rezidiv einer CLL spielen könnten [Pan et al. 2021].

6.3 KLONALE EVOLUTION BEI WATCH AND WAIT

Eine Analyse der klonalen Architektur von Patientenproben unter „*Watch and Wait*“-Regime hat gezeigt, dass in diesem Zeitraum sehr häufig ein klonales Equilibrium vorherrscht [Nadeu et al. 2018]. Tatsächlich erwiesen sich die in den Subklonen zum Zeitpunkt der Diagnose identifizierten genetischen Veränderungen im Laufe der Zeit als relativ stabil. In Ermangelung eines starken Selektionsdrucks scheint daher ein stabiles klonales Equilibrium das vorherrschende Muster zu sein.

6.4 KLONALE EVOLUTIONSMUSTER DER CLL IM RAHMEN EINER BEHANDLUNG

In longitudinalen Proben von CLL-Patienten (Behandlungsbeginn bis nach einem Rezidiv nach CIT) konnten alle oben beschriebenen Muster der klonalen Evolution identifiziert werden [Condoluci und Rossi 2019]:

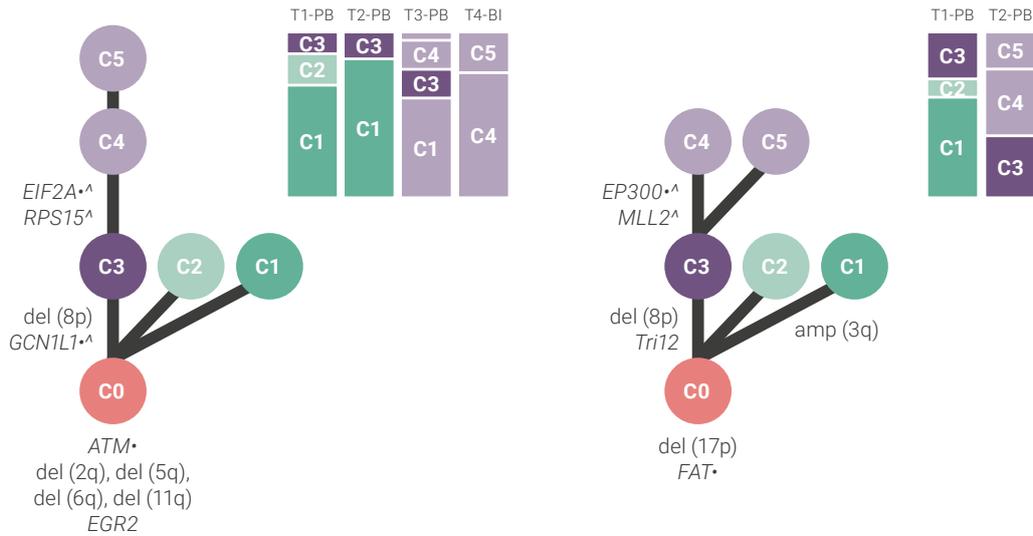
- keine Evolution (klonales Equilibrium),
- verzweigte Evolution (parallele Evolution von kompetitierenden Klonen) sowie
- lineare Evolution (Persistenz des initial dominanten Klons mit Erwerb weiterer Mutationen).

In mehreren Studien konnte bei einem Großteil der Patienten, die mit CIT behandelt wurden und rezidiert bzw. refraktär waren, eine behandlungsinduzierte Selektion von Subklonen nachgewiesen werden [Zapatka et al. 2021]. Auch bei ca. 25 % der Patienten, die entweder mit Ibrutinib-Monotherapie oder der Kombination aus Ibrutinib und Rituximab behandelt wurden, konnte z. B. eine mehrfach verzweigte Evolution mit zwei oder mehreren Subklonen nachgewiesen werden, die sich dynamisch im Laufe der Zeit weiterentwickelten [Landau et al. 2017, Ojha et al. 2015]. Bei hochauflösenden Analysen von Ibrutinib-

sowie Venetoclax-resistenten CLL-Patienten konnten verschiedene Formen von früher und später sowie eher linearer oder eher verzweigter Evolution von Subklonen beobachtet und detailliert beschrieben

werden (siehe Abbildung 2) [Burger et al. 2016, Herling et al. 2018]. Eine eher lineare klonale Evolution ist bei der Transformation zum Richter-Syndrom häufig (90 % der Fälle) [Fabbri et al. 2013].

A) Beispiele klonaler Evolution unter Ibrutinib



B) Beispiele klonaler Evolution unter Venetoclax

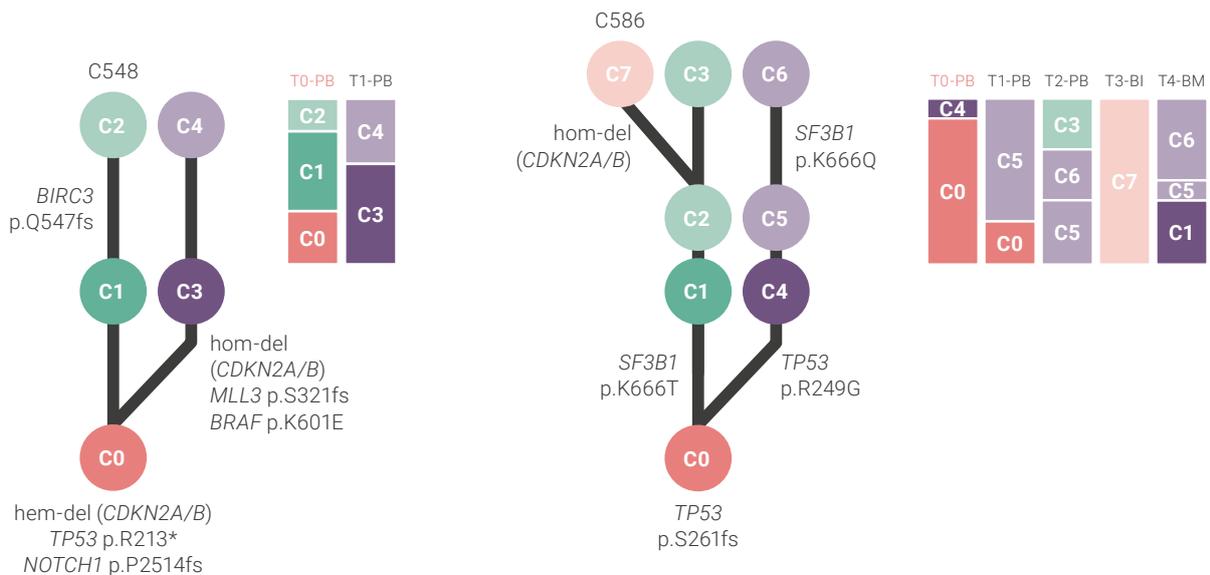


Abbildung 2: Beispiele unterschiedlicher Muster klonaler Evolution der CLL im Rahmen einer Dauertherapie mit Ibrutinib (A) oder Venetoclax (B) mit Darstellung der im Verlauf erworbenen klinisch relevanten Mutationen; modifiziert nach [Burger et al. 2016, Herling et al. 2018].

BI: Biopsie; BM: Knochenmark; C: Klon; PB: Peripheres Blut; T: Zeitpunkt; CLL: chronische lymphatische Leukämie

7 RESISTENZEN IM RAHMEN DER CLL-BEHANDLUNG

7.1 GRUNDLAGEN DER RESISTENZ-ENTSTEHUNG

Das „typische Genom“ einer nicht behandelten, unselektierten CLL weist ca. 2.000 molekulare Läsionen auf [Landau et al. 2015]. Diese Mutationen stehen für eine Vielzahl von unterschiedlichen Klonen und Subklonen, welche sich je nach intrinsischem (Mikromilieu) und extrinsischem (Therapie) Selektionsdruck unterschiedlich entwickeln können. Diese Vielfalt unterschiedlicher vorhandener leukämischer Klone stellt eine Herausforderung für die Behandlung der CLL dar: Vor der Behandlung unterrepräsentierte Klone können durch enthaltene Treibermutationen im Laufe einer Behandlung selektiert werden und im weiteren Verlauf der Behandlung bzw. nach Behandlungsende expandieren. In diesem Zusammenhang kann die klonale Evolution bei der CLL zu Therapieresistenz und zu einem entsprechenden Rezidiv führen (Abbildung 3).

7.2 RESISTENZEN BEI BEHANDLUNG MIT CIT

Eine Resistenz gegenüber CIT kann durch verschiedene evolutionäre Strategien zustande kommen. Häufig werden durch die Behandlung bereits bestehende *TP53*-

mutierte Subklone selektiert, die eine hohe genomische Komplexität aufweisen [Zenz et al. 2010a]. Bei diesen selektierten Subklonen kann es dann im Verlauf einer Expansion und eines Rezidivs zu ausgeprägter klonaler Evolution kommen [Landau et al. 2015]. In einer Studie mit 59 Patienten, bei denen detaillierte Sequenzanalysen mit entsprechenden Proben vor Erstlinientherapie mit Fludarabin und nach einem Rezidiv durchgeführt wurden, konnten große klonale Verschiebungen beobachtet werden, bei denen sowohl die Muster einer linearen als auch einer verzweigten Evolution vorkamen. Dabei war der rezidierte Klon jedoch in 30 % der Fälle bereits vor der Behandlung nachweisbar [Landau et al. 2015]. Eine biallelische Inaktivierung von *TP53* und *ATM* durch zusätzliche Aberrationen war bei rezidierten Klonen häufig, ebenso wie weitere Mutationen (z. B. *IKZF3*), die möglicherweise die klonale Fitness im Rahmen einer Fludarabin-Therapie verstärken [Ljungström et al. 2016]. Im Allgemeinen scheinen klonale Shifts, d. h. durch klonale Evolution verursachte größere Änderungen der klonalen Zusammensetzung der CLL, vor allem in Proben aus CIT-refraktären CLL-Patienten nachweisbar zu sein, unabhängig von deren Tumormasse [Zapatka et al. 2021]. Dies ist ein möglicher Beleg dafür, dass die Erforschung und Anwendung nicht genotoxischer Behandlungsschemata bei der CLL von großer Wichtigkeit ist.

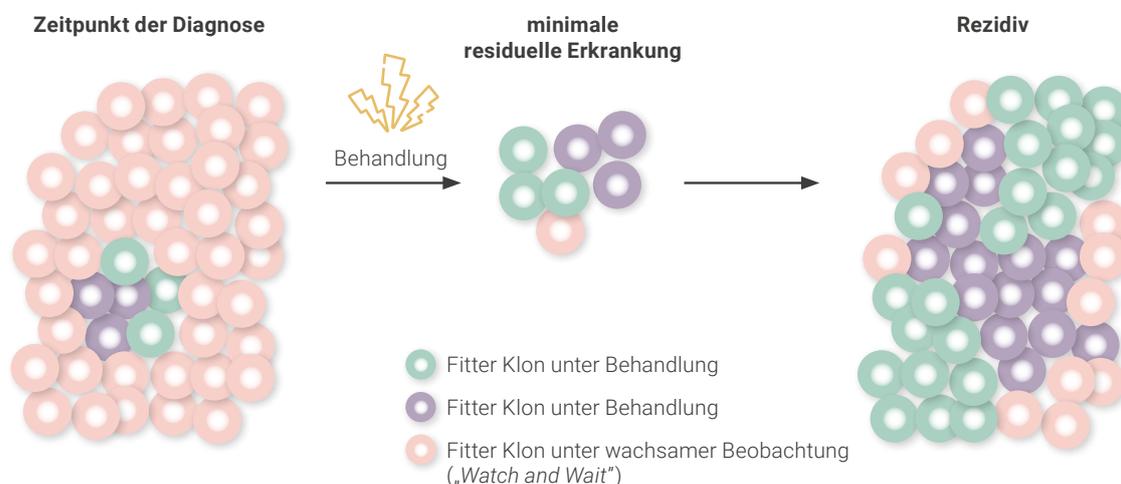


Abbildung 3: Klonale Evolution im Rahmen einer medikamentösen Behandlung; modifiziert nach [Condoluci und Rossi 2020].

7.3 RESISTENZEN BEI BEHANDLUNG MIT BTK-INHIBITOR-BASIERTEN THERAPIEN

Obwohl Ibrutinib eine wirksame Therapie ist, die zu dauerhaftem Ansprechen führen kann, entwickeln einige Patienten Resistenzen und daraufhin Rezidive [Sedlarikova et al. 2020]. Detaillierte Analysen von longitudinalen Proben konnten bei rezidierten CLL-Patienten *BTK*- und *PLCG2*-Mutationen nachweisen und identifizierten verschiedene Mechanismen der klonalen Evolution bei der Entwicklung und Expansion der therapieresistenten CLL-Subklone [Burger et al. 2016, Woyach et al. 2014]. Weitere Studien konnten nach ca. 24 Monaten Ibrutinib-Dauertherapie *BTK*- und *PLCG2*-Mutationen bei 50 – 80 % der CLL-Patienten identifizieren, die unter Therapie ein Rezidiv entwickelt hatten [Ahn et al. 2017, Kadri et al. 2017, Woyach et al. 2017]. Dabei waren kleine Klone mit den Resistenzmutationen bereits 10 – 15 Monate vor dem Rezidiv detektierbar. Auch bei Behandlung mit dem neueren kovalenten BTK-Inhibitor Acalabrutinib konnten bei rezidierten CLL-Patienten *BTK*- und *PLCG2*-Mutationen nachgewiesen werden [Woyach et al. 2019]. Der Aminosäureaustausch p.C481S war nach Behandlung mit Ibrutinib oder Acalabrutinib die häufigste nachgewiesene *BTK*-Mutation [Cheng et al. 2015, Woyach et al. 2019]. Dies kann durch den Wirkmechanismus von Ibrutinib und Acalabrutinib erklärt werden, welche mit einer irreversiblen kovalenten Bindung an Position p.C481 von BTK binden und die proliferativen und anti-apoptotischen Signale hemmen, die in CLL-Zellen durch nachgeschaltete Kinasen, darunter *PLCG2* und andere, vermittelt werden [Woyach und Johnson 2015]. Initiale Studien mit dem nicht kovalenten BTK-Inhibitor Pirtobrutinib, welcher an einer anderen Position von BTK bindet, zeigten daher auch eine Wirksamkeit bei Patienten mit Ibrutinib-resistenten CLL-Rezidiven und Resistenzmutationen an p.C481 [Mato et al. 2021b]. Laut einer aktuellen Forschungsarbeit bei rezidierten CLL-Patienten wurden resistenzvermittelnde Mutationen jedoch auch nach Behandlung mit Pirtobrutinib beobachtet. Diese traten an anderen Stellen der Kinase auf (z. B. an Aminosäureposition p.A428D oder p.L528W) und führten zum Teil nicht nur zu einer Resistenz gegenüber nicht kovalenten BTK-Inhibitoren, sondern auch gegenüber kovalenten BTK-Inhibitoren wie Ibrutinib oder Acalabrutinib

[Wang et al. 2022]. Die zweithäufigsten Mutationen bei CLL-Patienten, die unter einer Behandlung mit BTK-Inhibitoren rezidivieren, sind *PLCG2*-Mutationen [Liu et al. 2015, Quinquenel et al. 2019]. Das *PLCG2*-Gen kodiert für eine Phosphodiesterase, die im Signalweg unmittelbar unterhalb von BTK liegt. Die Mutationen von *PLCG2* wirken meist aktivierend und führen zu einer kontinuierlichen B-Zell-Rezeptoraktivierung, unabhängig von der BTK-Aktivität [Woyach et al. 2014]. Unabhängig von den Resistenz-relevanten *BTK*- oder *PLCG2*-Mutationen im Kontext einer medikamentösen Behandlung, die zu einer klonalen Evolution der CLL und einer Resistenzsituation mit Fortschreiten der Erkrankung führen (siehe Abbildung 4), können bei einer CLL auch frühe Resistenz-unabhängige Ereignisse Krankheitsevolution und Progress (z. B. im Rahmen einer Richter-Transformation) bedingen [Ahn et al. 2017].

7.4 RESISTENZEN BEI BEHANDLUNG MIT VENETOCLAX-BASIERTEN THERAPIEN

Ähnlich wie für die Ibrutinib-Dauertherapie konnte auch bei CLL-Patienten, die zuvor dauerhaft mit Venetoclax behandelt worden waren, Mutationen nachgewiesen werden, die mit einer verminderten Bindung an das Zielprotein (bei Venetoclax BCL-2) assoziiert sind. So konnte z. B. die *BCL-2*-Mutation p.G101V bei einem Teil der Patienten gefunden werden, die unter dauerhafter Monotherapie mit Venetoclax eine progrediente CLL aufwiesen. Weitere Mutationen in *BCL-2*, u. a. p.D103Y und p.A113G, wurden ebenfalls mit Resistenz gegenüber Venetoclax in Verbindung gebracht [Lucas et al. 2020, Tausch et al. 2019]. Diese und andere Mutationen konnten bei denselben Patienten als unabhängige Klone mit unterschiedlicher Wachstumsdynamik koexistieren [Blombery et al. 2020, Tausch et al. 2019]. Die beschriebenen *BCL-2*-Mutationen konnten dabei nach > 19 Monaten dauerhafter Monotherapie mit Venetoclax detektiert werden. Zwischen erster Identifikation der Mutation und klinischem Rezidiv vergingen mehrere weitere Monate (Abbildung 5) [Blombery et al. 2019, Tausch et al. 2019]. Neben *BCL-2*-Punktmutationen wurden in den Studien weitere Resistenz-assoziierte Veränderungen identifiziert, darunter z. B. Mutationen im *BTG1*-Gen,

Aberrationen von *CDKN2A/B*, die Überexpression von *MCL1* und *BCL-XL* (anti-apoptotische Proteine) sowie eine Amplifikation von *AMP-1* [Blombery et al. 2019, Guièze et al. 2019, Herling et al. 2018]. In aktuellen Studien, bei welchen Venetoclax nicht dauerhaft,

sondern im Rahmen einer zeitlich begrenzten CLL-Therapie eingesetzt wurde, konnten dagegen auch nach längerer Beobachtungszeit keine Resistenz-relevanten Mutationen identifiziert werden [Seymour et al. 2021b, Tausch et al. 2021].

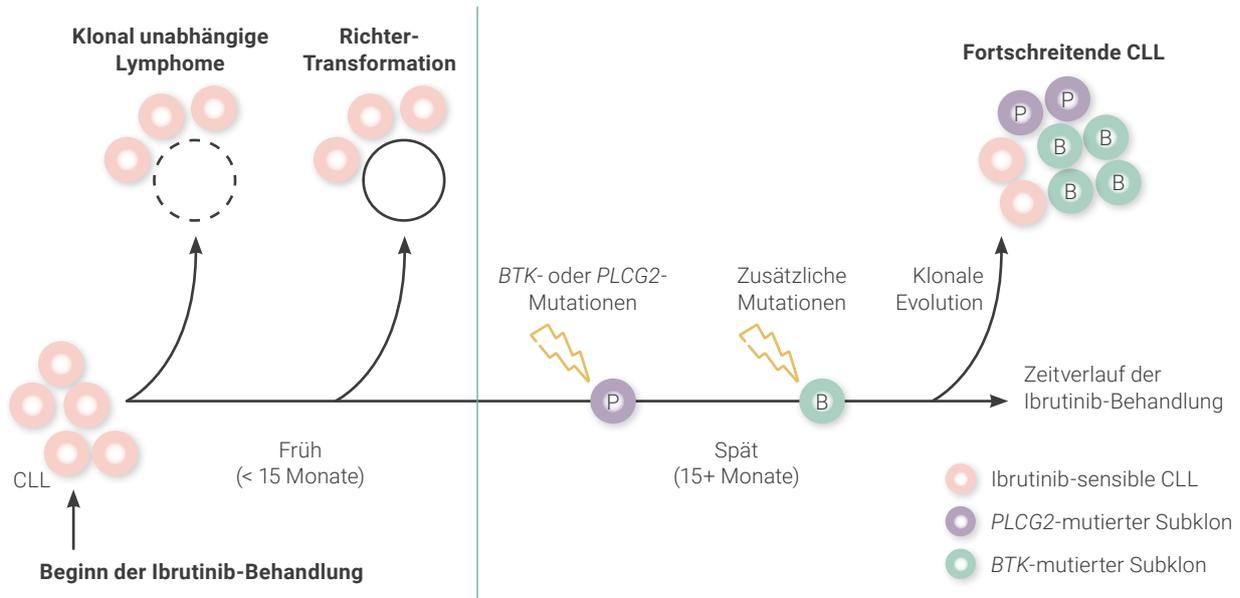


Abbildung 4: Molekulare Muster der Ibrutinib-resistenten CLL-Erkrankung. Schematische Darstellung bisheriger Studienbeobachtungen. Die Sensitivität gegenüber Ibrutinib wird durch die Histologie und Resistenz-relevante Mutationen beeinflusst. Die histologische Transformation ist in der Regel ein frühes Ereignis, welches *de novo* (klonal unabhängig) oder im ursprünglichen CLL-Klon entstehen kann. Beim Fortschreiten der CLL-Erkrankung im weiteren Verlauf der Behandlung werden häufig Mutationen in *BTK* und/oder *PLCG2* nachgewiesen. Dabei können multiple Subklone schon vor dem klinischen Progress koexistieren und in unterschiedlichem Maße expandieren; modifiziert nach [Ahn et al. 2017].
CLL: chronische lymphatische Leukämie

Zeitverlauf des CLL-Ansprechens und der Entstehung subklonaler p.G101V-Mutationen unter Dauertherapie mit Venetoclax

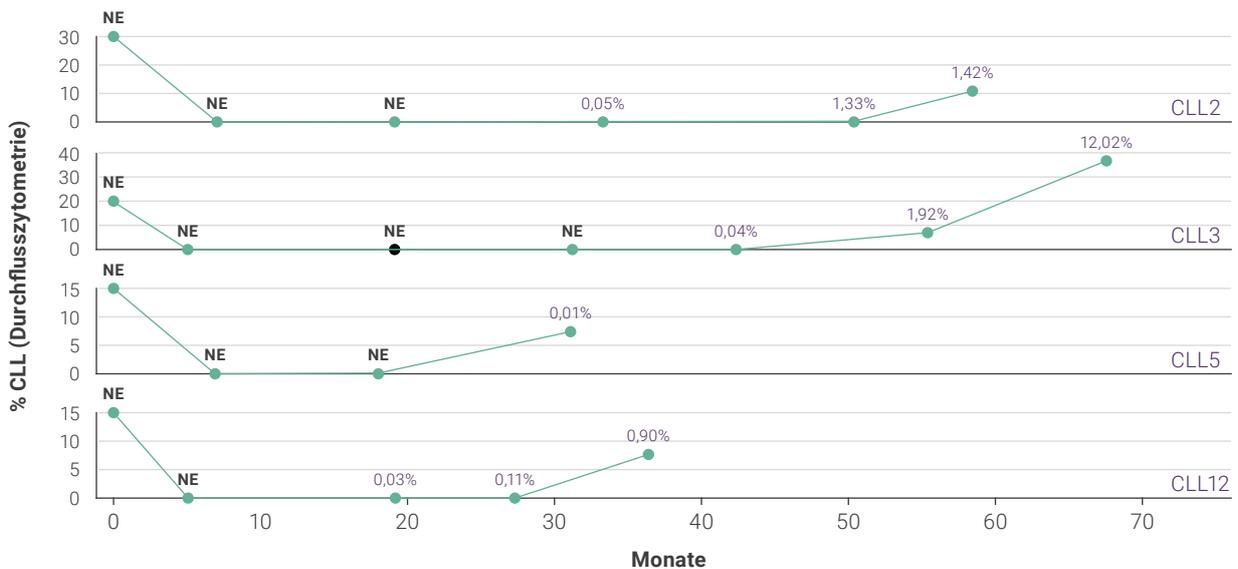


Abbildung 5: Zeit bis zur Detektion subklonaler *BCL-2*-Mutationen nach Venetoclax-Monotherapie bei rezidierten Patienten; modifiziert nach [Blombery et al. 2019].
NE: nicht erfasst; CLL: chronische lymphatische Leukämie

8 RESISTENZEN BEI DER CLL-BEHANDLUNG VERMEIDEN

8.1 ANPASSUNG/REDUKTION DER WIRKSTOFF-DOSIS

Dosismodulation könnte eine Möglichkeit sein, den Selektionsdruck durch Therapien zu verringern. Ob eine Anpassung der Dosis von zielgerichteten Therapeutika erfolgen kann, ohne die Wirksamkeit der Behandlung zu beeinflussen, bzw. welchen Einfluss eventuell subtherapeutische Dosen zielgerichteter Substanzen auf eine potenzielle Entstehung von Resistenzen haben, ist jedoch bisher noch nicht ausreichend untersucht worden.

8.2 SEQUENZIELLE UND ZEITLICH BEGRENZTE BEHANDLUNGEN

Die Behandlung mit B-Zell-Rezeptor-inhibitorischen Therapien ist zurzeit nur in Form einer Dauertherapie ohne Absetzstrategie zugelassen, bis eine fortschreitende Erkrankung oder zu ausgeprägte Toxizität auftritt. Es gibt jedoch zunehmende Evidenz dafür, dass zeitlich begrenzte Therapien und damit einhergehende therapiefreie Intervalle eine wiederholte Behandlung mit derselben Therapie ermöglichen, da bei diesem Konzept die Resistenzentstehung geringer ist. Dazu wird eine laufende Studie, welche eine zeitlich sequenzierte Behandlung mit Ibrutinib untersucht, wichtige Erkenntnisse liefern (Ibrutinib *On-Off*) [Lundin et al. 2021]. In dieser Studie werden die Patienten bis zur fortschreitenden Erkrankung in definierten Zeitintervallen abwechselnd mit oder ohne Ibrutinib behandelt. Ziel der Studie ist es, das Risiko erworbener Resistenzen und langfristiger Nebenwirkungen zu reduzieren.

Zeitlich begrenzte Therapien mit Venetoclax bieten eine Möglichkeit, die Entstehung von Resistenzen durch *BCL-2*-Mutationen zu vermeiden. Im Anschluss an eine zeitlich begrenzte Kombinationstherapie aus Venetoclax und dem Anti-CD20-Antikörper Obinutuzumab wurden im Rahmen der CLL14-Studie bei der Analyse von 25 beobachteten Rezidiven keine Resistenz-relevanten Mutationen in den anti-apop-

totischen Genen *BCL-2*, *BIM*, *BAX*, *BCL-XL* oder *MCL1* detektiert. Die Rezidive wurden in diesen Fällen vermutlich durch klonale Evolution von Subklonen verursacht, deren neue Veränderungen/Mutationen in anderen onkogenen Signalwegen wie z. B. dem BRAF-MAP-Kinase-Signalweg auftraten [Tausch et al. 2021]. Auch im Rahmen der Studien MURANO und CAPTIVATE, bei denen CLL-Patienten für 24 Monate bzw. 15 Monate zeitlich begrenzt mit Ven-R bzw. Venetoclax plus Ibrutinib behandelt worden waren, konnte nach Therapieende bei keinem der analysierten Patienten eine Mutation in *BCL-2*, *BTK* oder *PLCG2* nachgewiesen werden [Seymour et al. 2021b, Tam et al. 2022a].

Um eine Wiederaufnahme einer Therapie im Rahmen einer sequenziellen Behandlung zur Vermeidung von Resistenzen zu ermöglichen, ist es vorteilhaft, wenn das anfängliche Behandlungsschema entweder durch eine feste Dauer (bzw. feste Anzahl Therapiezyklen) oder durch eine Behandlung bis zu einer bestimmten Tiefe des Ansprechens (z. B. nach MRD-Status) begrenzt ist. Mehrere Studien mit CLL-Patienten untersuchen solche unterschiedlichen Ansätze [Al-Sawaf et al. 2020, Jain et al. 2019, Skånland und Mato 2021].

8.3 KOMBINATION VON ZIELGERICHTETEN THERAPIEN

Ein weiterer möglicher Ansatz zur Minimierung der klonalen Evolution und Resistenzentstehung im Rahmen der CLL besteht darin, Therapien zu kombinieren, die verschiedene Subklone bzw. Signalwege angreifen. Präklinische Studien konnten Synergien von Wirkstoffkombinationen zeigen. Zudem weisen viele der eingesetzten Substanzen in klinischen Studien nur begrenzt überlappende Toxizitätsprofile auf. So ist z. B. Venetoclax, ein Wirkstoff, der auf den intrinsischen apoptotischen Signalweg abzielt, ein geeigneter Partner für Therapien, die auf den B-Zell-Rezeptor-Signalweg gerichtet sind [Skånland und Mato 2021]. Erste Studiendaten u. a. aus den Studien GLOW und CAPTIVATE haben die Wirksamkeit dieser Kombina-

tionstherapie gezeigt [Munir et al. 2021, Tam et al. 2021]. Im Rahmen von CAPTIVATE konnten zudem bei keinem der zeitlich begrenzt mit Venetoclax und Ibrutinib behandelten CLL-Patienten nach Therapieende Mutationen in den Genen *BCL-2*, *BTK* oder *PLCG2* nachgewiesen werden [Tam et al. 2022a].

8.4 VERBESSERTES DESIGN KLINISCHER STUDIEN UND ECHTZEIT-ÜBERWACHUNG DER PATIENTEN

Die meisten klinischen Studiendesigns stratifizieren die Patienten nicht ausreichend, um die Wirkung neuartiger zielgerichteter Therapien in Patientenuntergruppen umfänglich zu beurteilen. Im Zeitalter der Präzisionsmedizin besteht Bedarf an verbesserten Studiendesigns und -strategien zur Implementierung von begleitenden Analyseverfahren, welche die mole-

kulare Heterogenität zwischen Patienten beleuchten. Um Biomarker zu identifizieren, die beim Treffen klinisch relevanter Entscheidungen helfen können, kann es sinnvoll sein, große Datensätze inklusive funktioneller Daten, Genomdaten und klinischer Daten von CLL-Patienten aus klinischen Studien zu sammeln. Die gesammelten Datensätze können dann die Grundlage für die Entwicklung von Analyse-Algorithmen mit künstlicher Intelligenz bilden, die zur Vorhersage von Behandlungsergebnissen genutzt werden können. Solche Vorhersage-Algorithmen könnten auch entwickelt werden, um Patienten mit einem hohen Risiko einer Resistenzentstehung zu identifizieren und frühzeitig therapeutisch zu reagieren und somit Resistenzen zu vermeiden. Zudem könnte es zukünftig ein spannender Ansatz sein, das Ansprechen der Patienten auf die Behandlung in Echtzeit zu überwachen, um auf erste Anzeichen von Resistenzentstehung möglichst schnell reagieren zu können [Skånland und Mato 2021].

9 FAZIT

Die fortlaufende Charakterisierung der Mechanismen der klonalen Evolution bei der CLL hat zu einem wachsenden Verständnis dafür geführt, dass klonale Dynamik, Wachstumskinetik sowie genetische und epigenetische Merkmale eine Rolle beim Fortschreiten der Erkrankung und der Entstehung von Resistenzen spielen. Um die Entstehung von Resistenzen

zu vermeiden, gibt es verschiedene Ansätze, die in Zukunft weiter untersucht werden sollten. Ein bisher vielversprechender Ansatz bei der Behandlung von CLL-Patienten ist der Einsatz von zeitlich begrenzten zielgerichteten Kombinationstherapien. Hier wurden kürzlich erste positive Studienergebnisse veröffentlicht.

10 LITERATUR

- Ahn IE**, Underbayev C, Albitar A, et al. Clonal evolution leading to ibrutinib resistance in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2017;129(11):1469 – 79
- Al-Sawaf O**, Zhang C, Tandon M, et al. Venetoclax plus obinutuzumab versus chlorambucil plus obinutuzumab for previously untreated chronic lymphocytic leukaemia (CLL14): follow-up results from a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2020;21(9):1188 – 200
- Anagnostou V**, Smith KN, Forde PM, et al. Evolution of neoantigen landscape during immune checkpoint blockade in non-small cell lung cancer. *Cancer Discov* 2017;7(3):264 – 76
- Baliakas P**, Moysiadis T, Hadzidimitriou A, et al. Tailored approaches grounded on immunogenetic features for refined prognostication in chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica* 2019;104(2):360 – 9
- Beekman R**, Chapaprieta V, Russiñol N, et al. The reference epigenome and regulatory chromatin landscape of chronic lymphocytic leukemia. *Nat Med* 2018;24(6):868 – 80
- Binet JL**, Auquier A, Dighiero G, et al. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer* 1981;48(1):198 – 206
- Blomberg P**, Anderson MA, Gong J-n, et al. Acquisition of the recurrent Gly101Val mutation in BCL2 confers resistance to venetoclax in patients with progressive chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Discovery* 2019;9(3):342 – 53
- Blomberg P**, Thompson ER, Nguyen T, et al. Multiple BCL2 mutations cooccurring with Gly101Val emerge in chronic lymphocytic leukemia progression on venetoclax. *Blood* 2020;135(10):773 – 7
- Braggio E**, Kay NE, VanWier S, et al. Longitudinal genome-wide analysis of patients with chronic lymphocytic leukemia reveals complex evolution of clonal architecture at disease progression and at the time of relapse. *Leukemia* 2012;26(7):1698 – 701
- Burger JA**, Landau DA, Taylor-Weiner A, et al. Clonal evolution in patients with chronic lymphocytic leukaemia developing resistance to BTK inhibition. *Nat Commun* 2016;7:11589
- Byrd JC**, Brown JR, O'Brien S, et al. Ibrutinib versus ofatumumab in previously treated chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2014;371(3):213 – 23
- Cheng S**, Guo A, Lu P, et al. Functional characterization of BTKC481S mutation that confers ibrutinib resistance: exploration of alternative kinase inhibitors. *Leukemia* 2015;29(4):895 – 900
- Chigrinova E**, Rinaldi A, Kwee I, et al. Two main genetic pathways lead to the transformation of chronic lymphocytic leukemia to Richter syndrome. *Blood* 2013;122(15):2673 – 82
- Claus R**, Pfannes W. Neuer Blickwinkel auf die Biologie des IGHV-Mutationsstatus bei der CLL. *Karger Kompass Onkologie* 2019;6(2):102 – 3
- Condoluci A**, Rossi D. Clonal evolution in chronic lymphocytic leukemia. *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia* 2019;19:S16 – S9
- Condoluci A**, Rossi D. Genomic instability and clonal evolution in chronic lymphocytic leukemia: clinical relevance. *J Natl Compr Canc Netw* 2020;19(2):227 – 33
- Damle RN**, Wasil T, Fais F, et al. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999;94(6):1840 – 7
- Döhner H**, Stilgenbauer S, Benner A, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2000;343(26):1910 – 6
- Fabbri G**, Khiabani H, Holmes AB, et al. Genetic lesions associated with chronic lymphocytic leukemia transformation to Richter syndrome. *J Exp Med* 2013;210(11):2273 – 88
- Fischer K**, Cramer P, Busch R, et al. Bendamustine in combination with rituximab for previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia: a multicenter phase II trial of the German Chronic Lymphocytic Leukemia Study Group. *J Clin Oncol* 2012;30(26):3209 – 16
- Fittall MW**, Van Loo P. Translating insights into tumor evolution to clinical practice: promises and challenges. *Genome Med* 2019;11(1):20
- Flinn IW**, Hillmen P, Montillo M, et al. The phase 3 DUO trial: duvelisib vs ofatumumab in relapsed and refractory CLL/SLL. *Blood* 2018;132(23):2446 – 55
- Furman RR**, Sharman JP, Coutre SE, et al. Idelalisib and rituximab in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *New England Journal of Medicine* 2014;370(11):997 – 1007
- Goede V**, Fischer K, Busch R, et al. Obinutuzumab plus chlorambucil in patients with CLL and coexisting conditions. *N Engl J Med* 2014;370(12):1101 – 10
- Gohil SH**, Wu CJ. Dissecting CLL through high-dimensional single-cell technologies. *Blood* 2019;133(13):1446 – 56
- Gruber M**, Bozic I, Leshchiner I, et al. Growth dynamics in naturally progressing chronic lymphocytic leukaemia. *Nature* 2019;570(7762):474 – 9
- Guièze R**, Liu VM, Rosebrock D, et al. Mitochondrial reprogramming underlies resistance to BCL-2 inhibition in lymphoid malignancies. *Cancer Cell* 2019;36(4):369 – 84.e13
- Gutierrez C**, Wu CJ. Clonal dynamics in chronic lymphocytic leukemia. *Blood Adv* 2019;3(22):3759 – 69
- Hallek M**, Fischer K, Fingerle-Rowson G, et al. Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet* 2010;376(9747):1164 – 74
- Hamblin TJ**, Orchard JA, Ibbotson RE, et al. CD38 expression and immunoglobulin variable region mutations are independent prognostic variables in chronic lymphocytic leukemia, but CD38 expression may vary during the course of the disease. *Blood* 2002;99(3):1023 – 9
- Herling CD**, Abedpour N, Weiss J, et al. Clonal dynamics towards the development of venetoclax resistance in chronic lymphocytic leukemia. *Nature Communications* 2018;9(1):727
- Hu B**, Patel KP, Chen H-C, et al. Association of gene mutations with time-to-first treatment in 384 treatment-naïve chronic lymphocytic leukaemia patients. *British Journal of Haematology* 2019;187(3):307 – 18
- Jain N**, Gandhi V, Wierda W. Ibrutinib and venetoclax for first-line treatment of CLL. Reply. *N Engl J Med* 2019;381(8):789
- Jamal-Hanjani M**, Quezada SA, Larkin J, et al. Translational implications of tumor heterogeneity. *Clin Cancer Res* 2015;21(6):1258 – 66
- Kadri S**, Lee J, Fitzpatrick C, et al. Clonal evolution underlying leukemia progression and Richter transformation in patients with ibrutinib-relapsed CLL. *Blood Advances* 2017;1(12):715 – 27

- Kater AP**, Seymour JF, Hillmen P, et al. Fixed duration of venetoclax-rituximab in relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia eradicates minimal residual disease and prolongs survival: post-treatment follow-up of the MURANO phase III study. *J Clin Oncol* 2019;37(4):269 – 77
- Kater AP**, Wu JQ, Kipps T, et al. Venetoclax plus rituximab in relapsed chronic lymphocytic leukemia: 4-year results and evaluation of impact of genomic complexity and gene mutations from the MURANO Phase III Study. *J Clin Oncol* 2020;38(34):4042 – 54
- Keating MJ**, O'Brien S, Albitar M, et al. Early results of a chemoimmunotherapy regimen of fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab as initial therapy for chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2005;23(18):4079 – 88
- Landau DA**, Carter SL, Getz G, et al. Clonal evolution in hematological malignancies and therapeutic implications. *Leukemia* 2014;28(1):34 – 43
- Landau DA**, Carter SL, Stojanov P, et al. Evolution and impact of subclonal mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Cell* 2013;152(4):714 – 26
- Landau DA**, Sun C, Rosebrock D, et al. The evolutionary landscape of chronic lymphocytic leukemia treated with ibrutinib targeted therapy. *Nature Communications* 2017;8(1):2185
- Landau DA**, Tausch E, Taylor-Weiner AN, et al. Mutations driving CLL and their evolution in progression and relapse. *Nature* 2015;526(7574):525 – 30
- Lazarian G**, Guixè R, Wu CJ. Clinical implications of novel genomic discoveries in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2017;35(9):984 – 93
- Leeksa AC**, Taylor J, Wu B, et al. Clonal diversity predicts adverse outcome in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2019;33(2):390 – 402
- Liu T-M**, Woyach JA, Zhong Y, et al. Hypermorphonic mutation of phospholipase C, $\gamma 2$ acquired in ibrutinib-resistant CLL confers BTK independency upon B-cell receptor activation. *Blood* 2015;126(1):61 – 8
- Ljungström V**, Cortese D, Young E, et al. Whole-exome sequencing in relapsing chronic lymphocytic leukemia: clinical impact of recurrent *RPS15* mutations. *Blood* 2016;127(8):1007 – 16
- Lucas F**, Larkin K, Gregory CT, et al. Novel *BCL2* mutations in venetoclax-resistant, ibrutinib-resistant CLL patients with *BTK/PLCG2* mutations. *Blood* 2020;135(24):2192 – 5
- Lundin J**, Mulder TA, Kättström M, et al. Temporary cessation of ibrutinib results in reduced grade 3-4 infections and durable remissions—interim analysis of an on-off-repeat phase 1b/2 study in patients with chronic lymphocytic leukemia. *eJHaem* 2021;2(3):525 – 9
- Macaulay IC**, Haerty W, Kumar P, et al. G&T-seq: parallel sequencing of single-cell genomes and transcriptomes. *Nat Methods* 2015;12(6):519 – 22
- Mato AR**, Pagel JM, Coombs CC, et al. Pirtobrutinib, a next generation, highly selective, non-covalent BTK inhibitor in previously treated CLL/SLL: updated results from the phase 1/2 BRUIN Study. *Blood* 2021a;138:391
- Mato AR**, Shah NN, Jurczak W, et al. Pirtobrutinib in relapsed or refractory B-cell malignancies (BRUIN): a phase 1/2 study. *Lancet* 2021b;397(10277):892 – 901
- Mazor T**, Pankov A, Song JS, et al. Intratumoral heterogeneity of the epigenome. *Cancer Cell* 2016;29(4):440 – 51
- Mc Granahan N**, Swanton C. Clonal heterogeneity and tumor evolution: past, present, and the future. *Cell* 2017;168(4):613 – 28
- Munir T**, Brown JR, O'Brien S, et al. Final analysis from RESONATE: up to six years of follow-up on ibrutinib in patients with previously treated chronic lymphocytic leukemia or small lymphocytic lymphoma. *Am J Hematol* 2019;94(12):1353 – 63
- Munir T**, Moreno C, Owen C, et al. First prospective data on minimal residual disease (MRD) outcomes after fixed-duration ibrutinib plus venetoclax (Ibr+Ven) versus chlorambucil plus obinutuzumab (Cib+O) for first-line treatment of CLL in elderly or unfit patients: the Glow Study. *Blood* 2021;138:70
- Nadeu F**, Clot G, Delgado J, et al. Clinical impact of the subclonal architecture and mutational complexity in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2018;32(3):645 – 53
- Nadeu F**, Delgado J, Royo C, et al. Clinical impact of clonal and subclonal *TP53*, *SF3B1*, *BIRC3*, *NOTCH1*, and *ATM* mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2016;127(17):2122 – 30
- Nam AS**, Chaligne R, Landau DA. Integrating genetic and non-genetic determinants of cancer evolution by single-cell multi-omics. *Nat Rev Genet* 2021;22(1):3 – 18
- Oakes CC**, Seifert M, Assenov Y, et al. DNA methylation dynamics during B cell maturation underlie a continuum of disease phenotypes in chronic lymphocytic leukemia. *Nat Genet* 2016;48(3):253 – 64
- Ojha J**, Ayres J, Secreto C, et al. Deep sequencing identifies genetic heterogeneity and recurrent convergent evolution in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2015;125(3):492 – 8
- Pan H**, Renaud L, Chaligne R, et al. Discovery of candidate DNA methylation cancer driver genes. *Cancer Discov* 2021;11(9):2266 – 81
- Puente XS**, Beà S, Valdés-Mas R, et al. Non-coding recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature* 2015;526(7574):519 – 24
- Quinquenel A**, Fornecker L-M, Letestu R, et al. Prevalence of *BTK* and *PLCG2* mutations in a real-life CLL cohort still on ibrutinib after 3 years: a FILO group study. *Blood* 2019;134(7):641 – 4
- Rai KR**, Sawitsky A, Cronkite EP, et al. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1975;46(2):219 – 34
- Rigolin GM**, Cavallari M, Quaglia FM, et al. In CLL, comorbidities and the complex karyotype are associated with an inferior outcome independently of CLL-IPI. *Blood* 2017;129(26):3495 – 8
- Rossi D**, Khiabani H, Spina V, et al. Clinical impact of small *TP53* mutated subclones in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2014;123(14):2139 – 47
- Rozovski U**, Keating MJ, Estrov Z. Why is the immunoglobulin heavy chain gene mutation status a prognostic indicator in chronic lymphocytic leukemia? *Acta Haematol* 2018;140(1):51 – 4
- Schuh A**, Becq J, Humphray S, et al. Monitoring chronic lymphocytic leukemia progression by whole genome sequencing reveals heterogeneous clonal evolution patterns. *Blood* 2012;120(20):4191 – 6
- Sedlarikova L**, Petrackova A, Papajik T, et al. Resistance-associated mutations in chronic lymphocytic leukemia patients treated with novel agents. *Frontiers in Oncology* 2020;10(894)
- Seymour JF**, Byrd JC, Hillmen P, et al. Characterization of Bruton tyrosine kinase inhibitor (BTKi)-related adverse events in a head-to-head trial of acalabrutinib versus ibrutinib in previously treated chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Blood* 2021a;138:3721
- Seymour JF**, Wu JQ, Popovic R, et al. Assessment of the clonal dynamics of acquired mutations in patients (Pts) with relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia (R/R CLL) treated in the randomized phase 3 Murano Trial supports venetoclax-rituximab (VenR) fixed-duration combination treatment (Tx). *Blood* 2021b;138(Supplement 1):1548

- Sharman JP**, Egyed M, Jurozak W, et al. Acalabrutinib with or without obinutuzumab versus chlorambucil and obinutuzumab for treatment-naive chronic lymphocytic leukaemia (ELEVATE TN): a randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2020;395(10232):1278 – 91
- Siddiqi T**, Soumerai JD, Dorritie KA, et al. Phase 1 TRANSCEND CLL 004 study of lisocabtagene maraleucel in patients with relapsed/refractory CLL or SLL. *Blood* 2022;139(12):1794 – 806
- Skånland SS**, Mato AR. Overcoming resistance to targeted therapies in chronic lymphocytic leukemia. *Blood Adv* 2021;5(1):334 – 43
- Stilgenbauer S**, Schnaiter A, Paschka P, et al. Gene mutations and treatment outcome in chronic lymphocytic leukemia: results from the CLL8 trial. *Blood* 2014;123(21):3247 – 54
- Swerdlow SH**, Campo E, Harris NL, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues, 4. Auflage. International Agency for Research on Cancer, Lyon, 2017
- Tam CS**, Allan JN, Siddiqi T, et al. Fixed-duration ibrutinib plus venetoclax for first-line treatment of CLL: primary analysis of the CAPTIVATE FD cohort. *Blood* 2022a; 10.1182/blood.2021014488
- Tam CS**, Dimopoulos M, Garcia-Sanz R, et al. Pooled safety analysis of zanubrutinib monotherapy in patients with B-cell malignancies. *Blood Advances* 2022b;6(4):1296 – 308
- Tam CSL**, Allan JN, Siddiqi T, et al. CAPTIVATE primary analysis of first-line treatment with fixed-duration ibrutinib plus venetoclax for chronic lymphocytic leukemia (CLL)/small lymphocytic lymphoma (SLL). *Hematological Oncology* 2021;39(S2)
- Tausch E**, Close W, Dolnik A, et al. Venetoclax resistance and acquired BCL2 mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica* 2019;104(9):e434 – e7
- Tausch E**, Schneider C, Yosifov D, et al. Genetic markers and outcome with front line obinutuzumab plus either chlorambucil or venetoclax - updated analysis of the CLL14 trial. *Hematological Oncology* 2021;39(S2)
- Verdegaal EME**, de Miranda NFCC, Visser M, et al. Neoantigen landscape dynamics during human melanoma–T cell interactions. *Nature* 2016;536(7614):91 – 5
- Wang E**, Mi X, Thompson MC, et al. Mechanisms of resistance to noncovalent Bruton's tyrosine kinase inhibitors. *New England Journal of Medicine* 2022;386(8):735 – 43
- Wang J**, Khiabanian H, Rossi D, et al. Tumor evolutionary directed graphs and the history of chronic lymphocytic leukemia. *Elife* 2014;3
- Wang L**, Fan J, Francis JM, et al. Integrated single-cell genetic and transcriptional analysis suggests novel drivers of chronic lymphocytic leukemia. *Genome Res* 2017;27(8):1300 – 11
- Wang L**, Lawrence MS, Wan Y, et al. *SF3B1* and other novel cancer genes in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2011;365(26):2497 – 506
- Wen T**, Wang J, Shi Y, et al. Inhibitors targeting Bruton's tyrosine kinase in cancers: drug development advances. *Leukemia* 2021;35(2):312 – 32
- Wendtner CM**, Dreger P, Eichhorst B, et al. Onkopedia Leitlinie: Chronische Lymphatische Leukämie (CLL). 2020. <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/chronische-lymphatische-leukaemie-cll/@@guideline/html/index.html>, abgerufen am: 01.12.2021
- Wierda WG**, Allan JN, Siddiqi T, et al. Ibrutinib plus venetoclax for first-line treatment of chronic lymphocytic leukemia: primary analysis results from the minimal residual disease cohort of the randomized phase II CAPTIVATE study. *Journal of Clinical Oncology* 2021;39(34):3853 – 65
- Wiestner A**, Ghia P, Byrd JC, et al. Rarity of B-cell receptor pathway mutations in progression-free patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL) during first-line versus relapsed/refractory (R/R) treatment with ibrutinib. *Blood* 2020;136:32 – 3
- Woyach J**, Huang Y, Rogers K, et al. Resistance to acalabrutinib in CLL is mediated primarily by BTK mutations. *Blood* 2019;134(Supplement_1):504
- Woyach JA**, Furman RR, Liu TM, et al. Resistance mechanisms for the Bruton's tyrosine kinase inhibitor ibrutinib. *N Engl J Med* 2014;370(24):2286 – 94
- Woyach JA**, Johnson AJ. Targeted therapies in CLL: mechanisms of resistance and strategies for management. *Blood* 2015;126(4):471 – 7
- Woyach JA**, Ruppert AS, Guinn D, et al. BTKC481S-mediated resistance to ibrutinib in chronic lymphocytic leukemia. *Journal of Clinical Oncology* 2017;35(13):1437 – 43
- Yin Y**, Jiang Y, Lam KG, et al. High-throughput single-cell sequencing with linear amplification. *Mol Cell* 2019;76(4):676 – 90.e10
- Zapatka M**, Tausch E, Öztürk S, et al. Clonal evolution in chronic lymphocytic leukemia is scant in relapsed but accelerated in refractory cases after chemo(im-mune) therapy. *Haematologica* 2021;107(3):604 – 14
- Zenz T**, Benner A, Döhner H, et al. Chronic lymphocytic leukemia and treatment resistance in cancer: the role of the p53 pathway. *Cell Cycle* 2008;7(24):3810 – 4
- Zenz T**, Eichhorst B, Busch R, et al. *TP53* mutation and survival in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2010a;28(29):4473 – 9
- Zenz T**, Eichhorst B, Busch R, et al. *TP53* mutation and survival in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2010b;28(29):4473 – 9



<https://cmemedipoint.de/haematologie/klonale-evolution-bei-ctl/>

LERNKONTROLLFRAGEN

Die Lernkontrollfragen lassen sich **online** beantworten.

Bitte kreuzen Sie jeweils nur **eine** Antwort an.

1 Welcher Faktor spielt bei der klinischen Prognose der chronischen lymphatischen Leukämie (CLL) nach aktuellem Kenntnisstand keine wesentliche Rolle?

- A) Die Deletion des kurzen Arms von Chromosom 17 (del[17p])
- B) Mutationen in den Genen *NRAS* oder *KRAS*
- C) Der Mutationsstatus des Gens für die schwere Kette des Immunglobulins (*IGHV*)
- D) Mutationen der Gene *SF3B1* und *NOTCH1*
- E) Ein komplexer Karyotyp mit ≥ 5 Aberrationen

2 Welche Therapieoption ist kein wesentlicher Bestandteil aktueller Behandlungsleitlinien bei der CLL?

- A) *Watch and Wait* (wachsame Beobachtung)
- B) Behandlung mit dem Zweitgenerations-Bruton-Tyrosinkinase-(BTK-)Inhibitor Acalabrutinib
- C) Strahlentherapie
- D) Behandlung mit dem kovalenten BTK-Inhibitor Ibrutinib
- E) Behandlung mit dem BCL-2-Inhibitor Venetoclax als Mono- oder Kombinationstherapie mit Obinutuzumab oder Rituximab

3 Welche Aussage zur klonalen Evolution bei Tumorerkrankungen ist richtig?

- A) Bei der linearen Evolution entstehen mehrere existierende Subklone desselben Tumors, die um die klonale Dominanz konkurrieren.
- B) Sog. klonale Mutationen sind nur in einer Teilmenge der entnommenen Zellen vorhanden und werden im Krankheitsverlauf als spätere Ereignisse betrachtet.
- C) Subklonale Mutationen wurden von frühen Zellen in der Tumorgenese (z. B. Stammzellen) erworben, die anschließend klonal expandiert sind.
- D) Wachstumsdynamiken im Rahmen der klonalen Evolution können v. a. dank Techniken wie Gelelektrophorese und Restriktionsverdau gut dokumentiert werden.
- E) Als Treibermutationen werden Mutationen bezeichnet, die einem leukämischen Zellklon einen Selektionsvorteil verleihen, der zu einer klonalen Expansion führt.

4 Welche Aussage zu den Methoden zum Nachweis klonaler Evolution bei der CLL ist falsch?

- A) Da CLL-Zellen auch im peripheren Blut zirkulieren, ermöglicht die Entnahme von Blutproben die Gewinnung von Tumorzellen in hoher Reinheit und Anzahl.
- B) Die Einzelzell-Sequenzierung von Tumorzellen ist deutlich kostengünstiger als eine Bulk-Proben-Sequenzierung.
- C) Bulk-Proben enthalten sehr viele potenziell molekular-genetisch sehr unterschiedliche Tumorzellen.
- D) Eine Bulk-Analyse ermöglicht häufig keine präzise Rekonstruktion der klonalen Architektur.
- E) Dank neuer Sequenzierungstechniken sind gleichzeitige integrative Analysen von genetischen, epigenetischen und transkriptionellen Veränderungen in Einzelzellen eines Tumors möglich.

5 Welcher Signalweg mit welchen Genen ist bei der CLL nicht häufig von Mutationen betroffen?

- A) Tumormikromilieu-abhängiger Signalweg (*NOTCH1*, *FBXW7*)
- B) Mitogenaktivierter Proteinkinase-Signalweg (*BRAF*, *KRAS*, *NRAS*, *MAP2K1*)
- C) Zytokin-Signaltransduktion (*JAK1 – 3*, *STAT1 – 6*, *SOCS1/3*)
- D) NF- κ B-assoziiertes Signalweg (*BIRC3*, *TRAF3*, *NFKBIE*)
- E) DNA-Reparatur und Zellzykluskontrolle (*ATM*, *TP53*, *SAMHD1*, *POT1*)

6 Welche Aussage zur klonalen Evolution bei CLL ist falsch?

- A) Subklonale Mutationen im Tumorsuppressorgen *TP53* haben keine Auswirkung auf Prognose und Verlauf der Erkrankung.
- B) Zytogenetische Anomalien wie die Deletion auf dem Chromosomenarm 13q14 oder eine Trisomie 12 sind zumeist in allen Phasen der Erkrankung detektierbar, weshalb diese als frühe Treiber („*First Hit*“) der CLL-Entstehung gelten.

- C) Epigenetische Veränderungen wie die der DNA tragen zur klonalen Evolution der CLL bei.
- D) Eine Analyse der klonalen Architektur von Patientenproben unter „Watch and Wait“-Regime hat gezeigt, dass in diesem Zeitraum sehr häufig ein klonales Equilibrium vorherrscht.
- E) Bei Analysen von Ibrutinib- sowie Venetoclax-resistenten CLL-Patienten konnten verschiedene Formen von früher und später sowie eher linearer oder eher verzweigter Evolution von Subklonen beobachtet werden.

7 Welche Aussage zur Resistenzentstehung bei der Behandlung der CLL mit Chemoimmuntherapie (CIT) ist richtig?

- A) Bei der Behandlung mit CIT werden häufig bereits bestehende *BAX*-mutierte Subklone selektiert, die in der Regel keine hohe genomische Komplexität aufweisen.
- B) In einer Studie mit nach Fludarabin-Behandlung rezidierten CLL-Patienten konnte der rezidierte Klon in 90 % der Fälle bereits vor der Behandlung nachgewiesen werden.
- C) Eine biallelische Inaktivierung von *TP53* und *ATM* ist bei rezidierten Klonen nach CIT selten.
- D) Im Allgemeinen scheinen klonale Shifts, d. h. durch klonale Evolution verursachte größere Änderungen der klonalen Zusammensetzung, vor allem in Proben aus CIT-refraktären CLL-Patienten nachweisbar zu sein, unabhängig von deren Tumorlast.
- E) Die Analysen von Proben aus Rezidiven nach Fludarabin-basierter Behandlung belegen, dass diese ausschließlich zu linearer klonaler Evolution führt.

8 Welche Aussage zur Resistenzentstehung bei BTK-Inhibitor-basierter Therapie ist falsch?

- A) Analysen von longitudinalen Proben konnten bei rezidierten CLL-Patienten *BTK*- und *PLCG2*-Mutationen nachweisen.
- B) Studien identifizierten verschiedene Mechanismen der klonalen Evolution bei der Entwicklung der therapieresistenten CLL-Subklone.
- C) Wissenschaftler konnten in Studien nach ca. sechs Monaten Ibrutinib-Dauertherapie resistenzrelevante Mutationen bei 10–20 % der CLL-Patienten identifizieren, die ein Rezidiv entwickelt hatten.

- D) Subklonale Ibrutinib-relevante Resistenzmutationen konnten bereits 10–15 Monate vor dem Rezidiv detektiert werden.
- E) Mutationen von *PLCG2* wirken meist aktivierend und führen zu einer kontinuierlichen B-Zell-Rezeptoraktivierung, unabhängig von der BTK-Aktivität.

9 Welche Aussage zur Resistenzentstehung bei Venetoclax-basierter Therapie ist richtig?

- A) In Studien mit Teilnehmern, die zuvor für zwölf Monate zeitlich begrenzt mit Venetoclax behandelt worden waren, konnten bei > 50 % der rezidierten Patienten *PLCG2*-Mutationen nachgewiesen werden.
- B) Im Rahmen einer dauerhaften Venetoclax-Therapie konnten keine Resistenz-relevanten Mutationen identifiziert werden.
- C) *BCL-2*-Mutationen konnten nur nach > 48 Monaten dauerhafter Monotherapie mit Venetoclax detektiert werden.
- D) Zwischen erster Identifikation der *BCL-2*-Mutation und klinischem Rezidiv vergingen wenige Wochen.
- E) In aktuellen Studien, bei welchen Venetoclax nicht dauerhaft, sondern im Rahmen einer zeitlich begrenzten Therapie eingesetzt wurde, konnten keine Resistenz-relevanten Mutationen identifiziert werden.

10 Welche Aussage zur möglichen Vermeidung von Resistenzen bei der CLL-Behandlung ist falsch?

- A) Eine Modulation der Dosis könnte eine Möglichkeit sein, den Selektionsdruck durch Therapeutika zu verringern.
- B) Es gibt zunehmende Evidenz dafür, dass bei einer sequenzierten Abwechslung von zeitlich begrenzter Therapie mit therapiefreien Intervallen die Resistenzentstehung geringer ist.
- C) Resistenzen gegen zielgerichtete Therapeutika können besonders durch hohe Wirkstoffdosen und eine unterbrechungsfreie Dauerbehandlung vermieden werden.
- D) Die Durchführung einer zeitlich begrenzten Therapie mit Venetoclax könnte eine Möglichkeit bieten, die Entstehung von Resistenzen durch *BCL-2*-Mutationen zu vermeiden.
- E) Ein Ansatz zur Minimierung der Resistenzentstehung besteht darin, Therapien zu kombinieren, die verschiedene Signalwege angreifen.

IMPRESSUM

AUTOR

Prof. Dr. Rainer Claus

Comprehensive Cancer Center Augsburg, Universitätsklinikum Augsburg

INTERESSENKONFLIKTE DES AUTORS

Honorare für Beratungs-, Vortrags- oder Lehrtätigkeit und Reiseunterstützung von AbbVie, Astra Zeneca, Celgene, Janssen-Cilag, Novartis, Roche, iOMEDICO

REDAKTION & LAYOUT

Dr. Johannes Kühle & Stefanie Blindert

KW MEDIPOINT, Bonn

Die Zertifizierung dieser Fortbildung durch die Bayerische Landesärztekammer wurde von CME MEDIPOINT, Neusäß organisiert.

Diese Fortbildung wurde von der AbbVie Deutschland GmbH & Co. KG mit insgesamt 16.289,- € finanziert. Die Ausarbeitung der Inhalte der Fortbildung wird dadurch nicht beeinflusst.

BEGUTACHTUNG

Diese Fortbildung wurde von zwei unabhängigen Gutachtern auf wissenschaftliche Aktualität, inhaltliche Richtigkeit und Produktneutralität geprüft. Jeder Gutachter unterzeichnet eine Konformitätserklärung.

Diese Fortbildung ist auf www.cmemedipoint.de online verfügbar.