

# DNA-Methylierung

## Von der Grundlagenforschung zur Routinediagnostik

In den letzten Jahren ist klar geworden, dass Krebs auf molekularer Ebene nicht nur durch genetische Läsionen im Sinne einer Punktmutation, Deletion oder Translokation gekennzeichnet ist, sondern auch so genannte „epigenetische“ Aberrationen für die Entstehung und Progression maligner Neoplasien eine ganz wesentliche Rolle spielen [1, 2].

### Was ist Epigenetik?

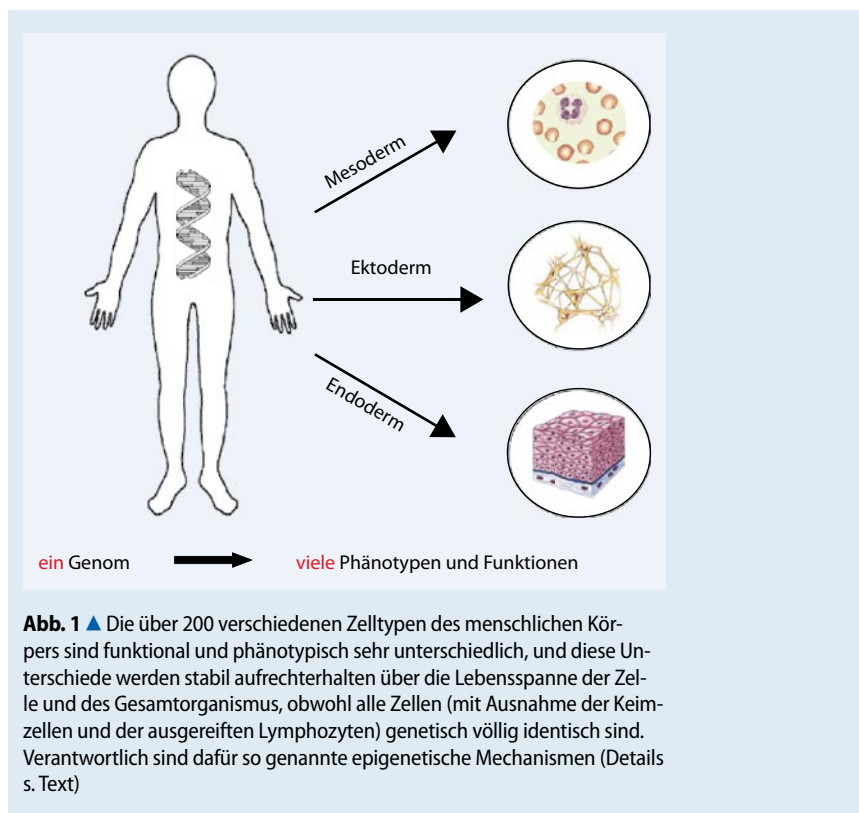
Das Forschungsfeld der Epigenetik beschäftigt sich mit stabil vererbten, aber

potenziell reversiblen Modifikationen der Genexpression, die nicht mit Änderungen der DNA-Sequenz einhergehen [3, 4]. Die Tatsache, dass die über 200 verschiedenen Zelltypen des menschlichen Körpers phänotypisch und funktional sehr unterschiedlich sind, obwohl sie alle genetisch identisch sind (mit Ausnahme der Keimzellen und ausgereiften Lymphozyten), und diese Diversität mit einer gewissen Plastizität auch stabil über die Lebensspanne der einzelnen Zellen und des Gesamtorganismus aufrechterhalten wird, ist ein klassisches epigenetisches Phäno-

men (■ **Abb. 1**). Beispiele für weitere epigenetische Phänomene sind die Inaktivierung des zweiten X-Chromosoms in weiblichen Körperzellen, das so genannte „Imprinting“, also die strikt monoallelische Expression einer kleinen, aber wichtigen Gruppe menschlicher Gene sowie, als ungewollter Störeffekt, die Inaktivierung exogener genetischer Elemente, die im Rahmen eines Gentherapieversuchs in Körperzellen eingeführt wurden.

Verschiedene molekulare Mechanismen sind an der Etablierung und Aufrechterhaltung epigenetischer Phänomene beteiligt. Am längsten bekannt und am besten untersucht ist die DNA-Methylierung [5, 6]. Weitere molekulare Systeme sind die Polycomb-/Trithorax-Proteinkomplexe, die in erster Linie die korrekte Expression der *HOX*-Gene regulieren [7], die zahlreichen und hochkomplex miteinander interagierenden Modifikationen der Histonproteine durch u. a. Acetylierung, Methylierung und Phosphorylierung [8], nicht für Proteine kodierende RNAs (so genannte „Non-coding-RNAs“), die die Expression anderer Gene regulieren [9], sowie die räumliche Anordnung der Chromosomen im Zellkern (so genannte Chromosomenterritorien), die den Aktivitätszustand ganzer Chromosomenabschnitte maßgeblich beeinflussen ([10], ■ **Infobox 1**).

Im Folgenden konzentriert sich diese Übersicht auf die DNA-Methylierung, da der Nachweis von Störungen der anderen genannten epigenetischen Mechanismen noch keinen Eingang in die Routinediagnostik gefunden hat. Diese Übersicht beschäftigt sich auch nur mit dem Nachweis von DNA-Methylierung im Tumor-



**Abb. 1** ▲ Die über 200 verschiedenen Zelltypen des menschlichen Körpers sind funktional und phänotypisch sehr unterschiedlich, und diese Unterschiede werden stabil aufrechterhalten über die Lebensspanne der Zelle und des Gesamtorganismus, obwohl alle Zellen (mit Ausnahme der Keimzellen und der ausgereiften Lymphozyten) genetisch völlig identisch sind. Verantwortlich sind dafür so genannte epigenetische Mechanismen (Details s. Text)

**Infobox 1 Epigenetische Mechanismen**

Folgende molekulare Mechanismen bzw. Systeme sind für die Ausbildung epigenetischer Phänomene verantwortlich:

- DNA-Methylierung
- Polycomb-/Trithorax-Komplexe
- Histonmodifikationen
- Nichtkodierende RNAs
- Chromosomenterritorien

gewebe. Das hochinteressante und sich schnell entwickelnde Feld des Nachweises von DNA-Methylierung im Blut oder anderen leicht zugänglichen Körperflüssigkeiten zur Krebsfrüherkennung kann hier aus Platzgründen nicht berücksichtigt werden [11].

**Was ist DNA-Methylierung?**

Unter physiologischen oder pathophysiologischen Bedingungen findet eine Modifikation menschlicher DNA nur an der DNA-Base Cytosin am Kohlenstoffatom Nr. 5 statt, und zwar durch Addition einer Methylgruppe, was zur Ausbildung von 5'-Methylcytosin führt (■ **Abb. 2**). Diese Modifikation findet auch nur statt, wenn die Base Cytosin (C) von Guanosin (G) gefolgt wird. Deshalb spricht man meist von „CG“- oder „CpG“-Methylierung. Das „p“ steht hierbei für die Phosphodiesterbrücke im DNA-Rückgrat. Eine Methylierung der DNA führt in den allermeisten Fällen in synergistischer Kooperation mit Histonmodifikationen durch Ausbildung einer sehr kompakten Chromatinstruktur („Heterochromatisierung“) zu einer Repression der Transkription [12]. Die primäre Gensequenz ist zwar unverändert vorhanden, kann aber nicht abgelesen werden, weswegen man auch von einer „funktionellen Deletion“ spricht. In Ausnahmefällen kann die Hypermethylierung reprimierend wirkender Sequenzen auch indirekt zu einer Aktivierung der Transkription benachbarter Gene führen.

**Störungen der DNA-Methylierung in menschlichen Tumoren**

In den 1980er Jahren wiesen erste Pionierarbeiten auf charakteristische Veränderungen der DNA-Methylierung in menschlichen Tumorzellen hin [13, 14,

Pathologe 2010 · [Suppl 2] 31:274–279 DOI 10.1007/s00292-010-1300-7 © Springer-Verlag 2010

U. Lehmann

**DNA-Methylierung.**

**Von der Grundlagenforschung zur Routinediagnostik**

**Zusammenfassung**

Auf molekularer Ebene ist Krebs nicht nur durch genetische Defekte im Sinne einer Mutation, Deletion oder Translokation gekennzeichnet, sondern auch durch so genannte „epigenetische Läsionen“. Die wichtigsten molekularen epigenetischen Mechanismen sind DNA-Methylierung, Polycomb-/Trithorax-Komplexe, Histonprotein-Modifikationen, nichtkodierende RNAs sowie Chromosomenterritorien. Diese epigenetischen Mechanismen tragen zu einer stabilen Modifikation der Genexpression bei, ohne zu einer Änderung der DNA-Sequenz zu führen.

In menschlichen Tumorzellen kann es zu einer genspezifischen Hypermethylierung mit resultierender Repression der Transkription kommen. Parallel ist häufig eine globale Hypomethylierung, die mit einer erhöhten

chromosomalen Instabilität einhergeht, zu beobachten.

In der Tumorpathologie ist für die molekulare Lynch-Syndrom-Diagnostik der Abschluss einer sporadischen Hypermethylierung des *hMLH1*-Gens wichtig. Beim Glioblastom ist der Nachweis einer *MGMT*-Gen-Hypermethylierung sowohl ein günstiger prognostischer als auch ein prädiktiver Marker.

Die Durchführung der DNA-Methylierungsdiagnostik erfordert eine umfangreiche technische und theoretische Expertise.

**Schlüsselwörter**

Epigenetik · DNA-Methylierung · *hMLH1* · *MGMT* · Maligne Neoplasien

**DNA methylation. From basic research to routine diagnostics**

**Abstract**

On a molecular level cancer is characterized not only by genetic defects, such as deletions, mutations or translocations, but also by epigenetic lesions. The most important epigenetic mechanisms are DNA methylation, Polycomb/trithorax complexes, histon modifications, non-coding RNAs, and chromosomal territories. These epigenetic mechanisms contribute to a stable modification of gene expression without changes in primary DNA sequence.

During the development and progression of human tumours a gene-specific hypermethylation with resulting repression of transcription can occur. At the same time, global hypomethylation can very often be observed

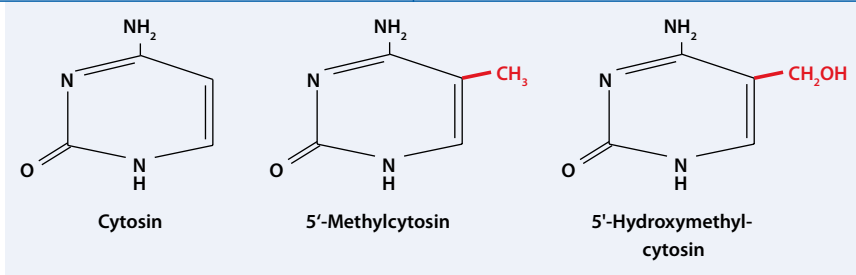
which contributes to an increase in chromosomal instability.

In tumour pathology, the detection of somatic *hMLH1* hypermethylation is important for molecular diagnostics of Lynch syndrome. The detection of *MGMT* gene methylation is a good prognostic and predictive factor for glioblastoma patients.

Performing DNA methylation assays for routine diagnostics requires technical as well as theoretical expertise.

**Keywords**

Epigenetic process · DNA methylation · *hMLH1* · *MGMT* · Neoplasms, malignant



**Abb. 2** ▲ Die DNA-Base Cytosin und die so genannte „5. Base“ 5'-Methylcytosin. Nach neuesten Erkenntnissen gibt es im menschlichen Genom auch noch eine 6. Base: 5'-Hydroxymethylcytosin [51, 52]. Inwieweit der Nachweis von Hydroxymethylcytosin für die molekulare Tumorpathologie praxisrelevant werden wird, lässt sich aktuell allerdings noch nicht absehen

15]. In den folgenden Jahren konnten diese Befunde in zahlreichen Publikationen unter Einsatz eines ständig weiterentwickelten analytischen Instrumentariums [16, 17] bestätigt und für praktisch alle menschlichen Krebserkrankungen gezeigt werden [18, 19, 20]. Dabei kommt es nicht nur zu einer genspezifischen Hypermethylierung mit nachfolgendem Ausfall der mRNA- und Proteinexpression, sondern auch zu einer generalisierten Hypomethylierung [21]. Letztere führt nicht nur zu einer möglichen Reexpression onkogen wirkender Loci, sondern in erster Linie zu einer Erhöhung der chromosomalen Instabilität, da eine korrekte DNA-Methylierung und die damit verbundene Chromatinstruktur essenziell ist für die Aufrechterhaltung der chromosomalen Integrität. In einigen speziellen Fällen kann es aber auch zu einer Erhöhung des globalen Methylierungslevels kommen [22].

Trotz der in den letzten 20 Jahren erzielten enormen Fortschritte unseres Wissens über die Funktion von DNA-Methylierung und deren Störungen in menschlichen Erkrankungen haben bisher nur einige wenige Nachweise den Eingang in die molekularpathologische Routinediagnostik menschlicher Tumoren gefunden.

### hMLH1

Ein wichtiger molekularer Defekt, der zur Entstehung eines kolorektalen Karzinoms führen kann, ist die so genannte „Mikrosatelliteninstabilität“ [23]. Ist die Mikrosatelliteninstabilität durch einen Ausfall der Expression des Reparaturgens *hMLH1* verursacht, kann dies 2 Gründe haben:

1. eine Keimbahnmutation im *hMLH1*-Gen oder

2. eine sporadische Inaktivierung des *hMLH1*-Gens durch aberrante Hypermethylierung des Promotors.

Da der Ausschluss einer familiären Krebserkrankung für die Familie der Patientin/des Patienten von großer Bedeutung ist, ist bei negativer *hMLH1*-Färbung im Tumorgewebe der Ausschluss einer sporadischen biallelischen Hypermethylierung angezeigt.

Da Rahner et al. 2008 einen Patienten mit Keimbahnmutation des *MLH1*-Gens bei gleichzeitiger Hypermethylierung publiziert haben [24], ist, wenn auch mit recht geringer Wahrscheinlichkeit, diese Konstellation mitzubedenken, insbesondere bei sehr verdächtiger Familienanamnese.

Die Situation wird weiter verkompliziert durch die Tatsache, dass eine konstitutive Hypermethylierung des *hMLH1*-Gens vererbt werden und diese „Epimutation“ zum klinischen Bild eines Lynch-Syndrom führen kann [25]. Die Identifizierung dieser sehr seltenen Fälle (weltweit etwa 30 Fälle beschrieben) setzt allerdings eine allelspezifische Analyse der DNA-Methylierung voraus, die Zentren mit entsprechender Erfahrung vorbehalten bleiben sollte.

### MGMT

Die Hypermethylierung des O<sup>6</sup>-Methylguanosa-Methyltransferase- (*MGMT*-) Gens ist im Glioblastom sowohl ein prognostischer als auch ein prädiktiver Marker. Ein methyliertes *MGMT*-Gen geht mit einer besseren Prognose sowie einem besseren Ansprechen auf Therapie mit alkylierenden Reagenzien einher. Auch wenn der prognostische Wert eines Markers

ganz generell ein störender Einflussfaktor („confounding factor“) bei der Bestimmung des prädiktiven Wertes sein kann, so ist doch die prädiktive Bedeutung der *MGMT*-Hypermethylierung in mehreren Studien gut belegt [26, 27, 28, 29].

Der alternativ denkbare Nachweis eines Ausfalls der *MGMT*-Expression mittels Immunhistochemie hat sich bislang aufgrund der Schwierigkeiten mit der Etablierung und Standardisierung der Färbung nicht durchsetzen können. Aufgrund dieser Probleme gibt es keine überzeugenden Korrelationen zwischen der immunhistochemischen Färbung, der mRNA-Expression und der DNA-Methylierung sowie der Prognose [30]. Aufgrund der klinischen Konstellation sind für einige behandelnde Neurochirurgen und Onkologen der prognostische Wert wegen der generell sehr schlechten Prognose des Glioblastoms und der prädiktive Wert wegen mangelnder Therapiealternativen allerdings eingeschränkt, so dass die *MGMT*-Methylierungsanalyse noch nicht flächendeckend nachgefragt und durchgeführt wird.

### Störungen des Imprintings

Die Methylierungsmuster von Genen, die ein „Imprinting“, also eine strikt monoallelische Expression zeigen, können ebenfalls in menschlichen Erkrankungen gestört sein [31, 32, 33]. In der Humangenetik ist die Methylierungsanalyse verschiedener Loci zur Identifizierung z. B. eines Imprinting-Defekts bei Prader-Willi- oder Angelman-Syndrom bereits Bestandteil der Routinediagnostik [34]. Obwohl es in verschiedenen menschlichen Tumoren ebenfalls z. T. sehr ausgeprägte Störungen des Imprintings geben kann, haben diese Erkenntnisse noch nicht Eingang in die molekularpathologische Routinediagnostik maligner Neoplasien gefunden.

### In Zukunft?

Im Folgenden werden einige DNA-Methylierungsstörungen aufgeführt, die möglicherweise in näherer Zukunft Eingang in die molekularpathologische Routine finden werden.

## MSH2

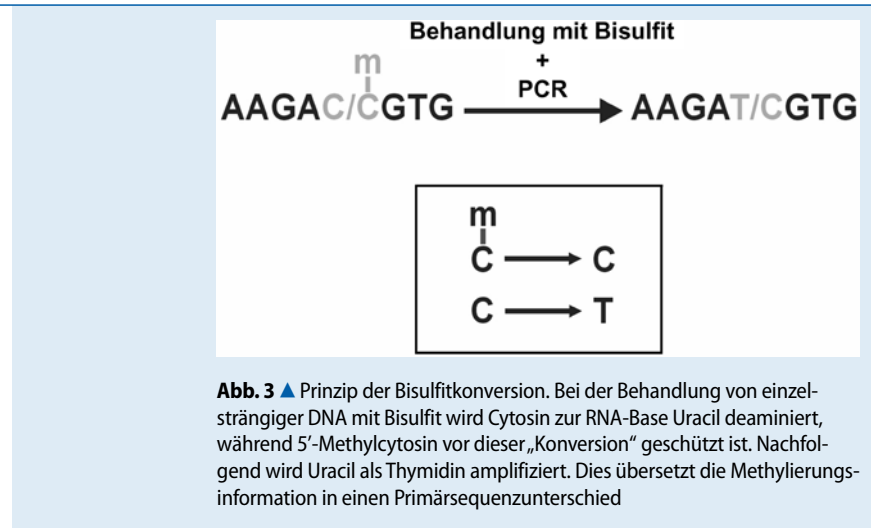
Ähnlich wie das *hMLH1*-Gen kann das DNA-Reparaturgen *MSH2* ebenfalls durch aberrante Hypermethylierung in Abwesenheit einer Keimbahnmutation inaktiviert werden [35]. Und auch diese aberrante Hypermethylierung kann in seltenen Fällen vererbt werden, so dass es zur Ausbildung eines typischen Lynch-Syndroms kommen kann, mit Ausfall der *MSH2*-Proteinexpression, aber in Abwesenheit einer *MSH2*-Keimbahnmutation. In sporadischen kolorektalen Karzinomen scheint eine Hypermethylierung des *MSH2*-Gens nicht aufzutreten. Sollten diese sehr aktuellen Ergebnisse [36] unabhängig bestätigt werden, könnte in Zukunft der Nachweis einer *MSH2*-Methylierung Bestandteil der molekularen Lynch-Syndrom-Diagnostik werden.

## HPV

Ein noch nicht befriedigend gelöstes Problem der HPV- (humane Papilloma-Virus-) Diagnostik ist die Differenzierung der persistierenden, nicht spontan regredierenden HPV-positiven Läsionen von den HPV-positiven Läsionen, die spontan verschwinden. Ein möglicher zukünftiger molekularer Marker ist die Hypermethylierung bzw. Hypomethylierung bestimmter regulatorischer Abschnitte des HPV-Genoms, die ein stabiler und zuverlässiger Surrogatmarker für den Integrations- und transkriptionellen Aktivitätszustand des HPV-Genoms zu sein verspricht [37, 38, 39, 40]. Die allermeisten Studien haben sich in diesem Kontext auf die Methylierung zelleigener Gene (wie z. B. *CDKN2A*, *DAPK*, *CDH13* oder *MGMT*) konzentriert, bisher ohne jeden greifbaren Erfolg (wegen unzureichender Sensitivität und/oder Spezifität, [41]). Die auf einem plausiblen und experimentell gestützten Modell basierende Fokussierung auf die Analyse der DNA-Methylierung des HPV-Genoms stellt eine eher erfolgversprechende Alternative dar.

## CIMP

Zahlreichen Studien zeigen, dass verschiedene Tumoren nicht nur durch eine genetische Instabilität im Sinne einer chro-



**Abb. 3** ▲ Prinzip der Bisulfitkonversion. Bei der Behandlung von einzelsträngiger DNA mit Bisulfit wird Cytosin zur RNA-Base Uracil deaminiert, während 5'-Methylcytosin vor dieser „Konversion“ geschützt ist. Nachfolgend wird Uracil als Thymidin amplifiziert. Dies übersetzt die Methylierungsinformation in einen Primärsequenzunterschied

mosomalen Instabilität (CIN) oder einer Mikrosatelliteninstabilität (MSI), sondern auch durch eine epigenetische Instabilität charakterisiert sind. Letztere zeichnet sich durch die konkordante Hypermethylierung zahlreicher Gene aus, ein Phänomen, welches als „CpG island methylator phenotype“ (CIMP) bezeichnet wird [42]. Am besten beschrieben ist der CIMP-Phänotyp für das kolorektale Karzinom [43]. Je nach Fortgang der Entwicklung so genannter „epigenetischer Therapien“ im Sinne einer Hemmung der DNA-Methylierung und/oder der Histonacetylierung auch für solide Tumoren, wird in Zukunft die Stratifizierung von Tumoren hinsichtlich einer epigenetischen Instabilität möglicherweise von Bedeutung werden.

In der akuten myeloischen Leukämie (AML) definieren DNA-Methylierungssignaturen anscheinend neue biologische Subgruppen und stellen neue unabhängige Marker für das Überleben dar [44]. Sollten diese erst kürzlich publizierten Ergebnisse sich bestätigen, wird die molekulare Diagnostik der AML in Zukunft möglicherweise auch die Bestimmung von DNA-Methylierungsmustern beinhalten.

## Zur Methodik

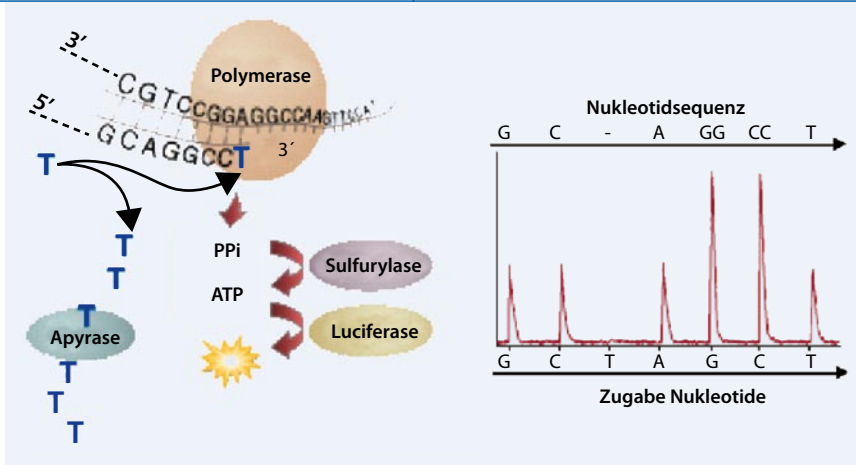
### Bisulfitkonversion

Die allermeisten Verfahren zum Nachweis von DNA-Methylierung basieren auf der Behandlung genomischer DNA mit Bisulfit, der so genannten „Bisulfitkonversion“ [45]. Diese chemische Behandlung trans-

formiert die in konventioneller Sanger-Sequenzierung unsichtbare epigenetische Information der 5'-Methylcytosin-Methylierung in einen Unterschied der DNA-Sequenz, der nachfolgend mit einem breiten Spektrum an Methoden analysiert werden kann (■ **Abb. 3**, [46]). Trotz weitgehender Standardisierung und Vereinfachung dieses Reaktionsschrittes durch die Verfügbarkeit sehr zuverlässiger kommerzieller Kits, bleibt als Hauptproblem der Bisulfitkonversion der enorme Verlust inaktiver amplifizierbarer DNA aufgrund der sehr harschen chemischen Bedingungen [47]. Dadurch sind die Anforderungen an Menge und Güte der zu untersuchenden DNA wesentlich höher als z. B. bei konventioneller Mutationsanalytik.

## Methylierungsspezifische PCR

Obwohl die methylierungsspezifische Polymerase-Ketten-Reaktion (MSP-PCR) die nach wie vor am weitesten verbreitete Methode für den Nachweis von DNA-Methylierung ist und zahlreiche auch konzeptionell wichtige Studien auf ihr basieren, ist sie in der Routinediagnostik den anderen hier aufgeführten Verfahren eindeutig unterlegen. Sie ist schwer oder gar nicht zu standardisieren, birgt die große Gefahr falsch-positiver Ergebnisse, kann die Vollständigkeit der Bisulfitkonversion nicht kontrollieren und hat eine unzureichende so genannte „horizontale“ Auflösung hinsichtlich der Methylierung einzelner CpG-Dinukleotide [11].



**Abb. 4** ▲ Prinzip der Pyrosequenzierung [53]. Das zur Verlängerung des Sequenzierprimers jeweils einzubauende Nucleotid liegt nicht im Reaktionsansatz vor, sondern wird separat hinzu pipettiert. Das anschließend beim Nucleotideinbau freigesetzte Pyrophosphat aktiviert eine enzymatische Kaskade, die zur Generierung eines Lichtblitzes führt. Die Stärke dieses Lichtblitzes ist direkt proportional der Menge an eingebautem Nucleotid. Bevor das nächste Nucleotid hinzu pipettiert wird, baut die Apyrase überschüssiges Nucleotid ab. Ein Reaktionszyklus besteht aus Nucleotid einspritzen und einbauen, Pyrophosphatfreisetzung, Messung der Menge an eingebautem Nucleotid sowie überschüssiges Nucleotid abbauen und dauert etwa 1 min. (Reproduktion mit freundlicher Genehmigung der Firma Qiagen)

### Real-time-MSP

Ein Teil der Probleme der konventionellen MSP, insbesondere die fehlende Quantifizierbarkeit, konnte durch Entwicklung der „Real-time-PCR-basierten“ qMSP behoben werden [48]. Allerdings hat auch diese Methode eine beschränkte horizontale Auflösung und keine Möglichkeit, die Vollständigkeit der Bisulfitbehandlung in der zu untersuchenden Sequenz zu verifizieren.

### Pyrosequenzierung

Die Pyrosequenzierung ist seit einigen Jahren auch in ihrer Anwendung für die Methylierungsanalyse kommerziell verfügbar. Bei dieser Sequenzertechnologie führt der Einbau eines Nucleotids zur Erzeugung eines Lichtblitzes, dessen Stärke direkt proportional zur Menge an eingebautem Nucleotid ist (■ **Abb. 4**). Sie gestattet die exakte Quantifizierung des Methylierungsgrades jeder einzelnen Methylierungsstelle. Dies ermöglicht relativ einfach und direkt die Etablierung von Schwellenwerten. Zusätzlich lässt sich die Vollständigkeit der Bisulfitbehandlung kontrollieren. Dies ist sehr wichtig, da eine unvollständige Bisulfitbehandlung zu falsch-positiven Ergebnissen führen kann. Diese beiden Vorteile zeichnen

diese Technologie vor vielen anderen Methoden der Methylierungsanalyse aus, insbesondere vor der immer noch weit verbreiteten konventionellen MSP-PCR [49]. Ein Nachteil der Pyrosequenzierung ist die begrenzte Leseweite (im Vergleich zur klassischen Bisulfitsequenzierung) sowie das nicht selten sehr schwierige Assay-Design.

### Notwendige Voraussetzungen

Der Nachweis von DNA-Methylierungsaberrationen für die Routinediagnostik setzt ausreichende Erfahrungen mit PCR-basierter Diagnostik voraus, insbesondere hinsichtlich der Analyse formalinfixierter und paraffineingebetteter Patientenproben (Labororganisation, Kontaminationsproblematik, Ausbildungsstand des technischen Personals, DNA-Extraktion aus FFPE-Material, Assay-Design). Die erforderliche technische und apparative Ausstattung entspricht der eines normalen molekularpathologischen Labors. Für die Pyrosequenzierung wird ein eigenes Gerät benötigt, welches allerdings auch für die Mutationsanalytik (z. B. K-ras, oder c-kit) eingesetzt werden kann.

Darüber hinaus sind umfangreiche Erfahrungen in der Durchführung von DNA-Methylierungsanalysen zur Identifizierung und Beseitigung von Fehlerquel-

len im Labor, zur adäquaten Interpretation der Laborergebnisse, zur kritischen Analyse und Würdigung neuer publizierter Studien sowie zur Umsetzung dieser Studien in der Praxis absolut essenziell. Zur Einordnung der Ergebnisse ist klinisch-histopathologisches Wissen und Verständnis sowie eine enge Zusammenarbeit von Molekularpathologen mit den diagnostizierenden (Neuro-)Pathologen (Identifizierung geeigneter Gewebeproben, Tumorzellgehalt? Nekrose? Normalgewebe als Vergleich usw.) und ggf. auch den behandelnden Ärzten unabdingbar. Außerdem sollte das Probenaufkommen einen Umfang haben, der sicherstellt, dass die entsprechenden Nachweise nicht nur gelegentlich durchgeführt werden.

In einer Metaanalyse aus dem Jahr 2007 zur Analyse der DNA-Methylierung des *MLH1*-Gens konnten Capel et al. [50] nachweisen, dass zahlreiche Studien funktionell völlig irrelevante Regionen hinsichtlich ihrer DNA-Methylierung untersuchen und viele publizierte Ergebnisse daher von zweifelhaftem Wert sind. Dies unterstreicht die Wichtigkeit der eingehenden Beschäftigung mit der Primärliteratur und der kritischen Würdigung publizierter Ergebnisse.

Für die kritische und überzeugende Evaluation weiterer klinischer DNA-Marker wäre es sehr hilfreich, wenn prospektive Studien durchgeführt werden könnten, die völlig unabhängig von kommerziellen Interessen geplant und durchgeführt werden. Wünschenswert wäre es auch, wenn alle Studien mit negativem Ausfall angemessen und nachvollziehbar publiziert würden.

### Fazit für die Praxis

- Epigenetische Aberrationen sind sehr wichtig in der Entstehung und Progression humaner maligner Neoplasien.
- Der Nachweis von Störungen der DNA-Methylierung ist bereits praxisrelevant.
- Eine Hypermethylierung des *hMLH1*-Gens schließt bei Verdacht auf Lynch-Syndrom mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit eine *MLH1*-Keimbahnmutation aus.

- Eine Hypermethylierung des *MGMT*-Gens ist ein günstiger prognostischer und prädiktiver Marker beim Glioblastom.
- Zahlreiche weitere Methylierungsmarker sind in der Entwicklung und ergänzen möglicherweise in Zukunft die molekularpathologische Diagnostik.
- Voraussetzungen für die Durchführung von Methylierungsanalysen sind ein gut ausgestattetes molekularpathologisches Labor sowie umfangreiche technische und theoretische Expertise.

### Korrespondenzadresse

**Prof. Dr. rer. nat. U. Lehmann**  
 Institut für Pathologie,  
 Medizinische Hochschule Hannover  
 Carl-Neuberg-Str. 1, 30625 Hannover  
 lehmann.ulrich@MH-Hannover.de

**Interessenkonflikt.** Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

### Literatur (Auswahl)

1. Ting AH, McCarvey KM, Baylin SB (2006) The cancer epigenome – components and functional correlates. *Genes Dev* 20:3215–3231
2. Muntean AG, Hess JL (2009) Epigenetic dysregulation in cancer. *Am J Pathol* 175:1353–1361
4. Bird A (2007) Perceptions of epigenetics. *Nature* 447:396–398
5. Klose RJ, Bird AP (2006) Genomic DNA methylation: the mark and its mediators. *Trends Biochem Sci* 31:89–97
6. Ooi SK, O'Donnell AH, Bestor TH (2009) Mammalian cytosine methylation at a glance. *J Cell Sci* 122:2787–2791
8. Kouzarides T (2007) Chromatin modifications and their function. *Cell* 128:693–705
9. Taft RJ, Pang KC, Mercer TR et al (2010) Non-coding RNAs: regulators of disease. *J Pathol* 220:126–139
11. Laird PW (2003) The power and the promise of DNA methylation markers. *Nat Rev Cancer* 3:253–266
12. Robertson KD (2002) DNA methylation and chromatin – unraveling the tangled web. *Oncogene* 21:5361–5379
16. Ushijima T (2005) Detection and interpretation of altered methylation patterns in cancer cells. *Nat Rev Cancer* 5:223–231
17. Laird PW (2010) Principles and challenges of genome-wide DNA methylation analysis. *Nat Rev Genet* 11:191–203
18. Baylin SB (2005) DNA methylation and gene silencing in cancer. *Nat Clin Pract Oncol* 2 (Suppl 1):S4–S11
19. Das PM, Singal R (2004) DNA methylation and cancer. *J Clin Oncol* 22:4632–4642
20. McCabe MT, Brandes JC, Vertino PM (2009) Cancer DNA methylation: molecular mechanisms and clinical implications. *Clin Cancer Res* 15:3927–3937

21. Ehrlich M (2009) DNA hypomethylation in cancer cells. *Epigenomics* 1:239–259
22. Romermann D, Hasemeier B, Metzger K et al (2008) Global increase in DNA methylation in patients with myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 22:1954–1956
23. Boland CR, Goel A (2010) Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology* 138:2073–2087
26. Hegi ME, Dierens AC, Gorlia T et al (2005) *MGMT* gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med* 352:997–1003
28. Felsberg J, Rapp M, Loeser S et al (2009) Prognostic significance of molecular markers and extent of resection in primary glioblastoma patients. *Clin Cancer Res* 15:6683–6693
30. Preusser M (2009) *MGMT* analysis at DNA, RNA and protein levels in glioblastoma tissue. *Histol Histopathol* 24:511–518
31. Paulsen M, Ferguson-Smith AC (2001) DNA methylation in genomic imprinting, development, and disease. *J Pathol* 195:97–110
32. Horsthemke B, Buiting K (2008) Genomic imprinting and imprinting defects in humans. *Adv Genet* 61:225–246
34. Horsthemke B, Wagstaff J (2008) Mechanisms of imprinting of the Prader-Willi/Angelman region. *Am J Med Genet A* 146A:2041–2052
35. Ligtenberg MJ, Kuiper RP, Chan TL et al (2009) Heritable somatic methylation and inactivation of *MSH2* in families with Lynch syndrome due to deletion of the 3' exons of *TACSTD1*. *Nat Genet* 41:112–117
41. Wentzensen N, Sherman ME, Schiffman M, Wang SS (2009) Utility of methylation markers in cervical cancer early detection: appraisal of the state-of-the-science. *Gynecol Oncol* 112:293–299
42. Teodoridis JM, Hardie C, Brown R (2008) CpG island methylator phenotype (CIMP) in cancer: causes and implications. *Cancer Lett* 268:177–186
43. Issa JP (2004) Opinion: CpG island methylator phenotype in cancer. *Nat Rev Cancer* 4:988–993
46. Brena RM, Huang TH, Plass C (2006) Quantitative assessment of DNA methylation: potential applications for disease diagnosis, classification, and prognosis in clinical settings. *J Mol Med* 84:365–377
48. Fraga MF, Esteller M (2002) DNA methylation: a profile of methods and applications. *Biotechniques* 33:632, 634, 636–649
49. Lehmann U (2008) Quantitative DNA-Methylierungsanalyse mittels Pyrosequenzierung. *Biospektrum* 14:374–375

### Das vollständige Literaturverzeichnis ...

... finden Sie in der html-Version dieses Beitrags im Online-Archiv auf der Zeitschriftenhomepage [www.DerPathologe.de](http://www.DerPathologe.de)