

Inka Verena Scholz  
Dr. med.

## **Identifizierung Chromosomaler Imbalanzen bei Akuter Lymphatischer Leukämie im Kindesalter mittels „Vergleichender Genomischer Hybridisierung“**

Geboren am: 17.01.1975  
Reifeprüfung am: 23.06.1994  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1994 bis SS 2001  
Physikum am 11.09.1996 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg  
Praktisches Jahr in Heidelberg und Paris  
Staatsexamen am: 23.05.2001 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Humangenetik  
Doktorvater: Prof. Dr. C. R. Bartram

Die akute lymphatische Leukämie (ALL) stellt die häufigste maligne Erkrankung im Kindesalter dar. Die Ursachen und Entstehung der ALL sind bisher noch weitgehend unklar, doch molekulargenetische Analysen erlauben erste Hypothesen zu Mechanismen der Leukämogenese. Von ebenso großer Bedeutung sind zytogenetische und molekularzytogenetische Analysen der ALL auf numerische und strukturelle Aberrationen, da sich hieraus häufig wichtige prognostische Erkenntnisse ableiten lassen und Hinweise auf die Lokalisation von für die Leukämieentstehung wesentliche Gene ergeben.

In der vorliegenden Untersuchung wurden 71 Kinder mit ALL durch die „Vergleichende Genomische Hybridisierungs-Technik“ (CGH) charakterisiert. Mittels dieser Technik ist es möglich, das gesamte Genom in einem einzigen Experiment auf genomische Imbalanzen hin zu untersuchen. Es konnten bei 42 der 71 analysierten Patienten (59%) chromosomale Aberrationen nachgewiesen werden. Gewinne chromosomalen Materials traten dabei häufiger auf als Verluste (127/29). Die Gewinne betrafen in der Mehrzahl ganze Chromosomen (Chromosom 21, 10 (in je 20%), 6, 14, 18 und X (in je 16%), Chromosom 17 (in 14%) und Chromosom 4 (in 11%)). Am häufigsten wurden partielle Gewinne auf Chromosom 1 (8,5%) identifiziert. Die Chromosomen 9 (14%), 12 (9%) und 6 (4%) waren am häufigsten von Verlusten betroffen, wobei hauptsächlich die Chromosomenregionen 9p21-pter, 12p12-pter und 6q12-q21 involviert waren.

Diese Ergebnisse wurden mit Daten von LOH-Analysen (Loss of Heterozygosity) der Regionen 6q, 9p, 11q und 12p von 56 Patienten verglichen. Es zeigte sich, daß die CGH-Technik bei 17 der 54 beobachteten Verlusten der Heterozygotie (31%) eine Deletion auf dem jeweiligen Chromosom nachweisen konnte.

Um die CGH-Ergebnisse zu bestätigen und möglicherweise zu ergänzen, wurde eine weitere molekular-zytogenetische Technik, die Multiplex-FISH (M-FISH) bei drei Patienten exemplarisch durchgeführt. Bei einem Vergleich der CGH- und M-FISH-Ergebnisse zeigte sich der große Vorteil der M-FISH-Technik, auch balanzierte chromosomale Umbauten darstellen zu können. Die M-FISH bestätigte in allen drei Fällen die CGH-Ergebnisse und wies zusätzlich verschiedene balanzierte Translokationen und Translokationsprodukte nach. Außerdem zeigte sich bei einem Vergleich mit den Bänderungsergebnissen, daß die M-FISH auch diese zytogenetischen Ergebnisse, durch Identifikation bislang unklassifizierter zusätzlicher chromosomaler Anteile - eines Markerchromosoms und eines nicht nachgewiesenen Translokationsprodukts - weiter ergänzen konnte. Aus dem Vergleich der CGH- und M-FISH-Daten ergab sich zusätzlich die Beobachtung, daß es bis zu einem bestimmten Maße möglich ist, die Kopienzahl der gewonnenen Chromosomen mit der CGH-Technik abschätzen zu können. Außerdem konnten die Bruchpunktregionen einiger durch die M-FISH nachgewiesener chromosomaler Umbauten mit Hilfe der CGH-Analyse identifiziert werden.

Um die prognostische Relevanz der CGH- und LOH-Ergebnisse zu ermitteln, wurde deren Einfluß auf das ereignisfreie Überleben analysiert. Trotz beschränkter Fallzahlen zeigte sich ein Unterschied (Log Rank Test,  $p < 0,09$ ) zwischen der Gruppe mit und ohne nachgewiesener Aberrationen. Die Wahrscheinlichkeit des ereignisfreien Überlebens war dabei für die Gruppe mit Aberrationen (5-Jahres ereignisfreie Überlebenswahrscheinlichkeit 55%) höher als für die Gruppe ohne Aberrationen (5-Jahres ereignisfreie Überlebenswahrscheinlichkeit 33%). Bei Betrachtung der CGH-Ergebnisse alleine zeigte sich das gleiche Muster der Überlebenskurven, wobei jedoch der Unterschied der beiden Gruppen weniger deutlich hervortrat (Log Rank Test,  $p < 0,33$ ). Im Hinblick auf die Bewertung dieser Ergebnisse bezüglich ihrer Prognoserelevanz müssen weiterführende Untersuchungen unter Einschluß größerer Patientenkollektiven näheren Aufschluß geben.

Zusammenfassend zeigte sich, daß die CGH-Technik eine geeignete Methode ist, chromosomale Imbalancen bei der ALL zu identifizieren. Zudem bietet sie die Möglichkeit, durch das genomweite Screening wichtige Kandidatenregionen für mögliche Tumorsuppressor-Gene oder Onkogene zu charakterisieren. Die Kombination mit weiteren molekulargenetischen und molekular-zytogenetischen Techniken wie der LOH- und M-FISH-Technik bietet dabei einen erheblichen Informationsgewinn.