

Eva Maria Lipinski
Dr. med.

Molekularbiologische Überwachung der minimalen Resterkrankung beim Multiplen Myelom zur frühen Erkennung des Krankheitsprogresses.

Geboren am 24.12.1974 in Koszęcin, Polen
Reifeprüfung am 29.6.1995 in Karlsruhe-Durlach
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1995/96 bis SS 2002
Physikum am 11.9.1997 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Ludwigsburg
Staatsexamen am 12.11.2002 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. H. Goldschmidt

Das Multiple Myelom (MM) ist eine maligne Erkrankung, die durch eine monoklonale Expansion von terminal differenzierten B-Zellen, den Plasmazellen, charakterisiert ist. Die bösartigen Zellen infiltrieren das Knochenmark (KM) und sezernieren ein monoklonales Immunglobulin ins periphere Blut (PB). Mit der Hochdosistherapie (HDT) mit anschließender peripherer Blut-Stammzell-Transplantation (PBSCT) konnte eine erhöhte Rate an kompletten Remissionen sowie eine erhöhte gesamte und progressionsfreie Überlebenszeit im Vergleich zur Standardchemotherapie erreicht werden. Trotzdem erleiden bis jetzt fast alle Patienten ein Rezidiv. Die klinische Bedeutung einer Überwachung der Resterkrankung nach Hochdosistherapie für die Voraussage eines Krankheitsprogresses ist bis jetzt nicht untersucht worden.

In dieser Arbeit wurde zunächst überprüft, ob sich die klinische Diagnose des Krankheitsprogresses durch die Kinetik der Tumorzelllast im KM und PB bestätigen läßt. Dazu wurden in KM- und PB-Proben von 13 MM-Patienten, die zu zwei Zeitpunkten gewonnen worden waren, Tumorzellen quantifiziert. Die zwei Zeitpunkte waren erstens Remission nach Hochdosistherapie mit autologer PBSCT und zweitens mit etablierten Methoden festgestellter Krankheitsprogreß. Anschließend wurde untersucht, ob es vor Auftreten des Krankheitsprogresses in der Tumorzellkinetik im KM und PB Anzeichen auf ein Bevorstehen des Progresses gibt. Dafür wurden bei 6 der 13 Patienten zusätzliche KM- und PB-Proben in Remission analysiert. Darüber hinaus wurden bei 10 der 13 Patienten bereits quantifizierte KM- und PB-Proben betrachtet und weitere Proben zusätzlich analysiert, um die Tumorzellkinetik im KM und PB im Zeitraum vor Therapiebeginn bis zum Auftreten des Krankheitsprogresses darstellen und auf Besonderheiten besonders bezüglich der Prognose untersuchen zu können.

Die in dieser Arbeit benutzte Methode der quantitativen ASO-PCR (Polymersae-Ketten-Reaktion mit allelspezifischen Oligonukleotid-Primern) ist die zur Zeit sensitivste Methode zum Nachweis von Tumorzellen beim Multiplen Myelom. Mit ihr kann eine maligne Zelle unter 330 000 gesunden Zellen nachgewiesen werden. Die Methode ist hochspezifisch und eignet sich deswegen sehr gut zur Überwachung der Resterkrankung nach Hochdosistherapie. Die Diagnose des Krankheitsprogresses konnte durch einen Anstieg der Tumorzellen vom Zeitpunkt der Remission zum Zeitpunkt des Krankheitsprogresses im KM von 12 der 13

Patienten bestätigt werden (Anteil der Tumorzellen zum Zeitpunkt in Remission: Median 0,18%; Spanne 0,03-1,4% - Anteil der Tumorzellen zum Zeitpunkt des Krankheitsprogresses: Median 4,6%; Spanne 0,076-10,6%). Der Anstieg war nach der Analyse mit dem Wilcoxon-Test für Paardifferenzen signifikant ($p=0,0024$). Die Tumorzelllast ist im Median um den Faktor 8,7 (Spanne: 0,88-250) angestiegen.

Auch im PB wurde ein Anstieg der Tumorzellen vom Zeitpunkt der Remission zum Zeitpunkt des Krankheitsprogresses bei 12 der 13 Patienten gefunden (Anteil der Tumorzellen zum Zeitpunkt in Remission: Median 0,0005%; Spanne 0-0,17% - Anteil der Tumorzellen zum Zeitpunkt des Krankheitsprogresses: Median 0,012%; Spanne 0,0008-0,57%). Der Anstieg war auch hier nach der Analyse mit dem Wilcoxon-Test für Paardifferenzen signifikant ($p=0,019$). Die Tumorzelllast ist im Median um den Faktor 47 (Spanne: 0,03-183) angestiegen.

Interessanterweise war der Anstieg der Tumorzellen bei 10 der 13 Patienten höher im PB als im KM. Außerdem war die Zunahme im PB im Gegensatz zu der im KM signifikant höher als die Zunahme des monoklonalen Proteins. Dies gibt Hinweise auf eine mögliche Überlegenheit der Messungen in PB gegenüber denen in KM.

Bei der Analyse von späteren Proben in Remission bei 6 der 13 Patienten wurde ein Anstieg des Tumorzellanteils in 4 der 6 Proben im PB und in allen 4 KM-Proben bereits vor klassischer Rezidivdiagnose gefunden. Dieser Anstieg kann als Zeichen eines beginnenden Krankheitsprogresses gedeutet werden.

Die Auswertung der Tumorzellkinetik im KM und PB im Zeitraum von vor Therapiebeginn bis zum Auftreten des Krankheitsprogresses bei 10 der 13 MM-Patienten ergab für die Gesamtheit der 10 Patienten keine neuen Erkenntnisse bezüglich der Prognose der Erkrankung.

Die Ergebnisse dieser Arbeit deuten darauf hin, daß ein Überwachen der Resterkrankung beim MM nach HDT mit PBSCT mit der quantitativen ASO-PCR sinnvoll wäre, da sie zusätzliche Information über die Krankheitsaktivität liefert. Das Erkennen eines beginnenden Krankheitsprogresses wäre von Nutzen, da zu diesem Zeitpunkt die Tumorzelllast niedriger ist als bei der späteren Diagnose des Krankheitsprogresses mit konventionellen Parametern. Die Arbeit gibt Hinweise auf eine mögliche Überlegenheit der Messungen im PB gegenüber denen im KM. Die Analyse von PB wäre sehr von Vorteil, da es homogener als KM ist und einfach entnommen werden kann, so daß in kürzeren Abständen untersucht werden könnte. Neue Entwicklungen bei PCR-Methoden zur Quantifizierung von Tumorzellen wie die Real-time-PCR werden es ermöglichen, eine größere Anzahl an Proben arbeitssparender zu analysieren. Das ist die Voraussetzung für eine Evaluation der in dieser Arbeit gefundenen Hinweise in einer größeren Studie. Ziel wäre eine Steuerung der Therapie anhand des Minimal Residual Disease-Verlaufs, wie sie bereits bei Patienten mit akuter lymphatischer Leukämie erfolgt.