

Silvia Maria Skelin  
Dr. med.

## **Diagnostische Wertigkeit der Fluoreszenz in situ Hybridisierung zum Nachweis rekurrenter Chromosomenaberrationen bei der akuten myeloischen Leukämie des älteren (> 60 Jahre) Patienten**

Geboren am 02.08.1974 in Heppenheim (Bergstraße)  
Reifeprüfung am 24.06.1994 in Heppenheim (Bergstraße)  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1994/1995 bis WS 2001/2002  
Physikum am 09.09.1996 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg  
Praktisches Jahr in Heidelberg, Basel (Schweiz) und New York City (USA)  
Staatsexamen am 16.11.2001 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin  
Doktormutter: Priv.-Doz. Dr. med. K. Döhner

Die prognostische Bedeutung zytogenetischer Veränderungen bei der akuten myeloischen Leukämie (AML) ist in den letzten Jahren in vielen Studien analysiert worden. In zahlreichen retro- und prospektiven Studien konnte gezeigt werden, dass chromosomale Veränderungen, die in Leukämiezellen nachgewiesen werden können, den wichtigsten biologischen Risikofaktor bei der AML des Erwachsenen darstellen. Dies gilt nicht nur im Hinblick auf die Raten an kompletten Remissionen (*complete remission, CR*), sondern auch für das Gesamtüberleben der AML-Patienten. Diese Erkenntnisse haben in den letzten Jahren dazu geführt, dass zahlreiche Therapiestudien ein risikoadaptiertes Behandlungskonzept verfolgen, basierend auf dem Karyotyp bei Diagnose. Diese Therapieregimes finden vor allem bei jüngeren AML-Patienten (< 60 Jahre) Anwendung. Im Gegensatz hierzu existieren für die AML des Älteren nur wenige systematische Untersuchungen im Hinblick auf Inzidenz und Prognose chromosomaler Veränderungen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein genomisches DNA-Sondenset entworfen und validiert, das die häufigsten AML-spezifischen chromosomalen Aberrationen bei der AML des älteren Patienten mit Hilfe der Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH) nachweist. Der große Vorteil der FISH gegenüber der klassischen Zytogenetik liegt in der metaphasenunabhängigen Anwendung (so genannte Interphasen-Zytogenetik). Die Inzidenzen der identifizierten Veränderungen sollten mit denen jüngerer Patienten verglichen werden. Des Weiteren sollte die FISH als diagnostische Screening-Technik evaluiert werden. Zur Beantwortung dieser Fragestellungen wurden zwischen April 1998 und August 1999 einundachtzig konsekutive Patienten aus der multizentrischen Studie AML HD98-B mit Hilfe eines umfassenden DNA-Probensets - bestehend aus YAC-, PAC-, BAC-Sonden sowie Cosmiden - untersucht. Die Sensitivität des Probensets wurde durch Verwendung spezieller DNA-Sonden erhöht. Die FISH-Analyse konnte bei allen Patienten durchgeführt werden. Mittels FISH konnten bei 45 Patienten (55,6%) chromosomale Veränderungen gesehen werden, 36 Patienten wiesen einen normalen Karyotyp auf (44,4%). Das Spektrum chromosomaler Aberrationen entsprach dem jüngerer Patienten. Prognostisch ungünstige Anomalien wie Aneuploidien und Deletionen der Chromosomen 5, 7, 12 und 20 wurden jedoch häufiger beobachtet. Der diagnostische Wert der FISH zeigte sich vor allem beim Nachweis der prognostisch wichtigen Inversion inv(16). Durch die FISH zusätzlich detektierte genomische Imbalancen wie die Deletionen del(5q), del(7q), del(12p) und del(20q) wurden vor allem bei Patienten gesehen, die durch das

Vorhandensein weiterer Anomalien oder eines komplexen Karyotyps bereits kategorisiert werden konnten. Somit bot die FISH hier in den meisten Fällen keine zusätzlichen Informationen. In den Fällen ohne analysierbare Metaphasen war der Nachweis dieser Veränderungen mittels FISH-Analyse jedoch hochinformativ, da er eine Zuordnung zur Hochrisikogruppe ermöglichte.

In der Mehrheit der Fälle ließ sich mittels G-Bänderungsanalyse der Karyotyp der älteren AML-Patienten ausreichend bestimmen. Ein ergänzendes Screening mittels FISH sollte vor allem für die Detektion der Inversion *inv(16)* durchgeführt werden, da diese Veränderungen in der G-Bänderungsanalyse oftmals schwierig nachzuweisen sind. Ein FISH-Screening sollte unbedingt bei wenigen, fehlenden oder qualitativ unzureichenden Metaphasen in der konventionellen Zytogenetik mit einem umfassenden DNA-Sondenset durchgeführt werden. Durch die Kombination beider Methoden kann die Sensitivität der zytogenetischen Diagnostik erhöht und durch die daraus resultierende Risikostratifizierung das Outcome der Patienten verbessert werden.

Die FISH-Technik trägt über die diagnostischen Maßnahmen hinaus zur Identifizierung von Genen und zum Verständnis von Pathomechanismen bei, denen bei der Leukämogenese eine essenzielle Rolle zugeschrieben wird. Durch die stetige Weiterentwicklung molekular-genetischer Techniken wird sich ein immer breiteres Anwendungsspektrum eröffnen, so beispielsweise die Entwicklung krankheitsspezifischer DNA-Chips, so genannter Matrix-CGH oder DNA-Microarrays. Anwendung finden sie bereits bei der Analyse des B-Non-Hodgkin-Lymphoms. Sie tragen vor allem zur umfassenden Analyse chromosomaler Aberrationen bei und können somit eine gezielte Entwicklung krankheitsspezifischer Therapiestrategien ermöglichen.