



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Immunzytometrische Bestimmung der Apoptoserate bei Patienten
mit chronisch lymphatischer Leukämie nach Inkubation mit
Chemotherapeutika in vitro zur Ermittlung einer individuellen
Therapie**

Autor: Stefanie Barbara Cosima Friedrich
Institut / Klinik: Institut für Klinische Chemie
Doktorvater: Prof. Dr. M. Neumaier

Das Krankheitsbild der chronisch lymphatischen Leukämie (CLL) stellt sich sehr facettenreich dar. Diese Vielfalt demonstriert sich nicht nur im klinischen Verlauf, sondern zeigt sich auch in ihrem Ansprechverhalten auf verschiedene Therapieformen. Neue Erkenntnisse hinsichtlich Prognosefaktoren und neuen Therapieverfahren erlauben heute eine alters- und risikoangepasste Vorgehensweise in der Behandlung der chronisch lymphatischen Leukämie. Der therapeutische Erfolg jedoch ist interindividuell verschieden und lässt sich im Einzelfall nicht vorhersagen. Ein Angriffspunkt der therapeutisch eingesetzten Zytostatika ist die Apoptoseinduktion in den monoklonalen malignen B-Zellen, die aufgrund einer Fehlregulation apoptoseinduzierender Signale, wie zum Beispiel die Überexpression des bcl-2-Gens, eine verlängerte Lebenszeit aufweisen und so akkumulieren.

Der programmierte Zelltod (Apoptose) ist eine physiologische, irreversible und für den Organismus milde Form des Zelluntergangs. Die Fähigkeit den programmierten Zelltod einzuleiten ist in jeder Zelle genetisch determiniert und bietet dem Organismus die Möglichkeit überalterte, funktionslose oder schädliche Zellen zu beseitigen. Somit ist die Apoptose ein entscheidender Regulator in der Modifikation des zellulären Gleichgewichtes.

Ziel dieser Arbeit war es, die Apoptoserate isolierter Lymphozyten nach in vitro Kultur mit in der antineoplastischen Therapie verwendeten Zytostatika zu ermitteln und zu klären, ob es ein individuelles Muster im Ansprechverhalten der Patienten gibt um daraus eine individuelle Therapie abzuleiten. Die Bestimmung der Apoptoserate der CLL spiegelt die biologische Varianz der CLL wieder und zeigt, dass sich interindividuelle Unterschiede in der in vitro Apoptoseinduktion ergeben. Als Methode wurde die Durchflußzytometrie gewählt, da sie ein geeignetes Verfahren darstellt apoptotische Zellen aufgrund ihrer morphologischen Veränderungen einzugruppieren. Bei den morphologischen Veränderungen apoptotischer Zellen handelt es sich zum einen um Störungen der Membranintegrität, wodurch Phosphatidylserin an der Außenseite der Zellen zu liegen kommt. Dieses Membranprotein kann durch Annexin V sichtbar gemacht werden. Zum anderen kommt es zu Störungen der Membranpermeabilität, welche durch Übertritt des Avitalfarbstoffs 7-Amino-Actinomycin D (7-AAD) darstellbar gemacht werden können. Die in dieser Arbeit verwendete Methode zur Detektion apoptotischer Zellen bedient sich der Doppelfärbung Annexin V mit 7-AAD.

Untersucht wurden insgesamt 30 CLL-Patienten. Diese wurden in zwei Gruppen (Therapie ja/nein) unterteilt und zu den wichtigsten hämatologischen und klinisch-chemischen Laborparametern sowie zur Milzgröße und dem Vorhandensein vergrößerter Lymphknoten in Beziehung gesetzt. Hierbei zeigte sich, dass trotz Vorbehandlung eine zusätzliche Induktion von Apoptose in vitro möglich ist. Dieses individuelle „Response-Verhalten“ bietet die Möglichkeit einer Therapieoptimierung in der Behandlung der CLL. Jeder einzelne Patient besitzt sein eigenes reproduzierbares Ansprechmuster, so dass die in vitro Messung der Fähigkeit von Glukokortikoiden und Zytostatika zur Apoptoseinduktion zur Komplettierung des Therapiemanagements der CLL beitragen kann. Diese Ergebnisse der vorliegenden Arbeit legen dar, dass durch vorherige Bestimmung der Apoptoserate eine zusätzliche Verbesserung der Therapieoptionen der chronisch lymphatischen Leukämie erzielt werden kann. Künftige prospektive, randomisierte Studien sollten daher den klinischen Langzeiterfolg einer individuellen Therapie untersuchen.