

**Aus der medizinischen Klinik und Poliklinik,
Klinik der Hämatologie, Onkologie und Klinische Immunologie**

Direktor: Prof. Dr. med. R. Haas

**Vergleich der Subgruppen RAEB I und RAEB II
des Myelodysplastischen Syndroms,
im Hinblick auf zytomorphologische, klinische und hämatologi-
sche Parameter
und deren prognostischen Nutzen**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Heidrun Becker-Grenz

2003

**Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf**

gez.: Univ. – Prof. Dr. Med. dent. Wolfgang H. – M. Raab

Dekan

Referent: Priv. Doz. Dr. med. Germing

Korreferent: Priv. Doz. Dr. med. von Giesen

Inhaltsverzeichnis

I. Abkürzungsverzeichnis

1. Einleitung

- 1.1. Definition
- 1.2. Geschichtlicher Überblick
- 1.3. Klassifikation
- 1.4. Zielsetzung der Arbeit

2. Methoden

- 2.1. Datenerhebung und Patientenkollektiv
- 2.2. Klinische und hämatologische Diagnostik
- 2.3. Zytochemische Färbungen
- 2.4. Morphologie des peripheren Blutes und Knochenmark
- 2.5. Chromosomenanalyse
- 2.6. Statistische Methoden

3. Ergebnisse

3.1. Eingangsparemeter

- 3.1.1. Klinische Eingangsparemeter
- 3.1.2. Blutbildveränderungen
- 3.1.3. Morphologische Befunde im peripheren Blut
- 3.1.4. Zytomorphologische Befunde
- 3.1.5. Chromosomenanalysen
- 3.1.6. Todesursachen

3.2. Prognosefaktoren

- 3.2.1. Klinische Prognoseparemeter
- 3.2.2. Hämatologische Prognoseparemeter
- 3.2.3. Morphologische Prognoseparemeter
- 3.2.4. Vergleich verschiedener Scoring-Systeme
- 3.2.5. Unabhängige Prognoseparemeter für Patienten ohne und mit Zytogenetik

4. Diskussion

5. Literaturverzeichnis

6. Zusammenfassung

I. Abkürzungsverzeichnis

ALP	alkalische Leukozytenphosphatase
AML	akute myeloische Leukämie
Ara-C	Zytosinarabinosid
CMML	chronische myelomonozytäre Leukämie
FAB	French-American-British-Cooperative Group (Klassifikationssystem)
GTG	G-bands by trypsin using, Giemsa Seabright
Hb	Hämoglobin
ICE	Idarubicin/Cytosinarabinosid (Chemotherapieprotokoll)
IPSS	International prognostic scoring system
ISCN	International Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature
KM	Knochenmark
LDH	Laktatdehydrogenase
max.	maximal
MDS	Myelodysplastische Syndrome
MPO	Myeloperoxidase
p=n.s.	p-Wert ist nicht signifikant (>0,05)
PAS	Perjodsäure-Schiff-Färbung
PRA	dyserythroetische Anämie
RA	refraktäre Anämie
RAEB	refraktäre Anämie mit Blastenexzeß
RAEB-T	refraktäre Anämie mit Blastenexzeß „in Transformation“
RARS	refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten
RCMD	refraktäre Zytopenie mit multilineären Dysplasien
RMPI	Rosewell Memorial Park Institute (Zellkulturmedium)
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TAD	Thioguanin/Ara-C/Daunorubicin (Chemotherapieprotokoll)
WHO	World Health Organization

1. Einleitung

1.1. Definition

Bei den myelodysplastischen Syndromen (MDS) handelt es sich um hämatologische Systemerkrankungen, bei denen die Knochenmarkszellen die Fähigkeit zur Differenzierung und Ausreifung verloren haben. Der Ursprung dieses Defektes liegt in der pluripotenten Stammzelle, die eine Störung der Proliferation und der Differenzierung aufweist (Bennett et al., 1982; Foucar et al., 1985, Frisch und Bartl, 1986). Diese Störung der Proliferation und Differenzierung weist im Knochenmark typische Merkmale auf. Dort sind sie durch morphologische Veränderungen in Form einer ineffizienten Hämatopoese mit Dyserythro-, Dysgranulo- und Dysmegakaryopoese (Tricot et al., 1984), sowie durch besondere zyto- und genetische Charakteristika gekennzeichnet. Im peripheren Blut sind es neben Dysplasiezeichen die Zytopenien (Mono-, Bi- oder Panzytopenie). Sie finden ihren Ausdruck in einem hyperzellulären Knochenmark mit einer peripheren Zytopenie, die mit oder ohne Ausschwemmung von unreifen Blutzellen einhergehen kann (Jacobs et al., 1986).

Pederson-Bjerggaard (1984) teilte die MDS in eine primäre und sekundäre Form ein. Die primären MDS bilden über 90 Prozent der Fälle und resultieren ohne nachweisbare exogene Noxe aus der Reifungsstörung der Stammzelle (Janssen et al., 1989). Eine genaue Ursache fehlt bzw. ist bislang nicht bekannt. Die sekundären MDS werden durch alkylierende Substanzen und andere chemische Mutagene (Benzol), nach Radiatio und / oder Chemotherapie induziert (Peterson-Bjerggaard et al., 1984, Frisch et al., 1986). Insgesamt dürfte wohl vor allem der Summationseffekt genetischer, immunologischer und umweltbedingter Faktoren eine entscheidende Rolle spielen.

Auffallend ist, dass in den letzten Jahren die MDS häufiger diagnostiziert werden. Ursachen sind die verbesserten Untersuchungstechniken und die steigende Lebenserwartung.

1.2. Geschichtlicher Überblick

Bereits 400 vor Christus beschrieb Hippokrates ein Krankheitsbild, das ohne vorheriges Wechselfieber mit Diarrhöen oder Blutung zur Kachexie und zum Tode führte, dabei handelt es sich um eine Erstbeschreibung der Leukämie. Durch Weiterentwicklung der Chemie und Mikroskopie in der Medizin konnte H. Nasse 1839 bei der Blutuntersuchung von Patienten mit diesem Krankheitsbild farblose, weiße Blutkörperchen nachweisen. Man sprach von einer Pyämie, einer Vereiterung des Blutes.

Der deutsche Pathologe Rudolf Virchow (1821-1902), Begründer der mikroskopisch pathologischen Anatomie, führte 1841 wegen dieser Vermehrung der weißen Zellen im Blut den Begriff Leukämie (weißes Blut) ein (Virchow, 1847). Er beschrieb das Leichenblut, der erkrankten Patienten, als eine „helle, gelblich-weißliche, eitrige, kaum rötliche Masse“. 1846 konnte Virchow nachweisen, dass weiße Blutkörperchen und die vermeintlichen Eiterkörperchen identisch sind, also keine Eiterung des Blutes vorliegen konnte (Medizinische Zeitung 1846). Es dauerte noch 10 Jahre, bis der Begriff „Pyämie“ ersetzt wurde. Vom Jahre 1853 ab wurde über die Leukämie häufiger berichtet. Der Pathologe A. Boetcher (1831-1889) unterteilte die Leukämie in eine akute und eine chronische Form. Ein anderer Pathologe, J. Cohnheim (1839-1884) schuf für diese Erkrankung den Namen Pseudoleukämie aufgrund der veränderten Blutbeschaffenheit (Virchow, 1847).

Der Pathologe E. Neumann (1834-1918) eröffnete neue Wege durch mikroskopische Untersuchungen des Knochenmarkes. Er stellte Veränderungen fest: „Sowohl in der zentralen Markhöhle des Humerus als in den Maschenräumen der spongiösen Knochen hatte das Mark dieselbe grünlichgelbe Eiterfarbe“ ("Über die pathologische Veränderungen des Knochenmarks". Zentralblatt f. die medizinischen Wissenschaften, 1869). Durch diese Entdeckung Neumanns ist die Knochenmarkuntersuchung in den Mittelpunkt gerückt.

Der Leukämieforschung fehlte es jedoch noch an einer einfachen Methode der Blutuntersuchung, an Kenntnissen über die Entstehung des Blutes, sowie über die Morphologie der Leukozyten. Paul Ehrlich widmete sich den Leukozyten, den „unscheinbaren und lange wenig beachteten Gebilden“ (Paul Ehrlich: Charite-Annalen, 1887 "Über die Bedeutung der neutrophilen Körnung"). Man begann die Leukämie auf Grund der unterschiedlichen Leukozytenbilder im peripheren Blut und nicht aufgrund ihrer Symptome zu unterscheiden. Somit konnte man die Leukozytose von der Leukämie trennen. Die Leukozytose wurde als Vermehrung der normalen polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten erkannt. Bei der Leukämie wurden Elemente im Blut nachgewiesen, die normalerweise in ihm nicht vorkommen.

Neumann untersuchte 1876 Blut und Knochenmark erstmals am Lebenden. Er fand heraus, dass die Veränderungen des Knochenmarks der wichtigste Befund bei den Leukämien sind, und er kam zu der Annahme, daß jede Leukämie primär myelogener Natur ist. Hamilton Paterson und M. Block beschrieben 1949 zum ersten Mal mit dem Begriff Präleukämie eine Gruppe von Patienten, die nach einer refraktären Anämie eine AML ausbildeten (Block, Jacobson, Bethard: JAMA, 1953). Weitere Bezeichnungen folgten, wie zum Beispiel „refraktäre sideroblastische Anämie und sideroachrestische Anämie“ (Heilmeyer et al. , 1958), „chronic erythraemic myelosis“ und „Di Guglielmo syndrome“ (Damashek und Baldini, 1958). Mit Hilfe von Licht- und Elektronenmikroskopischen Untersuchungen, erkannten Thiele und Mitarbeiter 1980 eine abnorme Zell- bzw. Zellkernmorphologie im Knochenmark, die zur Einführung der Bezeichnung „myeloische Dysplasie des Knochenmarks“ führte. Bereits 4 Jahre zuvor, 1976, erstellte die FAB-Gruppe (Bennett et al., 1982), französische, amerikanische, britische Wissenschaftler eine Klassifikation der Leukämien. Sie grenzten die refraktären Anämien von den akuten Leukämien ab. 1982 wurden die Krankheitsbilder von der FAB-Gruppe als myelodysplastisches Syndrom zusammengefasst. Dies führte nach mehreren Vorschlägen zu einer Klassifikation, die heute noch gültig ist. 1999 entwickelte eine internationale Arbeitsgruppe im Auftrag der WHO eine neue Klassifikation der Myelodysplastischen Syndrome.

1.3. Klassifikation

1982 hat die FAB-Gruppe (French-American-British-Cooperative Group) den Begriff der „myelodysplastischen Syndrome“ geprägt und eine Einteilung nach morphologischen Kriterien in 5 Subtypen vorgenommen (Bennett J.M. et al, 1982). Die Einteilung basiert auf dem Anteil von Blasten im Knochenmark und peripheren Blut, dem Vorkommen von Ringsideroblasten und Auerstäbchen im Knochenmark sowie der Anzahl der Monozyten im peripheren Blut.

Die Tabelle 1 zeigt folgende 5 Subgruppen:

Subtyp		Blastenanteil		andere Kriterien
		im peripheren Blut	im Knochenmark	
1. Refraktäre Anämie	RA	< 1 %	< 5%	
2. Refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten	RARS	<1 %	< 5 %	> 15 % Ringsideroblasten
3. Refraktäre Anämie mit Blastenexzeß	RAEB	< 5 %	5-19 %	
4. Refraktäre Anämie mit Blastenexzeß „in Transformation“	RAEB-T	> 5 %	20-29 %	Auerstäbchen
5. Chronische myelo-monozytäre Leukämie	CMML	< 5 %	< 20 %	> 1000 Monozyten/ μ l im Blut

Tabelle 1

1. Refraktäre Anämie:

Als Hauptsymptom liegt eine Anämie vor. Im Blutbild sind die Retikulozyten vermindert. Im peripheren Blut erscheinen nicht mehr als 1% Blasten. Im Knochenmark, das normo- oder hyperzellulär ist, zeigt sich immer eine ausgeprägte Dyserythrozytose. Immer liegt der Blastenanteil im Mark unter 5%.

2. Refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten

Im Vergleich zur 1. Gruppe sind Symptome und Befunde bis auf die Anzahl der Ringsideroblasten gleich. Sie machen hier über 15% aller kernhaltiger Zellen der Erythropoese aus.

3. Refraktäre Anämie mit Blastenexzeß

Im peripheren Blut findet sich meist eine Zytopenie mit Zellatypien in allen drei Zellreihen, der Blastenanteil kann bis 4% erhöht sein. Im Knochenmark liegt eine Hyperzellularität bei Dysplasiezeichen aller drei Zellreihen vor. (Dyserythropoese, Dysmegakaryopoese, Dysgra-

nulopoese). Die Anzahl der Blasten im Mark beträgt 5-20%, Ringsideroblasten können gesehen werden.

4. Refraktäre Anämie mit Blastenexzeß in Transformation

Die Veränderungen des peripheren Blutbildes entsprechen weitgehend denen unter RAEB. Es können bis zu 30% Blasten im Blut auftreten. Das Knochenmark zeigt 20-30% Blasten sowie gelegentlich Auerstäbchen in den weißen Vorstufen.

5. Chronische myelomonozytäre Leukämie

Im Blutbild findet sich eine absolute Monozytose von mehr als 1×10^9 Zellen/l. Gleichzeitig tritt häufig eine erhöhte Anzahl reifer Granulozyten mit oder ohne Dysgranulopoese auf (hypogranulierte Formen, Pseudo-Pelger-Formen). Der Anteil der peripheren Blasten liegt unter 5%. Der Knochenmarkbefund ähnelt dem Stadium der RAEB, außer, daß es eine deutliche Vermehrung der Promyelozyten, und monozytärer Vorstufen aufweisen kann. Die Blastenzahl liegt meist unter 5%, kann aber bis zu 20% betragen.

Die FAB-Klassifikation ermöglichte erstmals eine große Anzahl von MDS-Patienten genauer einer der 5 Subtypen zuzuordnen. Sie lassen erkennen, dass die Patienten sehr unterschiedliche mediane Überlebenszeiten und unterschiedlich häufige Übergänge in akute Leukämien haben. Somit erleichterte diese Klassifikation die Diagnostik, Prognose und Therapie von MDS-Patienten. Dies führte zu einer raschen internationalen Anerkennung. Es konnten zuverlässigere Vergleiche stattfinden, da es gelang, die überwiegende Zahl der Patienten einer der Gruppen zuzuordnen. Die FAB-Klassifikation wurde 1999 durch die WHO und deren internationale Arbeitsgruppe von Hämatologen und Hämatopathologen überarbeitet und weiterentwickelt. Die CMML wie auch RAEB-T wurden aus der Gruppe der MDS herausgenommen. Die RAEB-T Patienten, deren medullärer oder peripherer Blastenanteil über 20% liegt, werden jetzt als akute Leukämien klassifiziert und werden somit nicht mehr in der WHO-Klassifikation der MDS erfasst. Zudem wurde die Gruppe der RA und RARS aufgeteilt, in Abhängigkeit von Dysplasiezeichen der Megakaryopoese und Granulopoese. So entsteht einerseits eine rein dyserythropoetische Anämie (PRA mit oder ohne Ringsideroblasten) und eine refraktäre Zytopenie mit multilineären Dysplasien (RCMD mit oder ohne Ringsideroblasten). Die Gruppe der RAEB wurde in zwei Subgruppen unterteilt: Eine RAEB I mit einem medullären Blastenanteil $<10\%$ und peripheren Blastenanteil $<5\%$ und in die RAEB II

mit einem medullären Blastenanteil >10% oder mehr als 5% peripherer Blasten. Patienten mit Auerstäbchen und medullären Blastenanteil <20% wurden der Gruppe der RAEB II zugeordnet.

Die WHO-Klassifikation des MDS ist in der Tabelle 2 ersichtlich:

Subtyp	Blastenanteil		andere Kriterien
	im peripheren Blut	im Knochenmark	
PRA	< 1 %	< 5 %	nur Dyserythropoiese (mit oder ohne Ringsideroblasten)
RCMD	< 1 %	< 5 %	multilineäre Dysplasien (mit oder ohne Ringsideroblasten)
RAEB I	< 5 %	5-10 %	
RAEB II	< 5 %	11-19 %	
Unklassifizierbare MDS			
5q- Anomalien	< 1	< 5	

Tabelle 2

Die WHO-Klassifikation sollte eine Verbesserung gegenüber der FAB-Klassifikation darstellen, sodaß der Zusammenhang der verschiedenen MDS-Subtypen mit der Prognose berücksichtigt würde. Leider sind einige Aspekte sehr seltener MDS-Subtypen nicht erfasst. MDS mit ausgeprägter Myelofibrose, sekundäre MDS, MDS im Kindesalter und hypozelluläre MDS bedürfen noch genauerer Klassifikation.

1.4. Zielsetzung der Arbeit

Ziel der vorliegenden Arbeit ist, die neu definierten Gruppen RAEB I und RAEB II im Hinblick auf zytomorphologische, klinische, hämatologische, zytogenetische Parameter zu vergleichen. Zudem soll der prognostische Nutzen der Unterteilung der RAEB in zwei Subgruppen überprüft werden.

2. Methoden

2.1. Datenerhebung und Patientenkollektiv

Die Grundlage dieser retrospektiven Arbeit sind die 440 RAEB-Patienten, die an unserer Klinik im Zeitraum von 1970-2001 diagnostiziert wurden. Beim größten Teil der Erhebung handelt sich um die Patienten, die stationär oder ambulant an der medizinischen Klinik und Poliklinik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf behandelt wurden. Zusätzlich wurden zahlreiche von anderen medizinischen Instituten im Stadtgebiet betreuten Patienten in diese Studie aufgenommen, bei denen an unserer Klinik die Diagnose einer RAEB gestellt wurde.

Um eine gesicherte Erfassung aller RAEB-Patienten sicher zu stellen, wurden sämtliche Knochenmark- und peripheren Blutaussstriche vom Zeitpunkt der Diagnosestellung durchgesehen. So konnten Fehldiagnosen ausgeschlossen werden.

Für eine eindeutige Diagnose sind erforderlich:

1. periphere Zytopenie
2. dysplastische Veränderungen der Hämatopoese
3. fehlen von Ausschlusskriterien (aplastische Anämie, paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie, Vitamin B12- oder Folsäuremangel, chronische myeloproliferative Erkrankungen, akute myeloische Leukämie)

Nach Durcharbeitung der Krankenakten wurden die RAEB-Patienten registriert .

Das Geburts-, Diagnose- und Todesdatum, die Anamnese, Daten der Blutuntersuchung und der Knochenmarkpunktionen, Symptome, klinischer Befund, Therapie und die Chromosomenanalyse (falls durchgeführt) wurden standardisiert erfasst.

Sofern Daten zum weiteren Krankheitsverlauf fehlten, konnten diese in fast allen Fällen über ein Anschreiben an die Hausärzte in Erfahrung gebracht werden. Bei den meisten Patienten war eine Nachbeobachtung bis zu deren Todestag bzw. bis zum Tag des 1.1.2002 möglich.

Die gewonnenen Daten wurden in einem Tabellenkalkulationsprogramm des Zentralrechners der Klinik für Hämatologie der Heinrich-Heine-Universität gespeichert.

2.2. Klinische und hämatologische Diagnostik

Aus den Krankenakten wurden folgende Daten, klinische Größen und Laborparameter zum Zeitpunkt der Erstdiagnose ermittelt:

Die Personalien, die Anamnese,

die Medikamentenanamnese, um Kumulativdosen potentiell myelodysplastogener Substanzen zu ermitteln,

die Familienanamnese, in Bezug auf hämatologische und onkologische Erkrankungen ,

die Befragung nach vorhergehender Chemotherapie, Radiatio oder Radiojodtherapie, standardisiert dokumentiert mit den jeweiligen Summendosen und den Bestrahlungsfeldern,

die klinischen Symptome, wie Fieber, Anämiesymptome, Blutungsneigung, Gewichtsverlust, Lymphknotenschwellung, Nachtschweiß, rezidivierende Infekte,

die Untersuchung, mittels einer Sonographie des Abdomens, über das Vorliegen einer Hepato- o./u. Splenomegalie sowie abdomineller Lymphome,

die Laborparameter, Blutkörperchen-Senkungsgeschwindigkeit (BSG), Blutzellzahlen, Erythrozyten, Eisen, Transferrin, Haptoglobin, Ferritin, Bilirubin, LDH, Leberenzyme, Gesamteiweiß, Elektrophorese , Immunglobulinspiegel und γ - Globuline.

Bei den in der Heinrich-Heine-Universität betreuten Patienten wurden die Laborparameter im Zentrallabor dieser Universität im Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin erhoben.

Bei den Patienten, die von den vorerwähnten, im Stadtgebiet von Düsseldorf liegenden Instituten in Behandlung waren, wurden die Laborwerte von den jeweils betreuenden medizinischen Einrichtungen ermittelt.

2.3. Zytochemische Färbungen

Alle Untersuchungen der Blut- und Knochenmarkausstriche wurden standardisiert im hämatologischen Labor der Düsseldorfer Universitätsklinik durchgeführt. Die Färbung erfolgte nach Standardmethoden (Begemann, 1994; Shibata et al., 1985). Zum Nachweis der Myeloperoxidase wurde eine zytochemische Spezialfärbung nach der Färbetechnik nach Hanker und Mitarbeiter (1978) durchgeführt.

Nach dem Verfahren von Mc Manus (1946) wurde zur zytochemischen Charakterisierung atypischer Vorstufen der Erythropoese die Perjodsäure-Schiff (PAS)-Färbung durchgeführt. Um sideroblastische Störungen in der Erythropoese zu beurteilen, diente die Berliner-Blau-Färbung, mit der auch die Quantifizierung des Eisengehaltes analysiert wurde.

Wenn sich einzelne Eisengranula in mind. 60% der Erythroblasten vorfinden, wurde der Sideroblastenanteil als erhöht bewertet. Die Ringsideroblasten wurden durch die Anlagerung von mindestens 10 Sideringranula rund um den Kern definiert (Begemann 1994).

Zur Bestimmung des zytochemischen Aktivitätsnachweises des ALP-Indexes (alkalische Leukozytenphosphatase) wurden 100 Granulozyten an peripheren Blutaussstrichen ausgezählt. Dies erfolgte nach der Methode von Merker und Heilmeyer (1960). Nach der Methode von Löffler (1961), bei der *a*-Naphthyl-Azetat als Substrat eingesetzt wird, wurde die als Markerenzym der Monozytopoese dienende unspezifische Esterase nachgewiesen.

2.4. Morphologie des peripheren Blutes und dysplastische Veränderungen der Hämatopoese

Die folgenden Parameter der Erythrozytenmorphologie, Granulopoese und Thrombozyten der peripheren Blutaussstriche wurden untersucht.

Erythrozytenmorphologie:

Anisozytose, Poikilozytose, Hypochromasie, Mikrozytose, Ovalozytose, Dimorphismus der Erythrozyten, basophile Tüpfelung, Polychromasie, kernhaltige rote Vorstufen, Fragmentozyten.

Granulopoese und Thrombozyten:

Linksverschiebung der weißen Blutkörperchen, Blastenanteil, degranulierte Vorstufen, Pseudo-Pelger-Zellen, Hypersegmentierung, absolute Monozytenzahl, Plättchenanisometrie, Riesenplättchen, Hypogranulation und Megakaryozytenfragmente,

Zur Beurteilung des Differentialblutbildes wurden 200 Leukozyten in den Blutaussstrichen ausgezählt.

Knochenmark:

Parameter zum Nachweis dysplastischer Veränderungen der Erythropoese im Knochenmark: Mehrkernigkeit, megaloblastäre Transformation, Kernabsprengungen und -faltungen, Kernbrückenbildung, atypische Mitosen, Vakuolisierung des Zytoplasmas, qualitativer und quantitativer Nachweis von Ringsideroblasten und positiver Ausfall der PAS-Färbung.

Parameter zum Nachweis dysplastischer Veränderungen der Granulopoese im Knochenmark: Linksverschiebung der Granulopoese, Hypogranulation von Promyelozyten und Myelozyten, Pseudo-Pelger-Zellen, Hypersegmentierung der Granulozytenkerne, Nachweis eines MPO-Defektes. Durch Yamshidi-Punktion wurden mindestens 500 kernhaltige Knochenmarkszellen gewonnen, um durch Auszählung den medullären Blastenanteil zu quantifizieren. Anhand der Blastenzählung erfolgte die Einteilung in RAEB I und RAEB II.

Parameter zum Nachweis dysplastischer Veränderungen der Megakaryopoese:

Reifungsstörungen der Megakaryopoese, Mikromegakaryopoese, mononukleäre Megakaryozyten, hypersegmentierte Megakaryozyten, Nachweis von multiplen Kernsegmenten.

Zusätzlich wurde die Zellularität des Knochenmarks beurteilt, die in die drei Grade hypozellulär, normozellulär und hyperzellulär eingeteilt wurde.

2.5. Chromosomenanalyse

Chromosomenanalysen wurden bei einem Teil der Patienten durchgeführt. 5-10 ml Knochenmarkspirat wurde mit Heparin Novo (pro ml: 5000 IE Natrium-Heparin und max. 1 mg Natriumdisulfid) antikoaguliert. Mit dem Kulturmedium (RPMI 1640+20% fötales Kälberserum+1% L-Glutamin) wurde es dann mehrfach gewaschen. Die Zellmenge soll mindestens $1-2 \times 10^6$ /ml Kulturmedium betragen. Es wurden 4 unabhängige Kulturen angesetzt: Eine Kurzzeitkultur nach 24 Stunden und eine Kurzzeitkultur nach 48-72 Stunden, jeweils in zwei unterschiedlichen Kulturmedien, in RPMI und in Chromosomenmedium M. Die Aufarbeitung der Probenkultur durch RPMI mit 20% FKS und 1% Glutamin erfolgte nach der Methode von Rooney & Czepulkowski (1992): Nach 60-120 minütiger Behandlung mit Colcemid (1µg/10 ml) erfolgte eine 25 minütige Inkubation in hypotonem Hapes Milieu (3g KCl, 0,2g Ethylenglycoltetraacetat, 4,8g Hapes- Puffer; ph 7,4; 37°C) bzw. mit 10 Minuten KCl (5 ml 0,075 M KCl=0,56%) bei Raumtemperatur. Anschließend erfolgte eine Fixierung der Zellen mit 5ml Ibraimov's Lösung: (5 ml Essigsäure auf 95 ml H₂O) und danach die Fixierung (3g KCl, 0,2 g Ethylenglycoltetraacetat, 4,8 g Hapes- Puffer; ph 7,4). Die Chromosomen-Spreitung erfolgte auf dem Objektträger durch Flammeneinwirkung mit einem Bunsenbrenner. Nach einem Alterungsvorgang auf dem Objektträger von 16 Stunden bei 60°C wurden die Präparate GTG gebändert (G-bands by trypsin using, Giemsa Seabright). Die Beschreibung der Karyotypen erfolgte nach der Nomenklatur für Internationale Humane Zytogenetik (ISCN, 1991).

Die Klassifikation der numerischen bzw. strukturellen chromosomalen Aberrationen wurden nach den internationalen Richtlinien von 1984 vorgenommen (Fourth international workshop on chromosomes in Leukemia, 1984).

Die Auswertung erfolgte mit Hilfe eines Karyotypisierungssystems. Im Befund aufgeführt wurden sowohl Einzelveränderungen als auch klonale Aberrationen. Der Nachweis von wenigstens 2 Zellen mit identischem Rearrangement oder Extrachromosom, bzw. von wenigstens 3 Zellen mit dem Fehlen desselben Chromosoms, war zur Definierung klonaler Chromosomenaberrationen notwendig. Die zytogenetischen Analysen dieser Arbeit wurde von Frau Dr. rer. nat. Hildebrandt im Labor des Instituts für Humangenetik (Leiterin: Frau Prof. Dr. Royer-Pokora) der Heinrich- Heine-Universität Düsseldorf durchgeführt.

2.6. Statistische Methoden

Die statistischen Analysen wurden auf einem Personal-Computer unter Verwendung des Programmsystems SPSS (SPSSWIN 6.1.3.) (Norman & Nie, 1983) erstellt. Mittels des Kolmogorov-Smirnov-Tests wurden zunächst alle diagnostischen Parameter auf Normalverteilung untersucht. Zum Vergleich zweier unabhängiger Stichproben, bei nicht normal verteilten Parametern, kamen als Prüfverfahren der Mann-Whitney-Test zur Anwendung. Zur Schätzung der Überlebenswahrscheinlichkeit der Patienten wurde das von Kaplan und Meier beschriebene Schätzverfahren benutzt (Kaplan et al., 1958). Das Ende des Beobachtungszeitraums ist der 31.12.2001. Bei der Berechnung der Überlebenskurven wurde ausschließlich der Todeszeitpunkt gewertet. Patienten, die am 31.12.2001 noch lebten oder als „lost- to-follow-up“ ausgeschlossen waren, wurden zensiert. Die Güte der Überlebensverteilung für zwei oder mehrere Untergruppen wurde mit nicht-parametrischen Testverfahren nach Mantel-Cox und Breslow (Cox 1972) geprüft. Das Signifikanzniveau wurde als $p=0,05$ definiert. Die Übertretungswahrscheinlichkeiten bei einer als $p=0,05$ definierten Signifikanzniveaus sind als „p-Werte“ angegeben. Der Mantel-Cox-Test wichtet alle Ereignisse im Kurvenverlauf gleich und ist somit für späte Unterschiede in den Überlebenskurven sensibler. Dem gegenüber gewichtet der Breslow-Test die Anzahl der Patienten, bei denen zum gegebenen Zeitpunkt der Beobachtungszeitraum noch nicht abgeschlossen ist, und somit werden frühe Ereignisse stärker als spätere gewichtet. Die kumulativen Raten des Leukämieübergangs zum Zeitpunkt t erfolgte nach der Produkt-Grenz-Methode. Zur Überprüfung von Häufigkeitsunterschieden zwischen

qualitativen Variablen kam die χ^2 -Methode (Vierfelder-Tafel) zur Anwendung. Um Parameter, welche im Rahmen der Diagnosestellung einen deutlichen Einfluss auf die Überlebenswahrscheinlichkeiten der Patienten in der univariaten Analyse zeigten, quantifizieren zu können, kam das „proportional-hazard-Regressionsmodell“ nach Cox (1972) zur Anwendung. Verschiedene unabhängige Variablen ließen sich mit Hilfe der schrittweisen Regression ermitteln. Durch sie ließ sich die Überlebenskurve der Patienten am besten beschreiben.

3. Ergebnisse

3.1. Eingangsparemeter

3.1.1. Klinische Parameter

	RAEB gesamt	RAEB I	RAEB II	
Anzahl	440	219	221	n.s.
Alter	70 (16-96)	70 (22-96)	69 (16-94)	n.s.
Geschlecht m/w	244/196	113/95	131/101	n.s.
Anämiesymptome (%)	76,5	75,7	77,4	n.s.
Infektanfälligkeit (%)	34,0	28,0	39,9	n.s.
Fieber (%)	25,2	22,4	28,1	n.s.
Blutungen (%)	20,4	23,4	17,4	n.s.
Lymphknotenschwellungen (%)	10,2	9,9	10,6	n.s.
Hepatomegalie (%)	22,3	18,3	26,7	n.s.
Splenomegalie (%)	16,5	15,5	17,7	n.s.
Sonstige Symptome (%)	36,6	38,0	35,2	n.s.
Allgemeinzustand Reduziert (%)	50,7	50,3	51,1	n.s.

Tabelle 3

Die im Rahmen der Diagnosestellung erhobenen klinischen Parameter sind Tabelle 3 zu entnehmen. Den beiden Subgruppen RAEB I und RAEB II wurde die Gesamtgruppe RAEB

gesamt gegenübergestellt. Ca.75% aller Patienten hatten Anämiesymptome. Nur 25% aller RAEB-Patienten waren zum Zeitpunkt der Diagnosestellung beschwerdefrei. Häufigste Symptome waren Müdigkeit, Belastungsdyspnoe und körperliche Schwäche. Die Hälfte des gesamten Patientengutes klagte über einen reduzierten Allgemeinzustand. Fast ein Drittel der Patientengruppe berichtete über Infektanfälligkeit, ein Viertel gab eine erhöhte Temperatur an und bei einem Fünftel traten Blutungen auf. Aufgrund der klinischen und sonographischen Untersuchung waren bei 10% der Patienten Lymphknotenschwellungen vorhanden. Eine Splenomegalie trat insgesamt bei 17% der Patienten auf, eine Hepatomegalie in 22%. Unterschiede zwischen RAEB I und RAEB II ließen sich anhand der klinischen Parameter nicht nachweisen.

3.1.2. Blutbildveränderungen

Median (min.- max.)	RAEB gesamt	RAEB I	RAEB II	
Hämoglobin g/dl	9,000 (2,6-17,5)	9,100 (2,6-17,5)	9,000 (2,8-15,0)	n.s.
Leukozyten / μ l	3000,00 (400-139000)	3250,00 (490-97000)	2900,00 (400-139000)	n.s.
Granulozytenzahl abs.	1292,00 (20-88960)	1369,00 (20-87305)	1185,00 (49-88960)	n.s.
Monozyten absolut	104,00 (0-33375)	133,00 (0-33375)	82,50 (0-8340)	n.s.
Blastenanteil %	0,00 (0-14)	0,00 (0-5)	0,00 (0-14)	n.s.
Thrombozyten / μ l	93,00 (0-778)	97,00 (0-778)	85,00 (3-575)	n.s.
Thymidinkinase μ l	12,000 (1,1-1778,0)	10,600 (1,1-1778,0)	14,000 (1,8-220,0)	n.s.
Lysozym im Serum	2,0000 (0-46,00)	2,1000 (0-46,00)	1,2750 (0-27,50)	n.s.
LDH U/l	200,00 (39-3800)	195,00 (39-3800)	210,00 (88-1608)	n.s.
Haematokrit %	28,00 (3-55)	28,00 (3-55)	27,00 (14-42)	n.s.
Eisen μ g /dl	119,00 (7-778)	119,00 (7-778)	112,00 (16-286)	n.s.
Transferrin mg/dl	227,00 (21-397)	224,00 (146-397)	234,00 (21-339)	n.s.
Haptoglobin mg/dl	175,50 (6-659)	187,00 (19-659)	160,50 (6-635)	n.s.
Ferritin mg/dl	371,00 (2-7794)	340,00 (2-3526)	384,50 (4-7794)	n.s.
Gesamt Bilirubin mg/dl	0,70 (0-23)	0,80 (0-23)	0,70 (0-4)	n.s.
Paraproteinnachweis Serum/Urin %	5 %	5,9%	3,4%	n.s.
Autoimmunphänomene	7,3%	7,8%	6,5%	n.s.

Tabelle 4

Im Rahmen der klinisch-chemischen und hämatologischen Labordiagnostik wurden bei Diagnosestellung das Blutbild und das Differentialblutbild, die Enzymaktivität von Thymidinkinase und Laktatdehydrogenase und die Lysozym-Serumspiegel bestimmt. Entsprechende Medianwerte und Bereiche sind in Tabelle 4 für die Gesamtgruppe und für beide Subgruppen (RAEB I bzw. RAEB II) aufgeführt. Der überwiegende Teil der Patienten war anämisch bei einem medianen Hämoglobinwert von 9,0 g/dl und einem Haematokrit von 28%. Die mediane

Leukozytenzahl lag bei 3000/ μ l, die Plättchenzahl bei 93000/ μ l. Vereinzelt wurden extrem niedrige Leukozytenzahlen, aber auch Hyperleukozytose beobachtet. Die Verminderung der Zellzahlen und die LDH-Werte wichen in beiden Subgruppen vom Medianwert nicht signifikant ab.

3.1.3. Morphologische Befunde im peripheren Blut

	RAEB gesamt	RAEB I	RAEB II	
Linksverschiebung	51,8	48,9	54,5	n.s.
Degranulierte Vorstufen	16,4	14,9	17,9	n.s.
Pseudo-Pelger-Zellen	33,3	26,0	40,6	n.s.
Anisozytose	90,8	90,1	91,7	n.s.
Poikilozytose	69,5	65,7	73,9	n.s.
Mikrozytose	8,9	8,8	9,1	n.s.
Megalozyten	43,4	40,9	46,1	n.s.
Ovalozyten	26,5	21,7	31,5	n.s.
Basoph. Tüpfelung	23,0	25,0	20,7	n.s.
Rote Vorstufen	26,2	26,0	26,4	n.s.
Fragmentozyten	16,5	18,9	13,6	n.s.
Thrombo. Anisometrie	65,9	64,3	67,4	n.s.
Riesenplättchen	33,3	32,9	33,7	n.s.

Tabelle 5

Morphologische Charakteristika des peripheren Blutes zum Diagnosezeitpunkt zeigt die Tabelle 5 für die Gesamtgruppe und beide Untergruppen (RAEB I bzw. RAEB II). Es konnten Dysplasiezeichen in allen drei Zellreihen nachgewiesen werden. Am auffälligsten zeigten sie sich in der Erythropoese. Hier trat besonders eine Anisozytose bei 90% der RAEB I und RAEB II Patienten hervor. Bei 70% aller RAEB-Patienten wurde eine Poikilozytose und bei 43% aller RAEB-Patienten Megalozyten gefunden. Dysplasiezeichen der Granulo-monozytopoese zeigten sich besonders durch eine Linksverschiebung, auftretend bei der Hälfte aller Patienten. Weiterhin wurden Pseudo-Pelger-Zellen bei ca. einem Drittel der Patienten nachgewiesen. Dysplasien der Thrombozyten (Thrombozytenanisometrie) kamen bei zwei Drittel der Gesamtgruppe vor. Bei einem Drittel dieser Gruppe wurden Riesenplättchen nachgewiesen. Bei einem Vergleich beider Subgruppen traten keine signifikanten Unterschiede auf.

3.1.4. Zytomorphologische Befunde im Knochenmark

	RAEB gesamt	RAEB I	RAEB II	p
KM. Zell. Zytologie				
hypozellulär	12,2	10,8	13,8	n.s.
normozellulär	38,1	36,5	38,1	n.s.
hyperzellulär	49,7	52,7	48,5	n.s.
KM. Ery.Hyperplasie	36,8	40,1	36,6	n.s.
KM. Erythroblastenanteil %				
Median (min.- max.)	25,00 (0-75)	25,0 (0-75)	15,00 (5-20)	n.s.
Megalozyten	43,4	40,9	46,2	n.s.
Sideroblastose	45,5	45,8	47,8	n.s.
Ringsideroblasten %				
Median (min.- max.)	0,00 (0-80)	0,00 (0-80)	0,00 (0-64)	n.s.
PAS- Färbung der Erythropoese	27,0	19,4	34,9	0,019
Kernfaltungen der Erythropoese	37,9	35,3	40,4	n.s.
Kernbrücken der Erythropoese	6,1	4,0	7,8	n.s.
Zytopl. Veränderungen der Erythropoese	19,5	18,2	22,5	n.s.
Blastenteil-KM				
Median (min.- max.)	10,50 (5-20)	8,00 (5-10)	15,00 (0-19)	0,005
Hypogranulation	61,1	65,6	54,6	0,03
Part. MPO-Mangel	26,6	22,0	32,0	n.s.
Mikromegakaryozyten	38,5	40,9	37,2	n.s.
Mononukleäre Megakaryozyten	39,0	45,3	31,9	0,002
Hypersegment. Megakaryozyten	17,4	21,9	16,2	n.s.
Eisenspeicherung				
Normal	25,1	29,2	21,1	n.s.
Gesteigert	58,6	54,9	61,7	n.s.
Massiv gesteigert	5,6	4,4	6,3	n.s.

Tabelle 6

In Tabelle 6 sind die zytomorphologischen Befunde im Knochenmark, in der Gesamtgruppe und in den beiden Subgruppen RAEB I und RAEB II aufgelistet. Es ergaben sich signifikante Unterschiede für beide Subgruppen in der PAS-Färbung, im Blastenanteil, in der Hypogranulation und bei den mononukleären Megakaryozyten. In der RAEB II-Gruppe konnten 15,5% mehr PAS-positive erythropoetische Zellen gefunden werden als in der RAEB I-Gruppe. Der Blastenanteil war definitionsgemäß in der RAEB II-Gruppe erhöht. Eine Veränderung der Granulomonozytopoese zeigte sich sehr deutlich in der Form von hypogranulierten Zellen im Ausstrich. Sie fanden sich in beiden Subgruppen, jedoch in der RAEB I-Gruppe wesentlich höher, mit 65,6%, gegenüber in der RAEB II-Gruppe mit 54,6%.

Als häufigste Einzelzellatypie fanden sich mononukleäre Megakaryozyten in beiden Subgruppen, die in der RAEB I-Gruppe um 13,4% höher lagen. Bei allen anderen Parametern konnten keine Unterschiede zwischen RAEB I und RAEB II festgestellt werden.

3.1.5. Chromosomenanalysen

	Häufigkeit		
	RAEB gesamt	RAEB I	RAEB II
Gültig normal	78 (46,4%)	37 (48,7%)	41 (44,6%)
5q-	7	5	2
7q-	9	3	6
12q-	1	1	
delq20	2	2	
del3q	1		1
inv3/t(3;3)	2	1	1
+8	4	3	1
div 1-2	30 (17,9%)	11 (14,5%)	19 (20,7%)
multiple	34 (20,2%)	13 (17,1%)	21 (22,8%)
Gesamt	163	76	92

Tabelle 7

Die Tabelle 7 zeigt die Häufigkeit verschiedener zytogenetischer Befunde in der Gegenüberstellung der Gesamtgruppe zu den beiden Subgruppen RAEB I und RAEB II. Karyotypanalysen der Knochenmarkzellen konnten von 163 RAEB-Patienten ausgewertet werden. Knapp die Hälfte der Gesamtgruppe, 46%, wiesen einen normalen Karyotyp (46,XX bzw. 46,XY) auf. Unter den Karyotypen mit Aberrationen befanden sich 26 RAEB-Patienten mit Einzelaberrationen. Diese strukturellen Einzelaberrationen waren bei den RAEB I-Patienten mit n=15 höher als in der RAEB II-Gruppe mit n=11. Demgegenüber verdoppelte sich in etwa die Anzahl der Patienten mit Veränderungen an mehr als einem Chromosom in der RAEB II-Gruppe. Diese Veränderungen an mehreren Chromosomen (div 1-2 und multiple) sind in der RAEB II- Gruppe häufiger vertreten als in der RAEB I-Gruppe.

Chromosomen normal / pathologisch

	RAEB gesamt	RAEB I	RAEB II
Gültig			
normal	76 (48,7%)	37 (51,4%)	39 (46,4%)
pathologisch	80 (51,3%)	35 (48,6%)	45 (53,6%)

Tabelle 8

Die Tabelle 8 stellt die Verteilung der Patienten mit normalem Chromosomensatz den Patienten mit pathologischen Chromosomen in der RAEB-Gesamtgruppe und in den beiden Subgruppen gegenüber. Von den RAEB-Patienten, die zytogenetisch untersucht wurden, hatten etwas mehr als die Hälfte (51%) Chromosomenaberrationen. Der größere Teil der Patientengruppe mit Chromosomenschäden befand sich in der RAEB II- Gruppe, 54%, im Gegensatz zu 49% in der RAEB I-Gruppe.

	RAEB I	RAEB II
div1-2	<p>x=11</p> <p>-46,xy,add(7)(q3?)</p> <p>-46,xy,t(1;7)(q22;q?)(11)</p> <p>-46,xx,(2),46,xx,del(2)(p13)(8),46,idem,der(5?)(11)</p> <p>-46,XX,inv(10)(p11.2q21.2)</p> <p>-46,xy,t(1;1)(q32,p36)(18), 46,idem,del(13q)(2)</p> <p>-46,XY,18q-</p> <p>-46,XY, i(17q)</p> <p>-46xx,+1,der(1 ;7)(q10;p10),add(15)(p13)(9)</p> <p>-46xy,47xy+21</p> <p>-47,XY,+11</p> <p>-div12</p>	<p>x=19</p> <p>-45,X0</p> <p>-45,XX;t(16;17)(p;q),-16q,-17p</p> <p>-46,XX[17]/ del (8p)[3]</p> <p>-46,XY,[19]/45,XY,-22[2]</p> <p>-46,XY,-22[5]/46,XY[15]</p> <p>-46,XX,inv(16)(p13,q22)</p> <p>-46,XX,Ph+</p> <p>-46,XX[13]/ 46,XX,del 9(q22)[2]</p> <p>-46,XY del(q9)</p> <p>-46,XY,del(20)(q11)</p> <p>-46,xy,(15),46,xy,+8,+21(3),49,xy,+8,+21,+18,(1),/49xy,t(2;6)(1)</p> <p>-46,XY[12]/ 46,XY,2p-[1]/45,X0[2]</p> <p>-46,xy,1 der: 1p+</p> <p>-46,xy,inv` (11)(p11q13)</p> <p>-46,XY,ph1+</p> <p>-46,XY,t(11;19)(q23;q13)</p> <p>-47,XY,+8[7]/48,XY,t(1;3)(p;q),+8,+19[1]</p> <p>/48,XY,+8,+mar[1]/46,X0,+8,-Y[1]</p> <p>-48,XY,t(8 ;21)(q22 ;q22)</p> <p>-inv(16)(p13 ;q23)(^15)</p>

Multiple	x=13	x=21
	<p>-43,XX,-3,-4,-7,-11,-12,-15 -46,XX[12]/ t (8;15) [1] / t(7;15)[1] / t(3;8) (1)/ dup (11p) [1] / 4q- [1] / 17p- [2] / -21 (2) -46,XX[15]/88-91,XXXX,del(1q),del(1q)(5q-)(5q-), del(11q),del(11q),-13,-13,+mar,+mar,+mar[5] -46,XY,t(1;12)(p10;q10), add(1)(p11),inv (3)(p27?9p13) -46,XY(7x)und 44, XO, -18 (18x)und 45, XO, -18, +mar (8x)und 45, XO, -18, +mar2 -46,XY[22] / 44, XY, -5, -7, -17, +mar [6] / 43, XY, -5, -7, -13, -15, -17, +mar, +mar [4] -46,XX,-7,-5,-21,+3mar -46,xy(12),45,x0(2),t(1;9) (q21,q22),-7,+der(9),+t(1;9)(q21;q22)(6) -46,XY,t(1;12)(p10;q10), add(1)(p11),inv (3)(p27?9p13) -46xy,del(5q)(q12q33);49xy,5q-,+1,+11,+21, 50,XY,5q-,+1+8+13+21 -47-48,XY,t(4;21)(q21;q22),add(5)(p15),del(7) (q22),+2-3mar -47,XY,+8(1)/45,XY,-5(1)/46,XY,-5+8(2) -48-49,XX,del(5)(q13q33),-13,+19,del(20q), +22,+1-2mar</p>	<p>-41-45,XY,-3,-5,+8,+19,+22,mar+f+ -42-45,xx,-5,-7,-12,-17,-18,+mar1, +mar2,+mar3,+mar4 -42,XX,-4,-7,-12,-13,-18,- 22,del(5) (q13q33),+mar,+mar -42,XY,-4,-6,-17,-18,-21,-22,+3mar -44-45,X,-X,5,add(6)(q22),t(7 ;12)(q34 ;q13),- 21,+mar,+mar -44,XX,der(3 ;7),(q13 ;q21),-5,-7,+8, add(9)(q34),-12,add(14)(p11)add(17)(p11) -46,XY,del(20)(q13) -46,xx,del(3)(p10)(2),50.idem,del(5)(q22q33), del(8p)+19,+20,+mar,+mar(4) -46,XX, del(5)(q12q33),t(9;22)(q34q11), - 12.t(16;17)(q24q12,+22 (10) -46,xx,del(5)(q13q33)(3)/ 46,xx,del(5) (q13;q33), add (13)(p19),-15,-18,der(19), add(21)(p10)+mar, +mar,(5) -46,xy,/47,xy,+21/46,xy,ph1+ -46,XY,del(11)(q14),del(20)(q13,2),del(21) -46,XY[10]/ 46,XY,-7,-14,+t(7q/14),+7p[1] -46,xy,(15),46,xy,+8,+21(3),49,xy,+8,+21, +18,+21,+18)/49xy,t(2;6)(1) -46,xy,del(2)(q13,q ?),del(5)(q13;q33), add(17)(p11),del 20(q11)(20) -46,xy,del(5),(q13),-7,+11,del(12)(p12), add(17)(p12) -47,XY,+ring3+13g,+10g,+8g,+11g -48,xy,+12,+8 -57/58,XX,+1,+3,+4,+18,+20,+x,+2,+5,+6, +9,+10,+11,+12,+13,+14,+15,+16,+21 -del 5q,del 7,add10q,del 18,del 20,delq9 -in 13 Mitosen ein Philadelphiachrom.;in 5 M.eine Deletion am langen Arm des Chrom.11;in 2M. ein zusätzliches C-Gruppenchrom.</p>

Tabelle 9

In Tabelle 9 sind die Karyotypen mit Veränderungen an mehr als einem Chromosom aufgelistet. Im oberen Teil der Tabelle jene mit Veränderungen an 1-2 Chromosomen, im unteren Teil komplex veränderte Karyotypen. Die Entwicklung von Scoring-Systemen hat sich in der Vergangenheit als nützlich erwiesen, da sie wesentlich zur Standardisierung von Diagnostik und Therapie beitrug. Das Ziel dieser Scoring-Systeme ist, die MDS-Patienten prognostisch zu bewerten. Die einzelnen Scoring-Systeme beinhalten verschiedene Prognoseparameter, meistens zytomorphologische, hämatologische, klinische und zytogenetische Parameter.

Der IPSS-Score (International prognostic, scoring system) verwendet hämatologische Kriterien, medullären Blastenanteil und zytogenetische Befunde. Zur prognostischen Einteilung (Überlebenszeiten) und der Risikoabschätzung einer AML wurde die Einteilung in Gruppen „niedriger“ („low risk“), „mittleren“ („intermediate risk“) und „hohen“ („high risk“) gewählt. Zu der Niedrigrisikogruppe (low) zählen die Patienten mit einem normalen Karyotyp und den Einzelaberrationen 5q-, 20q- und -y. Die Hochrisikogruppe (high) enthält Patienten mit Veränderungen am Chromosom 7 und komplexen Aberrationen. Die mittlere Risikogruppe (intermediate) Gruppe enthält alle anderen Befunde.

Chromosomeneinteilung nach IPSS

	RAEB gesamt	RAEB I	RAEB II
Gültig			
low	85 (54,1%)	44 (60,3%)	41 (48,8%)
intermediate	35 (22,3%)	15 (20,5%)	20 (23,8%)
high	37 (23,6%)	14 (19,2%)	23 (27,4%)

Tabelle 10

In der Gegenüberstellung beider Subgruppen der RAEB-Gesamtgruppe in der Tabelle 10, ist ersichtlich, daß IPSS die meisten Patienten (54 %) in die Niedrigrisikogruppe eingeordnet hat. 10% mehr RAEB I-Patienten (60%) als RAEB II-Patienten (49%) befinden sich in dieser Gruppierung. In der mittleren Risikogruppe befinden sich 22% aller RAEB-Patienten mit einer leicht unterschiedlichen Verteilung in beiden Untergruppen (RAEB I 21%, RAEB II 24%). In der Hochrisikogruppe ist die RAEB-Gesamtgruppe nur leicht auf 24% erhöht. Signifikant ist, daß im Gegensatz zu der low-Gruppe sich das Verhältnis umkehrt, denn in der low-Gruppe befinden sich etwa 10% mehr RAEB I-Patienten und in der Hochrisikogruppe befinden sich etwa 10% mehr RAEB II-Patienten.

3.1.7. Therapieverfahren und Todesursachen

	RAEB gesamt	RAEB I	RAEB II
Definitives Schicksal: %			
lebend	20,9	22,8	19,0
Lost to follow up	1,4	1,4	1,4
Tot	77,7	75,8	79,6
Zytostatikatherapie :			
Nicht durchgeführt	356	185	171
Low dose ARA-C 2 X	17	9	8
Intensive Chemotherapie:			
-TAD	29	11	18
-ICE	17	7	10
-Idarubicin/ AraC	10	4	6
Todesursachenstatistik: %			
AML	29,3	20,6	37,5
Infektion	23,8	28,1	20,0
Blutung	11,8	10,0	13,4
Andere Todesursachen	35,1	41,3	29,2

Tabelle 11

Tabelle 11 gibt das definitive Schicksal, die zytostatische Behandlung und die Todesursachen für die RAEB-gesamt Gruppe und die beiden Subgruppen an. 21% des gesamten Patientenguts überlebten bis zum Ende des Beobachtungszeitraums. Die Patienten, bei denen eine lückenlose Nachbeobachtung nicht möglich war, wurden zu „lost to follow up“ gezählt (1,4% der RAEB-gesamt Gruppe). 78 % der Patienten verstarben, wobei in der RAEB II-Gruppe 4% mehr Patienten verstarben als in der RAEB I-Gruppe. Von 430 Patienten wurden 73 Patienten aus dem vorliegenden Patientengut mit einer Zytostatikatherapie behandelt, 17 Patienten mit einer palliativen Chemotherapie, dh. einer Behandlung mit niedrig-dosiertem Cytosin-Arabinosid (LD Ara-C). 56 RAEB-Patienten erhielten eine intensive Chemotherapie, von denen etwa die Hälfte, n= 29, eine TAD-Induktionstherapie (Thioguanin-Cytosinarabinosid-Daunorubicin) erhielt. Im Vergleich beider Subgruppen erhielten mehr RAEB II-Patienten n=12 eine aggressive zytostatische Therapie als RAEB I-Patienten. Die Todesursachen sind im unteren Drittel der Tabelle ersichtlich. Die häufigste Todesursache mit 29% stellte der Übergang in eine akute Leukämie dar. Im Vergleich beider Subgruppen war sie in der RAEB II-Gruppe doppelt so häufig vertreten. 24% verstarben an Infektionen, RAEB I-Patienten häufiger als RAEB II-Patienten. An Blutungen verstarben etwa 12% der Patienten, wobei der Anteil der RAEB II-Patienten um etwa 25% höher lag, damit verstarben ca. 65% krankheitsabhängig.

3.2. Prognosefaktoren

Mit Hilfe der Kaplan-Meier-Methode wurde der Einfluss verschiedener klinischer, hämatologischer und morphologischer Eingangsparameter auf die Überlebenswahrscheinlichkeit der RAEB- Gesamtgruppe und den Subgruppen RAEB I und RAEB II geprüft. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 14, 15 und 16 aufgelistet. Es sind jeweils die Patientenzahl „n“ und die mediane Überlebenszeit „ms“ in Monaten angegeben. Des weiteren wurde die Häufigkeit des Leukämieüberganges bei den RAEB-Patienten und deren 2 Untergruppen gezeigt, Abbildungen 1-5. Um Aussagen über den natürlichen Krankheitsverlauf der RAEB I und RAEB II Patienten treffen zu können, wurden die zytostatisch behandelten und die stammzelltransplantierten Patienten von der Auswertung ausgeschlossen.

3.2.1. Klinische Prognoseparameter

Parameter	RAEB gesamt			RAEB I			RAEB II		
	n	ms	p	n	ms	p	n	ms	p
Alter									
<70	144	17		75	21		69	12	
>70	230	9	0,00005	117	12	0,0013	113	6	0,0046
Geschlecht									
männlich	207	10		101	13		106	9	
weiblich	167	12	0,42	91	19	0,82	76	9	0,65
Fieber									
ja	54	6		25	8		29	5	
nein	168	13	0,0	89	16	0,0	77	10	0,01
Lymphome									
ja	28	9		119	14		105	10	
nein	224	12	0,22	14	13	0,46	14	8	0,32
Hämorrhagische Diathesen									
ja	50	10		30	10		20	10	
nein	170	13	0,007	87	17	0,0001	92	10	0,21
Allgemeinzustand									
ausreichend	118	19		61	18		57	20	
reduziert	118	8		64	10		54	6	
deutlich reduziert	18	3	0,0	7	13	0,02	11	2	0,0

Tabelle 12

Tabelle 12 zeigt die klinischen Parameter, deren prognostische Bedeutung untersucht wurde: Das Alter der Patienten zum Diagnosezeitpunkt, das Geschlecht, der klinische Nachweis von

Fieber, Lymphomen, Blutungszeichen und der Allgemeinzustand. Unter den hier summierten Parametern hatten das Lebensalter, das Vorkommen von Fieber, Blutungen und der Allgemeinzustand einen sehr großen Einfluss auf die Überlebenszeit. Für die RAEB I-Gruppe hatten Alter, Fieber, Blutung und Allgemeinzustand Einfluss auf die Prognose. In der RAEB II-Gruppe hatten Alter, Fieber und Allgemeinzustand Einfluss auf die Prognose.

3.2.2. Hämatologische Prognoseparameter

Parameter	RAEB gesamt			RAEB I			RAEB II		
	n	ms	p	n	ms	p	n	ms	p
Hb(g/dl)									
>9	166	17		92	19		74	12	
<9	180	8	0,0	87	10	0,0004	93	6	0,0
Thrombozyten/ μ l									
>100000	153	13		84	19		69	10	
<100000	186	10	0,005	92	12	0,09	94	8	0,04
Granulozyten/ μ l									
>2500	74	10		42	12		32	8	
<2500	220	12	0,22	107	16	0,65	13	10	0,05
LDH U/ml									
normal	155	14		87	17		68	11	
erhöht	152	9	0,0007	73	11	0,01	79	8	0,02
Blasten im Blut									
ja	87	10		101	17		89	9	
nein	190	12	0,16	41	12	0,22	46	9	0,67
Thymidinkinase(U/ml)									
<10	30	22		15	22		15	23	
>10	27	10	0,09	12	13	0,59	15	8	0,08

Tabelle 13

Tabelle 13 zeigt die hämatologischen Prognoseparameter: Hämoglobin, Thrombozyten, Granulozyten, Laktat-Dehydrogenase, Blasten und Thymidinkinase-Aktivität. Bei den Patienten, bei denen bereits bei Diagnosestellung eine ausgeprägte Anämie (Hämoglobin<9g/dl) bestand, ist das mediane Überleben um etwa die Hälfte reduziert, von 17 auf 8 Monate, parallel auch in den beiden Subgruppen. Hämoglobin, Thrombozyten und Laktat-Dehydrogenase hatten als einzige Parameter Einfluss auf die Prognose in allen Gruppen. Die Parameter Granulozyten und Blasten im Blut haben prognostisch für die RAEB-gesamt Gruppe nur eine geringe Bedeutung. Erhöhte LDH-Werte bedeuteten in der RAEB-gesamt und in den beiden Subgruppen eine wesentlich geringere Lebenserwartung.

3.2.3. Morphologische und zytogenetische Prognoseparameter im KM

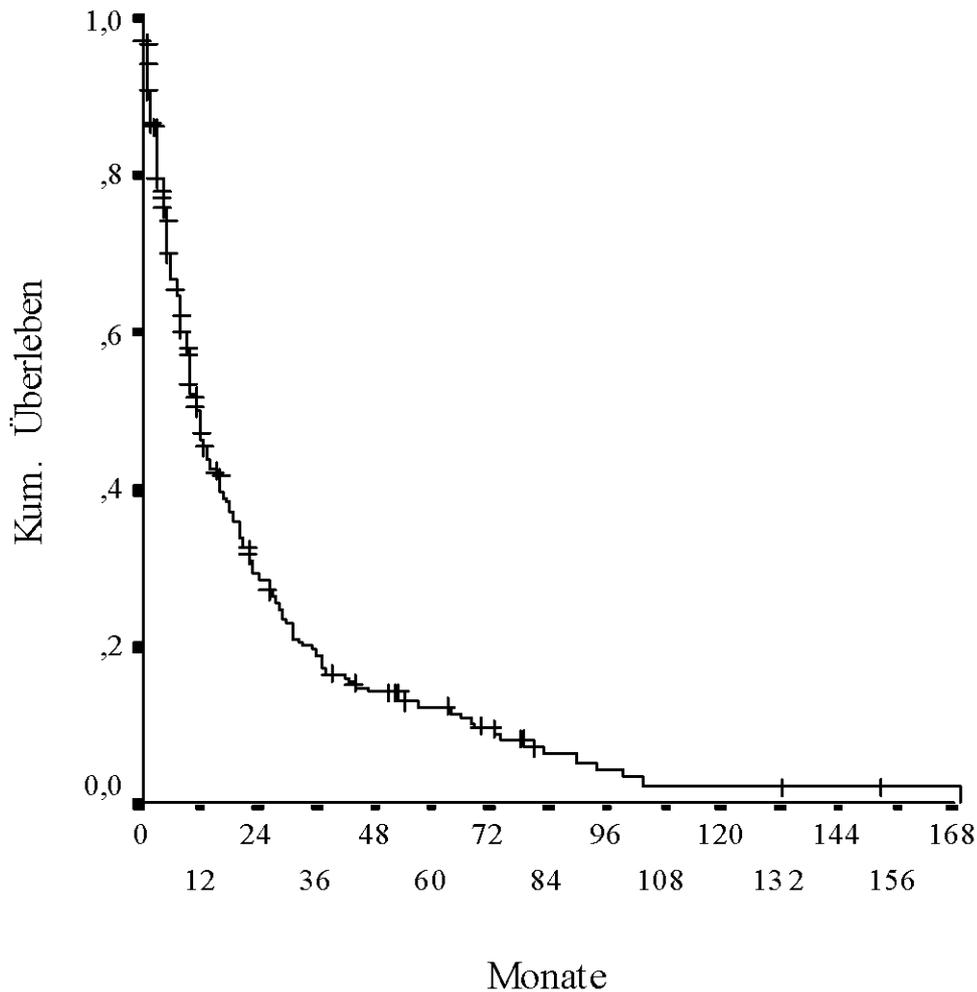
Parameter	RAEB gesamt			RAEB I			RAEB II		
	n	ms	p	n	ms	p	n	ms	p
PAS-Positivität									
negativ	123	12		63	12		60	11	
positiv	48	8	0,01	16	13	0,66	32	6	0,008
Pseudo-Pelger-Zellen									
nein	120	10		53	13		67	9	
ja	163	12	0,05	89	13	0,65	74	10	0,78
Mononukleäre Megakaryozyten									
nein	170	13		70	13		100	12	
ja	98	9	n.s.	55	12	n.s.	43	9	0,04
Mikromegakaryozyten									
nein	169	13		82	12		87	12	
ja	184	11	n.s.	48	13	n.s.	59	11	n.s.
Hypersegmentierte Megakaryozyten									
nein	221	13		101	12		120	10	
ja	51	11	n.s.	26	14	n.s.	25	13	n.s.
Hypogranulation									
nein	150	11		89	11		61	12	
ja	220	12	n.s.	106	12	n.s.	114	13	n.s.
Kernatypien Erythro-poese									
nein	182	11		70	12		82	10	
ja	135	12	n.s.	82	13	n.s.	73	12	n.s.
Chromosomensatz									
normal	36	33		19	23	0,86	17	57	
pathologisch	46	12	0,04	25	18		21	9	0,0034
Chromosomensatz									
günstig	41	33		23	23		19	37	
mittel	18	24		12	23		6	32	
schlecht	23	8	0,08	10	16	0,77	13	5	0,0009
AML-Übergang									
ja	81	11		33	12		48	10	
nein	293	11	0,16	159	16	0,11	134	9	0,07
Blastenanteil									
<10	205	16							
>10	208	9	0,0031						

Tabelle 14

Tabelle 14 zeigt die prognostisch bedeutsamen knochenmarkmorphologischen Parameter. Ein Nachweis von PAS-positiven Erythrozyten lag bei 48 RAEB-Patienten vor, der Anteil war in der RAEB II-Gruppe doppelt so hoch als in der RAEB I-Gruppe. Parallel reduzierte sich die mediane Überlebenszeit in der RAEB II-Gruppe um die Hälfte. Ein pathologischer Chromosomensatz hatte von allen Parametern die negativste Auswirkung auf die mediane Überle-

benszeit, besonders in der RAEB II-Gruppe. Von 82 RAEB-Patienten wiesen 46 Patienten einen pathologischen Chromosomensatz auf, davon waren 25 Patienten in der RAEB I- und 21 in der RAEB II-Gruppe. In diesem Fall verringerte sich die mediane Überlebenszeit in der RAEB II-Gruppe von 57 auf 9 Monate. Sie verringerte sich ebenso bei einem schlechten Chromosomensatz. Der Einfluss des AML-Überganges auf die Prognose der Patienten war in beiden Gruppen zu vernachlässigen, das bedeutet, dass ein Leukämieübergang die Prognose nicht verschlechtert. Die Einteilung der Patienten in RAEB I und RAEB II entsprechend ihrem medullären Blastenanteil ist prognostisch sinnvoll: Die mediane Überlebenszeit von den RAEB-Patienten lag bei 16 Monaten, die von RAEB II-Patienten bei 9 Monaten.

Abb. 1: Kumulatives Überleben in der gesamten RAEB-Gruppe



Die Abbildung 1 stellt die kumulative Überlebenswahrscheinlichkeit aller in diese Studie eingegangenen RAEB-Patienten $n = 440$ dar.

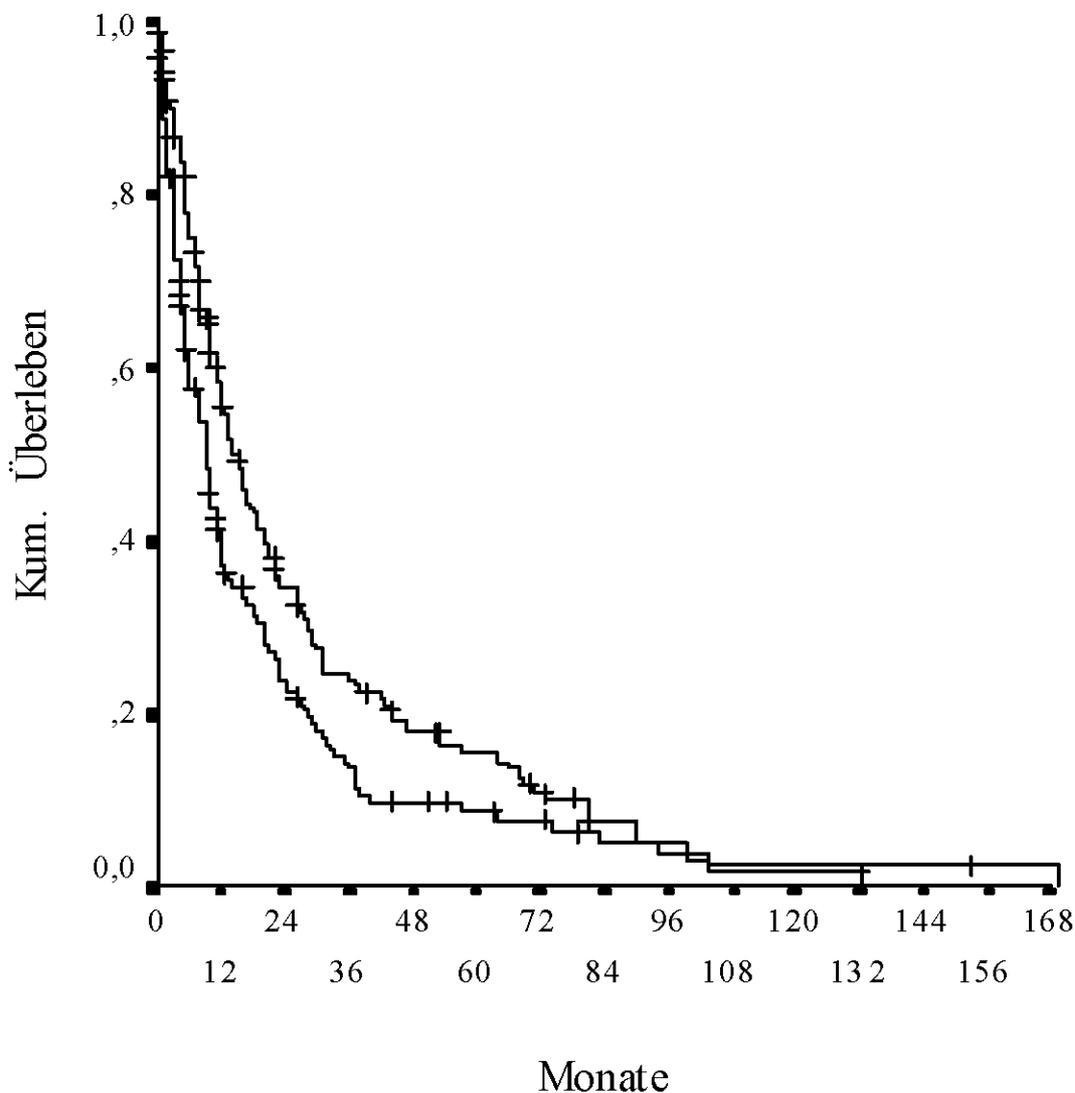
Es findet sich eine mediane Überlebenszeit von 12 Monaten.

Die längste Überlebenszeit wurde 168 Monate nach Diagnosestellung beobachtet.

Die kumulativen Überlebensraten betragen nach 2 Jahren 29%, nach 3 Jahren 20%, nach 4 Jahren 15% , nach 6 Jahren 10% und nach 8 Jahren 4%.

Abb. 2: Kumulatives Überleben der RAEB I- vs. RAEB II-Patienten

p= 0,0031



Der statistische Vergleich der kumulativen Überlebensraten zwischen RAEB I und RAEB II ergab einen signifikanten Unterschied :

In den ersten 12 Monaten liegen die einzelnen Kurven dicht beieinander. Im mittleren Bereich von 34-60 Monaten ist die Differenz beider Kurven am größten.

Die RAEB I-Patienten mit der medianen Überlebenszeit von 9 Monaten haben eine deutlich schlechtere Prognose als die RAEB II-Patienten bei einer medianen Überlebenszeit von 16 Monaten.

12% der RAEB I-Patienten überleben 36 Monate, während bei der RAEB II-Gruppe 12% 70 Monate überleben.

Bei der RAEB I-Gruppe sind bereits nach 39 Monaten 90% verstorben, bei den RAEB II-Patienten nur 77%.

In beiden Gruppen gibt es einzelne Patienten, die länger als 6 Jahre leben.

Abb. 3: Kumulatives Überleben der gesamten RAEB-Gruppe in Bezug zum Hämoglobinwert

$p < 0,00005$

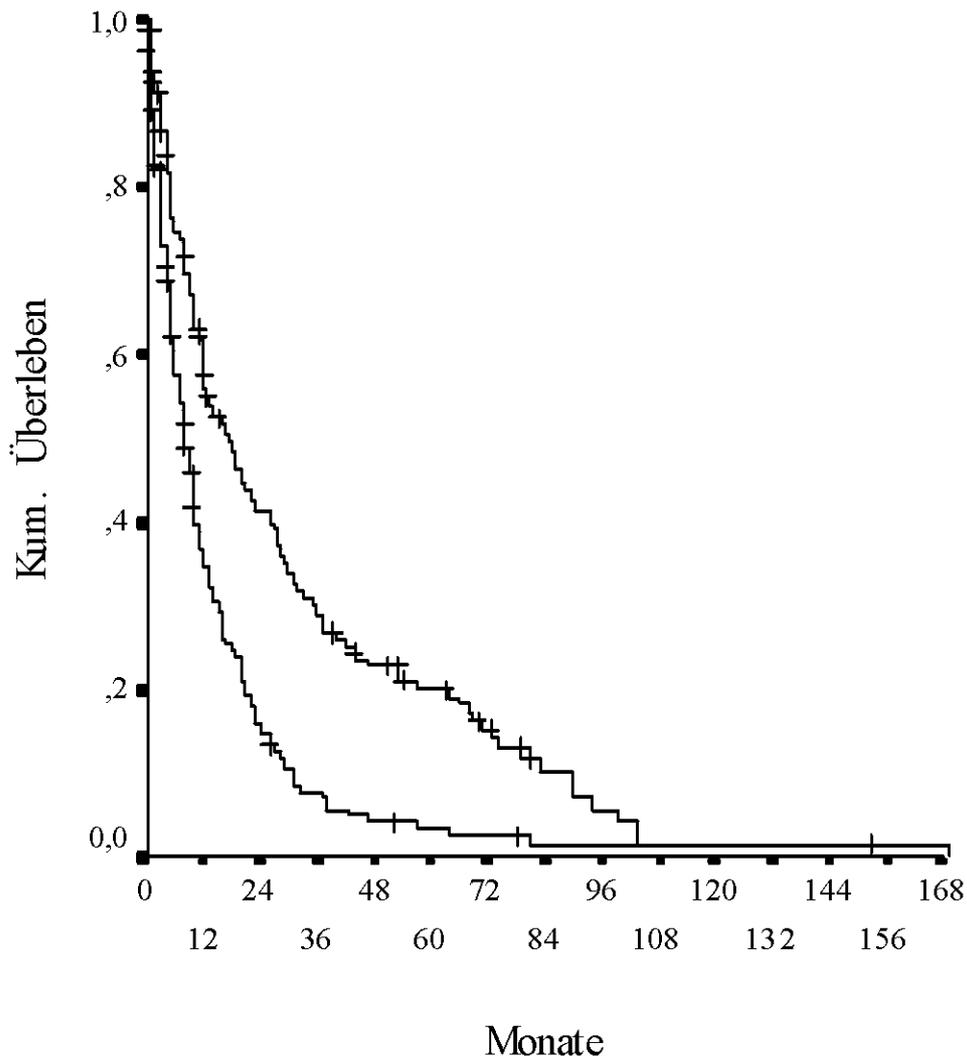


Abbildung 3 zeigt das Verhalten der kumulativen Überlebensraten der RAEB-Patienten in Abhängigkeit vom initialen Hämoglobinwert.

Eine ungünstige Prognose wiesen diejenigen Patienten auf, bei denen bereits bei Diagnosestellung eine ausgeprägte Anämie (Hämoglobin < 9g/dl) bestand.

Die medianen Überlebenszeiten der RAEB-Patienten mit einem Hb-Wert < 9 liegen bei 8 Monaten und bei einem Hb-Wert > 9 bei 18 Monaten.

Abb. 4: Kumulative AML Entwicklung der gesamten RAEB- Gruppe

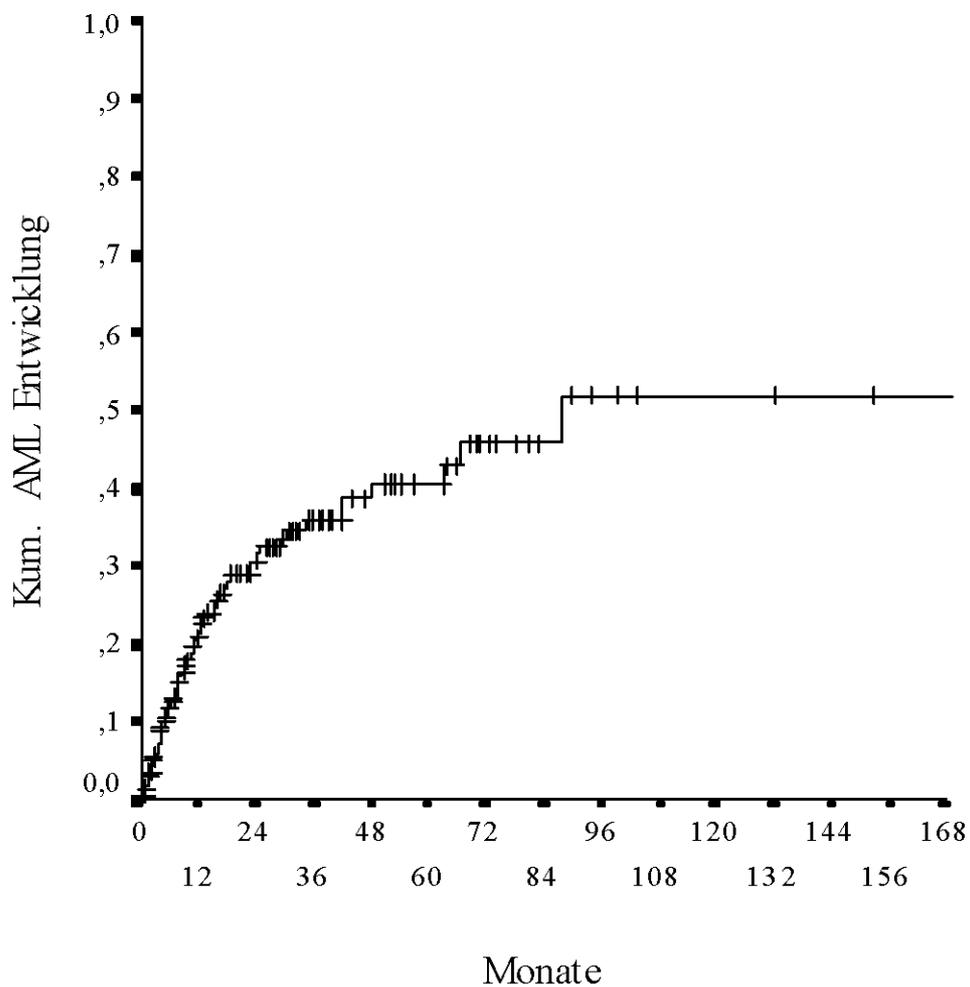


Abbildung 4 zeigt die kumulative Häufigkeit an AML-Übergängen im Gesamtkollektiv. Insgesamt entwickeln 53% der RAEB-Patienten eine akute Leukämie und zwar innerhalb von 87 Monaten (7,25 Jahren). Der Großteil der Leukämieübergänge fand in den ersten 2 Jahren nach Diagnosestellung statt. In den darauf folgenden 5 Jahren nahmen die AML-Übergänge um weitere 20% zu und stagnieren dann auf dieser Höhe.

Abb. 5: Kumulative AML- Entwicklung der RAEB I- vs RAEB II-Patienten

p= 0,0004

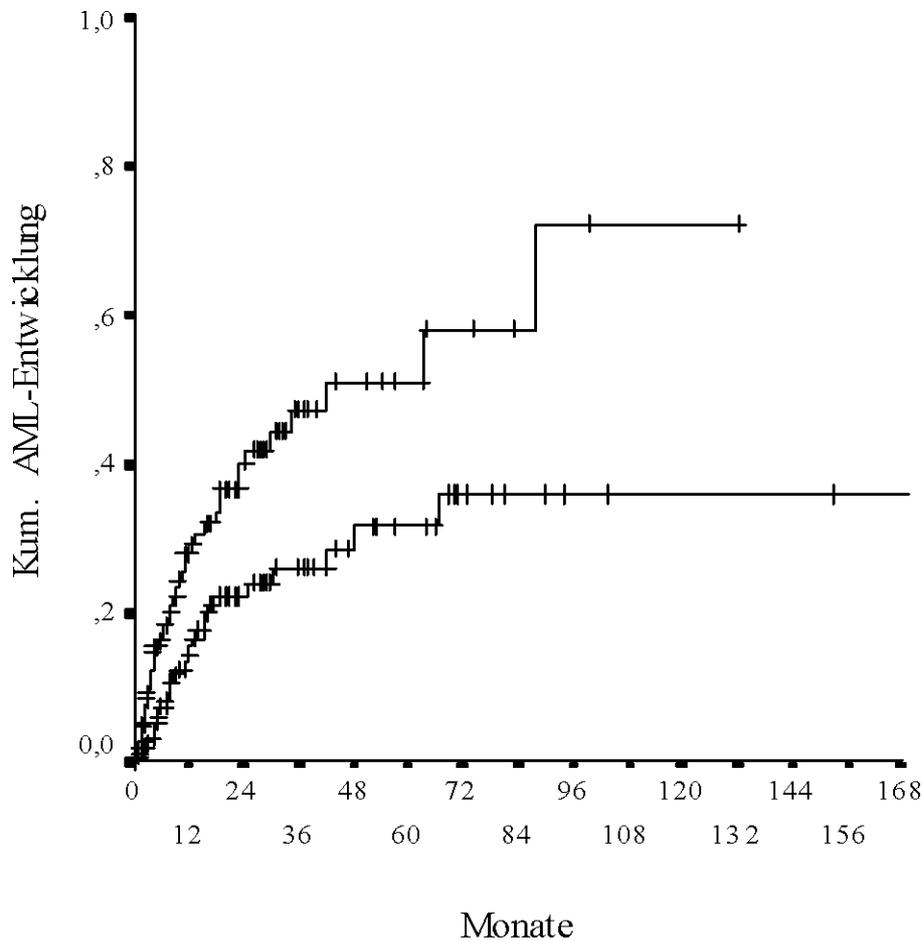


Abbildung 5 zeigt die kumulative Wahrscheinlichkeit des AML-Übergangs beider RAEB-Gruppen.

Die Zeitpunkte und die Häufigkeit der Leukämieübergänge waren zwischen beiden Gruppen signifikant unterschiedlich. Nach 2 Jahren entwickelte sich die AML bei 22% der RAEB I-Patienten und 41% bei den RAEB II-Patienten. Nach 3 Jahren nach Diagnosestellung trat die AML bei 26% der RAEB I-Patienten und bei 47% der RAEB II-Patienten auf. In diesem Zeitabschnitt von 2-3 Jahren wurde eine akute Leukämie bei den RAEB II-Patienten doppelt so häufig diagnostiziert. Auffällig ist, daß bei den RAEB I-Patienten kumulativ 36% und bei den RAEB II-Patienten 72% eine akute Leukämie bekommen.

3.2.4. Vergleich verschiedener Scoring-Systeme

In den letzten Jahren wurden zur prognostischen Bewertung von MDS-Patienten verschiedene Scoring-Systeme entwickelt. Sie verwenden unterschiedliche Parameter z.B. Thrombozyten-, Hämoglobinwerte, LDH-Aktivität. Gemeinsame Parameter der in der folgenden Tabelle 15 aufgeführten Scores sind der medulläre Blastenanteil und die Thrombozytenzahl.

In allen Scoring-Systemen werden die Patienten in 3 oder 4 Risikogruppen eingeteilt. Patienten, die keinen Grenzwert der entsprechenden Parameter erreichen, bilden die „low“- Gruppe, die risikoarme Gruppe. Entsprechend der Anzahl der erfüllten Kriterien der jeweils gewählten Parameter werden die Patienten den höheren Risikogruppen „intermediate“ und „high“ zugeordnet.

	IPSS	Düsseldorf-Score	Bournemouth-Score	Sanz-Score	Pavia-Score
Med.Blasten >5%	X	X	X	X	X
Hämoglobin <10 <9	X	X	X		X
Thrombozyten < 50 000 <100 000	X	X	X	X X	X
Granulozyten <2500 <1500	X		X		
Alter >60				X	X
LDH erhöht		X			
Anzahl Zytopenien	X				
Karyotyp	X				

Tabelle 15

	RAEB gesamt			RAEB I			RAEB II		
	n	ms	p	n	ms	p	n	ms	p
IPSS									
low									
intermediate 1	11	42		11	42				
intermediate 2	36	23		24	21		12	57	
high	28	10	0,03	5	8	0,48	23	10	0,01
Düsseldorf- Score									
low									
intermediate	145	19		82	21		63	14	
high	168	8	0,0	81	10	0,0001	87	6	0,0002
Bournemouth- Score									
low	10	22		8	30		2	2	
intermediate	166	12		89	16		77	10	
high	69	5	0,0	29	5	0,0044	40	5	0,018
Sanz- Score									
low	8	27		8	27				
intermediate	188	15		114	16		74	11	
high	126	6	0,0	41	6	0,0009	85	7	0,009
Pavia- Score									
low	7	53		6	53		1	64	
intermediate 1	65	16		37	16		28	14	
intermediate 2	127	11		68	16		59	9	
high	83	5	0,0	37	5	0,0002	46	5	0,0006

Tabelle16

Tabelle 16 fasst die prognostische Aussagekraft in den verschiedenen Scoring-Systeme für die RAEB-gesamt Gruppe und die beiden Untergruppen zusammen. Vom IPSS- und vom Düsseldorf-Score werden die Kriterien der Niedrigrisikogruppe von keinen RAEB-Patienten erfüllt. Nur der Bournemouth- und der Pavia-Score machen Gebrauch von allen Risikoabstufungen. In allen aufgelisteten Scoring-Systeme werden die RAEB-gesamt Patienten vorwiegend in die intermediäre und in die intermediäre-2 Risikogruppe eingeordnet.

Entsprechend sind die prognostischen Aussagen zwischen den einzelnen Scoring-Systeme weitgehend vergleichbar: Das mediane Überleben der RAEB-gesamt Gruppe liegt in allen Scores für die Hochrisiko- gruppe zwischen 5 und 10 Monaten, es steigt zur intermediären Risikogruppe in allen Scores um etwas mehr als das Doppelte an, zur Niedrigrisikogruppe steigt sie wiederum an. Im Vergleich zu den anderen Scores weist die RAEB II-Gruppe im IPSS-Score zu günstige Überlebenszeiten auf. Das Gleiche gilt im Niedrigrisikobereich für die RAEB II-Gruppe im Pavia-Score. Durch den Düsseldorf-Score werden alle Patienten fast gleichmäßig in die Intermediate- und in die Hochrisikogruppe eingeteilt, deren mediane Überlebenszeiten signifikant unterschiedlich sind. Der Düsseldorf-Score wurde 1988 entwickelt. Es berücksichtigt den medullären Blastenanteil, Hämoglobin-, Thrombozytenwerte und die

LDH-Aktivität. Dieses Scoring-System berücksichtigt als einziges erhöhte LDH-Werte als Risikofaktor. Die Patienten werden in drei Risikogruppen eingeteilt. Patienten, die keinen Grenzwert der oben genannten 4 Parameter erreichen, bilden die risikoarme A-Gruppe. Patienten werden in die Risikogruppe B = intermediäre Prognose eingeteilt, wenn 1 oder 2 Kriterien erfüllt, bzw. in die Risikogruppe C = schlechte Prognose, wenn 3-4 Kriterien erfüllt werden. Der Vorteil des Düsseldorf-Score ist, daß er für die gesamte RAEB-Gruppe, wie auch für die beiden Subgruppen RAEB I und RAEB II eine hohe prognostische Aussagekraft ergibt.

Abb. 6: Kumulatives Überleben des Düsseldorf- Score, intermediär vs high-risk aller RAEB-Patienten

p=0,00005

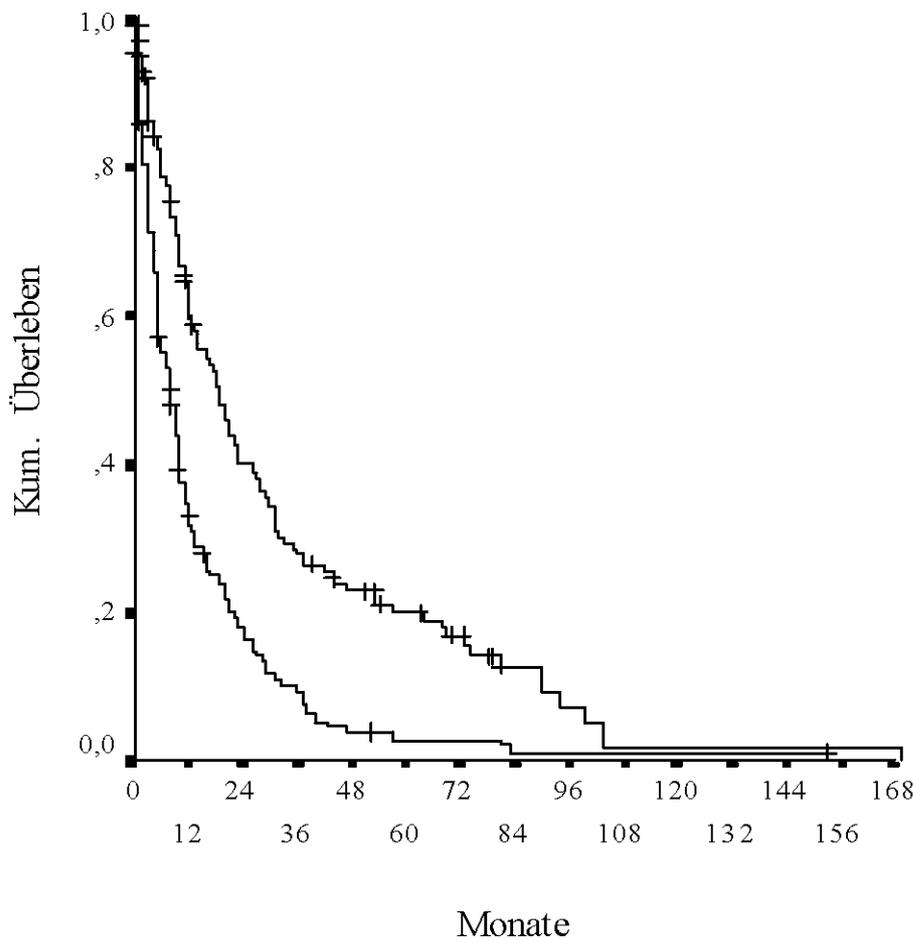


Abb. 7: Kumulatives Überleben des Düsseldorf-Scores der RAEB I-Patienten

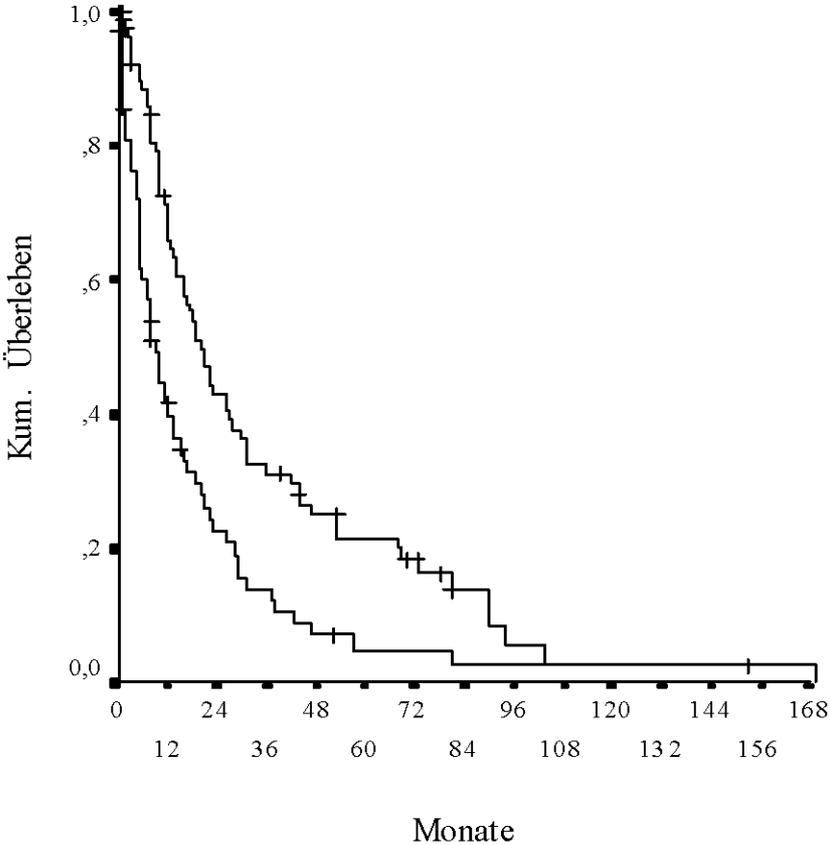
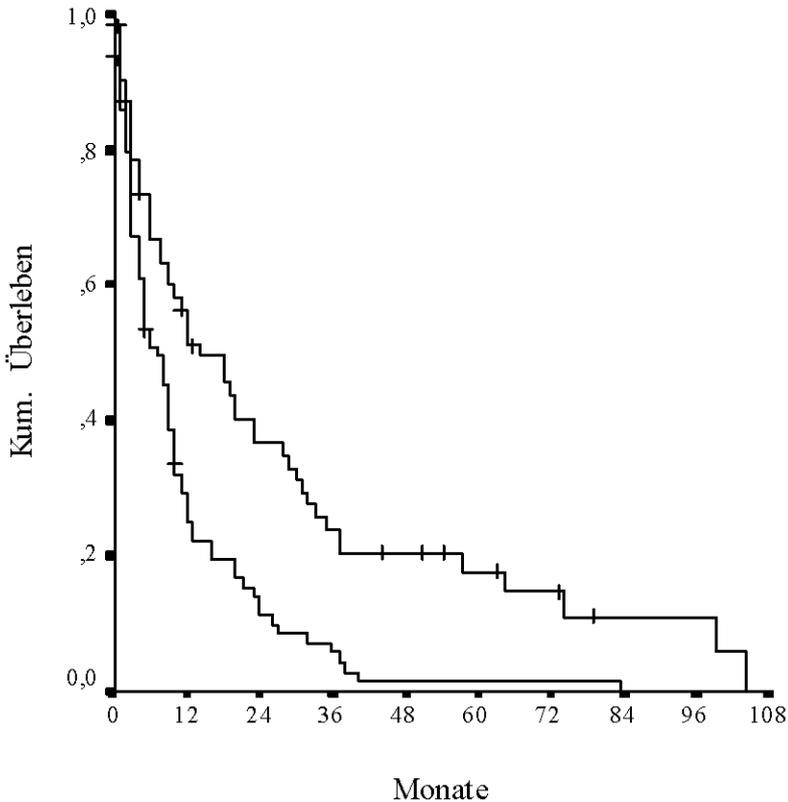


Abb. 8: Kumulatives Überleben des Düsseldorf-Scores der RAEB II-Patienten



	RAEB gesamt	RAEB I	RAEB II
50% Überleben interm. high	18,5 Monate 8 Monate	21 Monate 10 Monate	16 Monate 7 Monate
10% Überleben interm. high	90 Monate 34 Monate	90 Monate 39 Monate	73 Monate 24 Monate
2 Jahre interm. high	40 % 17 %	43 % 23 %	37 % 12%
3 Jahre interm. high	28 % 9 %	31 % 13 %	23 % 6 %
4 Jahre interm. high	23 % 4 %	26 % 7 %	20 % 2 %

Tabelle 17

Die medianen und 10% Überlebensraten, sowie die prozentuale Anzahl der noch Lebenden nach 2, 3 und 4 Jahren, zeigen eindrucksvoll die prognostische Möglichkeit des Düsseldorf-Scores.

3.2.5. Unabhängige Prognoseparameter für Patienten ohne und mit Zytogenetik

Patienten ohne Zytogenetik

		χ^2 c	p
RAEB gesamt n=384	HBZ<9	35,286	0,000
	Alter>70	19,200	0,000
	Blasten KM > ^{<} 10%	7,233	0,007
	THR<100	6,102	0,014
RAEB I n=197	Alter>70	16,753	0,000
	HBZ<9	16,083	0,000
RAEB II n=187	HBZ<9	16,631	0,000
	Alter>70	4,586	0,032

Tabelle 18

Patienten mit Zytogenetik

		χ^2 c	p
RAEB gesamt n=63	HBZ<9	10,785	0,001
	Alter>70	6,948	0,008
RAEB I n=36	HBZ<9	6,287	0,012
	Alter>70	5,425	0,020
RAEB II n=27	HBZ<9	5,963	0,015

Tabelle 19

Um die Prognoseparameter zu ermitteln, die einen unabhängigen Einfluss auf Überlebenszeit und AML-Übergang haben, wurden multivariate Analysen nach dem Verfahren von Cox (1972) angewandt (Multiple Cox-Regression bzw. logistische Regression). Diese unabhängigen Prognoseparameter sind in den beiden Tabellen 18 und 19 zusammengefasst. In der Gesamtgruppe, wie auch in den Subgruppen RAEB I und RAEB II hatte, neben dem initialen Hämoglobinwert, das Alter wesentlichen Einfluss auf die Prognose. Auch die Unterteilung der Patienten entsprechend dem Blastenanteil hatte Einfluss auf die Prognose. In der Gesamtgruppe konnten zudem die Thrombozytenzahlen als unabhängiger Prognoseparameter identifiziert werden. Patienten, bei denen eine initiale Zytogenetik vorhanden war, wurden in die Analyse mit aufgenommen. Es zeigten sich ausschließlich Hämoglobin und Alter als relevante Einflussgrößen bezüglich der Prognose.

4. Diskussion

Die myelodysplastischen Syndrome werden seit 1982 nach der von der FAB-Gruppe vorgestellte Diagnosekriterien eingeteilt. Wesentliches Diagnosekriterium ist neben dem Nachweis von Dysplasiezeichen im Blut und Knochenmark sowie dem Nachweis von Monozyten und Ringsideroblasten der medulläre und periphere Blastenanteil. Die FAB-Gruppe definierte eine MDS-Untergruppe mit dem Namen „RAEB“ (refraktäre Anämie mit excess of blasts), die durch den Nachweis von 5%-19% an medullären Blasten oder den Nachweis von mehr als 1% Blasten im peripheren Blut gekennzeichnet war. Diese Subgruppe macht in verschiedenen Analysen 15%-30% des Gesamtpatientengutes aus (Aul, 1992 Aul, 1994, Sanz 89, Greenberg, 1997). Zahlreiche Studien konnten zeigen, dass die Prognose von Patienten mit RAEB signifikant schlechter ist, als die von Patienten mit noch normalen medullären Blastenanteil (RA und RARS) (Sanz 89, Aul 1992,1994, Germing 2000, Pfeilstöcker 2001, Greenberg 1997, Mufti 1988, Oguma 1998, Kerkhofs 1985, Trikot 1985). Die zahlreichen Studien konnten jedoch auch zeigen, dass die Prognose innerhalb der RAEB-Gruppe extrem heterogen ist. Das

liegt wahrscheinlich an der großen Spannbreite der medullären und peripheren Blastenzahlen. Patienten mit 6% Blasten, d. h. mit gerade eben erhöhten Blastenanteil im peripherem Blut, werden in der Gruppe der RAEB genauso klassifiziert, wie Patienten mit 19% Blasten, bei denen sicherlich schon ein fortgeschrittenes Stadium vorliegt. 1999 schlug eine Arbeitsgruppe aus Hämatologen und Hämatopathologen der WHO eine neue Klassifikation der myelodysplastischen Syndrome vor (Harris 1999). Unter anderem wurde eine Einteilung der RAEB-Gruppe in die Subgruppen RAEB I und RAEB II vorgeschlagen, (Bennett 2000), deren wesentliche Einteilungskriterien wiederum die periphere und medulläre Blastenzahl sein sollte. Die Gruppe der RAEB I (medulläre Blastenzahl <10%, periphere Blastenzahl < 5%, keine Auerstäbchen) wurde von der Gruppe RAEB II Blastenzahl 10%- 19%, periphere Blastenzahl >5%, Auerstäbchen möglich) abgegrenzt. Anhand von 440 Patienten wurden diese Gruppen RAEB I und RAEB II im Hinblick auf zytologische, klinische, hämatologische und zytologische Parameter untersucht. Das ist das bislang größte Patientengut, dass auf diese Fragestellung untersucht worden ist. Hinsichtlich der klinischen Parameter fanden sich zwischen RAEB I und RAEB II keine Unterschiede. Insbesondere war die Alter- und Geschlechtsverteilung zwischen den Gruppen gleich und auch die klinischen Beschwerdeparameter, wie Anämiesymptome, Infektanfälligkeit, Fieber, Blutungen, Lymphknotenschwellungen und Organomegalie und auch der Allgemeinzustand waren in diesen beiden Gruppen nicht unterschiedlich. Auch hinsichtlich der Blutbildveränderungen zum Diagnosezeitpunkt, insbesondere bei den Zellzahlen (Hämoglobin, Leukozyten, Granulozyten und den Thrombozyten) gab es zwischen den beiden Gruppen RAEB I und RAEB II keine signifikanten Unterschiede. Auch Enzymbestimmungen wie die Thymidinkinase und Laktatdehydrogenase zeigten nicht-signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Abgesehen von der Tatsache, dass in der Gruppe RAEB II einige Patienten mit einem Blastenanteil von über 5 % im peripherem Blut zu finden waren, ist somit die Unterscheidung der beiden Subgruppen anhand von Blutbildveränderungen nicht möglich. In der Arbeit von Pfeilstöcker 2001 wurden ebenfalls keine Unterschiede im Hinblick auf Blutbildveränderungen zwischen den beiden Gruppen gefunden. Auch die Arbeiten von Lee 2003 und Greenberg 1997 konnten hier keine Unterschiede herausarbeiten. Im Gegensatz zu den publizierten Daten beschäftigt sich die vorliegende Arbeit zusätzlich mit morphologischen Befunden in Blut und Knochenmark.

Überraschenderweise konnten, abgesehen vom medullären Blastenanteil der sich definitionsgemäß signifikant unterscheidet im peripheren Blut, keinerlei Unterschiede im Hinblick auf einzelne Dysplaskriterien finden lassen. Die Dysgranulopoese, Dyserythropoese und Dysmegakaryopoese im peripheren Blut unterschieden sich zwischen den beiden Gruppen nicht.

Auch die Knochenmarkmorphologischen Befunde wiesen keine wesentlichen Unterschiede auf. Sowohl die Zellularität als auch die Kriterien für die Dyserythropoese unterschieden sich nicht wesentlich. In der Gruppe der RAEB II fanden sich etwas weniger Ringsideroblasten und etwas häufiger PAS-Positivität der Erythropoese. Bzgl. der Granulopoese fanden sich keine Unterschiede, ausschließlich die mononukleären Megakaryozyten waren in der Gruppe der RAEB I leicht häufiger vertreten. Somit muss festgehalten werden, dass abgesehen vom medullären Blastenanteil, auch Knochenmarkmorphologisch die Befunde zwischen RAEB I und RAEB II nicht voneinander abgegrenzt werden können. Die vorliegende Arbeit ist die bisher einzige, die sich mit chromosomalen Befunden bei RAEB-Patienten in Bezug auf die neu definierten Subgruppen beschäftigt. Bei insgesamt 163 RAEB-Patienten konnten Karyotypanalysen zum Diagnosezeitpunkt durchgeführt werden. In 46% der Fälle fand sich ein normaler Karyotyp. Zwischen den beiden Gruppen gab es hier keine wesentlichen Unterschiede. Auffällig war jedoch, dass der Anteil der komplex veränderten Karyotypen in der RAEB I-Gruppe bei 17%, in der RAEB II-Gruppe bei 23% lag und nach den Kriterien des IPSS (Greenberg 1997) somit 19 % der RAEB I-Patienten, aber 27% der RAEB II-Patienten in die Hochrisikogruppe eingeteilt werden müssen. Dies bedeutet, dass offenbar die Anzahl komplex veränderter Karyotypen einschließlich Veränderung des 7. Chromosoms mit steigendem Blastenanteil steigt. Vergleichbare Studien die diesen Sachverhalt untersuchten, liegen bislang nicht vor. Von den 440 Patienten sind im Beobachtungszeitraum 78% der Patienten verstorben. In der Gruppe der RAEB II wurden signifikant mehr Patienten einer intensiven Chemotherapie unterzogen, während der Anteil der Patienten die nur supportiv therapiert wurden, in der Gruppe der RAEB I wesentlich höher war. Hinsichtlich der Todesursachenstatistik ergibt sich, dass 20% der RAEB I-Patienten, aber 37% der RAEB II-Patienten eine akute Leukämie bekamen. Das bedeutet, dass die krankheitsassoziierten Todesursachen in der Gruppe der RAEB II-Patienten wesentlich höher lag. Auch zu diesen Themen gehen bislang aus der Literatur keine Daten hervor. Ein weiterer Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit war die Überprüfung von Prognosefaktoren für die beiden Gruppen RAEB I und RAEB II. Für beide Gruppen konnten Alter, hämorrhagische Diathese, Allgemeinzustand, Fieber, Hämoglobinwerte, Erhöhung der Laktatdehydrogenase und ein pathologischer Chromosomensatz als Prognoseparameter nachgewiesen werden. Zahlreiche Einzelparameter der Morphologie im Blut und Knochenmark waren prognostisch nicht von Bedeutung. Hervorzuheben ist, dass die prognostische Bedeutung des Leukämieübergangs weder in der RAEB I noch in der RAEB II Gruppe herausgearbeitet werden konnte. Für die Prognose der Patienten spielt es keine Rolle, ob es im Verlauf der Erkrankung zu einem Leukämieübergang kam oder nicht.

Entscheidend für die Prognose wird der medulläre Blastenanteil in der Gruppe der RAEB I und RAEB II definiert. Die beiden Gruppen unterscheiden sich hinsichtlich des Überlebens signifikant voneinander. Die mediane Überlebenswahrscheinlichkeit der RAEB I liegt bei 13 Monaten, in der RAEB II Gruppe bei nur 9 Monaten. Signifikant unterschiedlich sind ebenfalls der Zeitpunkt und die Häufigkeit des Leukämieübergangs. Die prognostische Bedeutung der Einteilung der Patienten in RAEB I und RAEB II konnte ebenfalls in der Arbeit von Lee und in der IPSS-Arbeit von Greenberg gezeigt werden. Es ist jedoch daraufhin zu weisen, dass es bereits 1989 der Spanischen Arbeitsgruppe (SANZ) gelang, den medullären Blastenanteil mit einem Diskriminationswert von 10% als prognostisch bedeutsam herauszuarbeiten.

Mit Hilfe einer multivariablen Analyse konnte am vorliegenden Gesamtpatientengut gezeigt werden, dass sowohl bei RAEB I als für RAEB II Alter und Hämoglobinwert als unabhängige Prognoseparameter identifiziert werden konnten. Diese beiden Parameter sind den chromosomalen Befunden hinsichtlich ihrer prognostischen Bedeutung überlegen.

Im letzten Teil der Arbeit wurden verschiedene Prognosescores hinsichtlich ihrer Brauchbarkeit für die Subgruppen überprüft. Sowohl der Düsseldorf-Score, der neben medullären Blastenanteil, Hämoglobinwert, Thrombozyten und Laktatdehydrogenase-Werte berücksichtigt, als auch der spanische Score, der Alter, medullären Blastenanteil und Thrombozytenwerte berücksichtigt, konnten als brauchbar für die Prognoseevaluation von Risikogruppen innerhalb der Gruppen RAEB I und RAEB II gezeigt werden. Hinsichtlich der Brauchbarkeit von Prognosescores innerhalb von WHO-Subgruppen gibt es in der Literatur ebenfalls keine Daten.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die Einteilungen der RAEB in RAEB I und RAEB II durch die WHO von großem prognostischen Nutzen ist. Die Prognose der beiden Subgruppen unterscheidet sich wesentlich voneinander, wenngleich sich keine klinischen und hämatologischen und zytomorphologischen Unterscheidungskriterien ergeben. Wesentlicher Unterschied sind definitionsgemäß der medulläre periphere Blastenanteil, sowie die Anzahl der komplex veränderten Karyotypen. Bislang liegen der Literatur kaum verwertbare Daten zu dieser Fragestellung vor, insbesondere gibt es überhaupt keine Daten in Bezug auf Therapieergebnisse für Patienten mit RAEB I und RAEB II.

5. Literaturverzeichnis:

Aul C, Gattermann N, Germing U, Runde V, Heyll A, Schneider W. Risk assessment in primary myelodysplastic syndromes: validation of the Düsseldorf score. *Leukemia* 1994;8:1906.

Aul C, Gattermann N, Heyll A, Germing U, Derigs G, Schneider W. Primary myelodysplastic syndromes (MDS): analysis of prognosis factors in 235 patients and proposals for an improved scoring system. *Leukemia* 1992;6:52.

Begemann H, Rastetter J (1994) *Atlas der klinischen Hämatologie*. Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York

Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DAG, Gralnick HR, Sultan C. Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 1982;51:189.

Bennett JM. World Health Organization (WHO) classification of the acute leukemia and myelodysplastic syndrome. *Int J Hematol*. 2000;72: 131-133.

Block, Jacobson, Bethard: Preleukemia ,acute leukemia. *JAMA*, 1953, 152, 1018-1032

Cohnheim, Julius: Ein Fall von Pseudoleukämie. *Virchows Archiv* 33,1865, S.451.

Cox D.R. Regression models and life tables. *J Roy Statist Soc* 1972;34,149,187

Damashek, W., Baldini, W.: The DiGuglielmo syndrome. *Blood* 13 (1958), 192

Ehrlich, Paul: Über die Bedeutung der neutrophilen Körnung. *Charite- Annalen* 12, 1887,S. 288.

Foucar K, Langdon RM, Armitage JO, Olson DB, Carrol TJ: Myelodysplastic syndromes. A clinical and pathological analysis of 109 cases. *Cancer*, 1985, 56, 553-561.

Fourth International Workshop on Chromosomes in Leukemia, 1982 (1984) A prospective study of acute non lymphocytic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 11, 249

Frisch, B., Bartl, R, Chaichick, S.: Therapy-induced myelodysplasia and secondary leukæmia. *Scand. J Haematol*. 36 (1986), Suppl. 45,38

Germing U, Gattermann N, Strupp C, aivado M, Aul C. Validation of the WHO proposals for a new classification of primary myelodysplastic syndromes: a retrospective analysis of 1600 patients. *Leukemia Res* 2000; 24: 983-992.

Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, Fenaux P, Morel P, Sanz G, Sanz M, Vallespi T, Hamblin T, Oscier D, Ohyasgiki K, Toyama K, Aul C, Mufli G, Bennett J. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood* 1997;89:2079.

Hanker J S, Laszlo J, Moore J A (1978) The light microscope demonstration of hydroxyperoxydase-positive Phibodies and rods in leukocytes in acute myeloid leukemia. *Histochem* 58,241

Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Muller-Hermelink HK, Vardiman J, Lister TA, Bloomfield CD. World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues: report of the Clinical Advisory Committee Meeting- Airlie House, Virginia, November 1997. *J Clin Oncol* 1999;17:3835.

Heilmeyer, L., Kreiderling, W., Bilger, R., Bernauer, H.: Über chronische refraktäre Anämie mit sideroblastischem Knochenmark (Anaemia refractoria sideroblastica). *Folia Haemat.* 2 (1958), 49.

ISCN (1991) International Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature. Subcommittee on cancer cytogenetics. In: Mittelman F (Ed.) Guidelines for cancer cytogenetics. Karger, Basel

Jacobs, R.H., Cornbleet, M.A., Vardiman, J.W., Larson, R.A., Le Beau, M.M., Rowley, J.D.: Prognostic implications of morphology and karyotype in primary myelodysplastic syndromes. *Blood* 67 (1986), 1765

Janssen JWG, Buschle M, Layton m, Drexler HG, Lyons J, Berghe van den H, Heimpel h, Kubanek B, Kleihauer E, Mufti GJ, Bartram CR: Clonal analysis of myelodysplastic syndromes: Evidence of Multipotent stem cell origin. *Blood*, 1989, 73, 248-257

Kaplan E L, Meier P (1958) Nonparametric estimations from incomplete observation. *J Am Stat Assoc* 53, 457

Kerkhofs H, Hermans J, Haak HL, et al.(1987) Utility of the FAB classification for myelodysplastic syndromes: investigation of prognostic factors in 237 cases. *Br J Haematol* 65, 73

Lee J-H, Shin Y-R, Lee J-S, Kim W-K, Chi H-S, Park C-J, Seo E-J, Lee K-H. Application of different prognostic scoring systems and comparison of the FAB and WHO classifications in Korean patients with myelodysplastic syndrome: *Leukemia* (2003) 17, 305-313.

Löffler H (1961) Zytochemischer Nachweis von unspezifischer Esterase in Ausstrichen. *Klin. Wschr* 39, 1220

McManus JFA (1964) Histological demonstration of mucin after periodic acid. *Nature* 158, 202

Medizinische Zeitung, hrsg. Vom Verein für Heilkunde in Preußen 15, 1846, S. 169

Merker, H., Heilmeyer, L.: Die alkalische Phosphatase neutrophiler Leukozyten. Zytoenzymatischer Nachweis und Aktivität bei Erkrankungen und Reaktionen des blutbildenden Systems. *Dtsch. Med. Wschr.* 85 (1960), 253

Mufti GJ, Stevens JR, Oscier DG, Hamblin TJ, Machin D. Myelodysplastic syndromes: a scoring system with prognostic significance. *Br J Haematol* 1985;59:425.

Neumann, E: Über pathologische Veränderungen des Knochenmarks. *Zentralbl. F. die medicin. Wissenschaften* 7, 1869, S. 292

Norman H, Nie UA (1983) SPSS. McGraw Hill Book Company

Nösslinger T, Reisner R, Koller E, Gruner H, Tuchler H, Nowotny H, Pittermann E, Pfeilstöcker M. Myelodysplastic syndromes, from French-American-British to World Health Organization: comparison of classifications on 431 unselected patients from a single institution. *Blood* 2001; 98: 2935-2941

Oguma S, Yoshida Y, Uchino H, et al. (1995) Clinical characteristics of Japanese patients with primary myelodysplastic syndromes: a co-operative study based on 838 cases. *Leuk Res* 19, 219

Pedersen-Bjergaard, J., Philip, P., Pedersen, N.T., Hou-Jensen, K., Svejgaard, A., Jensen, G., Nissen, N.J.: Acute nonlymphocytic leukemia, preleukemia, and acute myeloproliferative syndrome secondary to treatment of other malignant diseases. II. Bone marrow cytology, cytogenetics, results of HLA typing, response to antileukemic chemotherapy, and survival in a total series of 55 patients. *Cancer* 54 (1984),452

Rooney DE, Czepulkowski BH (1992) *Human Cytogenetics. Malignant and acquired abnormalities: A practical approach.* Oxford University Press Oxford, New York, Tokyo

Sanz GF, Sanz MA, Vallespi T, Canizo MC, Torrabadella M, Garcia S, Irriguible D, San Miguel JF. Two regression models and a scoring system for predicting survival and planning treatment in myelodysplastic syndromes: a multivariate analysis of prognostic factors in 370 patients. *Blood* 1989;74:395.

Shibata A, Bennett JM, Castoldi GL, et al (1985) Recommended methods for cytological procedures in haematology. *Clin Lab Haemat* 7, 55

Tricot G, de Wolf-Peeters C, Vlietinck R, et al. (1984) Bone marrow histology in myelodysplastic syndromes II. Prognostic value of abnormal localization of immature precursors in MDS. *Br J Haematol* 58, 217

Tricot G, Vlietinck R, Boogaerts MA, et al. (1985) Prognostic factors in the myelodysplastic syndromes: importance of initial data on peripheral blood counts, bone marrow cytology, trephine biopsy and chromosomal

Virchow, Rudolf: *Zur pathologischen Physiologie des Blutes. II. Weißes Blut.* *Virchows Archiv* 1, 1847, S.563

6. Zusammenfassung

Myelodysplastische Syndrome (MDS), bilden eine heterogene Gruppe erworbener klonaler Stammzellerkrankungen, die durch quantitative und qualitative Veränderungen aller drei Zellreihen der Hämatopoese gekennzeichnet sind.

Nach den Vorschlägen der French-American-British Cooperative Group 1982 (FAB- Klassifikation) erfolgte eine allgemein akzeptierte Einteilung des MDS. Diese wurde 1999 durch die WHO und deren internationale Arbeitsgruppe weiterentwickelt. Unter anderem wurde die RAEB-Gruppe (Refraktäre Anämie mit Blastenexzeß) in zwei Subgruppen unterteilt: Eine RAEB I mit einem medullären Blastenanteil $<10\%$ und peripheren Blastenanteil $<5\%$ und in die RAEB II mit einem medullären Blastenanteil $>10\%$ oder mehr als 5% peripherer Blasten.

Ziel der vorliegenden Arbeit war diese neu definierten Gruppen RAEB I und RAEB II anhand 219 RAEB I- und 221 RAEB II-Patienten auf die Effizienz der Unterteilung und deren prognostischen Nutzen hin zu überprüfen und die Unterschiede im Bezug auf klinische, hämatologische, zytomorphologische und zytogenetische Parameter darzustellen.

Unterschiede zwischen den beiden Subgruppen im Bezug auf die klinischen und hämatologischen Parameter, insbesondere Blutbilder und LDH konnten nicht gezeigt werden.

Bei der Überprüfung morphologischer Parameter im Blut für die RAEB-gesamt Gruppe, konnten Dysplasiezeichen in allen drei Zellreihen gefunden werden. Beim Vergleich beider Subgruppen traten mit Ausnahme des medullären Blastenanteils keine signifikanten Unterschiede auf.

Karyotypanalysen konnten von 163 RAEB-Patienten ausgewertet werden, davon wiesen knapp die Hälfte einen normalen Karyotyp auf. Strukturelle Einzelaberrationen fanden sich häufiger in der RAEB I-Gruppe. In der RAEB II-Gruppe fanden sich mehr Patienten mit Chromosomenaberrationen und häufiger mehrfache Aberrationen (div 1-2 und multiple).

Als Parameter, die unabhängig voneinander von prognostischer Bedeutung sind, konnten Hämoglobin, Alter und medullärer Blastenanteil mittels einer multivariaten Analyse identifiziert werden.

Die mediane Überlebenszeit der Patienten mit RAEB I beträgt 16 Monate, der Patienten mit RAEB II 9 Monate.

Als Prognosenscore konnte der Düsseldorf-Score als brauchbar ermittelt werden. Er teilt sowohl die Gesamtgruppe als auch die Subgruppen in je 2 Risikogruppen mit signifikant unterschiedlichen Überlebenszeiten ein.