

Aus dem Institut für Pathologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Helmut Erich Gabbert

Untersuchungen zur Konkordanz der histologischen und
zytologischen Diagnostik bei myelodysplastischen Syndromen

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin der Medizinischen
Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Rosa Marie Faoro

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

gez.:

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf

Referent: apl. Prof. Dr. Baldus

Korreferent: Prof. Dr. Gattermann

„Meinen Eltern“

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Faoro R., Baldus S. E., Anlauf M., Germing U., Neukirchen J., (2013),
Abstract: High concordance of histology and cytology in making the
diagnosis of MDS, *Leukemia Research*, (Volume 37) S. 55

Zusammenfassung

Die Diagnostik myelodysplastischer Syndrome basiert meistens auf der zytologischen Auswertung eines Knochenmark-Aspirats und wird nur in einem Teil der Fälle durch die histologische Untersuchung einer Knochenmark-Stanze ergänzt. Vergleichende Studien zur zytologischen und histologischen Analyse des Knochenmarks sind bei myelodysplastischen Syndromen (MDS) bislang nur selten durchgeführt worden. Ziel dieser Arbeit war es daher, einen systematischen Vergleich zwischen histologischer und zytologischer Diagnostik bei MDS vorzunehmen.

Knochenmarkbiopsien von insgesamt 152 Patienten aus dem MDS-Register Düsseldorf wurden histologisch und zytologisch untersucht. Zur histologischen Analyse der Knochenmarkbiopsien gehörten folgende Färbungen: H&E, Giemsa, PAS (*periodic acid-Schiff reaction*), Chlorazetat-Esterase und Silber-Imprägnierung nach Gomori. Zusätzlich wurde das CD34-Antigen immunhistochemisch dargestellt. Die Zellularität wurde in hypo- (<40%), normo- (40-60%) und hyperzellulär (>60%) kategorisiert. Folgende Parameter wurden für alle Knochenmarksbiopsien untersucht: Zellularität, Morphologie der Megakaryozyten, Grad der Siderinspeicherung, Fibrose, Anteil der Erythropoese sowie der Prozentsatz CD34-positiver Progenitorzellen. Sowohl die histologische als auch die zytologische Diagnose wurde gemäß der WHO-Klassifikation gestellt, die 2001 publiziert wurde. Die Zählung der medullären Blasten erfolgte zytologisch. Klinische Daten, IPSS-Klassifikation und „*follow up*“ für alle Knochenmarkbiopsien wurden dem MDS-Register Düsseldorf entnommen.

Die histologischen, zytologischen und klinischen Daten wurden mit Hilfe des Analyse-Programms SPSS ausgewertet. Die mediane Überlebenszeit des gesamten Kollektivs betrug 21 Monate, wobei die mediane Überlebenszeit für die IPSS *low-risk* Gruppe bei 56 Monaten und für die IPSS *high-risk* Gruppe bei 14 Monaten lag. 59% des Kollektivs waren histologisch hyperzellulär, wobei diese sich Fälle hauptsächlich auf die Diagnosen RAEB II, RAEB-T, CMML I und CMML II verteilten. Die Mehrheit der Patienten mit günstigerem Risikoprofil wiesen ein normozelluläres Knochenmark auf. Die höchsten Anteile an CD34-positiven Progenitorzellen fanden sich bei den Patienten, die gleichzeitig ein hyperzelluläres Knochenmark aufwiesen ($p=0,030$). Der höchste Anteil dysplastischer Megakaryozyten wurde registriert, wenn sowohl ein hyperzelluläres Knochenmark als auch eine höhere Anzahl an Markräumen im Untersuchungspräparat vorlag. Dementsprechend ergab sich eine Korrelation zwischen der Zellularität des Knochenmarks und der Dysmegakaryopoese ($p=0,002$). Im Hinblick auf die Fibrose zeigte sich, dass 15% aller Fälle einen Fibrosegrad 2 (ausgeprägte Fibrosierung) oder 3 (sehr starke Fibrosierung) aufwiesen, assoziiert mit einem höheren Anteil an CD34-positiven Progenitorzellen ($p=0,013$) sowie einer kürzeren Überlebenszeit ($p=0,005$) (23 Monate vs. 16 Monate).

In dieser retrospektiven Untersuchung wurde für alle Patienten unter Berücksichtigung sämtlicher a priori festgelegter Parameter eine neue histologische und zytologische Diagnose gestellt. Der große Vorteil dieser Studie liegt darin, dass die Homogenität und Vergleichbarkeit der histopathologischen Befunde wegen einheitlicher Beurteilung durch stets denselben Untersucher (Prof. Baldus) gewährleistet war. Dies galt ebenso für die zytomorphologischen Befunde (einheitliche Beurteilung durch Prof. Germing). Die Übereinstimmung zwischen den histologischen und zytologischen MDS-Diagnosen war sehr hoch ($p=0,0005$). Nur in 13% aller Fälle gab es Diskrepanzen. Aus diesem Grund ist beispielsweise die Erforschung von Prognosefaktoren sowohl auf der Basis zytologischer als auch auf der Basis histopathologisch gestellter MDS-Diagnosen möglich. Da die histopathologische Untersuchung vor allem hinsichtlich der Beurteilung von Zellularität und Fibrose zu einem präzisen Gesamtbefund beiträgt, sollten beide Untersuchungen zumindest bei der initialen Diagnostik kombiniert werden.

Abkürzungsverzeichnis

AML	akute myeloische Leukämie
ARA-C	Cytarabin
CMML	chronische myelomonozytäre Leukämie
HAM	hochdosiertes Cytarabin und Mitoxantron
ICE	Idarubicin, Cytarabin, Etoposid
IPSS	<i>International Prognostic Scoring System</i>
KMT	Knochenmarkstransplantation
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
PBSCT	periphere Blutstammzelltransplantation
pMDS	primäre MDS
RA	refraktäre Anämie
RAEB	refraktäre Anämie mit Blastenüberschuss
RAEBT	refraktäre Anämie mit Blastenüberschuss in Transformation
RARS	refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten
sMDS	sekundäres MDS
WHO	<i>World Health Organisation</i>
WPSS	<i>WHO-adapted Prognostic Scoring System</i>

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Definition der myelodysplastischen Syndrome	1
1.2 Epidemiologie	1
1.3 Ätiologie	2
1.4 Pathogenese	3
1.5 Klassifikation	4
1.6 Klinik	7
1.7 Diagnostik	8
1.8 Therapie	9
1.9 Prognose	10
2. Fragestellung	14
3. Methodik	14
4. Ergebnisse	19
4.1 Klinische und histologische Daten	19
4.1.1 Patientendaten	20
4.1.2 WHO	22
4.1.3 Therapie	22
4.1.4 Basisdaten	24
4.1.5 IPSS und Überleben	24
4.2 Histologische Parameter	26
4.2.1 Zellularität	28
4.2.1.1 Zellularität und CD34-positive Blasten	29
4.2.1.2 Zellularität und Dysmegakaryopoese	30
4.2.2 Erythropoese	31
4.2.2.1 Erythropoese und Dysmegakaryopoese	32
4.2.3 Myelofibrose	33
4.2.3.1 Myelofibrose und Dysmegakaryopoese	33
4.2.3.2 Myelofibrose und CD34-positive Blasten	34
4.2.3.3 Myelofibrose und Überleben	35
4.2.4 Dysmegakaryopoese	36
4.2.5 Speichereisen	39

4.2.6. CD34-positive Blasten	40
4.3 Differentialdiagnose	41
5. Diskussion	44
6. Zusammenfassung	54

1 Einleitung

1.1 Definition der myelodysplastischen Syndrome

Unter dem Begriff Myelodysplastische Syndrome (MDS) fasst man eine Gruppe prämaligener Stammzellerkrankungen zusammen, deren Gemeinsamkeit eine gestörte Reifung und Funktion der hämatopoetischen Zellen im Knochenmark ist [Germing, 2001]. Dabei geht die Blutbildung nicht von gesunden, sondern von genetisch veränderten Knochenmarkszellen aus. Reifungs- und Funktionsstörungen betreffen Erythropoese, Granulopoese und Megakaryopoese. Dabei liegen meist Anzeichen für Dysplasien in einer oder mehreren Zellreihen vor, weswegen klinische Erscheinungsbilder vielfältig sind [Germing, 2001]. Das Knochenmark ist trotz der dysplastischen hämatopoetischen Zellen meist normo- oder hyperzellulär, in seltenen Fällen aber auch hypozellulär. Die dysplastische Transformation von Knochenmarksvorläuferzellen (Progenitorzellen) verursacht periphere Zytopenien und resultiert häufig in Anämien [Cesana, 2008]. MDS werden in primäre (pMDS) und sekundäre (sMDS) unterteilt. In circa 30% der Fälle gehen die MDS nach einer gewissen Zeit in eine akute myeloische Leukämie (AML) über [Mufti, 2008].

1.2 Epidemiologie

Die myelodysplastischen Syndrome sind Erkrankungen, die gehäuft bei Patienten höheren Alters - und nur sehr selten bei jungen Patienten oder Kindern - auftreten. Die Inzidenz liegt bei 4-5/100 000 pro Jahr, bei Patienten, die älter sind als 70, steigt die Inzidenz sogar auf bis zu 30/100 000 pro Jahr [Neukirchen, 2011]. MDS gehören in dieser Altersgruppe zu den häufigsten Knochenmarkerkrankungen. Das mittlere Alter zum Diagnosezeitpunkt liegt bei ca. 70 Jahren, nur 5-10% der Patienten sind zu diesem Zeitpunkt unter 50 Jahre alt [Germing, 2007]. Zudem entwickeln Patienten höheren Alters als Komplikation von Zytopenien und einem insgesamt geschwächten Immunsystem häufiger Blutungs- und Infektionsneigung [Haase, 2007]. Die Überlebenszeit nach Diagnosestellung beträgt ungefähr 2-3 Jahre, wobei diese im Einzelfall zwischen 3 Monaten und 10 Jahren variieren kann

[Neukirchen, 2011]. Typischerweise ist die Inzidenz von MDS bei Männern im Vergleich zu Frauen höher. Allgemein steigende Inzidenzraten der letzten Jahre dürften auf verbesserten diagnostischen Verfahren und der daraus resultierenden häufigeren Diagnosestellung und Diagnosesicherung basieren [Gupta, 2010].

In Tabelle 1 werden mediane Überlebenszeiten sowie die Häufigkeit der Übergänge in eine AML zusammengefasst. Patienten mit einer refraktären Anämie mit Ringsideroblasten weisen mit 68 Monaten die längste Überlebenszeit auf und Patienten, die zu der Kategorie der refraktären Anämie mit Blastenüberschuss II gehören, weisen mit 12 Monaten die kürzeste Überlebenszeit auf (siehe Tabelle 1). Patienten, die über die rein unterstützende Therapie hinaus behandelt wurden, wurden in diese Studie nicht mit einbezogen [Germing, 2007].

Tabelle 1: Überlebenszeiten und AML-Risikoeinschätzung der verschiedenen *WHO*-Subtypen

Prognose der verschiedenen <i>WHO</i> Typen		
<i>WHO</i> Typ	Mediane Überlebenszeit in Monaten	Kumuliertes Risiko der Entwicklung einer AML nach 2 Jahren (%)
RA	67	4
RARS	68	2
RCMD	33	12
RSCMD	31	12
5q-Syndrome	96	9
RAEB I	18	25
RAEB II	12	50

*Germing 2007

1.3 Ätiologie

MDS werden in pMDS und sMDS unterteilt. Die auslösende Ursache der pMDS, welche 90% der Fälle ausmachen, ist nicht bekannt. Es gibt keine Hinweise darauf, dass eine Vorgeschichte mit Chemotherapie oder Bestrahlung begründend für das Entstehen eines pMDS ist. Vielmehr gehören Rauchen, Chemikalien, Pestizide und Lösungsmittel zu möglichen Auslösern dysplastischer Transformationen. Außerdem kann die familiäre Häufung von hämatopoetischen Neoplasien eine Rolle spielen [Gupta, 2010]. Bei den sMDS hingegen sind vermutlich Strahlen- und Chemotherapie oder Exposition gegenüber Noxen und Umweltfaktoren (z.B. Benzol) ursächlich für das Auftreten der Krankheit.

Grundsätzlich ist jedoch zu sagen, dass deren klinische Relevanz bezüglich der Entstehung von MDS noch nicht ausreichend bewiesen werden konnte. Die sMDS machen nur 10% der Fälle aus und werden im Gegensatz zu den pMDS meist bei Patienten unter 50 Jahren beobachtet [Germing, 2007]. Im weiteren Verlauf der Krankheit treten Blutungs- und Infektionsneigung auf Grund eines geschwächten Immunsystems häufiger auf. Im Allgemeinen stellen die sMDS die aggressivere Verlaufsform der Krankheit dar, während die pMDS eher milder voranschreiten [Starke, 2010]. Des Weiteren werden Übergänge in akute myeloische Leukämien (AML) gehäuft beobachtet, zumindest in circa 30% der Fälle [Horny, 2007; Mufti, 2008]. Das klinische Bild, sowie der Verlauf der Krankheit sind von Alter, Komorbidität, betroffenen Zellreihen und Genen abhängig [Horny, 2007]. In Abhängigkeit von diesen und weiteren Faktoren fällt die Überlebenszeit nach Diagnosestellung sehr variabel - zwischen wenigen Monaten bis zu mehr als zehn Jahren - aus [Mufti, 2008].

1.4 Pathogenese

Die Entstehung und Entwicklung der MDS bleibt bis dato noch nicht gänzlich aufgeklärt. Unreife myeloische Stammzellen stellen die Zielzellen für die neoplastischen Transformationen dar. Die Entwicklung eines MDS auf der Basis der malignen Entartung einer Vorläuferzelle im Knochenmark, welche eine klonale Proliferation funktionsuntüchtiger Tochterzellen zur Folge hat, wird diskutiert. Dabei unterliegt die Zellproliferation keinen Wachstumskontrollen mehr. Bei der Entstehung von MDS stehen demzufolge multiple genetische Geschehnisse innerhalb der DNA, wie die Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen, die Aktivierung von Onkogenen, sowie fehlerhafte Reparaturmechanismen im Fokus [Van den Berghe, 1985]. Es kommt zur genetischen Labilität der Zielzelle und es folgt eine ungesteuerte Vermehrung von sog. Blasten. Die normale Differenzierung der Hämatopoese wird eingebüßt und es kommt zu Zytopenien bzw. Panzytopenien im peripheren Blut. Alle betroffenen Tochterzellen weisen unter Umständen eine eingeschränkte Lebensdauer und strukturelle Besonderheiten auf. Dahingehend kommt es zum Beispiel zur Entwicklung atypischer Megakaryozyten sowie Ringsideroblasten [Mufti, 2008].

Bei den pMDS werden zytogenetische Abnormalitäten in ca. 50% der Fälle als Auslöser identifiziert. Für die andere Hälfte der pMDS ist keine genaue Ursache zu eruieren [Gupta, 2010; Schäfer, 1998].

Für das Auftreten der sMDS macht man neben genetischen Störungen weitere Faktoren wie chemotherapeutisch-zytotoxische Therapien, Strahlentherapien, kombinierte Radio-Chemotherapien und sonstige mutagene Substanzen verantwortlich [Gupta, 2010].

In Folge dessen treten beim sMDS mehrfach numerische oder strukturelle chromosomale Abnormalitäten auf [Haase, 2007]. So lassen sich in circa 90% der sMDS Fälle klonale karyotypische Anomalitäten nachweisen, wohingegen die pMDS nur in 48% der Fälle mit derartigen Abnormalitäten vergesellschaftet sind [Mufti, 1992]. Verminderung und Zunahme von genetischem Material stellen die gängigsten chromosomalen Veränderungen der pMDS und sMDS dar. Die häufigsten Veränderungen sind Verluste ganzer Chromosomen, so zum Beispiel des Chromosoms 5 und 7 oder die Deletion eines langen Arms des Chromosoms 5 [Mufti, 1992]. Dies bezieht sich auf das sogenannte „5q- Syndrom“, welches durch Van Berghe et. al. erstmals beschrieben wurde [Van den Berghe, 1985].

Abgesehen von den genetischen Abnormalitäten bei sMDS ist festzustellen, dass Chemotherapeutika eine direkt supprimierende Wirkung auf das Knochenmark haben, was sich in Hypoplasie und Schwund der multipotenten Stammzellen äußert. Das sehr sensible System des Knochenmarks wird durch solch eine Therapie geschwächt und eine vollständige Regeneration ist nicht mehr zu erwarten [Schäfer, 1998].

1.5 Klassifikation

Eine Reihe von Klassifikationen für MDS wurde entwickelt, um Voraussagen über den Übergang in AML und die Überlebensrate zu erleichtern [Haase, 2007]. 1982 wurde erstmalig von einer Wissenschaftlerkommission, der *French-American-British Group (FAB-Group)* eine Klassifikation aufgestellt, die die MDS in fünf Kategorien unterteilte [Bennett, 1982]. Die Klassifikation diente als Grundlage für die morphologische Beurteilung von Blut- und Knochenmarkausstrichen. Ausschlaggebende Kriterien waren der Blastenanteil im Knochenmark und im

peripheren Blut, die Anzahl von Monozyten im peripheren Blut und der Nachweis von Ringsideroblasten. Somit ergaben sich folgende fünf Gruppen: Refraktäre Anämie (RA), Refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten (RARS), Refraktäre Anämie mit Blastenüberschuss (RAEB), RAEB in Transformation (RAEB/T) und die Chronische myelomonozytäre Leukämie (CMML) (siehe Tabelle 2). Weitere Subtypen wurden wie folgt benannt: hypoplastisches MDS und MDS mit Myelofibrose. Ziel war es, durch die *FAB*-Klassifikation genauere Einschätzungen hinsichtlich der Prognose von MDS-Patienten erstellen zu können [Haase, 2007]. Des Weiteren bot die *FAB*-Klassifikation die Möglichkeit, die MDS von myeloproliferativen Erkrankungen zu trennen.

Tabelle 2: *FAB*-Klassifikation nach Bennett et. al. 1982

Subtyp	Blastenanteil Blut	Blastenanteil Knochenmark	Weitere Veränderungen
Refraktäre Anämie (RA)	≤1%	<5%	
Refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten (RARS)	≤1%	<5%	>15% Ringsideroblasten im Knochenmark
Refraktäre Anämie mit Blastenüberschuss (RAEB)	<5%	5-19%	
RAEB in Transformation (RAEB/T)	≥5%	20-29%	Fakultativ Auerstäbchen
Chronische myelomonozytäre Anämie (CMML) -Dysplastischer Typ: <13000 Leukos/μl -Proliferativer Typ: < 13000 Leukos/μl	<5%	<20%	Periphere Monozytose (>10 ³ /μl)
Weitere Subtypen: -Hypoplastisches MDS -MDS mit Myelofibrose			

Obwohl die *FAB*-Klassifikation lange Zeit als diagnostische und prognostische Basis für die MDS diente, wurden die Unzulänglichkeiten dieses Modells über die Zeit deutlich. Es war nicht möglich, die MDS in ihrer Heterogenität zu erfassen, da

ausschließlich morphologische Parameter in Betracht gezogen wurden [Cesana, 2008; Baghikar, 2008]. Anhand der *FAB*-Einteilung konnten jedoch nicht alle Patienten korrekt klassifiziert werden [Germing, 2001]. Die Verfügbarkeit von immunhistochemischen, zytogenetischen und molekulargenetischen Analysen verbesserte die diagnostischen Optionen, unter deren Zuhilfenahme eine neue Klassifikation erarbeitet werden konnte [Bennett, 2005]. Die *FAB*-Klassifikation wurde durch ein internationales Gremium von Hämatologen und Hämatopathologen im Auftrage der *WHO* überarbeitet. Viele der wesentlichen Charakteristika der *FAB*-Klassifikation konnten beibehalten werden [Bennett, 2005].

In der *WHO*-Klassifikation (siehe Tabelle 3) wurden neue Subtypen hinzugefügt (z.B. 5q Syndrom), die Gruppe der refraktären Anämie mit Blastenüberschuss weiter unterteilt (RAEB I, RAEB II) und die Unterschiede zwischen uni- und multilinären Dysplasieformen verdeutlicht. Ein Blastenanteil von mehr als 20% wurde als neuer Grenzwert für den Übergang in eine AML festgelegt, wodurch die Gruppe der refraktären Anämie mit Blastenüberschuss (RAEB-T) entfiel. Stattdessen wurden Patienten mit einem medullären Blastenanteil von weniger als 10% der Gruppe der RAEB I und bei mehr als 10% medullärem Blastenanteil der Gruppe der RAEB II zugeordnet. Die Entitäten der refraktären Anämie (RA) und der refraktären Anämie mit Ringsideroblasten (RARS) wurden so gegliedert, dass fortan in Abhängigkeit von den beteiligten Zellreihen, zwischen multilinärer Dysplasie und alleiniger Dyserythropoese in beiden Gruppen unterschieden werden sollte. Die chronisch-myelomonozytäre Leukämie (CMML) sollte zukünftig zu der Gruppe der myeloproliferativen Erkrankungen gezählt werden [Bennett, 2000].

So lieferte diese *WHO*-Klassifikation eine ausreichende Grundlage für die morphologische Kategorisierung der meisten Patienten mit MDS. Studien zeigten, dass sich durch den medullären Blastenanteil und zytogenetische Abnormitäten wichtige Rückschlüsse auf die Überlebenszeit und das Risiko eines Übergangs in eine AML von Patienten mit MDS ergaben [Germing, 2001]. Folglich ist es durch die *WHO*-Klassifikation möglich, im Vergleich zur *FAB*-Klassifikation, homogenere Gruppen des doch vielgestaltigen Krankheitsbildes der MDS mit Bezug auf die Prognose zu unterteilen [Gupta, 2010].

Tabelle 3: WHO-Klassifikation 1999

Subtyp	Blastenanzahl
Refraktäre Anämie RA	<5% Blasten im Knochenmark
Refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten RARS	<5% Blasten im Knochenmark und ≥15% Ringsideroblasten
Refraktäre Anämie mit multiplen Dysplasien ohne oder mit Ringsideroblastenvermehrung RCMD	<5% Blasten im Knochenmark
RARS mit multilineären Dysplasien (RSCMD)	<5% Blasten im Knochenmark und >15% Ringsideroblasten
Refraktäre Anämie mit Blastenüberschuss RAEB I	5-9% Blasten im Knochenmark
Refraktäre Anämie mit Blastenüberschuss RAEB II	10-19% Blasten im Knochenmark
5q- Syndrom	<5% Blasten und Mikromegakaryozyten, isolierte 5q-Deletion

Außerdem wurden verschiedene *Scoring*-Systeme entwickelt, um noch bessere Einschätzungen hinsichtlich der Prognose und der Einteilung der Patienten in verschiedene Risikogruppen treffen zu können. Hierzu gehören das *International Prognostic Scoring System (IPSS)*, das nach der WHO-Klassifikation adaptierte *WPSS* und der *Düsseldorf-Score* [Greenberg, 1997; Germing, 2007].

1.6 Klinik

Das klinische Bild, sowie der Verlauf der Krankheit sind von Alter, Komorbidität, betroffenen Zellreihen und Genen abhängig [Horny, 2007]. Die meisten MDS verlaufen zunächst unauffällig, korrespondierend treten keine pathognomonisch typischen Befunde auf.

Hierbei können eine oder mehrere Arten von Zytopenien, ggfs sogar Panzytopenien oder einzelne Anämien entdeckt werden. Der Großteil der Patienten zeigt Symptome, die mit Anämien und Zytopenien im Allgemeinen korrelieren. Hierzu gehören allgemeine Schwäche und Abgeschlagenheit, Müdigkeit, Blässe, Nachtschweiß, wiederkehrende Infektionen, Hämatome und Dyspnoe [Gupta, 2010]. Vor der Diagnose müssen Anämien, die in ihrem

Erscheinungsbild makrozytär sind und einen niedrigen Retikulozytenindex aufweisen, ausgeschlossen werden. Daher ist abzuklären, ob gegebenenfalls ein Vitamin B12- oder ein Folsäuremangel ursächlich sind.

Weniger häufig treten Neutropenie und Thrombozytopenie auf [Gupta, 2010]. Konsequenzen können rezidivierende Infektionen bei Funktionsstörungen der neutrophilen Granulozyten oder Hämatome und Blutungen bei Funktionsstörung der Thrombozyten sein. Zu den rezidivierenden Erkrankungen gehören zum Beispiel submuköse Abszesse, die nicht ausheilen und sich als therapieresistent erweisen.

Des Weiteren kann die Diagnose eines MDS nur gestellt werden, wenn andere Gründe, die für dysplastische Veränderungen in Blut und/oder Knochenmark ursächlich sein können, ausgeschlossen werden. Diesbezüglich müssen Tumore, chronisch-inflammatorische Erkrankungen, HIV, Hepatitis und Drogenabusus in Betracht gezogen werden [Germing, 2007].

Selten treten auch Organveränderungen wie Hepato- und Splenomegalie oder Lymphadenopathie auf und etwa 20-40% der Patienten mit MDS sterben an Infektionen oder Blutungen oder der Kombination beider [Gupta, 2010].

1.7 Diagnostik

MDS können vielfältige Erscheinungsbilder und Symptome aufweisen. Heutzutage sollte die *WHO*-Klassifikation als Grundlage der Diagnosestellung dienen [Germing, 2007].

Um eine Diagnose stellen zu können, werden Blut- und Knochenmarkausstriche sowie Knochenmarksbiopsien benötigt, welche dann zyto- bzw. histomorphologisch beurteilt werden. Außerdem können zytogenetische Analysen, spezielle immunhistochemische Untersuchungen und eine Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) zur weiteren Diagnosesicherung beitragen. In der Knochenmarkhistologie werden Zellularität, Knochenmarksfibrose, atypische Lokalisationen von Vorläuferzellen sowie eine Reihe von Dysplasiekennzeichen der einzelnen Zellreihen begutachtet [Germing, 2007]. Zytogenetische Analysen werden zur Detektion genetischer Abnormalitäten genutzt, die auch ursächlich für die Krankheit sein können. Die phänotypische Charakterisierung von bestimmten

Zellpopulationen erfolgt mit Hilfe von Antikörpern im Zuge der immunhistochemischen Untersuchung [Horny, 2007].

Laut der „*German-Austrian Working Group*“ [Valent, 2009] basiert die Diagnose eines MDS auf einer Drei-Schritt-Regel, wobei zuerst nur minimale diagnostische Kriterien betrachtet werden. Anschließend sei zu unterscheiden, ob es sich um de novo MDS oder eine Form des sMDS handele. Als letzter Schritt sollten die *WHO* Kriterien angewandt werden, um den genauen Subtyp zu klassifizieren [Valent, 2009]. Diese Arbeitsgruppe verständigte sich außerdem darauf, die *WHO*-Klassifikation als globalen Standard vorzuschlagen.

Um diesem Vorschlag nachzukommen, müssen der medulläre Blastenanteil sowie die Anzahl und der Schweregrad von dysplastischen Zellveränderungen im Blut und im Knochenmark in jedem Falle genau bestimmt werden [Germing, 2007].

1.8 Therapie

Voraussetzung für die Auswahl einer Therapiestrategie ist demzufolge eine Diagnostik, bei der die genannten Klassifikationen und *Scoring*-Systeme genutzt werden, um eine möglichst präzise Einteilung der Patienten in eine definierte Untergruppe vornehmen zu können [Valent, 2010].

Nichtsdestotrotz gibt es für die Therapie von MDS bis jetzt noch keine allgemein gültigen Behandlungskonzepte. Die bestehenden Therapiemöglichkeiten sind vielfältig und sollten in ihrer Behandlungsintensität auf das jeweilige Krankheitsstadium angepasst sein. Hierbei sollte zwischen Patienten der Hoch- und Niedrigrisiko-Gruppen unterschieden werden. Zum grundlegenden Behandlungskonzept für Patienten aller Gruppen gehören unterstützende therapeutische Maßnahmen wie die Anwendung von Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentraten und die Gabe von Antibiotika bei Gefahr von infektiösen Komplikationen [Schmitt, 1999]. Therapiemöglichkeiten für Hochrisikopatienten stellen Chemotherapie, Stammzelltransplantation und die Behandlung mit Wachstumsfaktoren dar [Germing, 2001]. Dennoch zeigen Remissions- und Überlebensraten noch keine zufriedenstellenden Ergebnisse, insbesondere im Hinblick auf Patienten, die älter als 60 Jahre sind [Gupta, 2010].

Remissionsraten von bis zu 70 % sind bei intensiver Chemotherapie mit Cytosinarabinosid und Anthracyclin oder Topoisomerasehemmer und günstigem Karyotyp zu erwarten. Dabei beschränkt sich die Langzeitremissionsrate auf ein Drittel dieser Patienten [Haase, 2007]. Für junge Patienten oder Patienten, die wie o.g. eine komplette Remission erreichen, bietet sich anschließend die Möglichkeit einer allogenen Stammzelltransplantation [Haase, 2007].

Hofmann et.al. bietet eine Zusammenfassung von Therapiemöglichkeiten an, die auf die bestimmten Untergruppen der MDS zugeschnitten ist, und in Abbildung 1 dargestellt ist.

Abbildung 1: Therapieoptionen beim Myelodysplastischen Syndrom

		MDS	
		IPSS LOW/ INT-1	IPSS Int-2/High
	Eisenchelation		Azacitidin
Erythropoetin (EPO<500 U/l)	Valproinsäure (RA/RARS)	Lenalidomi d (del 5q)	Intensive Chemotherapie/ Allogene SZT
ATG/CSA	Lenalidomid+ Valproinsäure		Low Dose ARA-C
	Temsirolimus	LBH589	Lenalidomid-Erhaltung nach allogener SZT
			Temsirolimus
			Eltrombopag
			Azacitidin+ Lenalidomid

*nachempfunden aus Onkopedia, Leitlinie MDS (siehe Abbildungsverzeichnis)

1.9 Prognose

Über die Jahre zeigte sich, dass die Überlebenswahrscheinlichkeiten von Patienten, die durch die Klassifikationen der *FAB* und *WHO* in definierten morphologischen Subgruppen zusammengefasst worden waren, erhebliche Unterschiede aufwiesen [Germing, 2001]. Im Einzelfall kann der natürliche Krankheitsverlauf eines MDS sehr unterschiedlich sein. Daher wurden große Anstrengungen unternommen, unabhängige *Scoring*-Systeme zu entwickeln, die der Heterogenität der Krankheits-gruppe nachkommen können.

Der Düsseldorf-Score, welcher in Tabelle 4 dargestellt wird, stellt eins dieser *Scoring*-Systeme dar. Demnach werden sowohl medullärer Blastenanteil, Hämoglobin- und Thrombozytenwerte als auch die Laktatdehydrogenase-Aktivität

berücksichtigt. Aus der Bewertung dieser Parameter ergibt sich ein numerischer Wert, anhand dessen die Patienten in verschiedene Risikogruppen eingestuft werden können [Aul, 1992]. Vorzüge des Düsseldorf-Scores zeigen sich besonders in der Einschätzung von Hochrisiko-Patienten. Die Erfassung dieser Gruppe ist für die Erforschung neuer Therapieansätze überaus wichtig.

Tabelle 4: Düsseldorf-Score

Düsseldorf Score		
	Grenzwert	Punkte
Hämoglobin	≤9 g/dl	1
Thrombozyten	≤100 000/μl	1
LDH	>200 U/l	1
Blastenanteil Knochenmark	≥5%	1
Risikogruppe A (günstige Risikogruppe)		0
Risikogruppe B (intermediäre Prognose)		1-2
Risikogruppe C (schlechte Prognose)		3-4

Ein weiteres *Scoring*-System, welches klinische Anwendung findet und von Germing et.al. als Goldstandard bezeichnet wurde, ist das *International Prognostic Scoring System (IPSS)*, welches in Tabelle 5 abgebildet ist [Greenberg, 1997; Germing, 2007]. Auch hier werden der medulläre Blastenanteil, der Karyotyp und die Anzahl an Zytopenien durch eine numerische Punktzahl bewertet. So wird jeder Patient in eine Risikogruppe bezüglich der Zytogenetik und des Übergangrisikos in eine AML eingeteilt [Haase, 2007]. Es kommen 4 Risikogruppen zustande: *low*, *intermediate 1* und *2* und *high*. Jedoch wurde dieses *Scoring*-System in seiner Aussagekraft durch den Wegfall des Subtyps RAEB-T mit mehr als 20% Blasten durch die neue WHO Klassifikation geschwächt [Germing, 2007]. Die Fälle mit mehr als 20% Blasten bei einer bestehenden RAEB fielen fortan in die Kategorie der AML.

Tabelle 5: Internationaler Prognose Score zur Risikostratifikation von MDS-Patienten

Punktzahl					
	0	0,5	1	1,5	2,0
Medullärer Blastenanteil(%)	0-4	5-10	-	11-20	21-29
Anzahl der peripheren Zytopenien¹	0-1	2-3	-		
Zytogenetische Risikogruppe²	niedrig	mittel	hoch		
Risikogruppe					
	Score				
Niedriges Risiko	0				
Intermediäres Risiko 1	0,5-1				
Intermediäres Risiko 2	1,5-2				
Hohes Risiko	≥2,5				

¹Thrombozyten <100 000/μl, Hämoglobin <10 g/dl, Granulozyten <1.500/μl

²niedriges Risiko= normaler Karyotyp, 5q-, 20q-, -Y, hohes Risiko = komplexe Karyotypveränderungen (≥3 Anomalien), Chromosom 7-Defekte, mittleres Risiko = alle anderen Anomalien

*Schmitt G., 1999

In Anlehnung daran wurde durch eine Forschergruppe von Wissenschaftlern aus Pavia und Düsseldorf ein neues, überarbeitetes *Scoring*-System, das *WPSS*, welches die Neuerungen der *WHO*-Klassifikation mit einbezieht, erarbeitet (siehe Tabelle 6) [Malcovati, 2007; Germing, 2007]. Auch hier ergaben sich verschiedene Risikogruppen, jedoch ist der prognostische Stellenwert nach der Adaption an die Neuheiten der *WHO*-Klassifikation als höher anzusehen. Dieses *Scoring*-System kann während des gesamten Krankheitsverlaufs angewandt werden, ohne dabei seine prognostische Wertigkeit zu verlieren [Germing, 2007].

In Anbetracht auf alle *Scoring*-Systeme ist zu betonen, dass diese nur von prognostischer Wertigkeit sind, solange der Patient noch keine Therapie, die über unterstützende therapeutische Maßnahmen hinausgeht, erfahren hat. Keines der *Scoring*-Systeme kann das Ergebnis von verschiedenen Therapien zusätzlich mit einkalkulieren [Germing, 2007].

Mediane Überlebenszeiten, sowie die Prozentzahl an Übergängen in eine AML werden auch in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 6: WHO adapted Prognostic Scoring System

WHO adapted Prognostic Scoring System				
Parameter	Punktwert			
	0	1	2	3
WHO Typ	RA/RARS/5q	RCMD/RSCMD	RAEB 1	RAEB 2
Karyotyp*	Gut	Intermediär	Schlecht	
Transfusions- Abhängigkeit	Nein	Ja		
Risiko-score				Punkte
Sehr niedriges Risiko				0
Niedriges Risiko				1
Intermediäres Risiko				2
Hohes Risiko				3-4
Sehr hohes Risiko				5-6

*Gut: normal,-Y, del (5q); Schlecht: Komplex (≥ 3 Anomalien) oder Aberrationen des Chromosoms 7; Intermediär: andere

2 Fragestellung

Im Mittelpunkt der vorliegenden Arbeit steht die histologische und immunhistologische Diagnostik von MDS und deren Vergleich mit der korrelierenden zytologischen Diagnostik. Dazu wurden Knochenmarksbiopsien von 152 Patienten histologisch untersucht und mit patienteneigenen Faktoren, klinischen Daten sowie mit den zytologisch relevanten Daten aus dem MDS Register Düsseldorf verglichen. Ziel dieser Arbeit ist es, auf Grundlage histologischer, immunhistologischer und zytologischer Daten, die wesentlichen Parameter hinsichtlich der Diagnostik und Prognose im Vergleich zwischen der Histologie und Zytologie der MDS darzustellen. Im Einzelnen sollte außerdem ermittelt werden, inwiefern die histologische sich von der zytologischen Diagnostik unterscheidet und welche Übereinstimmungen es gibt.

3 Methodik

Ursprungsort des Analysematerials dieser Arbeit ist die Datensammlung des Deutschen MDS-Registers Düsseldorf. Zur Auswertung kamen Fälle, die in dem Zeitraum von 1992 bis 2010 auf Grundlage der geltenden Klassifikationen im Hämatologischen Labor der Uniklinik Düsseldorf diagnostiziert worden sind. Fälle, für die sowohl Knochenmarksbiopsien, als auch klinische und patienteneigene Daten zugänglich waren, wurden dem Register hinzugefügt. Demzufolge ergab sich eine Gruppe von 152 Fällen, welche alle Kriterien erfüllten und für die retrospektive Analyse in dieser Arbeit genutzt werden konnten. Die reduzierte Fallanzahl ergab sich durch teilweise unvollständiges Datenmaterial, welches die Einbeziehung dieser Fälle unmöglich machte.

Zur Erfassung der patienteneigenen Daten wurden Geschlecht, Geburtsdatum, Zeitpunkt und Befund der klinischen und histologischen Erstdiagnose, Art einer eventuell vorausgegangenen Therapie und die Klassifikation der einzelnen Fälle nach *FAB* bzw. *WHO* registriert. Der Patientenstatus (lebend, verstorben) wurde ebenfalls ermittelt. Die Nachbeobachtung der Patienten wurde bis zum 01.07.2012 fortgesetzt, bzw. bis zum Tod der Patienten. In nahezu allen Fällen war dies möglich, ausschließlich ein kleiner Teil konnte nicht nachverfolgt werden und

wurde somit zum Abschlussdatum der Beobachtung der Kategorie „*lost-to-follow-up*“ zugeteilt.

Knochenmarksbiopsien werden dem hinteren Beckenkamm (Crista iliaca) entnommen und beim Eingang in das Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Düsseldorf mit einer Eingangsnummer versehen, welche eine fortwährende und eindeutige Zuordnung zum jeweiligen Patienten erlaubt. Die Stanzylinder werden nach Entnahme umgehend mit einer strukturschonenden, gepufferten Formalinlösung (4% AppliChem Darmstadt) behandelt. Danach werden die Knochenmarkstanzen als 2-4µm dicke Paraffinschnitte auf silanierte Objektträger aufgezogen. Anschließend werden diese im Brutschrank bei 100°C für 15-30 Minuten getrocknet und über Nacht bei 58°C weiter behandelt. Dann werden die Schnitte mit Xylol entparaffiniert, wonach sie einer absteigenden Alkoholreihe (absoluter Alkohol 100%, 96%, 70%) zugeführt werden. Im Anschluss werden die Schnitte mit Leitungswasser gespült. Die Vorbehandlung der Schnitte findet im Schnellkochtopf statt, wobei ein Citratpuffer mit pH 6 benutzt wird (21g Citronensäure, 25ml NaOH ad 10 l Aqua dest., Merck Darmstadt). Im Anschluss wird mit Hilfe des Nachweissystems *Labelled (Strept-) Avidin-Biotin-Methode (LSAB-Methode)* die eigentliche Färbung der relevanten Antigenstrukturen der Präparate vorgenommen. Zur Blockade der endogenen Peroxidase wird als erstes 3% H₂O₂ verwendet (Merck, Darmstadt), um spätere falsch-positive Reaktionen auszuschließen. Danach wird Avidin hinzugefügt, wodurch das endogene Biotin blockiert wird. Der primäre Antikörper CD34 (Endothelzellmarker, lyophilisierter monoklonaler Maus-Antikörper, NCL-END, Novocastra, Newcastle Upon Tyne, England) wird im Verhältnis von 1:50 hinzugefügt. Der sekundäre Antikörper, auch Brückenantikörper genannt, ist biotinyliert und richtet sich gegen die primären Antikörper. Das Tertiärreagenz (*labelled streptavidin*) richtet sich gegen Biotin und stellt gleichzeitig das Substrat für das Chromogen Diaminobenzidin (DAB, Merck Darmstadt) dar, welches für den Farbumschlag verantwortlich ist. Zwischen den letzten drei Schritten und danach wird jeweils mit Aqua dest. gespült (0,03% Triton X-100, Merck Darmstadt). Abschließend werden die Schnitte mit Leitungswasser abgespült, mit Hämalaun behandelt, wieder mit Leitungswasser abgespült, einer aufsteigenden Alkoholreihe zugeführt und erneut mit Xylol bearbeitet und eingedeckt. Mit Hilfe

dieser immunhistochemischen Färbetechnik kann die Zellreihe der Myeloblasten speziell dargestellt werden.

Das CD34-Antigen ist ein membranständiges Protein und wird auf unreifen hämatopoetischen Zellen gebildet. Außerdem ist das CD34-Antigen auf Kapillarendothelien, selten auch auf Megakaryozyten nachweisbar [11, Valent et. al.] Mit zunehmender Reifung der Zellen sinkt die Anzahl der CD34-Antigene, die auf der Membran der Zellen präsentiert werden. Eine erhöhte Expression des CD34-Antigens wird bei akuten myeloischen, akuten lymphoblastischen und undifferenzierten Leukämien sowie bei einigen seltenen Weichgewebstumoren beobachtet.

Darüber hinaus wurden für die morphometrische Auswertung der Schnitte konventionelle Routinefärbungen wie Hämatoxylin-Eosin (HE), *Periodic Acid Schiff Reagent (PAS)*, Giemsa, Silberimprägnierung nach Gomori und die Berliner-Blau-Reaktion angefertigt. Die HE-Färbung stellt die gebräuchlichste Färbetechnik dar und dient einer guten Übersicht im Präparat. *PAS*- und Giemsa-Färbung dienen in erster Linie zur Erfassung der Struktur des Zellkerns und des Zytoplasmas. Mithilfe der *PAS*-Färbung werden außerdem Megakaryozyten, deren Strukturanomalien und Verteilung im Knochenmark gut erfasst. Die Giemsa-Färbung ist hinsichtlich der Darstellung der Hämatopoese und deren Differenzierung dienlich. Die Berliner-Blau-Reaktion liefert Angaben zur Beurteilung von Quantität und Verteilung von Eisenanteilen im Knochenmark, während durch die Silberimprägnierung nach Gomori argyrophile Fasern dargestellt werden können. Zusätzlich wurde die Naphthol-AS-D-Chloracetatesterase-Reaktion (NASDCL) angewandt, um die neutrophile Granulopoese sichtbar zu machen.

Die Erfassung und Dokumentation der Daten, die bei der histologischen Analyse erhoben wurden, erfolgte standardisiert und beinhaltete folgende morphologische Parameter: Gesamtzellichte des Knochenmarks im Vergleich zur altersentsprechenden Normalpopulation, Reifungs- bzw. Dysplasiezeichen der Megakaryopoese, Zellularität und Anteil der Erythropoese im Vergleich zur Granulopoese, Umfang der Fibrosierung, Eisengehalt, sowie Anteil der CD34-positiven Zellen an der Gesamtzellichte des Knochenmarks. Außerdem wurden Länge, Qualität und Anzahl der Markräume der einzelnen Stanzbiopsien erfasst.

Innerhalb der einzelnen histologischen Parameter wurden vorher Abstufungen festgelegt, die das sichere Einstufen der jeweils vorliegenden Angaben ermöglichen und in Tabelle 7 zusammengefasst sind. Der Anteil der CD34-positiven Zellen wurde approximativ im Verhältnis zur Gesamtzellendichte geschätzt.

Tabelle 7: Histologische Parameter und deren Einteilungen

Histologische Parameter	
Knochenmarkzellularität	<40% (hypozellulär)
	40-60% (normozellulär)
	>60% (hyperzellulär)
Fettzellgehalt	0-10%
	>10-30%
	>30-50%
	>50-70%
	>70%
Anteil Erythropoese	0-20%
	>20-40%
	>40-60%
	>60-80%
	>80%
Dysplasie Megakaryopoese	0=keine Dysplasieanzeichen
	1=geringe-mäßige Dysplasieanzeichen
	2=deutliche Dysplasieanzeichen
	3=sehr ausgeprägte Dysplasieanzeichen
Markfibrose	0=keine Fibrosierung
	1=wenig Fibrosierung
	2=ausgeprägte Fibrosierung
	3=sehr starke Fibrosierung
Eisengehalt Retikulumzellen	0= kein Eisen vorhanden/ Eisendepletion
	1= geringer-normaler Eisengehalt
	2=erhöhter Eisengehalt
	3=deutliche Eisenüberladung
Anteil CD 34-positiver Zellen am Gesamtzellgehalt	<1%
	1-2%
	2-5%
	5-10%
	10-15%
	15-20%
	20-30%
	>30%
Länge Knochenstanze	<0,5 cm
	0,5-1,0 cm
	>1,0 cm
Befundbarkeit Knochenstanze	1-2 (gut)
	3-4 (mittel)
	4-6 (nicht beurteilbar)
Markräume pro Knochenstanze	0-5
	5-10
	>10

Die korrelierenden zytologischen Daten zu den oben stehenden Parametern wurden aus dem MDS-Register Düsseldorf zusammengestellt. Die Überlebensdauer der Patienten konnte so nachträglich aktualisiert werden. Mit Hilfe der zytologischen Diagnose konnte sowohl ein direkter Vergleich zwischen zytologischer und histologischer Diagnostik, als auch zu der Diagnose, die im Zuge der eigenen Auswertung gestellt wurde, gezogen werden.

Die Zusammenstellung bzw. die Gegenüberstellung der histologischen und zytologischen Parameter lieferten die Grundlage für die Auswertung und die anschließende Beurteilung der Ergebnisse. Die Homogenität und Vergleichbarkeit der histologischen Befunde wurden wegen der Notwendigkeit der einheitlichen Beurteilung stets durch denselben Untersucher, Herr Professor Dr. S. E. Baldus, gewährleistet. Die gleichbleibende Qualität der zytomorphologischen Befunde wurde ebenfalls durch eine einheitliche Beurteilung durch Herrn Professor U. Germing gewährleistet.

Alle bedeutenden Parameter wurden in Excel notiert und später in SPSS transferiert, mit dessen Hilfe die Berechnungen und die Auswertungen durchgeführt werden konnten.

Die histologischen Schnitte waren mit Nummern versehen, die nach dem Eingang in das Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Düsseldorf für jeden Fall vergeben werden. Diese Verschlüsselung der Fälle durch Nummern ermöglichte eine Auswertung und Analyse der histologischen Schnitte ohne Kenntnis der Namen sowie der persönlichen Daten der Patienten (Pseudonymisierung). Ein Ethikvotum für das MDS-Register Düsseldorf seitens der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität liegt vor.

4 Ergebnisse

4.1 Klinische und histologische Daten

4.1.1 Patientendaten

Bei allen 152 ausgewerteten Fällen lag zum Zeitpunkt der Auswertung sowohl eine histologische als auch eine zytologische Diagnose vor. Zusätzlich zu den histologischen Standardfärbungen, die für die Auswertung erforderlich waren, wurde eine immunhistochemische Färbung mit einem CD34-spezifischen Antikörper vorgenommen. Alle relevanten Parameter wurden in Excel notiert und zur späteren Auswertung mit SPSS bearbeitet. Dies geschah ebenfalls mit den zytologischen Daten, die einheitlich dem MDS Register Düsseldorf entstammten.

Wie aus Tabelle 8 zu entnehmen ist, waren von den 152 Patienten zum Diagnosezeitpunkt 133 verstorben (88,1%), 15 lebten noch (9,9%) und bei 3 weiteren war der Verbleib unbekannt (2,0%). Das mediane Alter der Patienten lag bei 67 Jahren. Die mediane Überlebensdauer lag bei 21,03 Monaten nach Diagnosestellung, im 95%igen Konfidenzintervall zwischen 17,4 und 24,7 Monaten (siehe Tabelle 9). 98 Patienten (64,5%) waren männlich, 54 Patienten (35,5%) weiblich.

Tabelle 8: Allgemeine und klinische Daten der Patienten

Klinische Daten				
		Anzahl	Prozentsatz [%]	Median
Patientenzahl		152		
Geschlecht	männlich	98	64,5	
	weiblich	54	35,5	
Alter				67,004
Überlebenszeit				21,027
Schicksal	tot	133	88,1	
	lebt	15	9,9	
	lost	3	2,0	

4.1.2 WHO

Gemäß der *WHO*-Klassifikation von 1999 handelte es sich nach der histologischen Auswertung der Schnitte bei 16 Patienten (10,5%) um eine RA, bei 17 Patienten (11,2%) um eine RSCMD, bei 3 Patienten (2%) um eine RARS, bei 13 Patienten (8,6%) um eine RCMD, bei 17 Patienten (11,2%) um eine RAEB I und bei 28 Patienten (18,4%) um eine RAEB II. Zu der Kategorie CMML I gehörten 24 Patienten (15,8%) und zu CMML II 9 Patienten (5,9%). Weitere 25 Patienten (16,4%) gehörten der Kategorie RAEB-T an (siehe Tabelle 10). Für die RARS und die CMML II konnten aufgrund der Prävalenz keine höhere Anzahl an Fällen erreicht werden (siehe Tabelle 10).

Die *WHO*-Kategorien der RA und RCMD zeigen die längsten medianen Überlebenszeiten (56 und 48 Monate). Die niedrigste mediane Überlebenszeit wies die Gruppe RAEB-T auf (13,9 Monate). Der Vergleich der Überlebenszeiten der einzelnen *WHO*-Gruppen zeigte jedoch keine signifikanten Unterschiede auf. Die mediane Überlebenszeit für die Gesamtgruppe liegt bei 21,03 Monaten (siehe Tabelle 9).

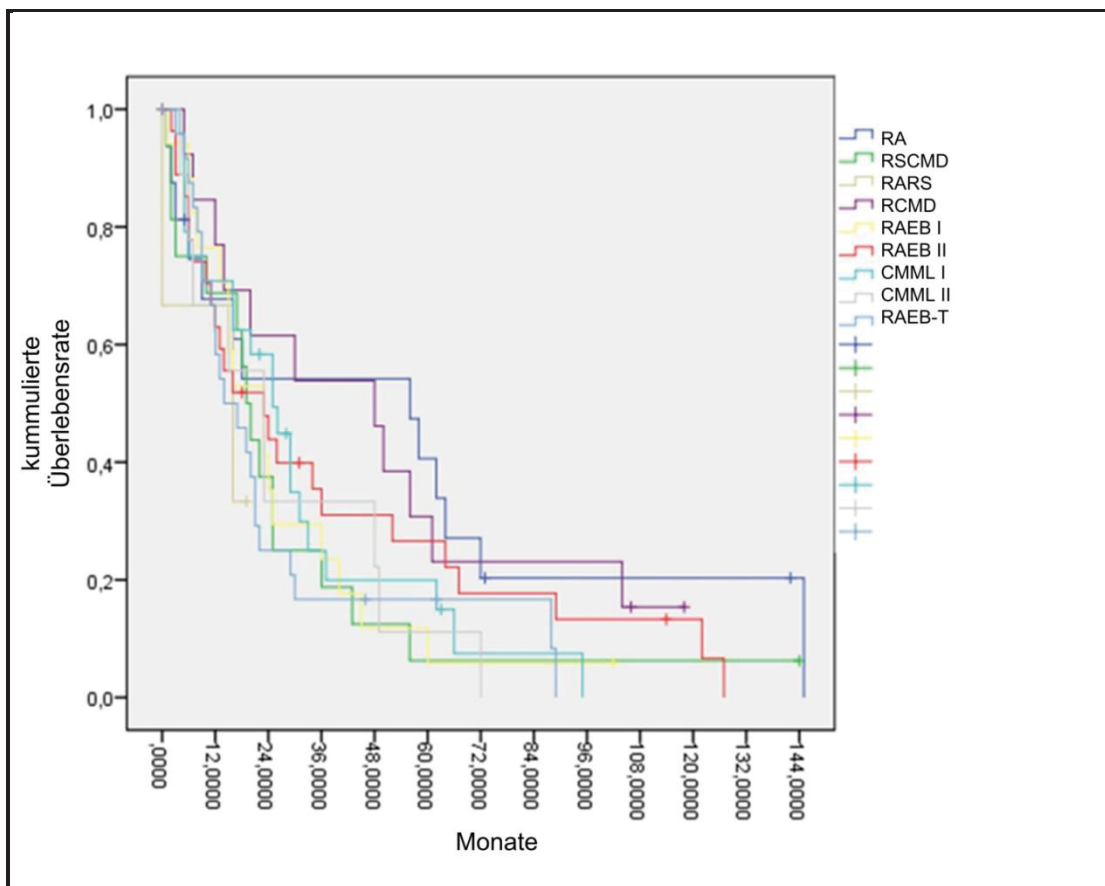
Tabelle 9: Medianes Überleben der einzelnen Kategorien der *WHO*-Klassifikation

Überleben <i>WHO</i>				
WHO	Median			
	Schätzwert	Std. Fehler	95% Konfidenzintervall	
			Untere Begrenzung	Obere Begrenzung
RA	56,016	26,600	3,881	108,152
RSCMD	19,055	2,004	15,127	22,983
RARS	16,000	13,064	,000	41,605
RCMD	48,000	18,011	12,698	83,302
RAEB I	22,998	5,378	12,457	33,539
RAEB II	22,998	8,321	6,689	39,307
CMML I	25,002	4,611	15,965	34,040
CMML II	22,965	11,852	,000	46,195
RAEB-T	13,996	4,265	5,636	22,356
Gesamt	21,027	1,861	17,379	24,674

Tabelle 10: Anzahl der Patienten in den Kategorien der *WHO*-Klassifikation

<i>WHO</i>		
<i>WHO</i>	Anzahl	Prozentsatz [%]
RA	16	10,5
RSCMD	17	11,2
RARS	3	2
RCMD	13	8,6
RAEB I	17	11,2
RAEB II	28	18,4
CMML I	24	15,8
CMML II	9	5,9
RAEB-T	25	16,4
Total	152	100

Abbildung 2: Graphische Darstellung der Überlebensdauer innerhalb der einzelnen Kategorien der *WHO*-Klassifikation



4.1.3 Therapie

Wie aus Tabelle 11 ersichtlich, wurde bei 105 Patienten (69,1%) nach Diagnosestellung keine Therapie durchgeführt, bei 12 Patienten (7,9%) wurde eine allogene Knochenmarkstransplantation (KMT) oder eine periphere Blutstammzelltransplantation (PBSCT) vorgenommen, bei ebenfalls 12 Patienten (7,9%) eine Therapie mit Idarubicin, Cytarabin, Etoposid (ICE). Bei 4 Patienten (2,6%) wurde eine Induktionstherapie mit TAD (Thioguanin, Cytosin-Arabinosid, Daunorubicin) durchgeführt. Eine Therapie mit Idarubicin oder Cytosin-Arabinosid wurde bei 7 Patienten (4,6%) vorgenommen. Bei 3 Patienten (2,0%) wurde eine Therapie mit dem Zytostatikum Litalir angewandt und weitere 5 Patienten wurden mit einem *low-dose* ARA-C behandelt. Folglich wurde bei 47 Patienten von 152 (27,6%) nach dem Zeitpunkt der Diagnose eines der Krankheitsbilder nach der aktuellen WHO-Klassifikation eine Therapie durchgeführt (siehe Tabelle 11).

Tabelle 11: Darstellung der angewandten Therapeutika

Therapie	Anzahl	Prozentsatz [%]
Supportive Therapie	105	69,1
<i>Low-dose</i> ARA-C (2x PROD SC/Dauerinfusion)	5	3,3
Induktionstherapie (TAD, ICE, Idarubicin/ARA-C)	23	15,1
Andere Zytostatika	4	2,6
Allogene Knochenmarkstransplantation oder periphere Blutstammzelltransplantation	12	7,9
ICE	12	7,9
Idarubicin/ARA-C	7	4,6
Hydroxy-Urea	3	2,0
Total	152	100

4.1.4 Basisdaten

Zu den Basisdaten der histologischen Schnitte gehören die Länge der einzelnen Knochenmarkstanzen, die Anzahl der Markräume, sowie die Qualität der Stanzen in Bezug auf die Auswertbarkeit. Alle drei Parameter beeinflussen die Auswertbarkeit der Stanze. 79,6% der Schnitte wiesen eine Länge zwischen 0,3-1,0 cm auf (siehe Tabelle 12). Der restliche Anteil (20,4%) der Schnitte war zwischen 1,0-1,5 cm lang. Bei 40,5% der Schnitte wurden unter 8 auszuwertende

Markräume gezählt, bei 59,5% konnten bis zu 15 Markräumen verzeichnet werden (siehe Tabelle 13). Um die Qualität der Stenzen zu beurteilen, fand eine subjektive Beurteilung der histologischen Schnitte von der Note 1 (sehr gut) bis 6 (ungenügend) statt. Dabei wurden Schnitte, die mit einer schlechteren Note als 4 (ausreichend) beurteilt wurden, als nicht auswertbar eingestuft. Von 152 Schnitten konnten 117 (77,0%) in Bezug auf die subjektive Qualität mit einer mehr als befriedigenden Bewertung (Note 3) eingestuft werden (siehe Tabelle 14). Insgesamt konnten 76,9% der Schnitte ausgewertet werden. 35 Schnitte (23,0%) waren nicht auswertbar (siehe Tabelle 14). Dennoch konnten für diese 35 Fälle die zytologischen Daten aus dem MDS-Register sowie andere grundlegende Daten ermittelt werden und so zur Auswertung beitragen.

Tabelle 12: Darstellung der Längen aller Knochenmarkstanzen

Länge Knochenmarkstanzen		
Länge [cm]	Anzahl	Prozentsatz [%]
0,3	2	1,3
0,4	10	6,6
0,5	19	12,5
0,6	23	15,1
0,7	25	16,4
0,8	11	7,2
0,9	23	15,1
1,0	8	5,3
1,1	11	7,2
1,2	6	3,9
1,3	1	,7
1,4	8	5,3
1,5	5	3,3
Total	152	100,0

Tabelle 13: Darstellung der Anzahl der Markräume aller Knochenmarkstanzen

Anzahl Markräume		
Markräume	Anzahl	Prozentsatz %
3	2	1,6
4	7	5,6
5	17	13,5
6	23	18,3
7	2	1,6
8	27	21,4
10	29	23,0
12	13	10,3
14	2	1,6
15	4	3,2
Total	126	100,0
Fehlende Daten	26	
Total	152	

Tabelle 14: Darstellung der Qualität der Knochenmarkstanzen

Qualität Trepanat		
Note	Anzahl	Prozentsatz %
1 (sehr gut)	12	7,9
2 (gut)	49	32,2
3 (befriedigend)	56	36,8
4 (ausreichend)- 6 (ungenügend)	35	23,0
Total	152	100,0

4.1.5 IPSS und Überleben

Für 109 von 152 Patienten erfolgte eine zytologische Einstufung in die vier verschiedenen Risikogruppen nach *IPSS*. Es gehörten 15,6% der Niedrigrisiko-Gruppe an, 26,6% und 28,4% zur Gruppe intermediäres Risiko 1 und 2 und 29,4% zu der Hochrisiko-Gruppe (siehe Tabelle 15). Für die Einstufung in das *IPSS* sind der medulläre Blastenanteil, die Anzahl der peripheren Zytopenien und die zytogenetische Risikogruppe ausschlaggebend.

Tabelle 15: Verteilung aller Patienten auf die Risikogruppen des *IPSS*

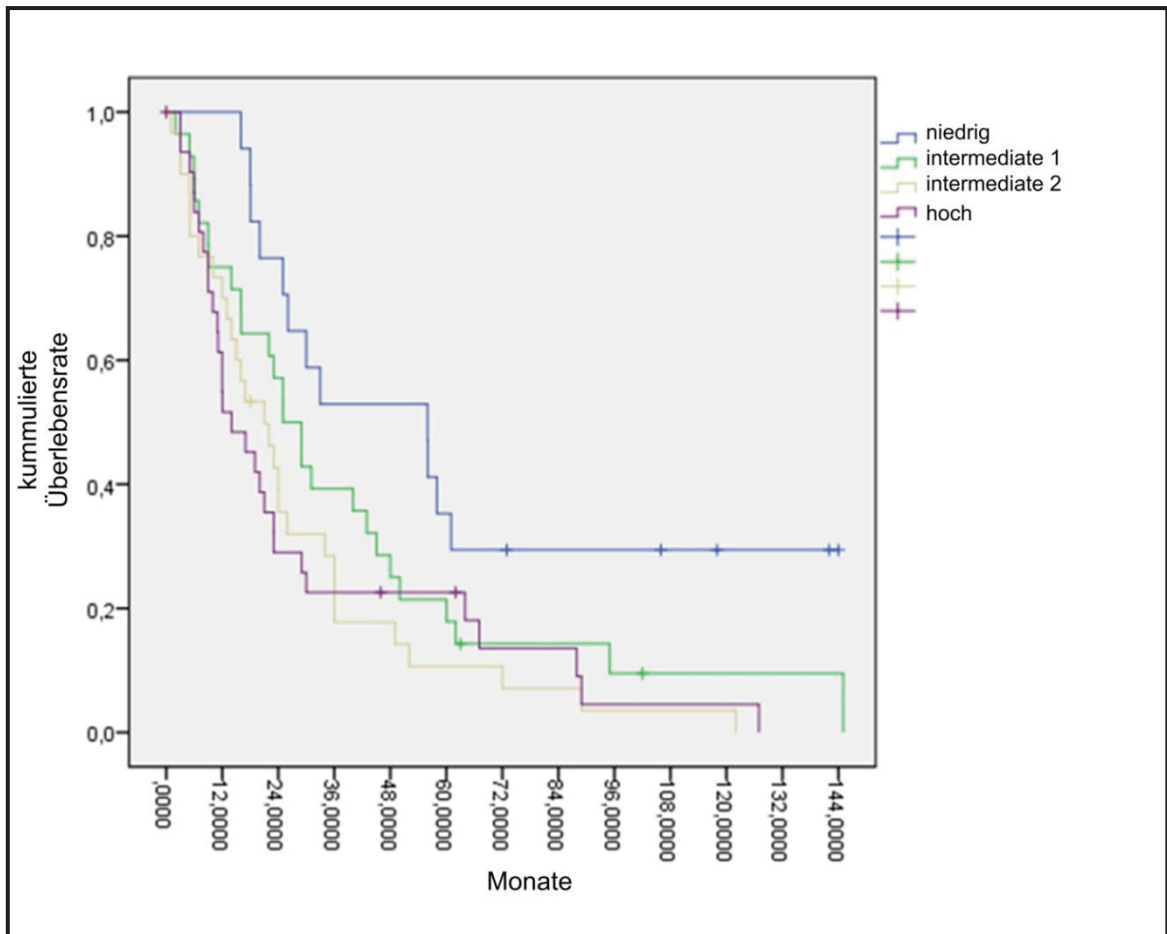
<i>IPSS</i>		
<i>IPSS</i> Risikogruppe	Anzahl	Prozentsatz [%]
0- niedrig	17	15,6
1- intermediär 1	29	26,6
2- intermediär 2	31	28,4
3- hoch	32	29,4
Total	109	100,0
Fehlende Daten	43	

Eine wichtige Schlussfolgerung ergab der Vergleich der *IPSS*-Risikogruppen mit den medianen Überlebenszeiten (siehe Tabelle 16). Die Niedrigrisiko-Gruppe wies eine mediane Überlebenszeit von 56 Monaten auf, die Hochrisiko-Gruppe im Gegensatz dazu nur eine mediane Überlebenszeit von 14,0 Monaten. Somit lässt sich sagen, dass die Gruppen mit einem niedrigeren Risikoscore laut *IPSS* gegenüber der Gruppe mit einem hohen Risikoscore eine erheblich höhere mediane Überlebenszeit haben ($p=0,014$, s. Tabelle 16). Weiterhin lässt sich aus Tabelle 16 entnehmen, dass die durchschnittliche Überlebenszeit für alle Risikogruppen des *IPSS* 23,0 Monate beträgt. Die beschriebenen Relationen spiegeln sich auch in Abbildung 3 wider.

Tabelle 16: Mediane Überlebensdauer innerhalb der *IPSS* Risikogruppen

Mediane Überlebenszeit					
IPSS	Median				Signifikanz
	Schätzwert	Std. Fehler	95% Konfidenzintervall		
			Untere Begrenzung	Obere Begrenzung	
0	55,984	17,850	20,998	90,969	P= 0,014
1	25,002	3,955	17,250	32,754	
2	21,027	4,626	11,959	30,094	
3	13,996	3,672	6,799	21,193	
Gesamt	22,998	1,937	19,201	26,795	

Abbildung 3: Graphische Darstellung der Überlebensdauer innerhalb der Risikogruppen des IPSS



4.2 Histologische Parameter

Einen umfassenden Überblick über alle erfassten Parameter liefert Tabelle 17, in der die Ergebnisse im Hinblick auf die prozentuale Verteilung bzw. die Verteilung innerhalb der Abstufungen der Parameter Fibrose, Speichereisen, Erythropoese, Dysmegakaryopoese und der CD34-positiven Blasten dargestellt sind. Die Bedeutungen der einzelnen Abstufungen der Parameter sind aus Tabelle 7 zu entnehmen.

Tabelle 17: Darstellung der Ergebnisse der histologischen Parameter

Histologische Parameter				
Parameter	Ziffer	Anzahl	Prozentsatz %	Median
Zellularität				70,00%
Fibrose	0	19	15,1	
	1	88	69,8	
	2	18	14,3	
	3	1	0,8	
Speichereisen	0	14	11,3	
	1	52	41,9	
	2	29	23,4	
	3	29	23,4	
	Total	124	100%	
	Nicht auswertbar	28		
Erythropoese	5%	3	2,4	30,00%
	10%	9	7,3	
	15%	1	0,8	
	20%	16	13	
	30%	33	26,8	
	40%	24	19,5	
	50%	15	12,2	
	60%	12	9,8	
	70%	6	4,9	
	80%	3	2,4	
	90%	1	0,8	
	Total	123	100%	
	Nicht auswertbar	29		
Dysmegakaryopoese	0	8	6,5	1
	1	58	47,2	
	2	48	39	
	3	9	7,3	
	Total	123	100%	
	Nicht auswertbar	29		
CD34Blasten	1%	21	16,7	3,50%
	2%	42	33,3	
	5%	35	27,8	
	10%	12	9,5	
	15%	4	3,2	
	20%	8	6,3	
	30%	3	2,4	
	60%	1	0,8	
	Total	126	100%	
	Nicht auswertbar	26		

4.2.1 Zellularität

Die mediane Zellularität aller ausgewerteten Schnitte liegt bei 70,0%. Um den Überblick über die Zellularität aller Knochenmarkstanzen zu vereinfachen, wurden drei Untergruppen definiert. Das Knochenmark gilt als hypozellulär, wenn die Zellularität unter 40% liegt, als normozellulär, wenn diese zwischen 40-60% liegt und als hyperzellulär, wenn diese über 60% liegt. Demzufolge zeigte sich, dass 13,6% aller Fälle ein hypozelluläres Knochenmark aufwiesen und 31,2% ein normozelluläres Knochenmark. Über die Hälfte aller Fälle (59,2%) wies ein hyperzelluläres Knochenmark (siehe Tabelle 18). Die Korrelation der einzelnen Gruppen der WHO-Klassifikation mit der Zellularität ergab kein signifikantes Ergebnis (siehe Tabelle 19).

Tabelle 18: Korrelation der kategorisierten Zellularität mit den Gruppen der WHO-Klassifikation

WHO und Zellularität											
Zellularität	WHO [%]									Total [%]	
	RA	RSCMD	RAR S	RCM D	RAEB 1	RAEB 2	CMML 1	CMML 2	RAEB -T		
	N=10	N=13	N=3	N=12	N=15	N=23	N=20	N=9	N=25		n=125
<40,0 %	Anzahl	0	3	0	4	1	5	1	1	2	17
	% in WHO	0,0	23,1	33,3	33,3	6,7	21,7	5,0	11,1	8,0	13,6
40,0- 60,0%	Anzahl	7	6	1	3	8	9	2	0	3	39
	% in WHO	70,0	46,2	33,3	25,0	53,3	39,1	10,0	0,0	15,0	31,2
>60,0 %	Anzahl	3	4	2	5	6	9	17	8	20	74
	% in WHO	30,0	30,7	66,4	41,7	40,0	39,2	85,0	89,9	77,0	59,2

Tabelle 19: Signifikanz der Korrelationen aus Tabelle 18

Signifikanz		
	Value	Asymp. Sig. (2-sided)
Chi-Quadrat-Test nach Pearson	119,456 ^a	0,053
Wahrscheinlichkeitsquotient	114,384	0,097
Linearer Zusammenhang	15,245	0,000
Gesamtanzahl	125	

4.2.1.1 Zellularität und CD34 positive Blasten

Um in Bezug auf die Zellularität eine Übersichtlichkeit zu schaffen, wurde diese kategorisiert und somit in drei verschiedene Kategorien, eine mit niedriger (1: 0%-40%), eine mit mittlerer (2: 40%-60%) und eine mit hoher (3: 60%-100%) Zellularität untergliedert (siehe Tabelle 20). Bei näherer Betrachtung der kategorisierten Zellularität wurde deutlich, dass sich über die Hälfte (54,0%) aller Fälle in der Kategorie mit der höchsten Zellularität (3) befanden. Davon besaßen 75,0% (51) aller Fälle (68 Fälle) innerhalb dieser Kategorie einen Blastenanteil zwischen 2,0-10,0%. Dies zeigt, dass der Anteil der CD34-positiven Blasten zwischen 2,0% und 10,0% in der Kategorie der höchsten Zellularität deutlich höher ist, als in den beiden Kategorien niedrigerer Zellularität. In der Kategorie der mittleren Zellularität (2) wies der Großteil (71,8%) aller Fälle einen CD34-positiven Blastenanteils zwischen 2,0-5,0% auf. Für die Kategorie der niedrigsten Zellularität (1) verhielt es sich ähnlich. Hier haben 66,7% aller Fälle einen 1,0-2,0%igem Blastenanteil. Die Signifikanz dieser Korrelation wird in Tabelle 21 dargestellt ($p=0,030$).

Des Weiteren ergibt sich aus Tabelle 20, dass 87,2% aller Schnitte zwischen 1,0-10,0% CD34-positive Blasten enthielten, nur 3,2% enthielten 15,0% CD34-positive Blasten, 6,4% enthielten einen 20,0%igen, 2,4% einen 30,0%igen und lediglich 0,8% einen 60,0%igen Anteil an CD34-positiven Blasten.

Tabelle 20: Korrelation des Anteils CD34-positiven Blasten mit der kategorisierten Zellularität

CD34 Blasten und Zellularität kategorisiert										
Zellularität kategorisiert		CD34 Blasten [%]								Total n= 125
		1,00	2,00	5,00	10,00	15,00	20,00	30,00	60,00	
< 40,0%	Anzahl	7	5	3	1	0	2	0	0	18
	%	38,9	27,8	16,7	5,6	0,0	11,1	0,0	0,0	14,4
40,0-60,0%	Anzahl	6	16	12	1	3	0	0	1	39
	%	15,4	41,0	30,8	2,6	7,7	0,0	0,0	2,6	31,2
> 60,0%	Anzahl	7	21	20	10	1	6	3	0	68
	%	10,3	30,9	29,4	14,7	1,5	8,8	4,4	0,0	54,4
Total	Anzahl	20	42	35	12	4	8	3	1	125
	%	16,0	33,6	28,0	9,6	3,2	6,4	2,4	0,8	100,

Tabelle 21: Signifikanz der Korrelation des Anteils CD34-positiven Blasten mit der kategorisierten Zellularität

Chi-Quadrat Test	
	Asymp. Sig. (2-sided)
Chi-Quadrat-Test nach Pearson	0,030
Wahrscheinlichkeitsquotient	0,013
Linearer Zusammenhang	0,194

4.2.1.2 Zellularität und Dysmegakaryopoese

Aus der Korrelation der kategorisierten Zellularität mit der Dysmegakaryopoese wurde deutlich, dass der Anteil, der sich auf den Dysplasiegrad 1 (geringe-mäßige Dysplasieanzeichen) verteilte, in den Kategorien der niedrigsten und mittleren Zellularität mit 70,6% und 50,0% am größten war (siehe Tabelle 22). Lediglich in der Kategorie der höchsten Zellularität war der Anteil für den Grad 2 (deutliche Dysplasieanzeichen) der Dysmegakaryopoese größer (47,8%) als für Grad 1. Dies zeigt, dass der Grad der dysplastischen Veränderungen der Megakaryopoese mit steigender Zellularität ebenfalls zunimmt ($p=0,002$, siehe Tabelle 22). Betrachtet man alle Fälle, so wurde mit 46,7% am häufigsten ein Grad 1 (geringe-mäßige

Dysplasieanzeichen) in Bezug auf die dysplastischen Veränderungen der Megakaryopoese festgestellt.

Keine Anzeichen einer Dysplasie der Dysmegakaryopoese (Grad 0) und sehr ausgeprägte Dysplasieanzeichen (Grad 3) wurden nur in 6,6% und 7,4% aller Fälle festgestellt.

Tabelle 22: Korrelation der Graduierungen der Dysmegakaryopoese mit der kategorisierten Zellularität

Dysmegakaryopoese und Zellularität							
Zellularität kategorisiert	Dysmegakaryopoese				Total n=122	Asym. Sig (2-sided)	
	0	1	2	3			
< 40,0%	Anzahl	4	12	1	0	17	p= 0,002
	%	23,5	70,6	5,9	0,0	13,9	
40,0- 60,0%	Anzahl	2	19	15	2	38	
	%	5,3	50,0	39,5	5,3	31,2	
> 60,0%	Anzahl	2	26	32	7	67	
	%	3,0	38,8	47,8	10,4	54,9	
Total	Anzahl	8	57	48	9	122	
	%	6,6	46,7	39,3	7,4	100,0	

Tabelle 23: Signifikanz der Korrelation der Graduierungen der Dysmegakaryopoese mit der kategorisierten Zellularität

Chi-Quadrat Test		
	Wert	Asymp. Sig. (2-sided)
Chi-Quadrat-Test nach Pearson	20,312 ^a	0,002
Wahrscheinlichkeitsquotient	21,249	0,002
Linearer Zusammenhang	15,958	0,000
Gesamtanzahl	122	

4.2.2 Erythropoese

Im Verhältnis zur Gesamtzellularität beträgt der mediane Anteil der Erythropoese 30,0%, mit einem minimalen Anteil von 5% und einem maximalen Anteil von 90%

(siehe Tabelle 24). Dabei konnte bei 82,1% ein Prozentsatz von unter 60% Erythropoese an der Gesamtzellularität festgestellt werden. Eine besondere Anhäufung von Fällen wurde innerhalb aller drei Abstufungen der kategorisierten Zellularität im Bereich eines Erythropoeseanteils zwischen 30,0-60,0% verzeichnet. Innerhalb der Kategorie der niedrigsten Zellularität waren es 72,3%, in der Kategorie der mittleren Zellularität 70,2% und in der Kategorie der höchsten Zellularität 65,7%. Betrachtet man alle Kategorien der Zellularität, so ergibt sich ein durchschnittlicher Wert von 68,0% für einen Anteil der Erythropoese zwischen 30,0-60,0%. Die Fälle mit besonders hohen Anteilen der Erythropoese (>70,0%), wurden ausschließlich in der Kategorie mit der höchsten Gesamtzellularität beobachtet.

Tabelle 24: Korrelation der Anteile der Erythropoese mit der kategorisierten Gesamtzellularität

Erythropoese und Zellularität kategorisiert													
Zellularität kategorisiert		Erythropoese [%]											Total n=122
		5,0	10,0	15,0	20,0	30,0	40,0	50,0	60,0	70,0	80,0	90,0	
< 40,0%	Anzahl	1	2	0	2	5	5	2	1	0	0	0	18
	%	5,6	11,1	0,0	11,1	27,8	27,8	11,1	5,6	0,0	0,0	0,0	14,6
40,0-60,0%	Anzahl	0	4	0	5	13	4	3	6	2	0	0	37
	%	0,0	10,8	0,0	13,5	35,1	10,8	8,1	16,2	5,4	0,0	0,0	30,4
> 60,0%	Anzahl	2	3	1	9	15	14	10	5	4	3	1	67
	%	3,0	4,5	1,5	13,4	22,4	20,9	14,9	7,5	6,0	4,5	1,5	54,9
Total	Anzahl	3	9	1	16	33	23	15	12	6	3	1	122
	%	2,5	7,4	0,8	13,1	27,0	18,9	12,3	9,8	4,9	2,5	0,8	100,0

4.2.2.1 Erythropoese und Dysmegakaryopoese

Wie aus Tabelle 34 ersichtlich, konnte ein Zusammenhang zwischen einem erhöhten Anteil der Erythropoese und einem gesteigerten Grad dysplastischer Veränderungen der Megakaryopoese (Grad 2, deutliche Dysplasieanzeichen) hergestellt werden (p=0,038, s. Tabelle 34).

4.2.3 Myelofibrose

Die Analyse der Daten der Fibrosierung des Knochenmarks ergaben, dass bei lediglich 15,1% der Patienten keine Anzeichen einer Fibrosierung zu erkennen waren, jedoch bei dem Großteil der Fälle (69,8%) ein Fibrosegrad von 1 (geringe Fibrosierung) festzustellen war (siehe Tabelle 25). 14,3% der Fälle zeigten eine ausgeprägte Fibrosierung (Grad 2) und nur 0,8% eine sehr starke Fibrosierung (Grad 3) des Knochenmarks.

Tabelle 25: Darstellung der Häufigkeit der Fibrosegrade

Fibrose			
Grad	Abstufung	Anzahl	Prozentsatz %
0	keine Fibrosierung	19	15,1
1	geringe Fibrosierung	88	69,8
2	ausgeprägte Fibrosierung	18	14,3
3	sehr starke Fibrosierung	1	,8
	Total	126	100,0
	Fehlende Daten	26	
	Total	152	

4.2.3.1 Myelofibrose und Dysmegakaryopoese

Der Vergleich der Parameter Fibrose und Dysmegakaryopoese ergab, dass sich für die Grade 0-2 (keine bis deutliche Dysplasieanzeichen) der Dysmegakaryopoese der Hauptanteil der Fälle auf einen Fibrosegrad 1 belief. Für Grad 0 der Dysmegakaryopoese wiesen 62,5% aller Fälle einen Fibrosegrad 1 auf (geringe-normale Fibrosierung), für Grad 1 der Dysmegakaryopoese waren es 69,0% aller Fälle und für Grad 2 81,2% (siehe Tabelle 26). Lediglich für den höchsten Grad der Dysmegakaryopoese verteilten sich gleiche Anteile auf die Fibrosegrade 1 und 2 (44,4%). Somit konnte selbst bei erhöhtem Dysplasiegrad kein wesentlicher Anstieg des Grades der Fibrosierung verzeichnet werden. Der Schwerpunkt liegt also bei einem geringen Fibrosegrad. Eine sehr starke

Fibrosierung (Grad 3) wurde ausschließlich in Kombination mit einer sehr ausgeprägten Dysmegakaryopoese beobachtet.

Tabelle 26: Korrelation von Fibrose und Dysmegakaryopoese

Fibrose und Dysmegakaryopoese							
Dysmegakaryopoese		Fibrose [%]				Total n=123	Asymp.Sig. (2-sided)
		0	1	2	3		
Keine Anzeichen	Anzahl	3	5	0	0	8	P= 0,01
	%	37,5	62,5	0,0	0,0	6,5	
Geringe-mäßige Anzeichen	Anzahl	10	40	8	0	58	
	%	17,2	69,0	13,8	0,0	47,2	
Deutliche Anzeichen	Anzahl	3	39	6	0	48	
	%	6,2	81,2	12,5	0,0	39,0	
Sehr ausgeprägte Anzeichen	Anzahl	0	4	4	1	9	
	%	0,0	44,4	44,4	11,1	7,3	
Total	Anzahl	16	88	18	1	123	
	%	13,0	71,5	14,6	0,8	100,0	

4.2.3.2 Myelofibrose und CD34-positive Blasten

Der Vergleich der Graduierung der Fibrosierung des Knochenmarks mit dem Anteil der CD34-positiven Blasten zeigt, dass Fibrosegrad 2 (ausgeprägte Fibrosierung) gegenüber einem Grad 1 (geringe Fibrosierung) einen gesteigerten Prozentsatz CD34-positiver Blasten aufweist ($p= 0,047$, siehe Tabelle 27) und gegenüber dem Grad 0 (keine Fibrosierung) einen erheblich gesteigerten Prozentsatz CD34-positiver Blasten aufweist ($p= 0,013$, siehe Tabelle 28). Dies deutet auf Zusammenhänge zwischen einem hohen Grad der Fibrosierung und einem steigenden Anteil an CD34-positiven Blasten hin, wobei beide Faktoren sehr wichtig für die Diagnose und Prognose sind.

Tabelle 27: Unabhängiger Vergleich der Fibrosegrade 1 und 2 mit den proportionalen Anteilen an CD34-positiven Blasten und Erythropoese

Unabhängiger Stichprobentest– Fibrose (1 vs 2)			
	T-test für Gleichheit der Mittelwerte		
	Signifikanz(zweiseitig)	95% Konfidenzintervall der Differenzen	
		Untere Begrenzung	Obere Begrenzung
CD34 Blasten	0,047	-8,54453%	-0,04890%
	0,039	-8,36258%	-0,23086%
Erythropoese	0,152	-16,0598%	2,5349%
	0,233	-18,1931%	4,6682%

Tabelle 28: Unabhängiger Vergleich der Fibrosegrade 0 und 2 mit den proportionalen Anteilen an CD34 Blasten und Erythropoese

Unabhängiger Stichprobentest- Fibrose (0 vs 2)			
	T-test für Gleichheit der Mittelwerte		
	Signifikanz(zweiseitig)	95% Konfidenzintervall der Differenzen	
		Untere Begrenzung	Obere Begrenzung
CD34 Blasten	0,013	-9,78794%	-1,25885%
	0,014	-9,85718%	-1,18960%
Erythropoese	0,102	-25,4960%	2,4241%
	0,101	-25,4294%	2,3575%

4.2.3.3 Myelofibrose und Überleben

Im Bezug auf die Fibrosierung des Knochenmarks zeigte sich außerdem, dass Patienten, bei denen keine Markraumfibrose festgestellt werden konnte, eine höhere mediane Überlebenszeit hatten (23 Monate), im Gegensatz zu Patienten, die eine geringe Fibrosierung (Grad 1, 20 Monate), eine ausgeprägte Fibrosierung (Grad 2, 13,9 Monate) oder eine sehr starke Fibrosierung (Grad 3, 18,9 Monate) aufwiesen (siehe Tabelle 29).

Tabelle 29: Mediane Überlebenszeit in Abhängigkeit vom Fibrosegrad

Mediane Überlebenszeit				
Fibrose	Median			
	Schätzwert in Monaten	Std. Fehler	95% Konfidenzintervall	
			Untere Begrenzung	Obere Begrenzung
Keine Fibrosierung	23,031	7,089	9,136	36,925
Wenig Fibrosierung	20,008	3,574	13,002	27,014
Ausgeprägte Fibrosierung	13,996	5,228	3,750	24,242
Sehr starke Fibrosierung	18,990	.	.	.
Gesamt	19,943	2,713	14,624	25,261

4.2.4 Dysmegakaryopoese

Der überwiegende Anteil der Fälle (38,2%) wies in Bezug auf die Dysmegakaryopoese geringe bis mäßige Dysplasieanzeichen auf (Grad 1), 31,6% zeigten deutliche Dysplasieanzeichen (Grad 2, siehe Tabelle 17).

Der Zusammenhang zwischen den Graden der Dysmegakaryopoese und der kategorisierten Zellularität wurde oben beschrieben (siehe Tabelle 22). Die Begutachtung der einzelnen Gruppen nach der *WHO*-Klassifikation und der Gruppen mit unterschiedlichen Therapieansätzen zeigten im Vergleich mit den verschiedenen Graden der Dysplasieanzeichen keine Übereinstimmungen.

Jedoch korrelierte die Anzahl der gezählten Markräume im Vergleich zu den Dysplasieanzeichen, wie aus Tabelle 30 zu entnehmen ist. So konzentrierten sich Fälle mit Dysplasiegrad 1 und 2 besonders bei Schnitten, die 8-10 Markräume aufwiesen ($p=0,022$, siehe Tabelle 31).

Tabelle 30: Darstellung des Verhältnisses der Anzahl der Markräume zur Dysmegakaryopoese

Anzahl Markräume und Dysmegakaryopoese												
Dysplasiegrad Megakaryopoese		Anzahl Markräume										Total n=123
		3	4	5	6	7	8	10	12	14	15	
Keine Anzeichen	Anzahl	1	2	1	2	0	1	1	0	0	0	8
	%	12,5	25,0	12,5	25,0	0,0	12,5	12,5	0,0	0,0	0,0	6,5
Geringe- mäßige Anzeichen	Anzahl	1	4	10	14	0	9	12	6	0	2	58
	%	1,7	6,9	17,2	24,1	0,0	15,5	20,7	10,3	0,0	3,4	47,2
Deutliche Anzeichen	Anzahl	0	1	3	5	2	14	16	4	2	1	48
	%	0,0	2,1	6,2	10,4	4,2	29,2	33,3	8,3	4,2	2,1	39,0
Sehr ausgeprägte Anzeichen	Anzahl	0	0	3	1	0	1	0	3	0	1	9
	%	0,0	0,0	33,3	11,1	0,0	11,1	0,0	33,3	0,0	11,1	7,3
Total	Anzahl	2	7	17	22	2	25	29	13	2	4	123
	%	1,6	5,7	13,8	17,9	1,6	20,3	23,6	10,6	1,6	3,3	100,0

Tabelle 31: Signifikanz des Verhältnisses der Anzahl der Markräume zur Dysmegakaryopoese

Chi-Quadrat Tests		
	Wert	Asymp. Sig. (2-sided)
Chi-Quadrat-Test nach Pearson	43,660 ^a	0,022
Wahrscheinlichkeitsquotient	41,572	0,036
Linearer Zusammenhang	9,009	0,003
Gesamtanzahl	123	

Ein weiteres bedeutendes Ergebnis lieferte der Vergleich der Zellularität mit der Dysmegakaryopoese (siehe Tabelle 32). Eine besondere Anhäufung konnte im Bereich einer Zellularität zwischen 70,0%-90,0% festgestellt werden. Die prozentualen Anteile der Fälle, die eine Zellularität zwischen 70,0-90,0% aufwiesen, vergrößerten sich mit steigendem Grad der Dysmegakaryopoese. Für den Grad 1 (geringe-mäßige Dysplasieanzeichen) waren es 42,1%, für den Grad 2 (deutliche Dysplasieanzeichen) schon 56,3% und für den Grad 3 (sehr ausgeprägte Dysplasieanzeichen) 77,7% aller Fälle. Die Signifikanz der Korrelation von Zellularität und Dysmegakaryopoese wird in Tabelle 33 dargestellt (p=0,001)

Tabelle 32: Darstellung des Verhältnisses von Zellularität zur Dysmegakaryopoese

Zellularität und Dysmegakaryopoese															
Dysmegakaryopoese		Zellularität [%]													Total n= 122
		10,0	20,0	30,0	35,0	40,0	50,0	60,0	70,0	80,0	85,0	90,0	95,0	100	
0	N	1	2	0	1	1	1	0	0	0	0	0	2	0	8
	%	12,5	25,0	0,0	12,5	12,5	12,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	25,0	0,0	6,5
1	N	0	3	9	0	6	6	7	6	7	1	10	1	1	57
	%	0,0	5,3	15,8	0,0	10,5	10,5	12,3	10,5	12,3	1,8	17,5	1,8	1,8	46,8
2	N	0	1	0	0	4	6	5	8	10	0	9	3	2	48
	%	0,0	2,1	0,0	0,0	8,3	12,5	10,4	16,7	20,8	0,0	18,8	6,2	4,2	39,3
3	N	0	0	0	0	1	0	1	2	1	0	4	0	0	9
	%	0,0	0,0	0,0	0,0	11,1	0,0	11,1	22,2	11,1	0,0	44,4	0,0	0,0	7,4
Total	N	1	6	9	1	12	13	13	16	18	1	23	6	3	122
	%	0,8	4,9	7,4	0,8	9,8	10,7	10,7	13,1	14,8	0,8	18,9	4,9	2,5	100,0

*N= Anzahl

Tabelle 33: Signifikanz des Verhältnisses der Zellularität zur Dysmegakaryopoese

Chi-Quadrat Tests		
	Wert	Asymp. Sig. (2-sided)
Chi-Quadrat-Test nach Pearson	69,248 ^a	0,001
Wahrscheinlichkeitsquotient	55,162	0,021
Linearer Zusammenhang	12,367	0,000
Gesamtanzahl	122	

Wie bereits in Bezug auf Tabelle 26 beschrieben, ergab der Vergleich der Myelofibrose mit der Dysmegakaryopoese, dass selbst bei steigendem Grad der Dysmegakaryopoese die Fibrosierung nicht gleichermaßen anstieg, sondern der Großteil der Fälle eine geringe Fibrosierung der Markräume aufweist (Grad 1).

Eine bedeutende Übereinstimmung ergab der Vergleich der Dysmegakaryopoese mit der Erythropoese. So konnte gezeigt werden, dass ein Grad 2 der Dysmegakaryopoese (deutliche Dysplasieanzeichen) gegenüber den anderen

Graden gleichzeitig auch einen erhöhten Prozentsatz der Erythropoese am Gesamtzellgehalt enthielt ($p= 0,038$, siehe Tabelle 34).

Tabelle 34: Unabhängiger Vergleich der Dysmegakaryopoese Grad 0 und 2 mit den proportionalen Anteilen an CD34-positiven Blasten und Erythropoese

Unabhängiger Stichprobentest- Dysmegakaryopoese (0 vs 2)			
	T-test für Gleichheit der Mittelwerte		
	Signifikanz(zweiseitig)	95% Konfidenzintervall der Differenzen	
		Untere Begrenzung	Obere Begrenzung
CD34 Blasten	0,580	-8,71479%	4,92313%
	0,327	-5,79742%	2,00575%
Erythropoese	0,038	-29,9705%	-0,9072%
	0,025	-28,6058%	-2,2719%

4.2.5 Speichereisen

Den Eisenanteil der Retikulumzellen im Knochenmark betreffend, wiesen 41,9% einen geringen bis normalen Eisengehalt auf (Grad 1), jeweils 23,4% wiesen einen deutlich erhöhten Eisengehalt (Grad 2), oder eine Eisenüberladung (Grad 3) auf. Nur bei 11,3% der Fälle konnte eine Eisendepletion festgestellt werden.

Beim Vergleich der Überlebenszeiten im Verhältnis zum vorhandenen Eisenanteil im Knochenmark zeigte sich, dass die Gruppe mit dem höchsten Eisenanteil, das heißt mit deutlicher Eisenüberladung, auch die geringste mediane Überlebenszeit hatte (15 Monate) (siehe Tabelle 35). Die Spanne der Überlebenszeiten zwischen den einzelnen Gruppen, die einen unterschiedlichen Gehalt an Eisen aufzeigen (Grad 1, 16,98 Monate; Grad 2, 19,94 Monate; Grad 3, 15,01 Monate) und der Gruppe ohne Eisengehalt im Knochenmark (Grad 0, 29,99 Monate) ist deutlich ersichtlich. Obwohl dieser Vergleich kein signifikantes Ergebnis liefert, muss die große Spanne zwischen den Überlebenszeiten erwähnt werden.

Tabelle 35: Mediane Überlebenszeit innerhalb der Abstufungen des Eisenanteils

Mediane Überlebenszeit					
Grad	Speichereisen	Median			
		Schätzwert in Monaten	Std. Fehler	95% Konfidenzintervall	
				Untere Begrenzung	Obere Begrenzung
0	Kein Eisengehalt	29,996	6,852	16,567	43,425
1	Geringer-Normaler Eisengehalt	16,986	4,629	7,913	26,058
2	Erhöhter Eisengehalt	19,943	4,045	12,015	27,870
3	Eisenüberladung	15,014	3,738	7,688	22,340
	Gesamt	19,055	2,508	14,140	23,971

4.2.6 CD34-positive Blasten

Der mediane Prozentsatz der CD34-positiven Blasten als Anteil an der Gesamtzellularität betrug 3,5% für alle ausgewerteten Schnitte. 87,3% aller Schnitte wiesen einen Prozentsatz von bis zu 10,0% Blasten auf, wobei sich davon wiederum 61,1% auf einen Wert zwischen 2,0-5,0% konzentrierten (siehe Tabelle 36). In Zusammenhang mit der kategorisierten Zellularität war ebenfalls auffällig, dass sich die meisten Fälle zwischen einem 2,0%-10,0%igen Blastenanteil zu kumulieren schienen und dies vornehmlich in der Kategorie mit der höchsten Zellularität ($p=0,030$, siehe Tabelle 37). Je höher also die Gesamtzellularität ist, desto höher kann laut diesem Ergebnis auch der Anteil an CD34-positiven Blasten sein. Dies scheint auf Grund der klonalen Vermehrung der Blasten im Knochenmark als überzeugend. Allerdings bedingt ein erhöhter Anteil an CD34-positiven Blasten auch einen steigenden Prozentsatz der Gesamtzellularität.

Die Korrelation der Überlebenszeit mit dem Anteil der CD34-positiven Blasten ergab für unser Kollektiv keine prognostisch bedeutsamen Ergebnisse (siehe Tabelle 38, $p=0,635$). So besteht in unserem Kollektiv kein Zusammenhang zwischen einem steigenden Anteil an CD34-positiven Blasten und einer geringeren Überlebenszeit. Im Gegensatz zu anderen Studien (1, Della Porta et al, 2, Cesana et al, 3, Horny et al, 11, Valent et al), in denen die prognostische

Relevanz des Anteils der CD34-positiven Blasten betont wird, konnte dies für unser Kollektiv nicht in Einklang gebracht werden.

Tabelle 36: Darstellung der Korrelation von CD34 Blastenanteilen mit der kategorisierten Zellularität

CD34 Blasten und Zellularität kategorisiert										
Zellularität		CD34 Blasten [%]								Total 125
		1,00	2,00	5,00	10,00	15,00	20,00	30,00	60,00	
< 40,0%	Anzah 	7	5	3	1	0	2	0	0	18
	%	38,9	27,8	16,7	5,6	0,0	11,1	0,0	0,0	14,4
40,0- 60,0%	Anzah 	6	16	12	1	3	0	0	1	39
	%	15,4	41,0	30,8	2,6	7,7	0,0	0,0	2,6	31,2
> 60,0%	Anzah 	7	21	20	10	1	6	3	0	68
	%	10,3	30,9	29,4	14,7	1,5	8,8	4,4	0,0	54,4
Total	Anzah 	20	42	35	12	4	8	3	1	125
	%	16,0	33,6	28,0	9,6	3,2	6,4	2,4	0,8	100,

Tabelle 37: Signifikanz der Korrelation von CD34 Blastenanteilen mi der kategorisierten Zellularität

Chi-Quadrat Test		
	Wert	Asymp. Sig. (2-sided)
Chi-Quadrat-Test nach Pearson	25,538 ^a	0,030
Wahrscheinlichkeitsquotient	28,397	0,013
Linearer Zusammenhang	1,687	0,194
Gesamtanzahl	125	

Tabelle 38: Korrelation und Signifikanz der Überlebenszeit mit dem kategorisierten Anteil an CD34-Blasten

Korrelation-Überleben-CD34 Blastenteil					
CD34- Blastenteil Kategorisiert	Überlebenszeit und Anteil an CD34-Blasten				Signifikanz
	Schätzwert in Monaten	Std. Fehler	95% Konfidenzintervall		
			Untere Begrenzung	Obere Begrenzung	
0% - 40%	19,943	2,200	15,631	24,254	p= 0,635
40%- 60%	21,979	4,585	12,993	30,966	
Gesamt	19,943	2,713	14,624	25,261	

4.3 Differentialdiagnose

Die histologische Diagnose wurde nach der Auswertung für jeden Fall einzeln und ohne Kenntnis der Erstdiagnose reevaluiert. So ergab sich für jeden Fall eine histologische Differentialdiagnose. Am Ende aller Auswertungen wurde diese histologische Differentialdiagnose mit der zytologischen Diagnose der einzelnen Fälle verglichen, welche dem MDS-Register Düsseldorf entnommen werden konnte (siehe Tabelle 39). Zwischen der Differentialdiagnose und der zytologischen Diagnose ergaben sich signifikante Übereinstimmungen ($p > 0,00005$, siehe Tabelle 40).

Tabelle 39: Darstellung des Vergleichs zwischen histologischer und zytologischer Diagnosen und deren Übereinstimmungen

Histologische Differentialdiagnose vs. Zytologische Diagnose											
Differentialdiagnose		WHO									Total N=152
		RA	RSCMD	RARS	RCMD	RAEB I	RAEBII	CMML I	CMMLII	RAEBT	
RA	Anzahl	15	1	0	2	2	2	0	0	2	24
	% in DD	62,5	4,2	0,0	8,3	8,3	8,3	0,0	0,0	8,3	100
	% in WHO	93,8	5,9	0,0	15,4	11,8	7,1	0,0	0,0	8,0	15,8
RSCMD	Anzahl	1	14	0	0	0	2	0	0	0	17
	% in DD	5,9	82,4	0,0	0,0	0,0	11,8	0,0	0,0	0,0	100
	% in WHO	6,2	82,4	0,0	0,0	0,0	7,1	0,0	0,0	0,0	11,2
RARS	Anzahl	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
	% in DD	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100
	% in WHO	0,0	0,0	33,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7
RCMD	Anzahl	0	0	2	10	3	3	0	0	1	19
	% in DD	0,0	0,0	10,5	52,6	15,8	15,8	0,0	0,0	5,3	100
	% in WHO	0,0	0,0	66,7	76,9	17,6	10,7	0,0	0,0	4,0	12,5
RAEB I	Anzahl	0	1	0	0	11	11	0	0	9	32
	% in DD	0,0	3,1	0,0	0,0	34,4	34,4	0,0	0,0	28,1	100
	% in WHO	0,0	5,9	0,0	0,0	64,7	39,3	0,0	0,0	36,0	21,1
RAEB II	Anzahl	0	1	0	1	1	10	0	0	3	16
	% in DD	0,0	6,2	0,0	6,2	6,2	62,5	0,0	0,0	18,8	100
	% in WHO	0,0	5,9	0,0	7,7	5,9	35,7	0,0	0,0	12,0	10,5
CMML I	Anzahl	0	0	0	0	0	0	23	8	0	31
	% in DD	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	74,2	25,8	0,0	100
	% in WHO	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	95,8	88,9	0,0	20,4
CMML II	Anzahl	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2
	% in DD	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	50,0	50,0	0,0	100
	% in WHO	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,2	11,1	0,0	1,3
RAEB-T	Anzahl	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
	% in DD	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100	100
	% in WHO	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	40,0	6,6
Total	Anzahl	16	17	3	13	17	28	24	9	25	152
	% in DD	10,5	11,2	2,0	8,6	11,2	18,4	15,8	5,9	16,4	100
	% in WHO	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

*DD=Differentialdiagnose

So stimmten differentialdiagnostisch 62,5% der Fälle für die Kategorien RA und RAEB2 überein, 82,4% für RSCMD und 52,6% für RCMD. Für die Kategorien CMML1 waren es 74,2% und für CMML2 50,0%. Die geringste Übereinstimmung (34,4%) fand sich für die Kategorie RAEB1. Für die Kategorien RARS und RAEB-T stimmten die Diagnosen zu 100,0% überein.

Tabelle 40: Signifikanz des Vergleichs der histologischen und zytologischen Diagnosen und deren Übereinstimmungen

Chi-Quadrat Test		
	Wert	Asymp. Sig. (2-sided)
Chi-Quadrat-Test nach Pearson	502,269 ^a	>0,00005
Wahrscheinlichkeitsquotient	352,190	0,000
Linearer Zusammenhang	89,710	0,000
Gesamtanzahl	152	

5 Diskussion

Die histologische Untersuchung zur Verbesserung der diagnostischen Methoden im Umgang von Patienten mit MDS ist derzeit noch kein Standardverfahren. Vielmehr basiert die Beurteilung von MDS auf der zytologischen Diagnostik und wird nur teilweise durch eine histologische Untersuchung ergänzt. Die zytologische Diagnostik von MDS liefert Aufschluss über die Zytomorphologie und Zytogenetik der Zellen des Knochenmarks und erlaubt eine zuverlässige Klassifizierung und Risikoabschätzung [Horny, 2007; Bennet 1982]. Dem gegenüber steht jedoch die Nützlichkeit der histologischen Diagnostik, ermöglicht sie doch einen umfassenden Überblick über die Anordnung, Struktur und Morphologie der einzelnen Zellreihen im Knochenmark. Darüber hinaus liefert die histologische Diagnostik Aufschlüsse über die Markraumfibrose und hält alle Möglichkeiten für die immunhistochemische Diagnostik offen. Insgesamt lassen sich die Funktions- und Reifungsstörungen der Erythropoese, Granulopoese und Megakaryopoese durch die histologische Untersuchung von Beckenkammstanzen verlässlich darstellen. Differenzierungen zwischen Subtypen wie der fibrotischen Variante von MDS, oder hypoplastische MDS können demzufolge nur mit Hilfe von Knochenmarkshistologie verlässlich erstellt werden [Horny, 2007]. Auffälligkeiten wie atypische Lokalisationsformen und *Clusterbildungen* von Myeloblasten oder Megakaryozyten und deren Mikroformen sind überdies mit Hilfe der Knochenmarkshistologie ohne Schwierigkeiten zu identifizieren. Diesbezüglich lassen sich besonders aussagekräftige Rückschlüsse durch die Verwendung von Antikörpern gegen z.B. CD34 oder CD117, die u. a. empfindlich mit unreifen myeloischen Vorläuferzellen reagieren, herausarbeiten. Die Vorteile dieser Herangehensweise und die daraus resultierenden Kennzeichen der Dysplasiekriterien wurden in einigen Arbeiten dargestellt [Della Porta, 2009; Pirruccello, 2006].

Dem guten Gesamteindruck, den die histologische Diagnostik liefert, steht der Vorteil der zytologischen Diagnostik gegenüber, welche in der Lage ist, wichtige Punkte im Hinblick auf die Beschaffenheit des Zytoplasmas und der Kernstruktur zu liefern. Dennoch kann die zytologische Diagnostik auch durch unzureichende Qualität der Knochenmarksausstriche oder durch nicht identifizierbare

zytogenetische Auffälligkeiten behindert werden. Daher ist zu betonen, dass sich eine optimale Diagnostik und Klassifikation von MDS durch die Kombination von zytologischer und histologischer Diagnostik auszeichnet [Horny, 2007].

Da es bis jetzt erst wenige Studien gibt, in denen der Vergleich zwischen zytologischer und histologischer Diagnostik im Hinblick auf MDS angestellt wird, ist die Datengrundlage sehr gering. In vereinzelt Studien wurden nur gesonderte Parameter wie zum Beispiel die Zellularität oder die Myelofibrose [Baghikar, 2008] histologisch und zytologisch beurteilt.

Im Mittelpunkt dieser Arbeit steht die histologische Diagnostik hinsichtlich der Relevanz der einzelnen Dysplasiekriterien und deren Auswirkung auf die Prognose bei MDS. Ferner stellen der Vergleich zwischen histologischer und zytologischer Diagnostik sowie die immunhistochemische Diagnostik von MDS wichtige Aspekte dieser Arbeit dar. Der Vergleich der histologischen und zytologischen Diagnostik nimmt dabei eine besondere Stellung ein.

Für ein Patientenkollektiv, welches dem MDS-Register-Düsseldorf entstammt, wurden die Kriterien: Knochenmarkzellularität, Markraumfibrose, Dysmegakaryopoese, Erythropoeseanteil, Speichereisenanteil und der Anteil CD34-positiver Blasten geprüft. Außerdem wurden histologische und zytologische Diagnostik systematisch verglichen, wobei die Grundlage für die zytologischen Daten durch das MDS-Register Düsseldorf geboten wurde. Ferner wurden dem MDS-Register Düsseldorf klinische Daten, einschließlich IPSS score und „*follow up*“ entnommen. Im Rahmen der statistischen Auswertung wurden Korrelationen zwischen allen Dysplasiekriterien, der bestehenden *WHO*-Klassifikation, dem *IPSS* und den verschiedenen Formen der Therapie angestellt. Die Korrelation mit den Überlebenszeiten stellte einen weiteren wichtigen Aspekt dar.

Die mediane Überlebenszeit für das gesamte Patientenkollektiv betrug 21 Monate, 56 Monate für die *low risk IPSS* Gruppe und 14 Monate für die *high risk IPSS* Gruppe (s.Tabelle 15). Die *low-risk IPSS* Gruppe zeichnet sich demnach durch eine signifikant höhere Überlebensdauer als die *high risk IPSS* Gruppe aus ($p=0,014$, s.Tabelle 16). Die Überlebenszeiten der einzelnen Risikogruppen entsprechen denen eines klassischen MDS-Patientenkollektivs und sind vergleichbar mit den Überlebenszeiten, die aus einer Studie von Germing et al. hervorgehen und in Tabelle 1 dargestellt sind [Germing, 2001, 2007]. Innerhalb

der Gruppen der *WHO*-Klassifikation wurden die längsten Überlebenszeiten für Patienten mit RA (56 Monate) und RCMD (48 Monate) festgestellt (s. Tabelle 9). Auch diese Überlebenszeiten stimmen verhältnismäßig gut mit denen aus Tabelle 1 überein.

105 von 152 Patienten erhielten keine Therapeutika während der Beobachtungsdauer. Die restlichen 47 Patienten erhielten die in Tabelle 11 dargestellten Therapeutika bzw. Behandlungsmethoden. Die Korrelation aller Therapeutika und Behandlungsmethoden mit der Überlebenszeit zeigte jedoch keine bedeutenden Übereinstimmungen. Dies kann daran liegen, dass eine etablierte Therapie für Hochrisikopatienten zum Beispiel eine intensive Chemotherapie darstellt, diese allerdings nur für ein Drittel der Patienten mit günstigem Karyotyp zu einer Langzeitremission führt [Germing, 2001]. Supportive Maßnahmen, wie das Verabreichen von Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentraten, wurden für das Patientenkollektiv nicht als therapeutische Maßnahmen berücksichtigt. Eine komplexe Darstellung über verschiedene Behandlungsmöglichkeiten liefert Abbildung 1.

Über die Hälfte aller ausgewerteten Fälle waren hyperzellulär (59,2%), dazu gehörten besonders die Hochrisiko-Gruppen wie RAEB-T, CMML I und CMML II. Niedrigrisiko-Gruppen wie die RA und die RSCMD waren größtenteils normozellulär (s. Tabelle 18). Vergleichbare Ergebnisse lieferte auch der Vergleich der Zellularität in Abhängigkeit vom zytologischen *WHO*-Subtyp in einer anderen Studie [Della Porta, 2009; Baghikar, 2008]. Allgemein ist zu sagen, dass die histologische Untersuchung des Knochenmarks eine sehr gute Möglichkeit liefert, einen genauen Überblick über die Gesamtzellularität zu bekommen, dennoch wird die Zellularität häufiger im Rahmen der zytologischen Diagnostik bestimmt.

Im Vergleich der kategorisierten Zellularität mit dem Anteil der CD34-positiven Progenitorzellen zeigte sich, dass mit steigender Zellularität auch der Anteil an CD34-positiven Progenitorzellen anstieg (s. Tabelle 20, $p=0,030$). Die prognostische Relevanz des Nachweises von CD34-positiven Progenitorzellen wurde bereits in mehreren Studien dokumentiert [Della Porta, 2009; Cesana, 2008, Pirruccello, 2006]. Im normalen, gesunden Knochenmark beläuft sich der Anteil an CD34 positiven Progenitorzellen auf einen Prozentsatz von unter 1% [Della Porta, 2009]. In dieser Studie wiesen 75,0% aller Fälle zwischen 2,0-10,0%

CD34-positive Progenitorzellen auf. Bei nur 16,0% der Fälle wurde ein Anteil von bis zu 1,0% CD34-positive Progenitorzellen beobachtet. Lediglich 12,8% aller Fälle wiesen einen höheren Anteil als 10,0% CD34-positive Progenitorzellen auf.

Die Beurteilung der prozentualen Anteile an CD34-positiven Progenitorzellen kann Auskunft darüber geben, ob es sich um ein Hochrisiko oder Niedrigrisiko MDS handelt [Valent, 2010]. Darüber hinaus lässt sich anhand des Anteils der CD34-positiven Progenitorzellen das Transformationsrisiko zur AML abschätzen, welches eng in Zusammenhang mit der Überlebenszeit steht [Cesana, 2008; Aul, 2002]. So beträgt laut Aul et. al. das Risiko für eine Transformation zur AML 2 Jahre nach Diagnose für Patienten mit weniger als 5% CD34-positiven Blastenanteil 7%, für Patient mit dem höchsten prozentual gemessenen Blastenanteil waren dies jedoch schon 67% [Sanz, 1989]. Diese Korrelation weist auf die besondere prognostische Relevanz des Anteils an CD34-positiven Progenitorzellen hin.

Die Korrelation des Anteil der CD34-positiven Progenitorzellen mit der Überlebenszeit lieferte für unser Kollektiv, im Gegensatz zu den oben genannten Studien, in denen die prognostische Relevanz dieses histologischen Parameters erwähnt wird, keine relevanten Ergebnisse (s. Tabelle 38). Somit lässt sich die prognostische Relevanz des Anteils der CD34-positiven Progenitorzellen durch diese Studie nicht hervorheben.

Auch die Korrelation des Fibrosegrads, der Dysmegakaryopoese, des Eisenanteils und des Erythropoeseanteils ergaben in Korrelation mit der Überlebenszeit für unser Kollektiv keine relevanten Ergebnisse.

Bis jetzt konnte aufgrund der Heterogenität der MDS keine eindeutige Grenze im Bezug auf die prozentualen Anteile an CD34-positiven Progenitorzellen benannt werden, welche auf ein deutlich erhöhtes Risiko für den Erkrankten im Allgemeinen hinweist. Durch die *WHO*-Klassifikation sind zwischen den einzelnen Untergruppen zwar klare Grenzen hinsichtlich der prozentualen Anteile der CD34-positiven Progenitorzellen vorgegeben, jedoch mangelt es noch immer am Verständnis, daraus die richtigen klinischen Schlüsse zu ziehen. Dies mag auch daran liegen, dass bis jetzt Studien auf diesem Gebiet noch nicht in ausreichender Form vorliegen und die Notwendigkeit eines schnellen Beginns einer Therapie nicht die möglichen Spielräume für ausführliche Studien lässt [Cesana, 2008].

Ferner mangelt es bis dato an großen klinischen Studien, bei welchen zu vorher definierten Zeitpunkten im Verlauf genaue Abschätzungen des CD34-positiven Progenitorzellanteils vorgenommen werden und somit akkuratere Grenzen im Hinblick auf diesen Parameter definiert werden können. Der prognostische Wert der Evaluation des CD34-positiven Blastenanteils scheint - trotz der Ergebnisse unserer Studie - unbestritten zu sein, dennoch bleibt aufgrund der noch zu erschließenden Forschungsmöglichkeiten für diesen Parameter weiterhin offen, welche Bedeutung er in Zukunft hinsichtlich der MDS einnehmen wird.

Bei näherer Betrachtung der Dysmegakaryopoese im Vergleich mit der kategorisierten Zellularität wurde deutlich, dass nur in Fällen mit höherer Zellularität der Dysplasiegrad der Megakaryopoese simultan anstieg ($p=0,002$, s. Tabelle 22). Das heißt, dass im hyperzellulären Knochenmark 58,2% aller Fälle einen Dysplasiegrad 2 (deutliche Dysplasieanzeichen) oder 3 (ausgeprägte Dysplasieanzeichen) aufwiesen und im hypo- und normozellulären Knochenmark der Großteil der Fälle einen Dysplasiegrad 1 (geringe-mäßige Dysplasieanzeichen) aufwies. Ähnlich wie der CD34-positiv Progenitorzellanteil korrelierte der Grad der Dysmegakaryopoese ebenfalls mit der Zellularität. Dies unterstreicht die Bedeutsamkeit einer korrekten Beurteilung der Zellularität des Knochenmarks. Schon Baghikar et al. beschrieb die Signifikanz einer exakten Beurteilung der Knochenmarkszellularität, welche als einziger Parameter eine unabhängige prognostische Relevanz für die mediane Überlebenszeit zeigte [Baghikar, 2008]. Demzufolge stellt die Zellularität einen Parameter dar, durch den nicht nur für sich stehend wichtige prognostische Schlüsse gezogen werden können, sondern auch in Verknüpfung mit Parametern wie dem CD34-positiven Progenitorzellanteil und dem Grad der Dysmegakaryopoese bedeutsame Informationen liefert. Im Rahmen der histologischen Diagnostik kann die Zellularität sehr genau bestimmt werden, dennoch wird sie meistens zytologisch, mit Hilfe von Markausstrichen bestimmt, da bis heute die zytologische Diagnostik von MDS nur in Ausnahmefällen durch die Histologie ergänzt wird [Baghikar, 2008]. Aufgrund der prognostischen Aussagekraft der histopathologisch beurteilten Knochenmarkszellularität und der geringen Kosten dieser Untersuchung könnte sich in Zukunft die Rolle der Histopathologie bei der MDS-Diagnostik weiter konsolidieren.

Insgesamt wiesen in dieser Studie 59,2% aller Fälle ein hyperzelluläres Knochenmark auf, was Prozentsätzen anderer Studien entspricht, in denen 46,0% [Germing, 2009] und 64,0% [Baghikar, 2008] aller Fälle hyperzellulär waren. Eine akkurate Einschätzung der Zellularität in der histologischen Diagnostik ist nicht nur aus den oben genannten Gründen von äußerster Wichtigkeit, sondern auch, weil insbesondere die Hyperzellularität des Knochenmarks eines der wichtigsten Charakteristika dieser Erkrankung darstellt. Besonders Patienten der Subtypen CMML I, CMML II und RAEB-T wiesen ein hyperzelluläres Knochenmark auf (s. Tabelle 18). Im Durchschnitt lag in nur 13,6% aller Fälle eine hypozelluläre Variante des MDS vor. Dies ähnelt wiederum älteren Studien, deren Anteil des hypoplastischen MDS zwischen 8,0% und 19,0% variierte [Aul, 2002]. Der überwiegende Teil (90,4%) aller Fälle zeichnete sich in dieser Studie durch eine normo- bis hyperzelluläre Knochenmarkszelldichte aus. Dies stimmt in ungewöhnlich hohem Maße mit der zytologisch diagnostizierten Zellularität aus der Studie von Germing et al. überein, in welcher 90,0% aller Patienten ein normo- bis hyperzelluläres Knochenmark aufwiesen [Aul, 2002]. Folglich liefert diese Übereinstimmung den Beweis für die Vergleichbarkeit der histologischen mit der zytologischen Diagnostik im Hinblick auf die Zellularität des Knochenmarks.

Die Dysmegakaryopoese liefert weitere wichtige Informationen im Hinblick auf die Diagnostik von MDS. Da nahezu jedes MDS zelluläre Atypien und abnormale Verteilungsmuster der Megakaryozyten zeigt, ist es von wesentlicher Bedeutung, dieses Kriterium histopathologisch abzuklären [Horny, 2007; Valent, 2010]. In verschiedenen Studien wurde dargelegt, dass die Bestimmung der dysplastischen Veränderungen der Megakaryopoese an Hand von Knochenmarkshistologie genauer ist als die zytologische Diagnostik in diesem Belang [Horny, 2007; Valent, 2010]. Zumal auch dieser wesentliche diagnostische Parameter besser histologisch beurteilt werden kann, wird die histologische Diagnostik näher an das Zentrum der Diagnostik von MDS hinbewegt. Für die korrekte Beurteilung der Dysmegakaryopoese muss nicht zwingend ein weiterer immunhistochemischer Marker verwandt werden, da unreife Megakaryozyten und Megakaryoblasten auch mit Hilfe des CD34-Antigens detektiert werden können. Zwar ist das CD34-Antigen nicht spezifisch für Megakaryozyten bei MDS, weil es für Megakaryozyten normalerweise negativ ausfällt, jedoch muss man CD34-positive Megakaryozyten als umso deutlicheres Zeichen einer morphologischen Abweichung bzw.

Neoplasie betrachten [Valent, 2010]. Ein großer Teil der Fälle (46,7%) wies in dieser Studie nur geringe bis mäßigen Dysplasieanzeichen auf, 39,3% aller Fälle zeigten schon deutliche Dysplasieanzeichen der Megakaryopoese. Im Vergleich mit der Zellularität stellte sich heraus, dass im hyperzellulären Knochenmark vermehrt auch stärkere Dysplasieanzeichen der Megakaryopoese festgestellt werden konnten ($p=0,002$, s.Tabelle 22). Für das normo- und hypozelluläre Knochenmark zeigte der größte Teil der Fälle (50,0% und 70,6%) nur geringe bis mäßige Dysplasieanzeichen. Die hohe Korrelation zwischen der Dysmegakaryopoese und der Zellularität hebt den Stellenwert der Zellularität als wesentlichen Faktor in der Diagnostik der MDS noch einmal hervor. So kann man vermuten, dass es wahrscheinlicher ist, im hyperzellulären Knochenmark weitere dysplastische Veränderungen zu finden als im normo- oder hypozellulären Knochenmark. Diese Annahme wird zusätzlich durch die Korrelation der Dysmegakaryopoese mit der Anzahl der gezählten Markräume bestätigt ($p=0,022$, s.Tabelle 30, 31). So kann die schlechte Qualität einer Knochenmarkstanze, welche automatisch auch die Anzahl der zu begutachtenden Markräume und somit zu betrachtenden Zellen begrenzt, auch entscheidenden Einfluss auf die Bewertung der Dysmegakaryopoese haben.

Ein weiteres bedeutungsvolles Kriterium der histopathologischen Diagnostik stellt die Begutachtung der Markraumfibrose des Knochenmarks von MDS dar, da sie eine grundlegende Änderung der Markraumarchitektur darstellt [Büsche, 2008]. Nur 15,1% aller Fälle zeigten keinerlei Anzeichen von Fibrose. Der größte Teil der Fälle (69,8%) zeigte geringe Anzeichen von Fibrosierung, 14,3% aller Fälle wiesen schon ausgeprägte Anzeichen einer Fibrosierung auf. Die Myelofibrose gilt als äußerst bedeutsamer Faktor im Bezug auf die Diagnostik, Prognostik und die Behandlung von MDS [Della Porta, 2009; Horny, 2007; Valent, 2010., Büsche, 2008]. Insgesamt ist die Lebenserwartung von Patienten mit Myelofibrose deutlich reduziert und der Krankheitsverlauf scheint aggressiver zu sein. Büsche et al. gehen allerdings so weit zu sagen, dass der prognostische Einfluss unabhängig vom Ausmaß der Myelofibrose ist und die Überlebenszeiten von Patienten mit sehr ausgeprägten Anzeichen der Myelofibrose gegenüber Patienten mit nur fokaler Myelofibrose vergleichbar sei [Büsche, 2008]. In dieser Studie zeigten 84,1% milde oder deutliche Anzeichen der Myelofibrose. Da sich laut Büsche et al. die Prognose in gleichem Maße zu verschlechtern scheint, unabhängig vom

Ausmaß der Fibrosierung, ist eine Differenzierung der einzelnen Abstufungen der Fibrose nicht mehr zwingend notwendig. Dennoch sollte in Fällen mit ausgeprägten Anzeichen der Markraumfibrose erforscht werden, ob andere Umstände Ursache der Veränderungen sind, bzw. eine Differentialdiagnose angestellt werden, in der zum Beispiel eine Splenomegalie oder andere chronisch-myeloproliferative Krankheiten mit in Betracht gezogen werden [Valent, 2010].

Ferner ist in Fällen mit Myelofibrose im Allgemeinen ein höherer Malignitätsgrad in Bezug auf den Subtyp zu erwarten, da Myelofibrose als Anzeichen für eine schon fortgeschrittene Stufe der Krankheit angesehen werden kann. Auch in dieser Studie gibt es Hinweise, die die Annahme eines höheren Malignitätsgrad und Dysplasiegrads zu unterstreichen vermögen. So wurde im Vergleich der Fibrose mit der Dysmegakaryopoese deutlich, dass eine Korrelation zwischen beiden Faktoren besteht und besonders in Fällen mit ausgeprägteren Anzeichen der Dysmegakaryopoese auch der Grad der Fibrosierung anstieg ($p=0,01$, s.Tabelle 26). Dieser Sachverhalt wurde schon durch Aul et al. beobachtet, welche ebenso eine Korrelation zwischen Fibrose und Dysmegakaryopoese bestätigten [Aul, 2002]. Des Weiteren ergab sich eine Korrelation zwischen der Fibrosierung und dem Anteil der CD34-positiven Blasten ($p=0,047$, s.Tabelle 27), besonders für Fälle mit Fibrosegrad 2 gegenüber Fibrosegrad 1. Für die Dysplasieanzeichen im Einzelnen gilt demzufolge, dass ein hoher Fibrosegrad gegenüber einem milden Fibrosegrad auch verstärkt Dysplasiekriterien aufweist. Die Korrelation zwischen Fibrosierung und CD34-positiven Blasten wurde auch durch eine Studie von Büsche et al. belegt [Büschel, 2008].

Die Begutachtung der Erythropoese stellt ein weiteres, wichtiges Kriterium für die histopathologische Diagnostik dar, insbesondere für die Klassifikation der Subtypen der MDS. Der mediane Anteil an Erythropoese an der Gesamtzellularität dieser Studie betrug 30,0%, was auf ein verschobenes Rot-Weiß-Verhältnis zugunsten der Erythropoese hinweist [Germing, 2009]. Laut Germing et al. weisen nahezu alle MDS-Patienten Anzeichen der Dyserythropoese auf. In dieser Studie wiesen 68,0% aller Fälle einen Erythropoeseanteil von 30,0-60,0% auf, was für eine deutliche Verschiebung zur Erythropoese hin steht. Eine Abgrenzung von Fällen, in denen die Verschiebung zur Erythropoese besonders vorherrschend ist, wurde hinsichtlich der Klassifikation schon angeregt, da hier die Frage besteht, ob in diesen Fällen nicht eher eine Erythroleukämie, als ein MDS vorliegt [Valent,

2010]. Vielmehr könnte man diese Fälle einstweilig als MDS-Ery, eine Subkategorie der MDS ansehen [Valent, 2010].

Bei Betrachtung der Dysplasiezeichen zeigte sich außerdem, dass es eine Korrelation zwischen der Erythropoese und der Dysmegakaryopoese gibt. Bei Patienten, die ausgeprägte Anzeichen der Dysmegakaryopoese aufwiesen, wurde gleichzeitig häufiger ein gesteigerter Anteil an Erythropoese festgestellt ($p=0,038$, s. Tabelle 34).

Ebenso prognostisch bedeutungsvoll ist die Bewertung des Eisengehaltes der Retikulumzellen des Knochenmarks. 46,8% aller Fälle wiesen einen erhöhten Eisengehalt, bzw. eine Eisenüberladung auf (Grad 2 und 3). Dies entspricht etwa einer Studie von Germing et al., in der 52,0% aller Fälle einen gesteigerten Eisengehalt aufwiesen [Germing, 2009]. Die Überlebenszeiten variierten in Abhängigkeit vom Eisengehalt stark. Für Patienten, bei denen kein Eisenanteil festgestellt werden konnte, belief sich die Überlebenszeit auf fast 30 Monate. Bei Patienten, die den höchsten Eisenanteil aufwiesen, betrug die Überlebenszeit lediglich die Hälfte (15 Monate, s. Tabelle 35).

Ein Vergleich zwischen zytologischer und histologischer Diagnostik wurde bisher nur in vereinzelt Studien angestellt [Baghikar, 2008; Aul, 2002]. Die Verblindung des Untersuchers und somit die gleichbleibende Qualität der Befundung wurde dadurch gewährleistet, dass lediglich die histopathologischen Schnitte und keine weiteren Patientendaten zum Zeitpunkt der Beurteilung aller Fälle begutachtet wurden. Die histologische Diagnose erfolgte nach der Auswertung der jeweiligen Schnitte und ohne Kenntnis der schon zuvor bestehenden Diagnose. Die zytologische Diagnose wurde aus dem MDS-Register Düsseldorf entnommen. Anschließend wurden beide Diagnosen verglichen. Es zeigte sich, dass eine außerordentlich hohe Korrelation ($p=0,001$) zwischen beiden diagnostischen Methoden besteht (siehe Tabelle 38, 39). Insgesamt stimmten in nur 20 von 152 Fällen (13%) die Diagnosen von Histologie und Zytologie nicht überein. Die hohe Korrelation ist ein Beweis dafür, dass die histologische Diagnostik im Bezug auf MDS nicht, wie zuvor angenommen, zu unpräzise ist und MDS häufig nicht erkannt werden, oder anders eingestuft werden [Baghikar, 2008]. Diese Korrelation zeigt im Gegenteil, dass die diagnostische Genauigkeit der Histologie von MDS vergleichbar ist mit der zytologischen Diagnostik.

Bisher wurde die histologische Diagnostik hauptsächlich für bestimmte Subtypen als akkurat genug beurteilt, wie zum Beispiel für hypoplastische oder fibrotische MDS [Horny, 2007; Baghikar, 2008]. Den Ergebnissen dieser Studie zu folge kann der Histologie jedoch die erforderliche Akkuratessse hinsichtlich aller Subtypen der MDS zugesprochen werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde zur Befundung und Beguachtung die WHO-Klassifikation von 1999 berücksichtigt, da die untersuchten Fälle nach dieser Klassifikation befundet und klassifiziert wurden.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass die Beurteilung der Dysmegakaryopoese, der Zellularität, der CD34-positiven Blasten, der Myelofibrose, der Erythropoese und des Eisengehaltes durch die Histologie bedeutungsvolle Ergebnisse für die diagnostische und prognostische Einordnung der MDS liefern. Auch der Vergleich zwischen zytologischer und histologischer Diagnostik zeigte, dass die Histologie nicht nur im Bezug auf einige Parameter, wie zum Beispiel Zellularität oder Myelofibrose von größter Aussagekraft ist, sonder wichtiger Bestandteil der gesamten Diagnostik, Klassifikation und Prognostik von MDS ist. Daher erscheint eine kombinierte Beurteilung von MDS sowohl durch die Histologie als auch durch die Zytologie die optimale Methode zu sein, um das doch sehr heterogene Krankheitsbild der MDS von allen Seiten beleuchten zu können und im Hinblick auf alle Eigenschaften und Parameter des Krankheitsbildes das zuverlässigste Ergebnis erstellen zu können.

Die kombinierte Beurteilung von MDS unter Zuhilfenahme der histologischen sowie zytologischen Diagnostik stellt den Hauptvorteil dieser Arbeit dar, da es bis jetzt an wissenschaftlichen Arbeiten mangelt, die eben diesen Vergleich in Bezug auf die Diagnostik von MDS beleuchten. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass eine sehr große Korrelation zwischen beiden diagnostischen Herangehensweisen besteht. Diese Erkenntnis wurde bis heute in keiner anderen Studie so klar herausgearbeitet.

6 Schlussfolgerungen

Bis heute gehört die histologische Begutachtung des Knochenmarks nicht zu den diagnostischen Standardverfahren im Bezug auf MDS, da noch immer die Zytologie im Zentrum der Diagnostik von MDS steht. Grundlage dieser Arbeit war die histologische Untersuchung von MDS, einschließlich aller diagnostischen und prognostischen Parameter. Die Daten zur Ermittlung des Patientenkollektivs entstammen dem MDS-Register Düsseldorf. Insgesamt wurden Knochenmarkstanzen von 152 Patienten untersucht. Daraufhin wurden folgende histologische Parameter für jeden Fall ermittelt: Zellularität, Anteil der CD34-positiver Progenitorzellen, Myelofibrose, Dysmegakaryopoese, Eisengehalt und Anteil der Erythropoese. Um die diagnostische und prognostische Relevanz der einzelnen Parameter zu ermitteln wurden diese untereinander verglichen und mit Überlebenszeiten korreliert. Außerdem wurde ein Vergleich zwischen histologischer und zytologischer Diagnose durchgeführt, um die diagnostische und prognostische Relevanz der Histologie im Bezug auf MDS zu ermitteln.

In dem vorliegenden Kollektiv hatten 16 Patienten eine RA (10,5%), 17 Patienten eine RSCMD (11,2%), 3 Patienten eine RARS (2,0%) und 13 Patienten eine RCMD (8,6%). Bei insgesamt 17 Patienten (11,2%) lag eine RAEB I, bei 28 Patienten (18,4%) lag eine RAEB II vor. Ganze 24 Patienten (15,8%) litten an einer CMML I und nur 9 Patienten (5,9%) litten an einer CMML II. Bei 25 weiteren Patienten (16,4%) handelte es sich um eine RAEB-T. Die mediane Überlebenszeit betrug für alle *WHO*-Gruppen 21 Monate. Die klassischen niedrig-Risiko Gruppen wie RA und RCMD wiesen die längsten Überlebenszeiten (58 und 48 Monate) auf. Insgesamt korrelierte die Überlebenszeit stark mit den Risikogruppen des IPSS ($p=0,014$, siehe Tabelle 16).

Die Zellularität kann im Rahmen der histologischen Diagnostik äußerst genau bestimmt werden. Ihre prognostische Relevanz konnte im Vergleich mit anderen histologischen Parametern unter Beweis gestellt werden. Eine hohe Korrelation konnte sowohl mit dem Anteil der CD34-positiven Progenitorzellen im Knochenmark ($p=0,03$), als auch mit dem Grad der Dysmegakaryopoese ($p=0,002$) festgestellt werden. Der diagnostische und prognostische Stellenwert der Zellularität im Bezug auf MDS und die Notwendigkeit der korrekten

Bestimmung dieser durch die Histologie wird somit unterstrichen. So kann eine erhöhte Zellularität direkter Hinweis auf weitere dysplastische Veränderungen im Knochenmark sein. Über die Hälfte der Patienten (59%) dieser Studie zeigte ein hyperzelluläres Knochenmark. Einer der Kernpunkte der histologischen Untersuchung ist die Beurteilung des Fasernetzwerkes bei MDS-Patienten. 14,3% aller Fälle dieser Studie zeigten ausgeprägte Anzeichen der Myelofibrose. Die Überlebenszeiten dieser Patienten (14 Monate) waren gegenüber Patienten ohne Anzeichen der Myelofibrose (23 Monate) deutlich kürzer. Auch andere prognostisch ungünstige Faktoren, wie dysplastische Veränderungen der Megakaryopoese ($p=0,01$) und ein gesteigerter Anteil an CD34-positiven Progenitorzellen ($p=0,013$), konnten bei Patienten mit sehr ausgeprägter Myelofibrose häufiger festgestellt werden. Ein weiterer wichtiger Faktor in der histologischen Untersuchung ist die Begutachtung der Dysmegakaryopoese. Die Dysmegakaryopoese korrelierte mit der Erythropoese. Patienten mit erhöhtem Dysplasiegrad der Megakaryopoese wiesen somit einen ebenfalls erhöhten Anteil an Erythropoese im Knochenmark auf ($p=0,038$).

Das wohl wichtigste Ergebnis dieser Arbeit ergab sich aus dem Vergleich der histologischen und zytologischen Diagnosen aller Fälle. Es konnte eine überaus hohe Korrelation zwischen beiden diagnostischen Methoden festgestellt werden ($p=0,0001$). Zusammenfassend ist zu sagen, dass durch die Histologie bedeutungsvolle Faktoren wie die Zellularität, die Myelofibrose, die Dysmegakaryopoese sowie der CD34-positive Progenitorzellanteil zuverlässig eingeschätzt werden können. Die prognostische Relevanz der genannten Parameter wurde in dieser Studie nachgewiesen. Aufgrund dieser Ergebnisse könnte sich die Rolle der Histopathologie in Bezug auf die Diagnostik von MDS in Zukunft weiter konsolidieren. Somit erscheint eine kombinierte Diagnostik mit Histologie und Zytologie die Methode der Wahl für eine korrekte Diagnosestellung und Klassifikation der MDS.

Literaturverzeichnis

Aul C, Gattermann N, Heyll A, Germing U: Primary myelodysplastic syndromes: Analysis of prognostic factors in 235 patients and proposals for an improved scoring system. *Leukemia*

Aul C, Giagounidis A, Germing U: Application of Single and Multiple Prognostic Factors in the Assessment of Patients with the Myelodysplastic Syndromes. *Basic and Clinical Oncology* 27, *The Myelodysplastic Syndromes*, Bennett JM, **2002**

Baghikar S: Vergleichende Untersuchung zur Zytomorphologie und Histomorphologie bei Myelodysplastischen Syndromen. Düsseldorf, **2008**

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* 51: 189-199, **1982**

Bennett JM: The World Health Organisation (WHO) classification of the acute leukemias and the myelodysplastic syndromes. *Intern J Hematol* 72: 131-133, **2000**

Bennett JM: A comparative review of classification systems in myelodysplastic syndromes (MDS). *Semin Oncol* 32:3-10, **2005**

Büsche G, Theoman H, Wilczak W, Ganser A, Hecker H, Wilkens L, Göhring G, Schelgelberger B, Bock O, Georgii A, Kreipe H: Marrow fibrosis predicts early fatal marrow failure in patients with myelodysplastic syndromes, *Leukemia* 22: 313-322, **2008**

Cesana C, Klersy C, Brando B, Nosari A, Scarpati B, Scampini L, Molenti A, Nador G, Santoleri L, Formenti M, Valentini M, Mazzone A, Morra E, Cairoli R: Prognostic value of circulating CD34+ cells in myelodysplastic syndromes. *Leukemia Research* 32: 1715-1723, **2008**

Della Porta MG, Malcovati L, Boveri E, Travaglino E, Pietra D, Pascutto C, Passamonti F, Invernizzi R, Castello A, Magrini U, Lazzarino M, Cazzola M: Clinical Relevance of Bone Marrow Fibrosis and CD34-Positive Cell Clusters in Primary Myelodysplastic Syndromes. *Journal of Clinical Oncology* 27, 5, **2009**

Della Porta MG, Malcovati L, Strupp C, Ambaglio I, Kuendgen A, Zipperer E, Travaglino E, Invernizzi R, Pascutto C, Lazzarino M, Germing U, Cazzola M: Risk stratification based on both disease status and hematologic comorbidities in patients with myelodysplastic syndromes. *Haematologica* 96(3): 441-449, **2011**

Germing U, Gatterman N, Strupp C, Aivado M, Hossfeld DK, Haas R, Aul C: Myelodysplastische Syndrome, Neue WHO-Klassifikation und Aspekte zur Pathogenese, Prognose und Therapie. *Dt Ärztebl.* 36,98: A 2272–2278, **2001**

Germing U, Strupp C, Giagounidis A: Clinical features and prognosis of patients with myelodysplastic syndromes; *Cancer Treatment Reviews* 33: 15– 18, **2007**

Germing U, Strupp C: Zytomorphologie der Myelodysplastischen Syndrome. Myelodysplastische Syndrome, Bilanz des aktuellen Wissens, Germing U, Haas R. :13-32, 2009

Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, Fenaux P, et al: International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. Blood 89: 2079-2088, 1997

Gupta G, Singh R, Kotasthane DS, Kotasthane VD: Myelodysplastic syndromes/neoplasms: recent classification system based on WHO Classification of Tumors- International Agency of Research on Cancer for Hematopoietic and Lymphoid Tissues. Journal of Blood Medicin 1: 171-182, 2010

Haase D, Germing U, Schanz J, Pfeilstöcker M, Nösslinger T, Hildebrandt B, Kundgen A, Lübbert M, Kunzmann R, Giagounidis AA, Aul C, Trümpner L, Kriger O, Stauder R, Müller TH, Wilmazal F, Valent P, Fonatsch C, Steidl C: New insights into the prognostic impact of the karyotype i MDS and correlation with subtypes: evidence from a core dataset of 2124 patients Blood.110: 4385-4395, 2007

Horny HP, Sotlar K, Valent P: Diagnostic value of histology and immunohistochemistry in myelodysplastic syndromes. Leukemia Research 31: 1609-1616, 2007

Malcovati I, Germing u, Kuendgen A, et. al.: Time-dependant Scoring System for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes. J Clin Oncol 25: 3503-10, 2007

Mufti GJ: Chromosomal deletions in the myelodysplastic syndrome. Leukemia Research, Vol. 16: 35-41, 1992

Mufti GJ, Bennett JM, Goasguen J, Bain BJ, Baumann I, Brunning R, Cazzola M, Fenaux P, Germing U, Hellström-Lindberg E, Jinnai I, Manabe A, Matsuda A, Niemeyer CM, Sanz G, Tomonaga M, Vallespi T, Yoshimi A: Diagnosis and classification of myelodysplastic syndrome: International Working Group on Morphology of myelodysplastic syndromes (IWGM-MDS) consensus proposals for the definition and enumeration of myeloblasts and ring sideroblasts. Haematologica 93: 1712-17171, 2008

Neukirchen J, Schoonen WM, Strupp C, Gattermann N, Aul c, Haas R, Germning U: Incidence and prevalence of Myelodysplastic Syndromes; Data from the Düsseldorf MDS-Registry. Leukemia Research 35: 1591-1596, 2011

Pirruccello SJ, Young KH, Aoun P: Myeloblast Phenotypic Changes in Myelodysplasia. Am J Clin Pathol 125: 884-894, 2006

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 74: 395-408, 1989

Schäfer H: Die Expression von KiS1 und Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) in Knochenmarksmakrophagen, Köln, 1998

Schmitt G: Onkologie systematisch, Diagnostik und Therapie maligner Tumoren: 73-79, **1999**

Starke C: Diagnostische und prognostische Bedeutung der Morphologie beim Myelodysplastischen Syndrom. Düsseldorf, **2010**

Valent P, Hofmann WK, Büsche G, Sotlar K, Horny HP, Haase D, Haferlach T, Kern W, Bettelheim P, Baumgartner C, Sperr W, Nösslinger T, Wimazal, Giagounidis A, Lübbert M, Krieger O, Kolb HJ, Stauder R, Pfeilstöcker M, Gattermann N, Fonatsch C, Aul C, Germning U: Meeting report: Vienna 2008 Workshop of the German-Austrian Working Group for Studying Prognostic Factors in Myelodysplastic syndromes. *Ann Hematol* 88:607-611, **2009**

Valent P, Orazi A, Büsche G, Schmitt-Gräff A, George T, Sotlar K, Streubel B, Beham-Schmid C, Cerny-Reiterer S, Krieger O, van de Loosdrecht A, Kern W, Ogata K, Wimazal F, Csomor J, Várkonyi J, Sperr WR, Werner M, Kreipe H, Horny HP: Standards and Impact of Hematopathology in Myelodysplastic Syndromes (MDS). *Oncotarget* 1: 483 – 496, **2010**

Van den Berghe H, Vermaelen K, Mecucci C: The 5q anomaly. *Cancer Genet. Cytogenet.* 17: 189-255, **1985**

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Therapieoptionen beim Myelodysplastischen Syndrom, nachempfunden aus Onkopedia Leitlinie MDS, Stand Februar 2013: W-K. Hofmann, U. Platzbecker, K. Götze, R. Stauder, J. Passweg, U. Germing,

Abbildung 2: Graphische Darstellung der Überlebensdauer innerhalb der einzelnen Kategorien der *WHO*-Klassifikation

Abbildung 3: Graphische Darstellung der Überlebensdauer innerhalb der Risikogruppen des *IPSS*

Danksagung

Herrn Professor Dr. H. E. Gabbert danke ich für die Möglichkeit in dem Institut für Pathologie die Promotion anfertigen zu dürfen.

Mein besonderer Dank für die konstruktive Zusammenarbeit, die wissenschaftliche Unterstützung und Inspiration gilt außerdem Herrn Professor Dr. S. E. Baldus, Herrn Prof. Dr. U. Germing sowie Herrn Prof. Dr. M. Anlauf.

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation selbständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erstellt worden ist und die hier vorgelegte Dissertation nicht von einer anderen medizinischen Fakultät abgelehnt worden ist.

23.06.2013, Rosa Marie Faoro