

Aus der Klinik der Hämatologie, Onkologie und
klinischen Immunologie

der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Herr Univ.-Prof. Dr. med. Rainer Haas

Klonale Evolution und Prognose bei MDS-Patienten
und die Bedeutung von Subklonen

Dissertation

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

vorgelegt von:

Ann-Christin Nolting

2018

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

gez.:

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Ulrich Germing

Zweitgutachterin: Prof. Dr. med. Martina Rudelius

Zusammenfassung

Bislang existieren wenige Arbeiten, die den Einfluss chromosomaler Veränderungen, die im Krankheitsverlauf bei Patienten mit myelodysplastischen Syndromen (MDS) auftreten können, untersucht haben. Daher ist das Ziel dieser retrospektiven Arbeit, den Zusammenhang zwischen der klonalen Evolution und der Länge des progressionsfreien Intervalls sowie der Überlebenszeit anhand einer größeren Patientengruppe zu analysieren. Des Weiteren soll ermittelt werden, ob das Vorkommen eines Subklons Auswirkungen auf die Prognose der hiervon betroffenen Patienten hat. Es werden die Daten von 572 MDS-Patienten aus dem Düsseldorfer MDS-Register, von denen mindestens zwei zytogenetische Untersuchungen vorliegen, statistisch ausgewertet.

Die Auswertung der Daten belegt, dass das Auftreten einer klonalen Evolution mit einem kürzeren Überleben und einem kürzeren progressionsfreien Intervall korreliert. Dabei haben vor allem Patienten in einem fortgeschrittenen Krankheitsstadium die Tendenz dazu, chromosomale Aberrationen auszubilden. Betrachtet man allerdings nur die Patienten, die eine akute myeloische Leukämie (AML) entwickeln, so ist kein statistisch signifikanter Zusammenhang mehr zwischen der klonalen Evolution und dem Überleben zu konstatieren. Zusätzlich wird deutlich, dass ein Zusammenhang zwischen dem Zeitpunkt des Progresses und der Prognose besteht, da bei den Patienten, die spät eine chromosomale Veränderung aufweisen, ein längeres Überleben festzustellen ist. Die univariate Analyse der Daten der Patienten mit Subklon zeigt auf, dass sich das Überleben signifikant verkürzt, sobald ein Subklon auftritt. Auch das progressionsfreie Intervall stellt sich kürzer dar.

Bernasconi et al. zeigten bei einer wesentlich kleineren Patientengruppe, dass chromosomale Aberrationen einen Einfluss auf die Prognose haben (Bernasconi et al., 2010). Diese Aussage bestätigend wird hier allerdings darüber hinaus deutlich, dass der Progress an sich, der Zeitpunkt des Progresses und das Vorkommen von Subklonen wichtige Faktoren bei der Prognosebestimmung sind. Durch die hier dargestellten Zusammenhänge könnte die Diskussion angeregt werden, ob man bei Patienten, die nach dem Therapiealgorithmus eigentlich keine intensive Therapie erhalten, eine solche früher als bisher in Betracht ziehen sollte.

Summary

Up to now, only few research papers have studied the influence of chromosomal changes which can appear in patient's course of disease with myelodysplastic syndrome (MDS). Therefore the goal of this retrospective paper is to analyse the correlation between clonal evolution and the length of the progression-free interval as well as the survival time based on a larger group of patients. An additional goal is to find out if the presence of a subclone affects the prognosis of the impacted patients. The data of 572 MDS patients from the Düsseldorf MDS register, of which there are at least two cytogenetic examinations, is statistically evaluated.

The evaluation of the data proves the correlation between a clonal evolution and a short survival span as well as a shorter progression-free interval. Especially patients in an advanced stage of disease have the tendency of developing chromosomal aberrations. However, in case of focussing only on the patients that have developed an acute myeloid leukemia (AML) a statistically significant correlation between the clonal evolution and the survival can no longer be stated. In addition it becomes evident that there is a connection between the time of the progress and the prognosis, because patients who show a late chromosomal change survived longer. The univariate analysis of the data of patients with subclone points out that the survival rate decreases significantly as soon as a subclone occurs. The progression-free interval is also shorter.

Bernasconi et al. showed that chromosomal aberrations have an influence on the prognosis based on a significantly smaller group of patients (Bernasconi et al., 2010). Confirming this statement it additionally becomes evident that the progress itself, the time of progress and the occurrence of subclones are important factors for the determination of the prognosis. The coherences presented in this case could encourage a discussion as whether or not patients, who according to the therapy algorithm do not receive an intensive therapy, should receive such a therapy sooner than considered up to now.

Abkürzungsverzeichnis

abnl(17p)	Abnormalitäten des 17. Chromosoms
AML	akute myeloische Leukämie
BSC	<i>best supportive care</i>
CI	Konfidenzintervall
CMML I / II	chronische myelomonozytäre Leukämie I / II
del(5q) / 5q	Deletion auf dem langen Arm des 5. Chromosoms
del(20q)	Deletion auf dem langen Arm des 20. Chromosoms
DNS	Desoxyribonukleinsäure
ED	Erstdiagnose
ELN	<i>European LeukemiaNet</i>
FAB-Klassifikation	<i>French-American-British-Klassifikation</i>
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
G-CSF	<i>granulocyte colony stimulating factor</i>
g/dl	Gramm pro Deziliter
HR	<i>Hazard Ratio</i>
Hb-Wert	Hämoglobin-Wert
IPSS	<i>International Prognostic Scoring System</i>
IPSS-R	<i>Revised International Prognostic Scoring System</i>
LDH	Lactat-Dehydrogenase
MDS	myelodysplastisches Syndrom
MDS-U	unklassifiziertes myelodysplastisches Syndrom
NCCSS	<i>New Comprehensive Cytogenetic Scoring System for primary myelodysplastic syndromes</i>
/nl	pro Nanoliter
n. r.	<i>not reached</i>
RA	refraktäre Anämie

RAEB I	refraktäre Anämie mit Blastenexzess I
RAEB II	refraktäre Anämie mit Blastenexzess II
RAEB-T	RAEB in Transformation
RARS	refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten
RCMD	refraktäre Zytopenie mit multilinearer Dysplasie
RCUD	refraktäre Zytopenie mit unilinearen Dysplasien
RN	refraktäre Neutropenie
RT	refraktäre Thrombozytopenie
<i>WHO</i>	<i>World-Health-Organization</i>
<i>WPSS</i>	<i>WHO-classification based prognostic scoring system</i>
-Y	Deletion des Y-Chromosoms

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abb. 1:	Geschlecht und Altersgruppenzugehörigkeit der Patienten bei ED	15
Abb. 2:	Anzahl der Patienten mit einem aberranten und einem normalen Karyotyp .	19
Abb. 3:	Art der Karyotypänderung	20
Abb. 4:	<i>NCCSS</i> -Klassifikation vor dem Karyotypprogress	21
Abb. 5:	<i>NCCSS</i> -Klassifikation zum Zeitpunkt des Karyotypprogresses	21
Abb. 6:	Kaplan-Meier-Plot mit kumulativer Überlebenswahrscheinlichkeit der Patienten mit bzw. ohne Karyotypprogress.....	24
Abb. 7:	Kaplan-Meier-Plot mit kumulativer Wahrscheinlichkeit des AML-Übergangs der Patienten mit bzw. ohne Karyotypprogress	26
Abb. 8:	Die kumulative Inzidenz klonaler Evolution im Hinblick auf die Zeit in Jahren ab ED	28
Abb. 9:	Die Verteilung der <i>BSC</i> -Patienten in die einzelnen <i>NCCSS</i> -Kategorien bei ED und bei Progress	29
Abb. 10:	Die Überlebenszeit in Jahren ab dem Zeitpunkt des Karyotypprogresses	32
Abb. 11:	Kaplan-Meier-Plot mit kumulativer Wahrscheinlichkeit des AML-Übergangs der <i>BSC</i> -Patienten mit bzw. ohne Karyotypprogress	33
Abb. 12:	Überleben der Patienten mit und ohne Subklon bei ED in Jahren	35
Tabelle 1:	<i>WHO</i> -Klassifikation myelodysplastischer Syndrome entsprechend der Einteilung von 2008	3
Tabelle 2:	<i>IPSS</i> nach Greenberg (Greenberg et al., 1997).....	4
Tabelle 3:	Medianes Überleben und die mediane Zeit, bis 25 % der Patienten einen AML-Übergang zeigen für die verschiedenen Risikogruppen nach <i>IPSS</i> ..	5
Tabelle 4:	<i>NCCSS</i> nach Schanz (Schanz et al., 2012)	6
Tabelle 5:	<i>IPSS-R</i> nach Greenberg (Greenberg et al., 2012).....	6
Tabelle 6:	Das mediane Überleben und die mediane Zeit, bis 25 % der Patienten einen AML-Übergang zeigen für die verschiedenen Risikokategorien nach <i>IPSS -R</i> (Greenberget al., 2012)	6
Tabelle 7:	<i>WPSS</i> nach Malcovati (Malcovati et al., 2007)	7
Tabelle 8:	Geschlechterverteilung sowie <i>WHO</i> , <i>IPSS</i> und <i>IPSS-R</i> bei ED	16
Tabelle 9:	Anzahl der Knochenmarkanalysen.....	17
Tabelle 10:	Verteilung der chromosomalen Veränderungen nach <i>NCCSS</i>	17
Tabelle 11:	Verteilung der <i>NCCSS</i> -Kategorien entsprechend der Einteilung nach <i>WHO</i> und <i>IPSS-R</i>	18
Tabelle 12:	Die Art der Änderung des Karyotyps im Hinblick auf die Einordnung mittels <i>IPSS-R</i>	22
Tabelle 13:	Die Art der Änderung des Karyotyps im Hinblick auf die Einordnung mittels <i>NCCSS</i>	22
Tabelle 14:	Die angewandten Therapien in der Übersicht und die jeweilige Art der Änderung des Karyotyps im Verlauf.....	23
Tabelle 15:	Überleben der Patienten mit klonaler Evolution im Hinblick auf die	

	<i>NCCSS</i> -Kategorie	24
Tabelle 16:	Geschlechterverteilung sowie <i>WHO</i> , <i>NCCSS</i> und <i>IPSS-R</i> der <i>BSC</i> - Patienten.....	27
Tabelle 17:	Kumulative 5-Jahres Inzidenz der klonalen Evolution in Abhängigkeit von statistisch signifikanten Kovariablen.....	30
Tabelle 18:	Univariate Analyse von Faktoren bezüglich des Gesamtüberlebens der <i>BSC</i> -Patienten.....	31
Tabelle 19:	Überleben der <i>BSC</i> -Patienten mit klonaler Evolution im Hinblick auf die <i>NCCSS</i> -Kategorie	32
Tabelle 20:	<i>WHO</i> , <i>IPSS-R</i> und <i>NCCSS</i> der Patienten mit Subklon.....	35
Tabelle 21:	Die mediane Überlebenszeit der Patienten mit und ohne Subklon unter dem Aspekt der Zuordnung in die verschiedenen <i>WHO</i> -, <i>IPSS</i> - und <i>IPSS-R</i> -Kategorien.....	36
Tabelle 22:	Multivariate Analyse von Faktoren bezüglich des Einflusses auf die AML- Progression	37

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	I
Summary	II
Abkürzungsverzeichnis	III
Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	V
Inhaltsverzeichnis	VII
1. Einleitung	1
1.1 MDS: Definition, Ätiologie und Epidemiologie	1
1.2 Pathogenese	1
1.3 Klassifikationen	2
1.4 Prognosescores	3
1.4.1 <i>International Prognostic Scoring System (IPSS) / Revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R)</i>	4
1.4.2 <i>WPSS</i>	7
1.5 Subklone	7
1.6 Therapie	8
1.7 Fragestellung und Ziele der Arbeit	9
2. Material und Methoden	11
2.1 Datenerhebung	11
2.2 Statistik	13
3. Ergebnisse	14
3.1. Patientencharakteristika	14
3.2. Klonale Evolution	18
3.2.1 Die Art der klonalen Evolution	19
3.2.2 Der Einfluss der klonalen Evolution auf die Überlebenszeit und die Zeit bis zum AML-Übergang	23
3.3 <i>BSC</i> -Patienten	26
3.3.1 Klonale Evolution	27
3.3.2 Einfluss der klonalen Evolution auf die Überlebenszeit und die Zeit bis zum AML-Übergang	30
3.4 Einfluss von Subklonen auf die Prognose von MDS-Patienten	33
3.4.1 Deskriptive Statistik	33
3.4.2. Einfluss des Vorkommens von Subklonen auf die Überlebenszeit und die Zeit bis zum AML-Übergang	35

4. Diskussion.....	38
5. Literatur- und Quellenverzeichnis	46

1. Einleitung

1.1 MDS: Definition, Ätiologie und Epidemiologie

MDS sind eine heterogene Gruppe erworbener klonaler Stammzellerkrankungen, die Dysplasiezeichen in allen drei Zelllinien (Erythropoese, Granulopoese und Thrombozytopoese) zeigen können (Germing et al., 2013b). Sie kommen häufiger im hohen Lebensalter und bei dem männlichen Geschlecht vor (Neukirchen et al., 2011) und weisen charakteristischerweise periphere Zytopenien, insbesondere Anämien, auf (Germing et al., 2013a). Je nach Subtyp der Erkrankung zeigt sich ein niedrigeres oder höheres Risiko einer Progression in eine AML. Bei 50-60 % der betroffenen Patienten lassen sich bei Erstdiagnose chromosomale Aberrationen nachweisen (Germing et al., 2013b).

MDS zeigen eine Inzidenz von 4,15 pro 100.000 Personen pro Jahr, wobei das mediane Alter bei Erstdiagnose (ED) 70 Jahre beträgt (Neukirchen et al., 2011). Sie lassen sich in die primäre (idiopathische) Form, die in 90 % der Fälle auftritt und die sekundäre (therapieassoziierte) Form, die in 10 % der Fälle auftritt, unterscheiden. Letztere zeigt eine höhere Wahrscheinlichkeit, in eine AML überzugehen und wesentlich kürzere Überlebenszeiten der betroffenen Patienten (Aul et al., 1995). Die primäre Form tritt de novo auf, wobei kein ursächliches Ereignis der Erkrankung vorauszugehen scheint; die sekundäre hingegen lässt sich mit dem Kontakt mit ionisierender Strahlung (West et al., 1995), der Exposition gegenüber alkylierten Substanzen oder dem Kontakt mit Berufs- und Umweltkarzinogenen, wie z.B. halogenierten Stoffen oder Metallen, erklären (Aul et al., 1998).

1.2 Pathogenese

Die Pathogenese der MDS ist noch nicht abschließend geklärt. Studiendaten zeigen, dass die Evolution der Erkrankung mit einer Ansammlung von chromosomalen Aberrationen und damit genetischer Instabilität einhergeht (Bernasconi et al., 2010). Die Pathogenese scheint klassisch mehrstufig abzulaufen, wobei ein - bis dato noch unbekanntes - Ereignis die hämatopoietische Stammzelle genetisch schädigt. In Frage kommen dafür u.a. defekte Desoxyribonukleinsäure-Reparatursysteme (DNS-Reparatursysteme), freie Sauerstoffradikale oder Dysfunktionen des

Immunsystems. Der aberrante Klon, der nun wachstumsbegünstigt ist, vermehrt sich klonal und es zeigt sich dabei eine ineffektive Hämatopoiese, welche mit einer stark erhöhten Apoptoserate einhergeht. Eine maligne Veränderung des Klons kann folgen, welche dann zum AML-Progress führt (Aul et al., 1998).

1.3 Klassifikationen

1982 wurde die erste Klassifikation der MDS von der *French-American-British (FAB) Cooperative Group* vorgeschlagen, um eine einheitliche Diagnose und damit auch die Therapie und die Prognosevorhersage der Erkrankung zu erleichtern. Die Einteilung richtet sich primär nach zytomorphologischen Kriterien, der Blastenanzahl im peripheren Blut und im Knochenmark, der Anzahl der Ringsideroblasten und der absoluten Monozytenzahl im peripheren Blut. Es zeigte sich, dass viele Patienten von der *FAB*-Klassifikation nicht erfasst wurden oder der Krankheitsverlauf in den einzelnen Untergruppen zu heterogen war, was schließlich im Jahre 2000 dazu führte, dass sie von der *World-Health-Organization*-Klassifikation (*WHO*-Klassifikation) abgelöst wurde (Bennett, 2000, Bennett et al., 1982). Die Bemühungen richteten sich auf die Einbeziehung weiterer Parameter in die *WHO*-Klassifikation, um dann Aussagen über die Prognose, das Überleben sowie die Progressionswahrscheinlichkeit treffen zu können, ohne dabei eine zu komplizierte und klinisch nicht durchführbare Einteilung zu schaffen (Germing and Kündgen, 2012). Die Aussagekraft der Klassifikation wurde validiert (Germing et al., 2000), wobei sie stetig aktualisiert und angepasst wird. Im Jahr 2016 wurde erneut eine aktuelle Einteilung veröffentlicht, mit deren Anwendung die MDS-Erkrankung unter besonderer Berücksichtigung der spezifischen Zytopenie einem MDS-Subtyp zugeordnet werden kann (Arber et al., 2016).

In der *WHO*-Klassifikation von 2008 (siehe Tabelle 1) wurde erstmals eine Chromosomenaberration (Deletion auf dem langen Arm des 5. Chromosoms (del(5q))) berücksichtigt und einhergehend die einzelnen Subtypen des MDS verfeinert. Außerdem wurden neue Kriterien für die AML-Diagnose herangezogen, so dass ab einem Anteil von 20 % Blasten im Knochenmark eine solche gestellt wird. Die Zuordnung zu einem der MDS-Subtypen lässt eine erste Prognoseeinschätzung zu. Patienten mit einer del(5q) zeigen im Median eine Überlebenszeit von zirka 6 Jahren, die mit unilinearen Veränderungen von ungefähr 5 Jahren und die mit multilinearen von nur 3 Jahren. Die refraktäre Anämie mit Blastenexzess I (RAEB I) und die refraktäre

Anämie mit Blastenexzess II (RAEB II) zeigen mit 1,6 und 1 Jahr im Median kürzere Überlebenszeiten (Germing et al., 2006, Germing et al., 2008).

MDS-Subtyp	peripheres Blut	Blasten im Knochenmark	Sonstiges
Refraktäre Zytopenie mit unilinearen Dysplasien (RCUD)	Uni- oder Bizytopenie, < 1 % Blasten	< 5 %	a) Refraktäre Anämie (RA) b) Refraktäre Thrombozytopenie (RT) c) Refraktäre Neutropenie (RN)
Refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten (> 15 %) (RARS)	Anämie, < 1 %	< 5 %	
Refraktäre Zytopenie mit multilinearen Dysplasien (RCMD)	Bi- oder Panzytopenie, < 1 % Blasten	< 5 %	
MDS mit del(5q) Refraktäre Zytopenie mit isolierter Deletion des 5. Chromosoms	Uni-, Bi- oder Panzytopenie, < 1 % Blasten	< 5 %	
Unklassifiziertes MDS (MDS-U)	≤ 1 % Blasten	< 5 %	a) RCUD mit Panzytopenie b) RCUD und RCMD mit 1 % peripheren Blasten c) minimale Dysplasien mit klonalem zytogenetischen Befund
Refraktäre Anämie mit Blastenexzess I (RAEB I)	< 5 % Blasten	< 10 %	
Refraktäre Anämie mit Blastenexzess II (RAEB II)	< 20 % Blasten	< 20 %	

Tabelle 1: *WHO*-Klassifikation myelodysplastischer Syndrome entsprechend der Einteilung von 2008

1.4 Prognosescores

Um die Prognose von MDS-Patienten besser einschätzen zu können und um daraus auch Hilfestellungen für die Beurteilung einer Therapieindikation ableiten zu können, wurden verschiedene Prognosescores entwickelt. Zu den prognostisch bedeutsamen Faktoren gehören hämatologische Parameter (z. B. der Hämoglobinwert), morphologische Faktoren (die Blastenanzahl in Knochenmark und Blut), die Zytogenetik, der Lactat-Dehydrogenase-Wert (LDH-Wert) und patientenspezifische

Faktoren (z.B. Komorbiditäten, Alter und Geschlecht) usw. (Germinig et al., 2008). Das Ziel dieser *Scoring*-Systeme ist es, Patienten mit einem niedrigen Risiko von denen mit einem hohen Risiko zu unterscheiden und somit ein entweder abwartendes oder aber ein invasives Vorgehen in der Therapie rechtfertigen zu können (Germinig et al., 2013b).

Retrospektive Untersuchungen zeigen, dass ein Ansteigen der Blastenzahl und Dysplasien in mehreren Zellreihen (im Vergleich zu unilinearen Dysplasien) häufiger in einer kürzeren medianen Überlebenszeit resultieren. Ein AML-Progress wird wahrscheinlicher, wenn die Blastenzahl über 5 % steigt oder zusätzliche chromosomale Aberrationen in Erscheinung treten (Germinig et al., 2008).

1.4.1 International Prognostic Scoring System (IPSS) / Revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R)

Der *IPSS* wurde 1997 veröffentlicht und berücksichtigt die klassischen prognostischen Faktoren, wie die Anzahl und Schwere der Zytopenien, den Anteil der Knochenmarkblasten und zytogenetische Aberrationen.

Die chromosomalen Aberrationen werden in eine Gruppe „*good*“ (Deletion des Y-Chromosoms (-Y), del(5q), Deletion auf dem langen Arm des 20. Chromosoms (del(20q))), „*poor*“ (mehr als drei oder genau drei Anomalien) und „*intermediate*“ (alle anderen Aberrationen) unterteilt. Jeder prognostische Parameter wird, je nach Ausprägung, mit einer Zahl bewertet, welche dann, mit den anderen addiert, den Patienten einer Risikokategorie zuordnet. Die Patienten der einzelnen Risikogruppen weisen ein unterschiedliches medianes Überleben und ein unterschiedliches Risiko des AML-Übergangs auf (Greenberg et al., 1997) (siehe nachfolgend Tabellen 2 und 3).

prognostischer Parameter	Score				
	0	0,5	1	1,5	2
medullärer Blastenanteil	< 5 %	5-10 %	-	11-20 %	21–30 %
Karyotyp	<i>good</i>	<i>intermediate</i>	<i>poor</i>		
Anzahl der Zytopenien*	0 / 1	2 / 3			

Tabelle 2: *IPSS* nach Greenberg (Greenberg et al., 1997)

* Hämoglobin < 10 Gramm pro Deziliter (g/dl), Neutrophile < 1,8 pro Nanoliter (/nl), Thrombozyten < 100 /nl

Risikogruppe	Punkte	medianes Überleben (in Jahren)	mediane Zeit, bis 25 % der Patienten einen AML-Übergang zeigen (in Jahren)
<i>low</i>	0	5,7	9,4
<i>intermediate 1</i>	0,5-1	3,5	3,3
<i>intermediate 2</i>	1,5-2	1,2	1,1
<i>high</i>	≥ 2,5	0,4	0,2

Tabelle 3: Medianes Überleben und die mediane Zeit, bis 25 % der Patienten einen AML-Übergang zeigen für die verschiedenen Risikogruppen nach *IPSS*

Für die gängigen chromosomalen Aberrationen ist der *IPSS* heute noch gut anwendbar, für die selteneren zytogenetischen Veränderungen und die vielen unterschiedlichen Kombinationen derselben hat er jedoch keine ausreichende prognostische Aussagekraft (Haase et al., 2007); so können damit nur 86 % der chromosomalen Aberrationen zugeordnet werden, 14 % fallen in die Kategorie „andere Aberrationen“ (Schanz et al., 2012). Des Weiteren werden bei der Bewertung mittels *IPSS* Faktoren, wie zum Beispiel die Existenz multilinearer Dysplasien, die eventuelle Transfusionsabhängigkeit oder die Schwere einer Thrombozytopenie, die besonders bei Niedrigrisikopatienten einen Einfluss auf die Prognose haben können, nicht berücksichtigt (Fenaux and Ades, 2013).

Der *IPSS* wurde deshalb überarbeitet und der *IPSS-R* (siehe Tabellen 5 und 6) im Jahr 2012 veröffentlicht (Greenberg et al., 2012). Im Vergleich zu dem *IPSS* bekommen zytogenetische Veränderungen mehr Gewicht und das Ausmaß der Zytopenien wird genauer erfasst. Die einzelnen chromosomalen Veränderungen werden mit Hilfe des *new comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes (NCCSS)* klassifiziert (siehe Tabelle 4), mit dem Ziel, eine noch genauere zytogenetische Einordnung zu schaffen. Einzelne und doppelte Aberrationen sollen hier klar voneinander getrennt und bewertet, doppelte Abnormalitäten berücksichtigt und die Gruppe der komplexen Karyotypen weiter unterteilt werden. Außerdem werden den verschiedenen Risikogruppen weitere chromosomale Aberrationen zugeordnet. Mit diesem *Scoring*-System können nun 91 % aller Patienten klassifiziert werden (Schanz et al., 2012).

Klassifizierung	Karyotyp
<i>very good</i>	Deletion 11q, -Y
<i>good</i>	normal, Deletion 5q, Deletion 12p, Deletion 20q als einzelne Aberration, doppelte Aberrationen mit Deletion 5q
<i>intermediate</i>	Deletion 7q, +8, Isochromosom (17q)(q10), +19, +21, alle anderen Aberrationen, unabhängige Klone, doppelte Aberrationen ohne Deletion 5q oder Deletion 7 / 7q
<i>poor</i>	Inversion 3 / Translokation 3q / Deletion 3q, Deletion 7 und doppelte Aberrationen mit Deletion 7 / Deletion 7q und komplexe Karyotypen (3 Aberrationen)
<i>very poor</i>	komplex mit mehr als 3 Aberrationen

Tabelle 4: *NCCSS* nach Schanz (Schanz et al., 2012)

	0	0,5	1	1,5	2	3	4
Karyotyp	<i>very good</i>	-	<i>good</i>	-	<i>intermediate</i>	<i>poor</i>	<i>very poor</i>
Knochenmark-blasten (in %)	≤ 2	-	> 2-< 5	-	5-10	> 10	-
Hämoglobin-Wert (Hb-Wert) (g/dl)	≥ 10	-	8-< 10	< 8			
Thrombozyten (/nl)	≥ 100	50-< 100	< 50	-	-	-	-
Neutrophile (/nl)	≥ 800	< 800					

Tabelle 5: *IPSS-R* nach Greenberg (Greenberg et al., 2012)

g/dl: Gramm pro Deziliter, /nl: pro Nanoliter

Risikokategorien	Risikoscore	medianes Überleben (in Jahren)	mediane Zeit in Jahren, bis 25 % der Patienten eine AML entwickeln
<i>very low</i>	≤ 1,5	8,8	<i>not reached (n.r.)</i>
<i>low</i>	> 1,5-3	5,3	10,8
<i>intermediate</i>	> 3-4,5	3	3,2
<i>high</i>	> 4,5-6	1,6	1,4
<i>very high</i>	> 6	0,8	0,73

Tabelle 6: Das mediane Überleben und die mediane Zeit, bis 25 % der Patienten einen AML-Übergang zeigen für die verschiedenen Risikokategorien nach *IPSS-R* (Greenberg et al., 2012)

Anstatt vier (*IPSS*) bestehen im *IPSS-R* nun fünf Kategorien (Greenberg et al., 2012). Der *IPSS-R* zeichnet sich durch eine bessere Vorhersagbarkeit der Prognose und des Überlebens aus und löst zunehmend den *IPSS* als neuen Goldstandard in der Prognosestellung bei MDS-Patienten ab (Voso et al., 2013, Bernasconi et al., 2013, Neukirchen et al., 2014).

1.4.2 WPSS

Der *WHO-classification based prognostic scoring system (WPSS)* wurde in 2007 veröffentlicht und hat als Ziel, ein dynamisches Modell für die Prognosevorhersage zu schaffen, um die Erkrankung zu jedem Zeitpunkt bewerten zu können (Malcovati et al., 2007). Als prognostische Faktoren werden vor allem der Karyotyp, aber auch der *WHO*-Subtyp und die Transfusionsabhängigkeit herangezogen und fünf Risikogruppen gebildet, um die Patienten einzuteilen (Malcovati et al., 2007) (siehe Tabelle 7).

Variable	0	1	2	3
<i>WHO</i> -Kategorie	RA, RARS, 5q-	RCMD, RCMD-RS	RAEB I	RAEB II
Karyotyp*	<i>good</i>	<i>intermediate</i>	<i>poor</i>	-
Transfusionsbedürftigkeit**	nein	regelmäßig	-	-

Tabelle 7: **WPSS nach Malcovati (Malcovati et al., 2007)**

Die Risikogruppen sind wie folgt definiert: *very low* (score = 0), *low* (score = 1), *intermediate* (score = 2), *high* (score = 3-4), *very high* (score = 5-6); *Karyotypzuordnung: *good*: normal, -Y, del(5q), del(20q); *poor*: komplex (mehr als 3 Aberrationen); *intermediate*: alle anderen Aberrationen; **Transfusionsbedürftigkeit wird bei einer Transfusion alle 8 Wochen über einen Zeitraum von 4 Monaten als regelmäßig beschrieben.

1.5 Subklone

Der Begriff Subklon beschreibt einen Klon, der sich aus einem anderen entwickelt und danach noch weitere zytogenetische Mutationen ausbildet, wobei die chromosomalen Aberrationen des Vorgängers immer noch zurückzuverfolgen sind. Das Auftreten von Subklonen wird durch eine hohe genetische Instabilität begünstigt.

Es existieren bis dato sehr wenige Studien zu dieser Thematik, wobei bei diesen dann der Fokus auf Subklone, die bei AML-Patienten auftreten, gelegt wurde (Bochtler et al., 2013, Bochtler et al., 2015).

Bei der AML treten Subklone besonders in den prognostisch ungünstigen Gruppen auf (komplexer Karyotyp, monosomal oder Abnormalitäten des 17. Chromosoms (abnl(17p))) und sind mit einem kürzeren ereignisfreien Intervall und Überleben assoziiert. Stammzelltransplantationen zeigen bei diesen Patienten eine Verbesserung der Prognose. Beschrieben wird, dass die Patienten, bei denen Subklone

gefunden werden, im Median älter sind und sie außerdem sehr häufig eine AML haben, die sich aus einem MDS entwickelt hat.

Die Subklonentstehung kann verschiedenen Mustern folgen:

1. Zwei Subklone:

In der Mehrzahl der Fälle folgt die Evolution einem „Mutter-Tochterprinzip“, wobei der „Tochter-Subklon“ die chromosomalen Aberrationen des „Mutter-Subklons“ übernimmt und zusätzlich eigene chromosomale Aberrationen ausbildet.

Die zweite Möglichkeit ist, dass sich zwei verschiedene Subklone aus einem gemeinsamen Vorfahren entwickeln und dann weitere eigene Aberrationen ausbilden. Das Auftreten zweier komplett verschiedener Subklone mit keinerlei gemeinsamen Aberrationen ist sehr selten.

2. Drei oder mehr Subklone:

Bei drei oder mehr Subklonen folgt die Evolution den gleichen Prinzipien, wobei ein verzweigtes Schema häufiger als ein lineares auftritt.

In *high-risk*-AML hat das Auftreten von Subklonen eine negative Auswirkung auf die Prognose und das Überleben. Patienten, bei denen der Subklon zusammen mit einem komplexen Karyotyp auftritt, zeigen eine sehr schlechte Prognose (Bochtler et al., 2013).

1.6 Therapie

Anhand der *Scoring*-Systeme kann man die MDS-Patienten mit einem niedrigen von denen mit einem hohen Risiko unterscheiden und dementsprechend die passende Therapie auswählen. Niedrigrisikopatienten sind Patienten, die mit dem *IPSS* den Kategorien *low* oder *intermediate 1* zugeordnet werden; Hochrisikopatienten solche, die unter die Kategorien *intermediate 2* oder *high* fallen (Fenaux and Ades, 2013, Greenberg et al., 1997).

Bei den Niedrigrisikopatienten steht eine supportive Therapie im Vordergrund. Dabei können Wachstumsfaktoren (Erythropoietin und *granulocyte colony stimulating factor (G-CSF)*) eingesetzt werden, um eine Anämie und Neutropenie zu verbessern. Ein Ansprechen auf Erythropoietin findet sich vor allem bei Patienten mit einem

niedrigen Erythropoietin-Spiegel im Serum und einer geringen Transfusionsfrequenz (Fenaux and Ades, 2013, Santini et al., 2013). Bei fehlendem Ansprechen bleibt oft nur die Transfusion von Erythrozytenkonzentraten. Bei Patienten mit einem regelmäßigen Transfusionsbedarf kann es zu einer Eisenüberladung kommen. Um Schäden durch die Eisenablagerung zu verhindern, wird für diese Patienten eine Eisenchelationstherapie empfohlen. Neben der Verhinderung von Organkomplikationen gibt es auch Hinweise, dass durch eine konsequente Eisenchelation die Hämatopoiese verbessert werden kann. Allerdings fehlen derzeit noch Ergebnisse randomisierter Phase-III-Studien (Germing et al., 2013b, Rose et al., 2010, Cheong et al., 2014).

Für Patienten, die eine del(5q) aufweisen, ist eine immunmodulatorische Substanz, das Lenalidomid, zugelassen (Fenaux and Ades, 2013). Bei 55-65 % dieser Patienten kommt es zu einer Transfusionsunabhängigkeit. In 50-73 % zeigt sich eine zytogenetische Remission (Fenaux et al., 2011, List et al., 2006). Die genauen Wirkmechanismen sind noch nicht vollständig geklärt.

Die allogene Stammzelltransplantation stellt die einzig kurative Therapieoption dar und kommt vor allem für Hochrisikopatienten in Frage; bei Niedrigrisikopatienten muss im Einzelfall entschieden werden. Insbesondere bei jüngeren Patienten mit einem hohen Transfusionsbedarf könnte eine Transplantation erwogen werden. Für Hochrisikopatienten stellt bis zu einem Alter von 65-70 Jahren und fehlenden Komorbiditäten die allogene Stammzelltransplantation die Therapie der Wahl dar. Allerdings muss je nach individuellem Risikoprofil über eine Therapie entschieden werden (Germing et al., 2013b). Für ältere Patienten, bzw. solche, die sich nicht für eine Stammzelltransplantation eignen, ist Azacitidin, eine demethylierende Substanz, zugelassen. Dadurch kann zwar keine Heilung des MDS erreicht werden, im Vergleich zu Patienten, die mit *best supportive care (BSC)* behandelt wurden, konnte jedoch eine Verbesserung des Gesamtüberlebens und eine geringe Rate an AML-Übergängen gezeigt werden (Fenaux et al., 2009).

1.7 Fragestellung und Ziele der Arbeit

Da chromosomale Veränderungen einen entscheidenden Einfluss auf die Prognose von MDS-Patienten haben, stellte sich die Frage, inwieweit eine Evolution des Karyotyps im Krankheitsverlauf ebenfalls relevant für die Prognose von

MDS-Patienten hinsichtlich des Gesamtüberlebens und hinsichtlich des Risikos, eine AML zu entwickeln, ist. Genauer eingegangen werden soll auf die Bedeutung von Subklonen, die bis jetzt in der Literatur hauptsächlich in Bezug auf die AML Beachtung gefunden haben (Bochtler et al., 2013). Insbesondere ist dabei von Interesse, ob Subklone als prognostischer Parameter in der Beurteilung der MDS berücksichtigt werden sollten und damit hilfreiche Informationen für eine Therapieentscheidung geben können.

Von besonderem Interesse sind hierbei folgende Fragestellungen:

1. Wie häufig sind Subklone bei MDS-Patienten?
2. Bei welchen Patienten bzw. in welchen Risikogruppen treten sie gehäuft in Erscheinung?
3. Wirkt sich die Anwesenheit von Subklonen auf die Prognose (die Überlebenszeit und die Zeit bis zum möglichen AML-Übergang) aus? Und wenn ja: Kann man hieraus eine Konsequenz für die Behandlung von MDS-Patienten ziehen?

2. Material und Methoden

2.1 Datenerhebung

Als Grundlage für diese retrospektive Arbeit dienten die Daten von MDS-Patienten, die im Düsseldorfer MDS-Register, welches in den Achtzigerjahren von Prof. Dr. C. Aul gegründet wurde, zusammengetragen werden. Der Datenbestand umfasste zum Zeitpunkt der Auswertung 6561 MDS-Patienten, deren Informationen aufgenommen und danach in das Register übertragen wurden. Sofern die Daten vorliegen, werden der MDS-Subtyp nach der aktuellen *WHO*-Klassifikation, das Blutbild, das Differentialblutbild, die Ergebnisse der Knochenmarkzytologie, der Histologie, der Zytogenetik und Laborwerte wie der LDH- und Ferritin-Wert, der Erythropoietinspiegel und der Kreatininwert sowie Leberwerte aufgenommen. Zusätzlich werden auch die nach der *FAB*-Klassifikation als RAEB in Transformation (*RAEB-T*) diagnostizierten Patienten sowie Patienten mit chronischer myelomonozytärer Leukämie I (CMML I) und chronischer myelomonozytärer Leukämie II (CMML II) erfasst. Des Weiteren werden im MDS-Register Informationen wie z.B. der Diagnosezeitpunkt (festgelegt als Zeitpunkt der ersten Knochenmarkpunktion), Komorbiditäten, das Geburts- und gegebenenfalls das Todesdatum sowie die Todesursache festgehalten. Sofern ausreichend Informationen vorliegen, können für die Patienten der *IPSS*-, *WPSS*- und *IPSS-R* erhoben werden. Die Nachbeobachtung der Patienten wird dokumentiert, sodass der Krankheits- und Therapieverlauf und der mögliche Tod der Patienten festgehalten werden können. Ist diese Nachbeobachtung nicht möglich, wird der Patient als „*lost to follow up*“ gekennzeichnet.

In die vorliegende Auswertung wurden die Patienten aus dem Register eingeschlossen, von denen es zum Zeitpunkt der Erstdiagnose und im weiteren Verlauf mindestens eine zytogenetische Untersuchung aus dem Knochenmark gab. Diese Daten ergänzte ich mit Hilfe des Krankenhausinformationsprogramms „Medico“ und durch einen Datensatz des Instituts für Humangenetik Düsseldorf (Direktorin: Univ.-Prof. Dr. Dagmar Wieczorek), der Informationen über die Karyotypauswertung von untersuchten MDS-Patienten enthält. Alle zytogenetischen Analysen erfolgten in dem Institut für Humangenetik. Ein Minimum von 10 Metaphasen wurde für die Auswertung vorausgesetzt und die Ergebnisse wurden

anhand des „*International System for Human Gene Nomenclature*“ (Wain et al., 2002) dokumentiert. Hilfestellung bei der Interpretation der Karyotypen erhielt ich von Frau Dr. Barbara Hildebrandt aus dem Institut für Humangenetik. So stützt sich diese Arbeit auf die Daten von 572 Patienten, wobei 350 davon männlich und 222 weiblich sind und deren Alter im Median 63 Jahre und als Mittelwert 61 Jahre beträgt .

Dabei waren die Anzahl, das Datum und die Ergebnisse der Knochenmarkpunktionen, insbesondere das Auftreten von Subklonen und deren Veränderungen im Verlauf von besonderer Bedeutung. Eine Karyotypverbesserung wird mit einem Verschwinden des Klons oder einer niedrigeren Einstufung nach *NCCSS* definiert. Klonale Evolution wird entweder als die Entstehung eines aberranten Karyotyps bei einem zuvor normalen Chromosomensatz oder aber als Zugewinn von Zusatzaberrationen in einem bereits veränderten Karyotyp definiert (Bernasconi et al., 2010). Dabei kann es entweder durch den Hinzugewinn weiterer Aberrationen zu einer Verschlechterung der *NCCSS*-Kategorie kommen, es können aber auch zusätzliche Aberrationen akquiriert werden, ohne dass daraus eine Änderung der *NCCSS*-Kategorie resultieren muss. Ist der Patient der *IPSS-R*- oder *NCCSS*-Kategorie zugeteilt, die die beste Prognose zeigt und wird im Verlauf trotzdem eine Verbesserung beschrieben, so ist mit dieser eine Normalisierung des Karyotyps gemeint. Ein Progress, obwohl der Patient sich schon in der prognostisch ungünstigsten Risikogruppe befindet, zeigt sich in einer Zunahme der Klongröße. Neben der Auswertung der chromosomalen Veränderungen entsprechend der *NCCSS*-Klassifikation wurde der Einfluss von Subklonen separat ausgewertet.

Zusätzlich zu der prognostisch wichtigen Einteilung nach dem *IPSS* bzw. *IPSS-R* erfolgte noch die Kategorisierung der einzelnen Karyotypen nach dem *NCCSS*. Mit Hilfe des Geburtsdatums und des Datums der Diagnose wurde das Alter bei Diagnosestellung errechnet und falls eine Progression in eine AML stattgefunden hatte, diese benannt und auch hier das Diagnosedatum festgestellt. Außerdem wurden der Therapieverlauf und der letzte Status (lebend; tot) erfasst.

Ein positives Ethikvotum ist vorhanden (Nr. 3008 von 2008; Nr. 3973 von 2013).

2.2 Statistik

Für alle Analysen mit „Zeit-bis-Event“-Endpunkten wurden die Patienten am Ende des *Follow ups* zensiert. Überlebenswahrscheinlichkeiten wurden mit der Kaplan-Meier-Produkt-Limit Methode berechnet und mit dem log-rank Test verglichen, sofern keine zeitabhängigen Variablen vorlagen. Klonale Evolution wurde als zeitabhängige Variable gewertet und entsprechend erfolgte die Auswertung mit Hilfe des *Cox Proportional Hazard* Modells. Das ursachenspezifische *Hazard* Modell wurde für die multivariate Analyse verwendet. Kumulative Inzidenzen wurden mit Hilfe des *Gray*-Tests berechnet und verglichen. Als Signifikanzniveau bei allen Untersuchungen wurde ein p-Wert von $\leq 0,05$ definiert. Zur Auswertung der erhaltenen Ergebnisse wurde das Statistikprogramm *IBM SPSS Statistics Version 21* (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) verwendet. Ein Teil der statistischen Analyse erfolgte mit Hilfe von Herrn Dr. Michael Lauseker, Institut für Medizininformatik, Biometrie und Epidemiologie, Ludwig-Maximilians-Universität (München). Zur Auswertung der Zusammenhänge zwischen dem initialen Karyotyp und dem Karyotyp nach der klonalen Evolution wurde *Circos* benutzt (Neukirchen et al., 2017, Krzywinski et al., 2009).

3. Ergebnisse

3.1. Patientencharakteristika

Zum Zeitpunkt der Datenerhebung fanden sich 6561 Patienten im Düsseldorfer MDS-Register. Informationen über den Karyotyp zum Zeitpunkt der Erstdiagnose lagen bei 3286 Patienten vor (50,1 %). In die Untersuchung wurden dann insgesamt 572 Patienten (350 männlich und 222 weiblich) eingeschlossen, von denen mindestens zwei Karyotypanalysen vorlagen. Dabei liegt das mediane Alter bei 63 Jahren (Bereich: 16-87 Jahre), die mediane Zeit bis zum *Follow up* bei 38 Monaten (Bereich: 0,9-448,8 Monate) und die mediane Zeit bis zu der zweiten Karyotypanalyse bei 8,4 Monaten (1-191 Monate). Interessanterweise sind die Patienten, von denen keine Informationen zum Karyotyp vorliegen, mit einem medianen Alter von 74 Jahren signifikant älter ($p < 0,001$) (Neukirchen et al., 2017).

Abbildung 1 verdeutlicht, dass der Höhepunkt des Erkrankungszeitpunktes im hohen Alter liegt und zeigt, dass die Altersgruppen 61-65 Jahre und 66-70 Jahre sowohl bei dem männlichen als auch bei dem weiblichen Geschlecht bevorzugt sind.

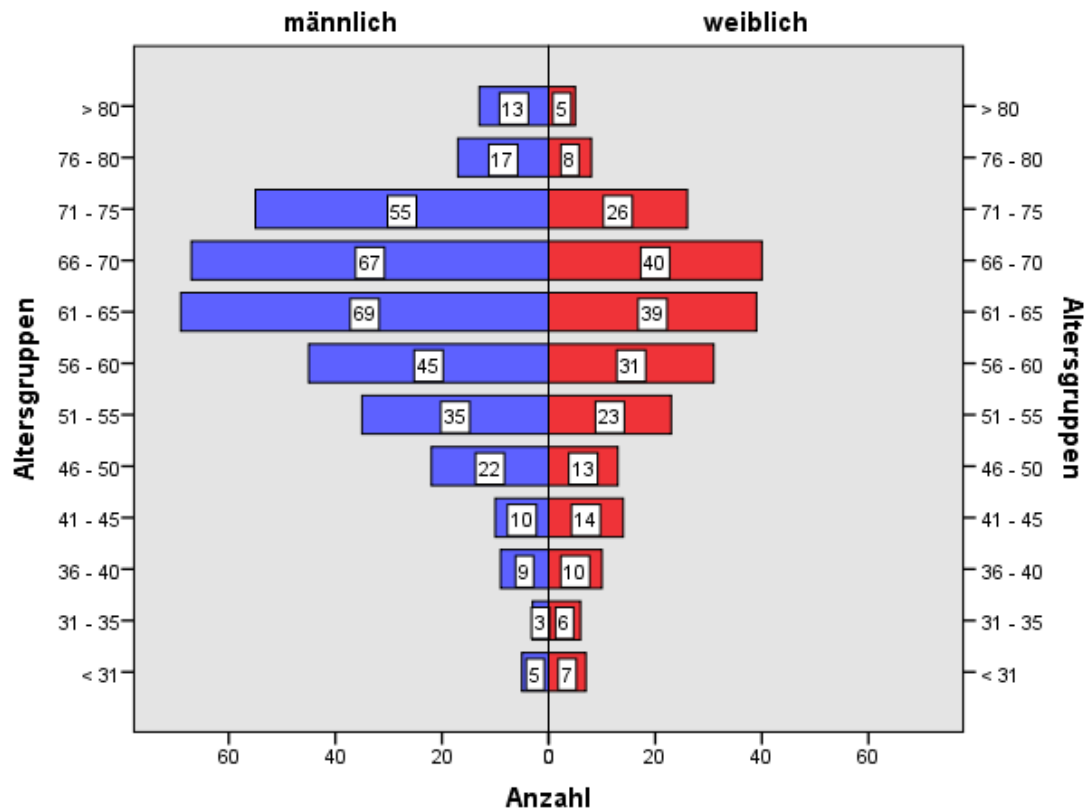


Abb. 1: Geschlecht und Altersgruppenzugehörigkeit der Patienten bei ED

Die Geschlechterverteilung veranschaulicht, dass sich ein höherer Anteil männlicher Patienten in der untersuchten Patientengruppe befindet. Tabelle 8 zeigt die Geschlechterverteilung sowie die Verteilung der einzelnen Patienten nach der *WHO*-Klassifikation und der Zuordnung zu den einzelnen Risikogruppen nach *IPSS* und *IPSS-R*. Da nicht von allen Patienten zum Diagnosezeitpunkt die entsprechenden Informationen vorlagen, konnte die Einteilung nach *WHO* nur von 572 Patienten und die Klassifizierung nach *IPSS* und *IPSS-R* nur von 464 sowie 463 Patienten vorgenommen werden.

		Anzahl	Prozent
Geschlecht (n = 572)	weiblich	222	38,8
	männlich	350	61,2
WHO (n = 572)	RCUD	25	4,3
	RCMD	192	33,6
	RARS	24	4,2
	5q-Syndrom	22	3,8
	RAEB I	71	12,4
	RAEB II	100	17,5
	CMML I	57	10
	CMML II	17	3
	RAEB-T	64	11,2
IPSS (n = 464)	<i>low</i>	78	16,8
	<i>intermediate 1</i>	181	39,1
	<i>intermediate 2</i>	119	25,6
	<i>high</i>	86	18,5
IPSS-R (n = 463)	<i>very low</i>	30	6,5
	<i>low</i>	129	27,9
	<i>intermediate</i>	109	23,5
	<i>high</i>	97	21
	<i>very high</i>	98	21,1

Tabelle 8: Geschlechterverteilung sowie *WHO*, *IPSS* und *IPSS-R* bei ED

Der *WHO*-Subtyp RCMD tritt mit 192 Patienten (33,6 %) am häufigsten in Erscheinung, gefolgt von RAEB II mit 100 Patienten (17,5 %) und RAEB I mit 71 Patienten (12,4 %). In der Kategorie CMML II sind mit 17 Patienten (3 %) die wenigsten Patienten vertreten. Betrachtet man die Klassifikation nach *IPSS*, so lassen sich die meisten Patienten mit 39,1 % und 25,6 % den *IPSS*-Kategorien *intermediate 1* und *intermediate 2* zuordnen. 18,5 % der Patienten finden sich in der Kategorie *high* und 16,8 % in der Kategorie *low* wieder. Nach *IPSS-R* fallen mit 27,9 % die meisten Patienten in die Kategorie *low*, gefolgt von der Kategorie *intermediate* mit 23,5 %. Die wenigsten Patienten lassen sich der *IPSS-R*-Kategorie *very low* zuordnen.

Als Voraussetzung, um in diese Analyse mit einbezogen zu werden, gilt, dass neben der Karyotypanalyse zum Zeitpunkt der Erstdiagnose mindestens eine weitere chromosomale Untersuchung im Verlauf durchgeführt worden sein muss. Dies wird von einer großen Zahl der hier ausgewerteten Patienten (42,8 %) exakt erfüllt. Mit steigender Anzahl von Analysen sinkt die Anzahl an Patienten, bei denen diese gemacht wurden. Es zeigt sich eine Spannweite von 2 bis zu 25 Analysen, wobei im Median 3 Chromosomenanalysen durchgeführt wurden (siehe Tabelle 9). Dabei beträgt die

medianer Zeit bis zu der zweiten Karyotypanalyse in der gesamten Patientenkohorte 8,4 Monate (1-191 Monate), bei den Patienten, die eine BSC erhalten haben, vergehen im Median 10,4 Monate und bei denen, die eine andere Art der Therapie bekommen, 5,5 Monate ($p < 0,001$).

Anzahl der Analysen (n = 572)	Häufigkeit	Prozent
2	245	42,8
3	125	21,9
4	67	11,7
5	55	9,5
6	29	5,1
7	27	4,7
8	5	0,9
9	5	0,9
10	5	0,9
11	5	0,9
12	1	0,2
15	2	0,3
25	1	0,2

Tabelle 9: Anzahl der Knochenmarkanalysen

Da in dieser Auswertung insbesondere die Karyotypen von Interesse sind, wurde jeder Karyotyp entsprechend dem NCCSS kategorisiert. Die Verteilung der einzelnen Subgruppen innerhalb dieses *Scoring*-Systems ist in Tabelle 10 dargestellt. Nach NCCSS befinden sich die meisten Patienten in der Kategorie *good* (351 Patienten, 61,3 %), 112 Patienten (19,6 %) lassen sich der Kategorie *intermediate* zuteilen. In die Kategorie *very poor* und *poor* fallen 49 (8,6 %) und 48 (8,4 %) der Patienten. Die wenigsten finden sich in der Kategorie *very good* mit 12 Patienten (2,1 %).

		Häufigkeit	Prozent
NCCSS (n = 572)	<i>very good</i>	12	2,1
	<i>good</i>	351	61,3
	<i>intermediate</i>	112	19,6
	<i>poor</i>	48	8,4
	<i>very poor</i>	49	8,6

Tabelle 10: Verteilung der chromosomalen Veränderungen nach NCCSS

Eine detailliertere Darstellung zeigt die Verteilung der NCCSS-Kategorien entsprechend der Einteilung nach WHO und IPSS-R. Dabei lassen sich viele Patienten,

deren Karyotyp in eine höhere *NCCSS*-Kategorie einzuordnen ist, einem ungünstigen Subtyp nach *WHO* und einer schlechteren Risikokategorie nach dem *IPSS-R* zuteilen. So fallen z.B. 11 % der Patienten der *NCCSS*-Kategorie *poor* und 15 % der *NCCSS*-Kategorie *very poor* unter den MDS-Subtyp RAEB II. 23,1 % der Patienten mit Karyotypen, die nach *NCCSS* mit *poor* und 40,6 %, die mit *very poor* bewertet werden, werden nach *IPSS-R* als *very high* eingeordnet (siehe Tabelle 11).

		very good	good	intermediate	poor	very poor
WHO (n = 569)	RCUD	1 (4 %)	18 (72 %)	4 (16 %)	1 (4 %)	1 (4 %)
	RCMD	7 (3,6 %)	119 (62 %)	37 (19,3 %)	15 (7,8 %)	14 (7,3 %)
	RARS	0 (0 %)	19 (79,2 %)	4 (16,7 %)	1 (4,1 %)	0 (0 %)
	5q-	0 (0 %)	22 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
	RAEB I	0 (0 %)	37 (52,1 %)	19 (26,8 %)	5 (7 %)	10 (14,1 %)
	RAEB II	1 (1 %)	51 (51 %)	22 (22 %)	11 (11 %)	15 (15 %)
	CMML I	0 (0 %)	40 (70,2 %)	11 (19,3 %)	5 (8,7 %)	1 (1,8 %)
	CMML II	1 (5,9 %)	9 (52,9 %)	5 (29,4 %)	1 (5,9 %)	1 (5,9 %)
	RAEB-T	2 (3,1 %)	36 (56,3 %)	10 (15,6 %)	9 (14,1 %)	7 (10,9 %)
		very good	good	intermediate	poor	very poor
IPSS-R (n = 463)	very low	1 (3,3 %)	29 (96,7 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
	low	5 (3,9 %)	96 (74,4 %)	22 (17 %)	5 (3,9 %)	1 (0,8 %)
	intermediate	1 (0,9 %)	79 (71,6 %)	18 (16,5 %)	8 (7,3 %)	4 (3,7 %)
	high	2 (2,1 %)	51 (52,6 %)	31 (31,9 %)	7 (7,2 %)	6 (6,2 %)
	very high	1 (1,1 %)	16 (17,6 %)	16 (17,6 %)	21 (23,1 %)	37 (40,6 %)

Tabelle 11: Verteilung der *NCCSS*-Kategorien entsprechend der Einteilung nach *WHO* und *IPSS-R*

3.2. Klonale Evolution

Die Verlaufspunktionen zeigen, dass 53 % der MDS-Patienten zu irgendeinem Zeitpunkt chromosomale Aberrationen im Karyotyp aufweisen. Bei 47 % hingegen wurde ein gleichbleibend normaler Karyotyp festgestellt (siehe Abb. 2).

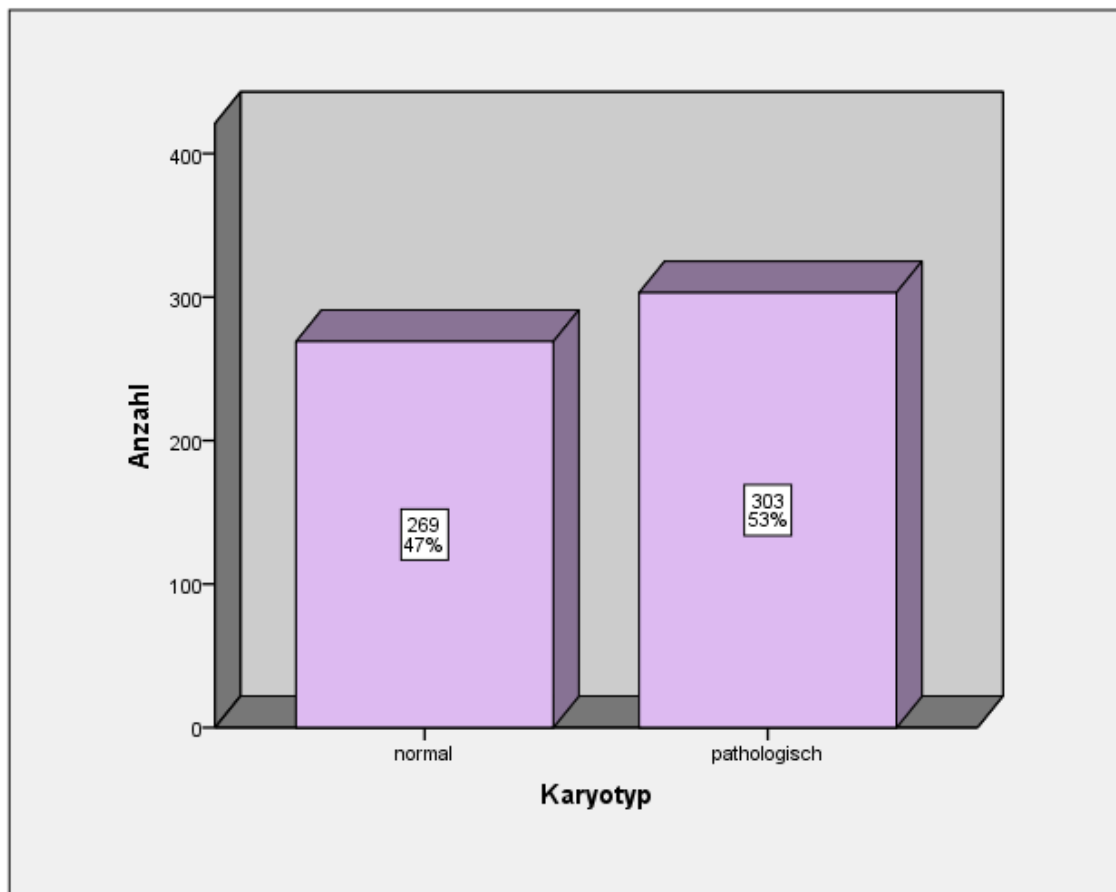


Abb. 2: Anzahl der Patienten mit einem aberranten und einem normalen Karyotyp

3.2.1 Die Art der klonalen Evolution

Die Art der Karyotypänderung stellt sich dabei wie folgt dar: 116 Patienten zeigen bei Verlaufspunktionen im Rahmen eines Therapieansprechens eine Karyotypverbesserung. Bei 145 der Patienten tritt im Verlauf ein Karyotypprogress auf. 311 Patienten weisen entweder einen unverändert normalen oder einen gleichbleibend aberranten Karyotyp auf (siehe Abb. 3).

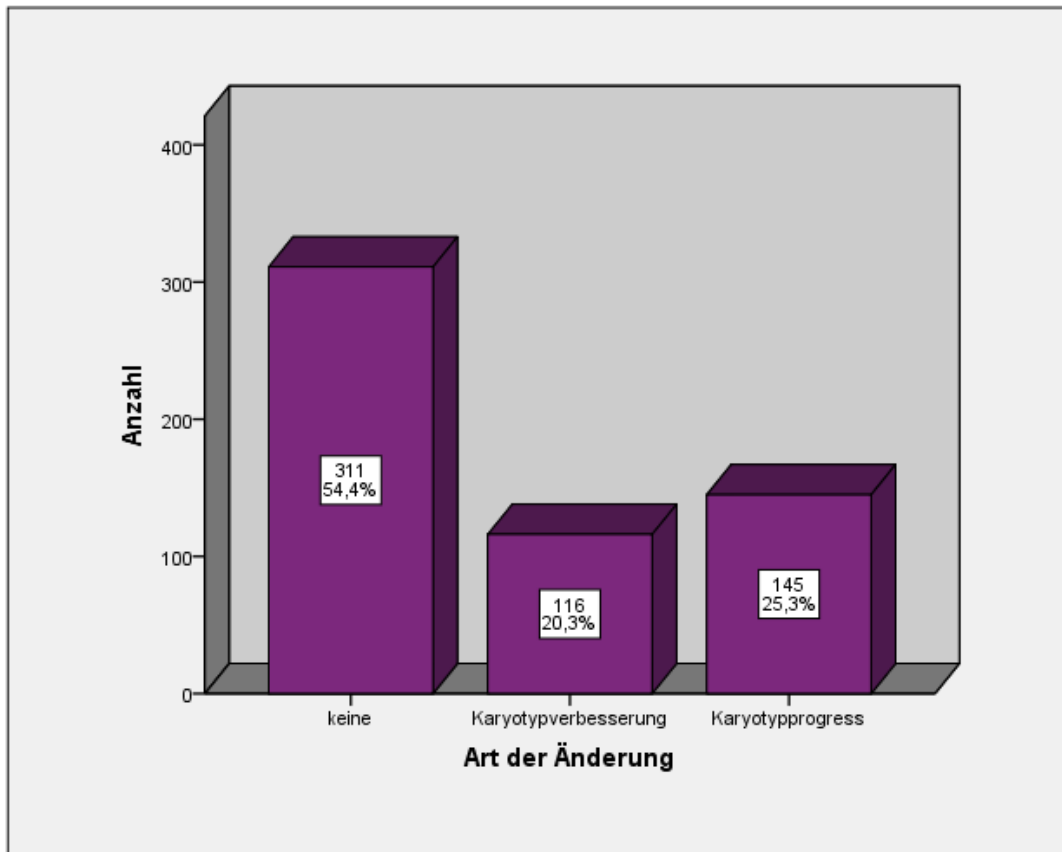


Abb. 3: Art der Karyotypänderung

Gesondert betrachtet wurden dann die Patienten, die im Verlauf einen progredienten Karyotyp zeigen. Dafür wurde die NCCSS-Klassifikation zum Zeitpunkt der Erstdiagnose und zum Zeitpunkt des Progresses bestimmt und ausgewertet. Es zeigt sich, dass bei der Erstdiagnose die meisten Karyotypen (61,4 %) der Kategorie *good* zugeordnet werden, in die Kategorie *intermediate* fallen 19,5 %, in die Kategorie *very poor* 8,6 % und in die Kategorie *poor* 8,4 %. Die wenigsten Karyotypen sind bei Erstdiagnose als *very good* einzustufen (2,1 %). Nach dem Progress zeigen sich die meisten Karyotypen in der Kategorie *intermediate* (42,6 %), 33,3 % lassen sich der Kategorie *very poor* zuordnen, 20,6 % der Kategorie *poor* und in die Kategorie *good* (3,5 %) und *very good* (0 %) fallen die wenigsten Patienten (siehe Abb. 4 und Abb. 5).

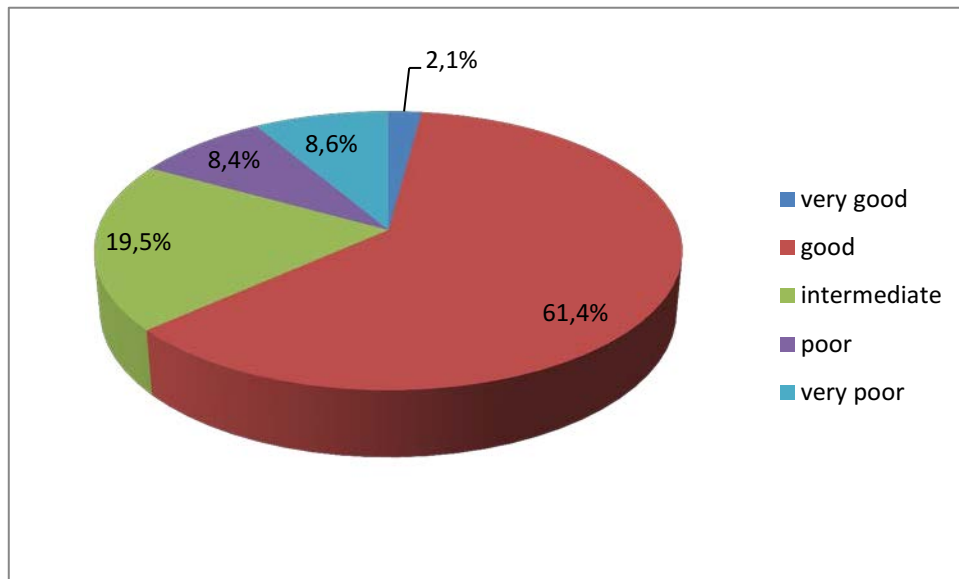


Abb. 4: NCCSS-Klassifikation vor dem Karyotypprogress

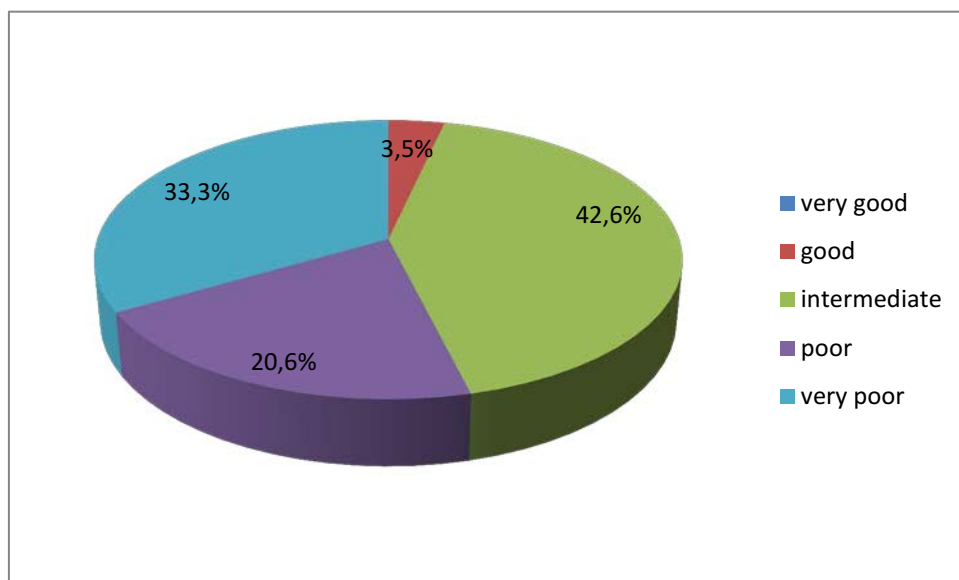


Abb. 5: NCCSS-Klassifikation zum Zeitpunkt des Karyotypprogresses

In der Regel erfolgten die Knochenmarkuntersuchungen zu keinem festgesetzten Zeitpunkt, sondern dann, wenn es z.B. zu einer Verschlechterung der Laborparameter kam und so der Verdacht auf einen Progress der Erkrankung vorlag. Andere Gründe waren Punktionen für einen geplanten Einschluss in eine klinische Studie und zur Therapieüberwachung. Allerdings geht der Grund für eine erneut durchgeführte Knochenmarkuntersuchung nicht ausreichend genau aus den Daten des MDS-Registers hervor. Betrachtet man die Zeitabstände zwischen den Untersuchungen, so zeigt sich, dass bei keiner Änderung der NCCSS-Kategorie im Median 5,1 Monate bis zum Progress vergehen, bei einer um eine Kategorie 14,3 Monate und bei einem Progress um zwei oder mehr Kategorien 14,6 Monate.

In einem nächsten Schritt wurden die nach dem *IPSS-R* klassifizierten MDS-Patienten dahingehend untersucht, ob und inwieweit in den einzelnen Kategorien eine Tendenz zu keiner Änderung, einer Karyotypverbesserung oder einem Karyotypprogress im Verlauf besteht.

Die Mehrheit der Patienten, die den *IPSS-R*-Kategorien *very low* und *low* zugeteilt werden, zeigt im Verlauf keine Änderung des Karyotyps (83,4 % und 69 %). Gleiches ist in der Kategorie *intermediate* zu erkennen: Mit 52,3 % findet man bei den meisten Patienten keine Veränderung des Karyotyps im Verlauf. Hier ist jedoch der Anteil an Patienten mit einer Karyotypverbesserung oder einem Progress höher (21,1 % und 26,6 %). Die Patienten, die der Kategorie *high* zugeordnet werden, zeigen in 25,7 % der Fälle eine Karyotypverbesserung und in 34,2 % einen Karyotypprogress. Diese Tendenz zum Karyotypprogress setzt sich in der Kategorie *very high* fort. Diese zeigen mit 41,8 % mehrheitlich eine klonale Evolution (siehe Tabelle 12).

		Art der Änderung		
		keine	Karyotypverbesserung	Karyotypprogress
IPSS-R	<i>very low</i>	25 (83,4 %)	3 (10 %)	2 (6,6 %)
	<i>low</i>	89 (69 %)	16 (12,4 %)	24 (18,6 %)
	<i>intermediate</i>	57 (52,3 %)	23 (21,1 %)	29 (26,6 %)
	<i>high</i>	39 (40,1 %)	25 (25,7 %)	33 (34,2 %)
	<i>very high</i>	29 (29,6 %)	28 (28,6 %)	41 (41,8 %)

Tabelle 12: Die Art der Änderung des Karyotyps im Hinblick auf die Einordnung mittels *IPSS-R*

Die gleiche Auswertung wurde im Hinblick auf die Einteilung nach *NCCSS* gemacht (siehe Tabelle 13). Hier findet sich insbesondere bei den Patienten, die einen ungünstigen Karyotyp aufweisen und in die Kategorie *poor* oder *very poor* fallen, eine klonale Evolution im Krankheitsverlauf.

		Art der Änderung		
		keine	Karyotypverbesserung	Karyotypprogress
NCCSS	<i>very good</i>	4 (33,3 %)	4 (33,3 %)	4 (33,3 %)
	<i>good</i>	242 (68,9 %)	31 (8,8 %)	78 (22,3 %)
	<i>intermediate</i>	41 (36,6 %)	44 (39,3 %)	27 (24,1 %)
	<i>poor</i>	16 (33,3 %)	16 (33,3 %)	16 (33,3 %)
	<i>very poor</i>	8 (16,3 %)	21 (42,9 %)	20 (40,8 %)

Tabelle 13: Die Art der Änderung des Karyotyps im Hinblick auf die Einordnung mittels *NCCSS*

Des Weiteren wurden die Patienten anhand der bei ihnen angewandten Therapien gruppiert. Am häufigsten (mit 303 von 569 angewandten Therapien) ist die *BSC*, also eine unterstützende Therapie, die zum Beispiel die Transfusion von Erythrozytenkonzentraten beinhaltet. Danach folgt bei 104 Patienten die allogene Transplantation und bei 92 die Chemotherapie. Die epigenetische Therapie (43 Patienten) und die immunmodulatorische Therapie (27 Patienten) fanden am seltensten Anwendung (siehe Tabelle 14). Ausgewertet wurde außerdem, ob und wie sich der Karyotyp in den verschiedenen Gruppen ändert. Es zeigt sich, dass Patienten, die eine allogene Stammzelltransplantation erhalten haben, zumeist eine Karyotypverbesserung im Anschluss aufweisen (49 %). Nach einer Chemotherapie und auch nach einer epigenetischen Therapie ist ein Karyotypprogress mit 42,4 % und 41,9 % die häufigste Veränderung. Die immunmodulatorische Therapie zeigt in 44,4 % der Fälle eine Karyotypverbesserung. Die Patienten, die eine unterstützende Therapie erhalten, weisen im Verlauf mehrheitlich keine Veränderung auf (80,9 %).

		Art der Änderung		
		keine	Karyotyp-verbesserung	Karyotyp-progress
Therapie	allogene Stammzelltransplantation	32 (30,8 %)	51 (49 %)	21 (20,2 %)
	Chemotherapie	22 (23,9 %)	31 (33,7 %)	39 (42,4 %)
	epigenetische Therapie	9 (21 %)	16 (37,2 %)	18 (41,8 %)
	immunmodulatorische Therapie	6 (22,2 %)	12 (44,4 %)	9 (33,4 %)
	best supportive care	245 (80,9 %)	0 (0 %)	58 (19,1 %)

Tabelle 14: Die angewandten Therapien in der Übersicht und die jeweilige Art der Änderung des Karyotyps im Verlauf

3.2.2 Der Einfluss der klonalen Evolution auf die Überlebenszeit und die Zeit bis zum AML-Übergang

Das mediane Gesamtüberleben aller Patienten aus dem MDS-Register lag bei 26 Monaten. Vergleicht man die Patienten, von denen Informationen über den Karyotyp zum Zeitpunkt der Erstdiagnose vorliegen, mit denen ohne chromosomale Untersuchung bei Erstdiagnose, so findet sich ein signifikant unterschiedliches Überleben von 30 im Vergleich zu 22 Monaten ($p < 0,001$). Innerhalb der Patientengruppe mit Informationen zum Karyotyp zum Zeitpunkt der Erstdiagnose findet sich wiederum bei den Patienten, die auch im Verlauf eine zytogenetische

Untersuchung erhalten haben, ein signifikant besseres Überleben von 45 Monaten im Vergleich zu 29 Monaten ($p < 0,0001$).

Betrachtet man die Prognose der MDS-Patienten in Abhängigkeit von der Karyotypveränderung, so zeigt sich, dass die Überlebenszeit der Patienten, die keinen Karyotypprogress zeigen, länger ist (im Median 41,7 Monate). Die Patienten mit einer klonalen Evolution zeigen eine mediane Überlebenszeit von 27 Monaten ($p < 0,0001$) (Abb. 6).

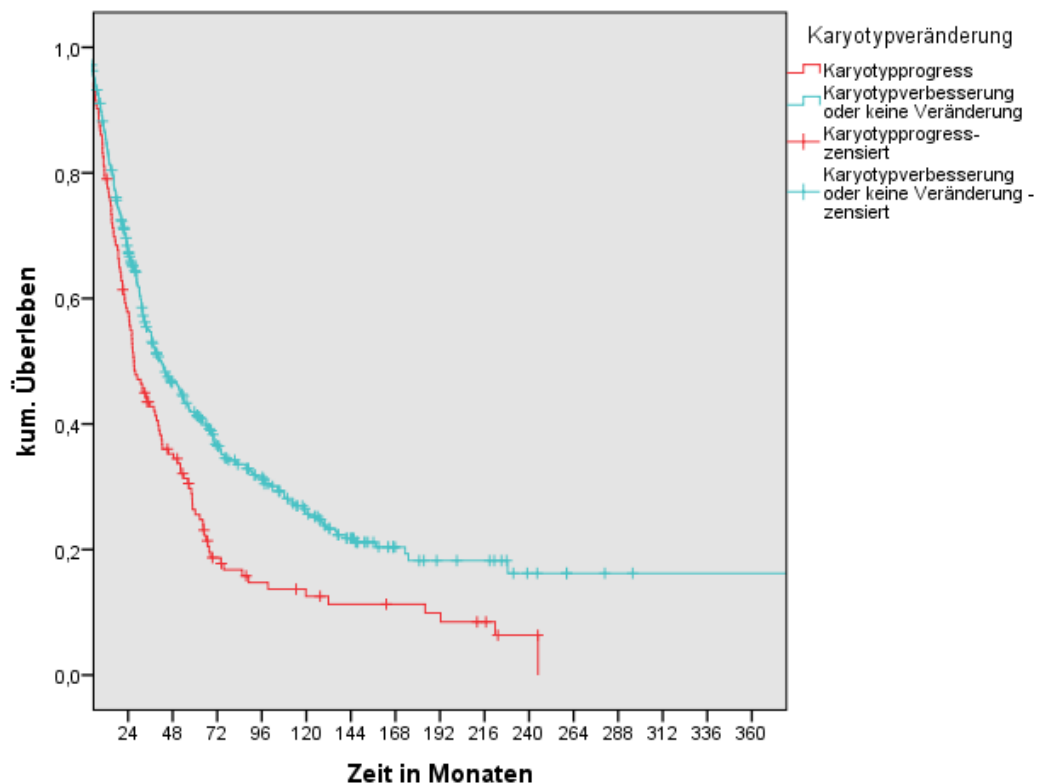


Abb. 6: Kaplan-Meier-Plot mit kumulativer Überlebenswahrscheinlichkeit der Patienten mit bzw. ohne Karyotypprogress

Das Überleben der Patienten, die eine klonale Evolution zeigen, wurde dann im Hinblick auf die *NCCSS*-Kategorien betrachtet. Das längste Überleben findet sich in der *NCCSS*-Kategorie *good* (42 Monate im Median) (siehe Tabelle 15).

		n (%)	Überleben in Monaten
<i>NCCSS</i>	<i>very good</i>	4	29
	<i>good</i>	78	42
	<i>intermediate</i>	26	28
	<i>poor</i>	15	15
	<i>very poor</i>	20	11

Tabelle 15: Überleben der Patienten mit klonaler Evolution im Hinblick auf die *NCCSS*-Kategorie

Unabhängig von der *NCCSS*-Kategorie ist das Überleben in der Patientengruppe mit einem normalen Karyotyp zum Zeitpunkt der Diagnose signifikant besser als bei Patienten mit einem aberranten Karyotyp (52,1 vs. 29 Monate, $p < 0,0001$). Betrachtet man nur die Patienten mit einem Karyotypprogress im Verlauf, so hat ein normaler Karyotyp bei Erstdiagnose keine signifikant prognostische Auswirkung mehr ($p = 0,206$). Vergleichend wurde dann das Überleben aller Patienten, deren Daten sich zum Zeitpunkt der Auswertung im MDS-Register Düsseldorf befanden, ausgewertet. Mit 37 Monaten ist es signifikant länger als das Überleben der Patientenkohorte dieser Arbeit (26 Monate) ($p < 0,0001$).

Einen AML-Übergang findet man bei 40,7 % (233) der Patienten vor. In der Gruppe der Patienten mit einem Karyotypprogress im Verlauf entwickelt sich bei 52,8 % eine AML. Allerdings entwickeln 60 % der Patienten, die initial einen normalen Karyotyp aufweisen und eine klonale Evolution zu einem Hochrisiko-Karyotyp zeigen, eine AML, wohingegen die Patienten, die zu jedem anderen Karyotyp einen Progress aufweisen, nur zu 42 % im Verlauf in eine AML übergehen. Bei den Patienten ohne Karyotypprogress zeigen nur 68 (20,1 %) eine AML, wobei hier die mediane Zeit bis zur AML-Entwicklung 221 Monate vs. 35 Monate bei den Patienten mit Karyotypprogress beträgt ($p < 0,0001$) (siehe Abb. 7).

Betrachtet man die Patienten mit einer einzelnen Aberration zum Zeitpunkt der Diagnose, zeigt sich kein spezifisches Muster der klonalen Evolution. Das heißt, jeder Patient mit jeder Aberration kann jede andere Aberration im Verlauf erwerben, wobei die meisten Patienten mit AML-Progress eine prognostisch ungünstigere Veränderung aufweisen (62 % vs. 42 %).

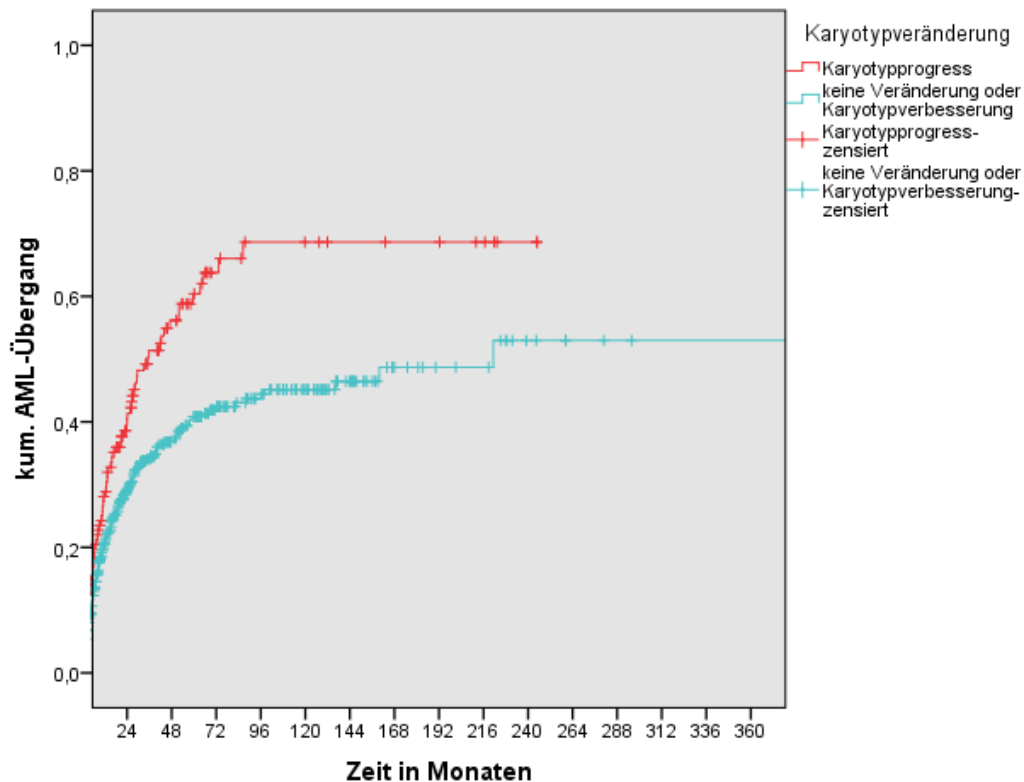


Abb. 7: Kaplan-Meier-Plot mit kumulativer Wahrscheinlichkeit des AML-Übergangs der Patienten mit bzw. ohne Karyotypprogress

Nachdem deutlich wurde, dass eine Veränderung des Karyotyps im Verlauf sowohl einen Einfluss auf das Gesamtüberleben als auch auf die AML-Entwicklung hat, wurde das Gesamtüberleben der Patienten getrennt nach denen, die im Verlauf keine AML entwickeln und denen, die eine AML bekommen, betrachtet. So liegt das mediane Überleben bei den Patienten ohne AML-Übergang und ohne Karyotypprogress bei 70 Monaten und bei denen mit Karyotypprogress bei 42 Monaten ($p = 0,022$).

Analog dazu folgte die Betrachtung der Patienten mit AML-Übergang. Hier konnte jedoch kein signifikanter Zusammenhang zwischen einem Karyotypprogress und der Überlebenszeit gezeigt werden (kein Progress: 24,4 Monate vs. Progress: 28,5 Monate; $p = 0,119$).

3.3 BSC-Patienten

Da es durch MDS-spezifische Therapien wie allogene Stammzelltransplantation, aber auch eine Therapie mit Lenalidomid oder demethylierenden Substanzen zu einer Beeinflussung von chromosomalen Veränderungen kommen kann, wurde die gleiche Betrachtung noch einmal für die Patienten durchgeführt, die ausschließlich mit BSC behandelt worden waren. Anhand dieser Patientenkohorte lässt sich der Einfluss der

klonalen Evolution auf den Krankheitsverlauf und damit auf die Prognose der Patienten exakter bestimmen als bei den therapierten Patienten, zumal nicht immer die exakten Daten über den Therapiezeitpunkt und die Therapiedauer vorlagen. Da es sich bei dem Auftreten einer klonalen Evolution genau genommen um eine zeitabhängige Covariable handelt, wurde für die weitere statistische Betrachtung das *Cox Proportional Hazard* Modell verwendet. Von den insgesamt 303 *BSC*-Patienten lagen von 294 Patienten alle erforderlichen Informationen vor, um die weiteren Analysen durchführen zu können. Die *Baseline*-Charakteristika der *BSC*-Patienten sind gesondert in Tabelle 16 aufgeführt.

		Anzahl	Prozent
Geschlecht (n = 294)	weiblich	110	37,6
	männlich	184	62,4
WHO (n = 294)	RCUD	11	3,7
	RCMD	121	41,2
	RARS	20	6,8
	5q-Syndrom	11	3,7
	RAEB I	32	10,9
	RAEB II	34	11,6
	CMML I	41	14
	CMML II	7	2,4
	RAEB-T	13	4,4
NCCSS (n = 294)	very good	4	1,4
	good	231	78,6
	intermediate	37	12,6
	poor	13	4,4
	very poor	9	3,1
IPSS-R (n = 294)	very low	21	9,5
	low	90	40,7
	intermediate	55	24,9
	high	38	17,2
	very high	17	7,7

Tabelle 16: Geschlechterverteilung sowie *WHO*, *NCCSS* und *IPSS-R* der *BSC*-Patienten

3.3.1 Klonale Evolution

57 (18,9 %) *BSC*-Patienten zeigen im Verlauf einen Karyotypprogress. Dabei findet man bei 31,6 % dieser Patienten bei ED einen normalen Karyotyp, 68,4 % zeigen zum Zeitpunkt der Diagnose hingegen schon chromosomale Aberrationen.

Die kumulative Inzidenz klonaler Evolution nach 5 Jahren lag bei 17,6 % (95 %-Konfidenzintervall (CI): 13,7 %-22,6 %, Abb. 8). Die Mehrheit der Ereignisse klonaler Evolution trat innerhalb der ersten drei Jahre nach Diagnosestellung auf - mit Betonung auf dem ersten Jahr. Patienten mit einem normalen Karyotyp hatten ein signifikant geringeres Risiko für klonale Evolution als Patienten mit einem bereits veränderten Karyotyp mit einer kumulativen 5-Jahres Inzidenz von 11,7 % im Vergleich zu 27,8 % ($p = 0,0001$) (Neukirchen et al., 2017).

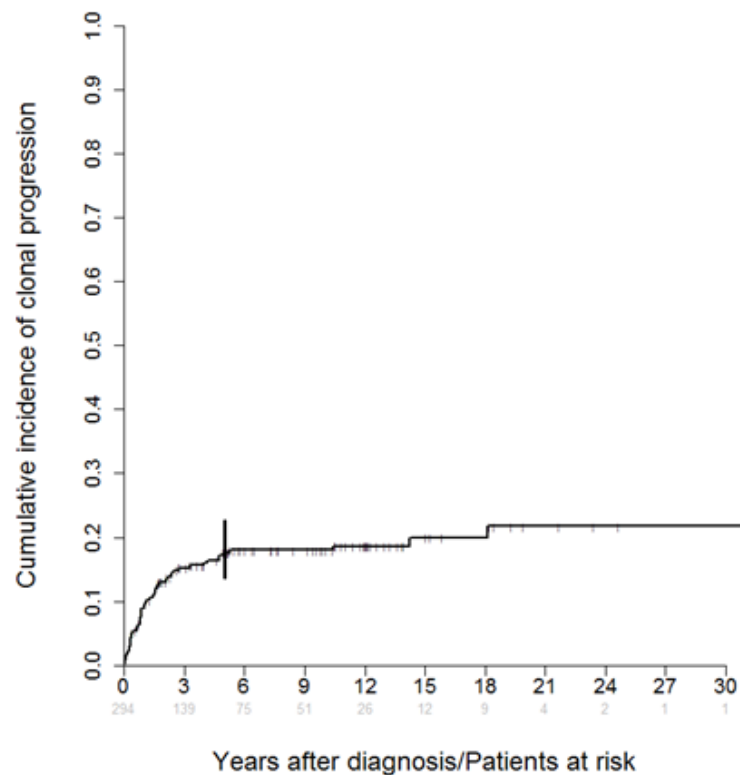


Abb. 8: Die kumulative Inzidenz klonaler Evolution im Hinblick auf die Zeit in Jahren ab ED

Die Verteilung der Patienten mit den unterschiedlichen chromosomalen Veränderungen bei Erstdiagnose und bei Progress ist in Abb. 9 dargestellt. Die zytogenetischen Kategorien entsprechend der *NCCSS*-Klassifikation werden durch die verschiedenen Farben repräsentiert, die farbige Linie außen am Kreis markiert den jeweiligen Startpunkt. Am Ankunftspunkt eines jeden Verbindungsbalkens ist ein weißes Segment auf der Kreislinie dargestellt. Die Breite der Balken korreliert mit der Anzahl an Patienten, die die jeweilige Progression aufweisen. Zusammenfassend zeigt sich, dass Patienten aus jeder Risikokategorie in jede andere Kategorie eine klonale Evolution aufweisen können. Allerdings findet sich ein zunehmendes Risiko für klonale Evolution mit ungünstigerer *NCCSS*-Risikokategorie (Neukirchen et al., 2017).

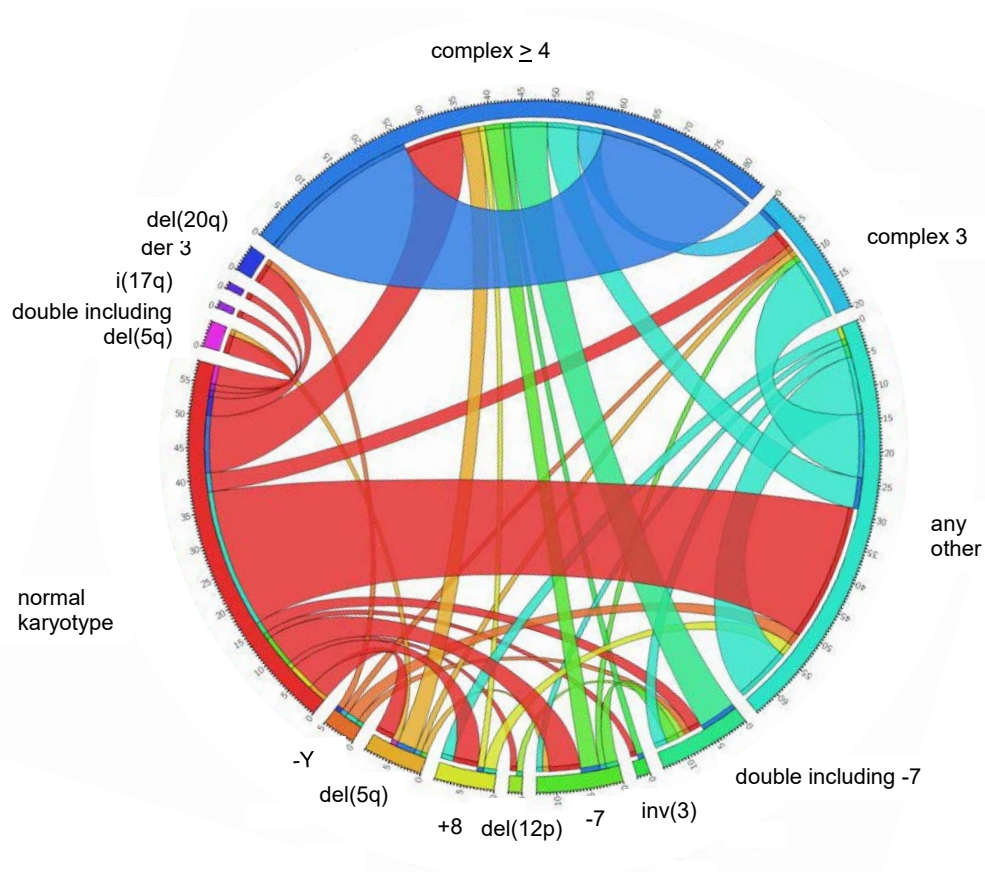


Abb. 9: Die Verteilung der BSC-Patienten in die einzelnen NCCSS-Kategorien bei ED und bei Progress (Neukirchen et al., 2017)

Weitere statistisch signifikante Kovariablen für das Auftreten klonaler Evolution sind in Tabelle 17 dargestellt. Dabei finden sich z.B. die Anzahl an Knochenmarkblasten und das Vorhandensein von Subklonen, auf das ich später noch genauer eingehen werde. Das Geschlecht spielt bei der Betrachtung allerdings keine Rolle.

		kumulative 5-Jahres Inzidenz der klonalen Evolution (95 %-Konfidenzintervall)	p (Gray Test)
Alter	< 65 Jahre	11,3 % (5,7-16,9 %)	0,015
	> 65 Jahre	22,7 % (16,1-29,2 %)	0,015
Geschlecht	männlich	16,7 % (11,2-22,1 %)	0,527
	weiblich	19,3 % (11,7-26,9 %)	0,527

Knochenmarkblasten	< 5%	14,8 % (9,7-19,9 %)	0,016
	≥ 5%	23,4 % (14,8-31,9 %)	0,016
normaler Karyotyp	ja	11,7 % (7,0-16,5 %)	0,001
	nein	27,8 % (19,2-36,4 %)	0,001
Subklon	nein	14,4 % (10,1-18,7 %)	< 0,001
	ja	51,5 % (31,9-71,1 %)	< 0,001
NCCSS	very good, good	12,4 % (8,1-16,7 %)	< 0,001
	intermediate	32,4 % (17,3-47,5 %)	< 0,001
	poor, very poor	47,4 % (26,0-68,8 %)	< 0,001
IPSS-R	very low	5,4 % (0,0-15,6 %)	0,001
	low	14,8 % (7,4-22,3 %)	0,001
	intermediate	18,5 % (8,1-28,9 %)	0,001
	high	39,0 % (22,9-55,1 %)	0,001
	very high	42,4 % (18,3-66,4 %)	0,001

Tabelle 17: Kumulative 5-Jahres Inzidenz der klonalen Evolution in Abhängigkeit von statistisch signifikanten Kovariablen

3.3.2 Einfluss der klonalen Evolution auf die Überlebenszeit und die Zeit bis zum AML-Übergang

Die Zeit bis zum AML-Progress konnte bei nur 284 der BSC-Patienten ausgewertet werden, da bei 10 Patienten der Zeitpunkt des AML-Übergangs nicht bekannt ist. Insgesamt findet sich bei 68 der BSC-Patienten ein AML-Übergang (23,9 %). Die mediane Zeit bis zum AML-Übergang wird nicht erreicht, die kumulative 5-Jahres-Inzidenz liegt bei 23,1 % (95 %-CI: 18,5-28,6 %). Patienten mit klonaler

Evolution haben im Vergleich zu den Patienten ohne klonale Evolution eine ursachenspezifische *Hazard Ratio* (HR) von 2,233 (95 %-CI: 1,053-4,736, $p = 0,036$). Bei den Patienten mit klonaler Evolution liegt die kumulative AML-Inzidenz nach 2 und 5 Jahren bei 11,5 % und 18,8 %.

Betrachtet man das Gesamtüberleben der *BSC*-Patienten, so zeigt sich ein signifikanter Einfluss klonaler Evolution auf die Prognose: HR: 3,677 (95 %-CI: 2,659-5,084, $p < 0,001$). In der folgenden Tabelle (Tabelle 18) sind die in der univariaten Analyse relevanten Faktoren für das Überleben dargestellt.

	Hazard Ratio	95 %-Konfidenzintervall	p
Alter (in Jahren)	1,052	1,037-1,068	< 0,001
Geschlecht: männlich vs. weiblich	1,341	1,007-1,787	0,044
Knochenmarkblasten: < 5 % vs $\geq$ 5 %	0,620	0,467-0,822	< 0,001
Subklon (Zeitpunkt: ED)	2,037	1,337-3,102	< 0,001
abnormaler Karyotyp vs. normaler Karyotyp	1,453	1,136-1,972	< 0,001
klonale Evolution	3,677	2,659-5,084	< 0,001
NCCSS: poor vs. very poor	0,522	0,219-1,244	< 0,001
NCCSS: intermediate vs. very poor	0,334	0,158-0,707	< 0,001
NCCSS: good vs. very poor	0,198	0,100-0,393	< 0,001
NCCSS: very good vs. very poor	0,277	0,085-0,906	< 0,001
IPSS-R: low vs. very low	1,844	0,990-3,432	< 0,001
IPSS-R: intermediate vs. very low	2,939	1,535-5,625	< 0,001
IPSS-R: high vs. very low	6,376	3,206-12,680	< 0,001
IPSS-R: very high vs. very low	5,279	2,438-11,430	< 0,001

Tabelle 18: Univariate Analyse von Faktoren bezüglich des Gesamtüberlebens der *BSC*-Patienten

Anders als in der Gesamtpatientengruppe findet man bei den *BSC*-Patienten, die im Verlauf eine klonale Evolution zeigen, aber bei Erstdiagnose einen normalen Karyotyp haben, ein signifikant längeres Überleben als bei den Patienten, die schon zum Zeitpunkt der Diagnose einen aberranten Karyotyp aufweisen, der dann im Verlauf einen Progress zeigt (66 vs. 26 Monate, $p = 0,02$).

Auch bei den *BSC*-Patienten erfolgte eine Betrachtung der Überlebenszeit der Patienten, die einen Karyotypprogress im Verlauf zeigen, im Hinblick auf die

NCCSS-Kategorie und analog zur gesamten Patientenkohorte ist auch hier das Überleben in der Kategorie *good* am längsten (siehe Tabelle 19).

		n (%)	Überleben in Monaten
<i>NCCSS</i>	<i>very good</i>	2	17
	<i>good</i>	32	54
	<i>intermediate</i>	13	27
	<i>poor</i>	4	15
	<i>very poor</i>	6	9

Tabelle 19: Überleben der *BSC*-Patienten mit klonaler Evolution im Hinblick auf die *NCCSS*-Kategorie

Zusätzlich wurde das Überleben ab dem Zeitpunkt des Karyotypprogresses untersucht, das bei 7,2 Monaten lag. Es zeigen sich relevante Unterschiede der einzelnen *NCCSS*-Kategorien. Aufgrund der zu geringen Patientenanzahl wurden die Patienten, die zum Zeitpunkt des Progresses der *NCCSS*-Kategorie *good* oder *intermediate* und die, die der Kategorie *poor* oder *very poor* zugeordnet werden konnten, zu zwei Gruppen zusammengefasst. In diesen Kohorten lassen sich signifikante Unterschiede in der Überlebenszeit finden (*good* und *intermediate*: 20,6 Monate; *poor* und *very poor*: 4,2 Monate; $p < 0,0001$) (siehe Abb. 10) (Neukirchen et al., 2017).

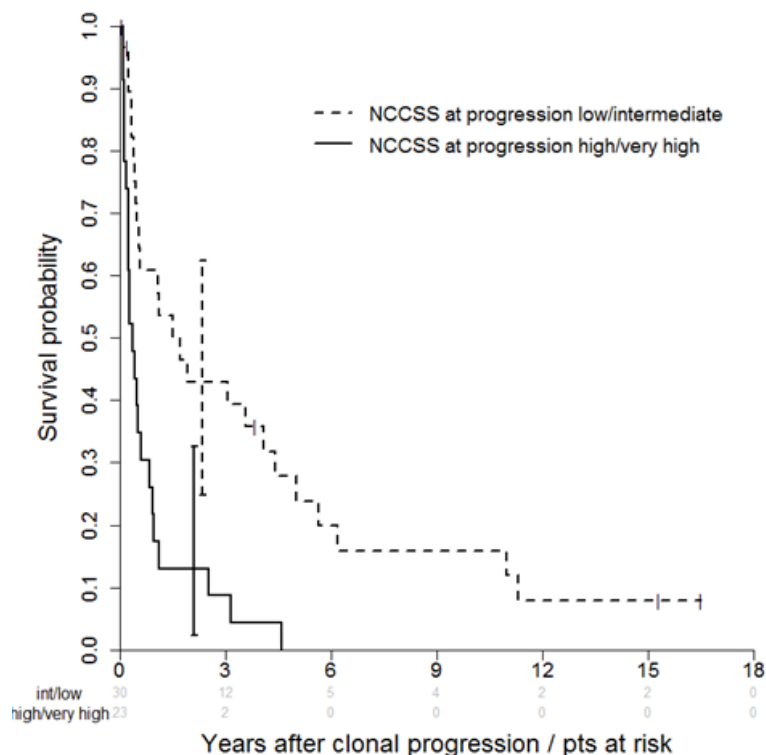


Abb. 10: Die Überlebenszeit in Jahren ab dem Zeitpunkt des Karyotypprogresses

Betrachtet wurde außerdem, wie sich das Überleben der Patienten ohne und mit einem AML-Übergang verhält. Bei den Patienten ohne einen Übergang in eine AML zeigt sich, dass diejenigen, die im Verlauf eine klonale Evolution des Karyotyps durchlaufen, ein signifikant kürzeres Überleben aufweisen als die ohne Karyotypprogress (66 vs. 41 Monate, $p = 0,024$). Bei den AML-Patienten findet man keinen statistisch signifikanten Zusammenhang vor (29 vs. 15 Monate, $p = 0,264$) (siehe Abb. 11).

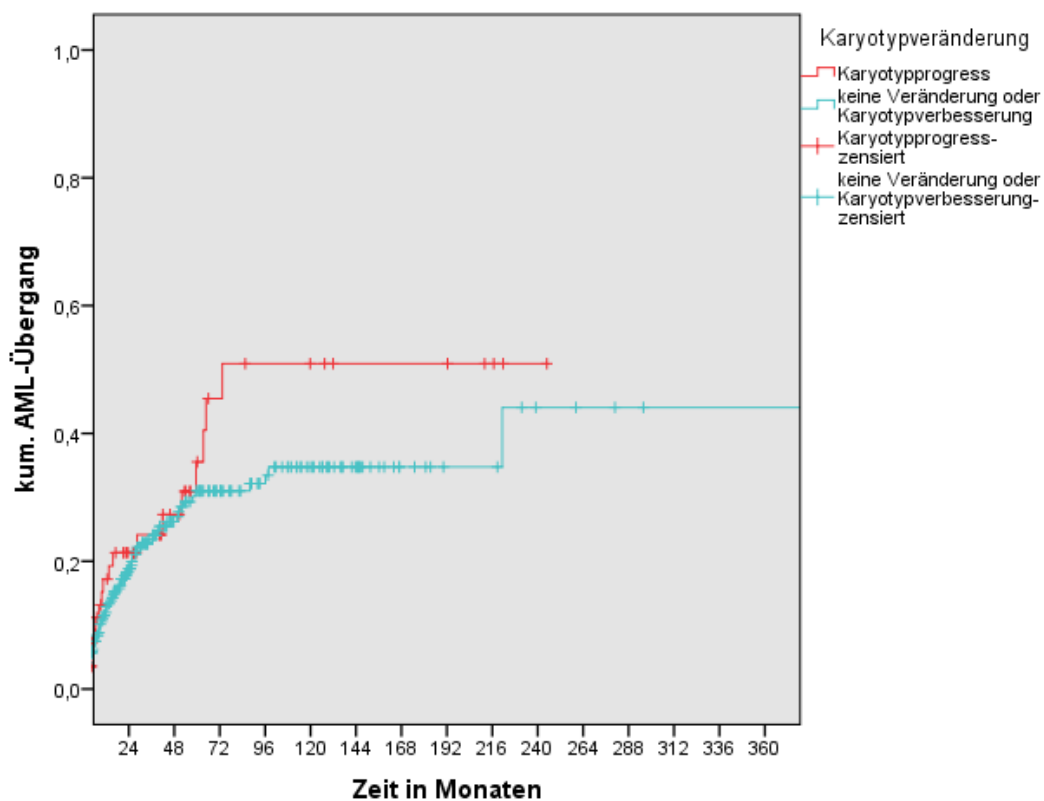


Abb. 11: Kaplan-Meier-Plot mit kumulativer Wahrscheinlichkeit des AML-Übergangs der *BSC*-Patienten mit bzw. ohne Karyotypprogress

3.4 Einfluss von Subklonen auf die Prognose von MDS-Patienten

3.4.1 Deskriptive Statistik

Im zweiten Teil dieser Arbeit wird der Fokus auf die Patienten gelegt, die einen Subklon im Karyotyp aufweisen. Dieses ist bei 81 der insgesamt 572 Patienten (14,2 %) der Fall. Dabei handelt es sich bei 61,7 % um männliche Patienten, die im Median 63 Jahre alt sind (Bereich: 16-87 Jahre). Das Alter der Patienten, die keinen Subklon im Karyotyp zeigen, beträgt im Median ebenfalls 63 Jahre (18-87 Jahre). Bei den Patienten,

die im Verlauf eine klonale Evolution zeigen, findet man in 20,8 % der Fälle einen Subklon, bei den Patienten ohne Karyotypprogress nur bei 11,9 % ($p = 0,007$).

Am häufigsten lassen sich diese Patienten mit 38,3 % der *WHO*-Kategorie RCMD zuordnen, 27,2 % findet man in der Kategorie RAEB II und 11,1 % in der Kategorie RAEB I wieder. Mit 9,9 % fallen einige Patienten in die RAEB-T Kategorie. Wenige Patienten lassen sich den Kategorien CMML I (7,4 %), RCUD (2,5 %), 5q-Syndrom (1,2 %), CMML II (1,2 %) und RARS (1,2 %) zuordnen (siehe Tabelle 20).

Die Patienten, bei denen ausreichend Daten für eine Klassifikation vorhanden waren, finden sich nach *IPSS-R* mit 45,2 % am häufigsten in der Kategorie *very high* wieder. Abnehmend in der Risikoeinstufung fallen immer weniger Patienten in die einzelnen Kategorien. In die Kategorie *high* lassen sich somit noch 27,4 % der Patienten mit Subklon einstufen, in die Kategorie *intermediate* 15,1 %, *low* 9,6 % und in die Kategorie *very low* nur noch 2,7 %.

Auch die Einteilung der Karyotypen nach *NCCSS* wurde durchgeführt. Von den 81 Patienten, die einen Subklon im Karyotyp aufweisen und die in eine *NCCSS*-Kategorie einzuordnen sind, zeigt die Mehrheit (mit 34,6 %) eine Zuordnung zu der Kategorie *very poor*. Gefolgt von der Kategorie *intermediate* mit 30,8 % der Patienten, *poor* mit 24,7 % und *good* mit 9,9 %. In die Kategorie *very good* fallen keine Patienten.

		Anzahl	Prozent
WHO (n = 81)	RCUD	2	2,5
	RCMD	31	38,3
	RARS	1	1,2
	5q-Syndrom	1	1,2
	RAEB I	9	11,1
	RAEB II	22	27,2
	CMML I	6	7,4
	CMML II	1	1,2
	RAEB-T	8	9,9
IPSS-R (n = 73)	<i>very low</i>	2	2,7
	<i>low</i>	7	9,6
	<i>intermediate</i>	11	15,1

	<i>high</i>	20	27,4
	<i>very high</i>	33	45,2
NCCSS (n = 81)	<i>very good</i>	0	0
	<i>good</i>	8	9,9
	<i>intermediate</i>	25	30,8
	<i>poor</i>	20	24,7
	<i>very poor</i>	28	34,6

Tabelle 20: *WHO*, *IPSS-R* und *NCCSS* der Patienten mit Subklon

3.4.2. Einfluss des Vorkommens von Subklonen auf die Überlebenszeit und die Zeit bis zum AML-Übergang

Für die Betrachtung der Überlebenszeit und AML-Progression habe ich mich auf die Patienten beschränkt, die zum Zeitpunkt der Erstdiagnose einen Subklon aufgewiesen haben (n = 77,14 %). Betrachtet man die mediane Überlebenszeit der Patienten, bei denen ein Subklon aufgefunden wurde, so zeigt sich, dass die Patienten ohne Subklon im Median mit 50 Monaten ein längeres Überleben als die mit Subklon (28 Monate) aufweisen ($p = 0,001$) (siehe Abb. 12).

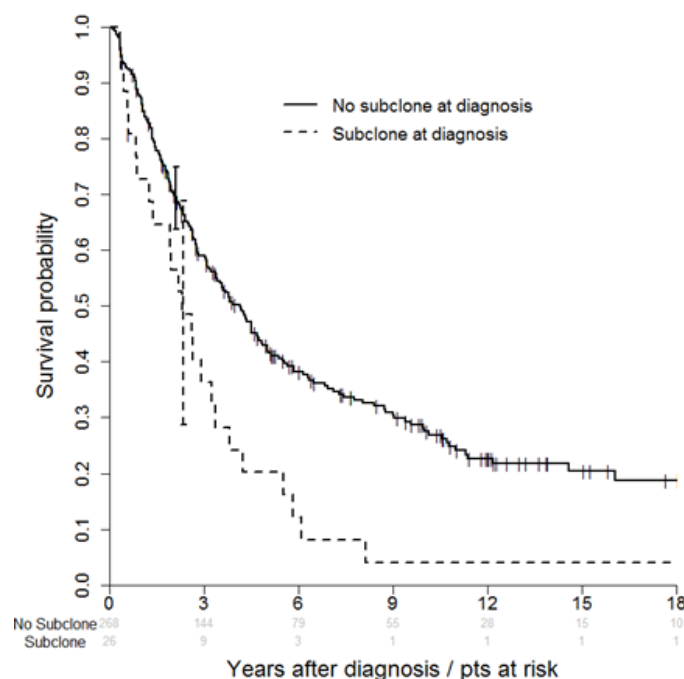


Abb. 12: Überleben der Patienten mit und ohne Subklon bei ED in Jahren

Es folgte eine detailliertere Auswertung der medianen Überlebenszeit unter dem Aspekt der zugehörigen *WHO*-, *IPSS*- und *IPSS-R*-Kategorie. Aufgrund der geringen

Patientenzahlen konnte nur in den *WHO*-Gruppen RCMD, RAEB I und RAEB II ein kürzeres Überleben in den Gruppen mit Subklon festgestellt werden. In den *IPSS*-Kategorien zeigen die Patienten, die als *intermediate 1*, *intermediate 2* oder *high* einzuordnen sind, ein kürzeres Überleben mit Subklon. In den *IPSS-R*-Kategorien wird dies in den Gruppen *very low*, *low*, *intermediate* und *very high* deutlich (siehe Tabelle 21).

		kein Subklon Überleben in Monaten	Subklon Überleben in Monaten	p
WHO	RCMD	56	35	0,007
	RAEB I	41	4	0,005
	RAEB II	33	11	0,036
		kein Subklon Überleben in Monaten	Subklon Überleben in Monaten	p
IPSS	<i>intermediate 1</i>	44,3	31,7	0,004
	<i>intermediate 2</i>	33,1	18,5	0,002
	<i>high</i>	18,4	16,7	0,007
		kein Subklon Überleben in Monaten	Subklon Überleben in Monaten	p
IPSS-R	<i>very low</i>	119,8	108	< 0,0001
	<i>low</i>	66,0	38,6	< 0,0001
	<i>intermediate</i>	42,8	26,3	< 0,0001
	<i>very high</i>	19,0	15,6	< 0,0001

Tabelle 21: Die mediane Überlebenszeit der Patienten mit und ohne Subklon unter dem Aspekt der Zuordnung in die verschiedenen *WHO*-, *IPSS*- und *IPSS-R*-Kategorien

Es folgte eine erneute Gruppierung der Patienten in eine Kohorte mit einem Anteil von < 5 % medullären Blasten und in eine zweite mit > 5 % medullären Blasten. Auch hier zeigte sich in der Auswertung, dass die Präsenz von Subklonen mit einem kürzeren Überleben korreliert (58 vs. 35 Monate in Patienten mit < 5 % Blasten, $p = 0,007$; 27 vs. 10 Monate bei Patienten mit > 5 % medullären Blasten, $p = 0,002$).

Betrachtet man nur die *BSC*-Patienten mit Subklon zum Zeitpunkt der Erstdiagnose, so findet sich kein relevanter Einfluss auf die AML-Progression. Weitert man die Analyse allerdings auf alle Patienten aus der Kohorte aus, so ist das Vorhandensein von Subklonen ein relevanter Prädiktor ($p < 0,001$). Bei den Patienten mit Subklon liegt die 5-Jahres AML-Rate bei 62,6 % (95 %-CI: 50,9-74,3 %),

wohingegen sie bei den Patienten ohne Subklon bei 35,2 % liegt (95 %-CI: 30,5-39,9 %).

Abschließend wurde noch ein multivariates Modell für das Gesamtüberleben berechnet (Tabelle 22), wobei die *NCCSS*-Kategorien und der Blastenanteil im Knochenmark nicht berücksichtigt wurden, da diese bereits im *IPSS-R* enthalten sind. Ansonsten bestätigen sich die bereits im univariaten Modell gesehenen Effekte, auch wenn *Hazard Ratios* kleiner waren. Für das Auftreten klonaler Evolution liegt sie bei 2,257 (95 %-CI: 1,557-3,271, $p < 0,001$) und bestätigt somit den ungünstigen Effekt auf die Prognose der Patienten, selbst wenn andere Variablen mitberücksichtigt werden. Im multivariaten Modell ist der Einfluss von Subklonen nicht mehr signifikant. Im multivariaten Modell für die AML-Progression ist weder das Vorhandensein von Subklonen noch das Auftreten klonaler Evolution relevant.

	<i>Hazard Ratio</i>	95 %- Konfidenzintervall	p
klonale Evolution	2,257	1,557-3,271	< 0,001
Subklon (Zeitpunkt: ED)	1,393	0,868-2,235	0,17
Geschlecht: männlich vs. weiblich	1,394	0,999-1,946	0,051
Alter (in Jahren)	1,038	1,021-1,056	< 0,001
<i>IPSS-R: low vs. very low</i>	1,503	0,791-2,856	0,213
<i>IPSS-R: intermediate vs. very low</i>	2,239	1,152-4,352	0,017
<i>IPSS-R: high vs. very low</i>	3,586	1,744-7,374	< 0,001
<i>IPSS-R: very high vs. very low</i>	4,700	2,123-10,405	< 0,001

Tabelle 22: Multivariate Analyse von Faktoren bezüglich des Einflusses auf die AML-Progression

4. Diskussion

Ziel der Arbeit ist es, den Einfluss klonaler Evolution auf die Prognose von MDS-Patienten zu untersuchen und die prognostische Bedeutung von Subklonen herauszuarbeiten.

Auf der Basis von insgesamt 572 MDS-Patienten konnte Folgendes gezeigt werden:

- Eine klonale Evolution des Karyotyps im Verlauf der Erkrankung ist mit einem kürzeren Gesamtüberleben assoziiert.
- Das Vorhandensein von Subklonen bereits zum Zeitpunkt der Erstdiagnose hat ebenfalls einen negativen Einfluss auf das Überleben der Patienten.
- Sowohl klonale Evolution als auch das Vorhandensein von Subklonen sind nicht nur mit einem kürzeren Gesamtüberleben als auch mit einem höheren Risiko für einen AML-Übergang assoziiert.
- Die klonale Progression folgt keiner klaren Regel, allerdings bleibt auch beim Progress der Charakter im Sinne des Vorhandenseins von MDS-typischen Veränderungen erhalten.
- Die Wahrscheinlichkeit einer klonalen Evolution hängt von den primär beschriebenen Karyotypen ab. Es findet sich bei unbehandelten Patienten immer eine Evolution hin zu prognostisch ungünstigeren Karyotypen. Eine klonale Entwicklung hin zu einem prognostisch günstigen Karyotyp findet sich nicht (Neukirchen et al., 2017).

Betrachtet man die gesamte Studienkohorte, so findet sich sowohl bezüglich der Geschlechterverteilung als auch bezüglich der Verteilung der MDS-Subtypen ein repräsentatives Kollektiv an MDS-Patienten. Es ist anzumerken, dass das mediane Alter der für diese Arbeit betrachteten Patienten 63 Jahre beträgt und damit etwas niedriger als die Angaben in der Literatur ist; jedoch sind hier auch die Patienten inbegriffen, die eine allogene Stammzelltransplantation erhalten haben, eine Therapie, die bei jüngeren Patienten zur Anwendung kommt. Betrachtet man die Verteilung der Karyotypen, so findet sich bei 47 % der Patienten ein normaler Karyotyp; 53 % hingegen zeigen Chromosomenveränderungen, analog zu den Ergebnissen von Haase et al. sowie von

Schanz et al., die berichten, dass etwa 50 % der MDS-Patienten chromosomale Anomalien aufweisen (Schanz et al., 2012, Haase et al., 2007). Der leicht erhöhte Anteil an Patienten mit Karyotypveränderungen in dieser Arbeit lässt sich wohlmöglich damit erklären, dass gerade die Patienten, die bei der Erstdiagnostik einen veränderten Karyotyp aufweisen, zur Verlaufsbeobachtung häufiger einer weiteren Punktion unterzogen werden und damit für die ausgewertete Patientengruppe dieser Arbeit in Betracht kommen. Auch finden sich in dieser Kohorte Patienten mit einer $\text{del}(5q)$, die im Rahmen einer Studie mit Lenalidomid behandelt wurden, das speziell bei dieser Subgruppe eine sehr gute Wirksamkeit aufweist. Zu Kontrollzwecken erfolgte bei den Patienten eine wiederholte Karyotypanalyse.

Untersucht man zunächst einmal den Einfluss einer chromosomalen Progression auf die Prognose der Patienten, so zeigt sich, dass die Patienten ohne Veränderung des Karyotyps im Verlauf mit 41,7 Monaten eine deutlich längere mediane Überlebenszeit als die Patienten mit einem Karyotypprogress (27 Monate) ($p < 0,0001$) aufweisen. Um den Einfluss einer spezifischen Therapie auf den Verlauf der Erkrankung auszuschließen, wurde die Prognose der *BSC*-Patienten separat betrachtet. Auch hier findet sich ein deutlich längeres Überleben von 46 Monaten bei den Patienten ohne klonale Evolution im Vergleich zu 28 Monaten bei Patienten, die im Erkrankungsverlauf einen klonalen Progress aufweisen ($p < 0,0001$). Eine Analyse des Überlebens bei *BSC*-Patienten, die eine klonale Evolution innerhalb von 6 Monaten, innerhalb eines Jahres, innerhalb zweier Jahre und nach zwei Jahren zeigen, macht deutlich, dass darüber hinaus auch ein Zusammenhang zwischen dem Zeitpunkt des Auftretens der klonalen Evolution und der Prognose besteht. Mit 84 Monaten zeigen die Patienten, die erst nach zwei Jahren einen Progress erleiden, das längste Überleben. Das kürzeste Überleben findet man bei den Patienten mit einer klonalen Evolution innerhalb der ersten sechs Monate nach Erstdiagnose ($p < 0,0001$) (Neukirchen et al., 2017).

Neben der Analyse der chromosomalen Progression wurde zusätzlich die Bedeutung von Subklonen evaluiert. Bochtler et al. stellten in ihrer Veröffentlichung über Subklone bei AML-Patienten fest, dass diese zu 51,2 % einer ungünstigen Risikogruppe nach der *European LeukemiaNet*-Klassifikation (*ELN*-Klassifikation) angehören (Bochtler et al., 2013). Außerdem berichten sie, dass diese im Median älter sind als die Patienten ohne einen Subklon im Karyotyp. Betrachtet man nun wieder die gesamte Patientengruppe, so zeigt sich auch hier, dass ein Großteil der Patienten mit

Subklon einer prognostisch ungünstigen *IPSS-R*-Kategorie angehört (27,4 % *high* und 45,2 % *very high*). Das Auftreten von Subklonen scheint also auch hier mit einer höheren Risikokategorie nach *IPSS-R* zu korrelieren. Das mediane Alter zeigt sich jedoch, anders als in der Veröffentlichung von Bochtler et al., mit 63 Jahren nahezu gleich hoch wie bei den Patienten ohne Subklon (63,5 Jahre) (Neukirchen et al., 2017).

Im Allgemeinen treten bei 14,2 % aller Patienten Subklone im Karyotyp auf, wobei sie mit 61,7 % vermehrt in den Karyotypauswertungen der männlichen Patienten zu finden sind. Da das MDS jedoch im Allgemeinen eine Präferenz für das Auftreten bei dem männlichen Geschlecht hat, lässt sich hieraus keine Aussage über das Vorkommen der Subklone machen. Häufiger jedoch findet man mit 20,8 % vs. 11,9 % einen Subklon bei den Patienten, deren Karyotyp im Verlauf eine klonale Evolution zeigt ($p = 0,007$).

Die Auswertung der Einordnung der Karyotypen der Patienten nach dem *NCCSS*-System zeigt, dass im Vergleich zur *NCCSS*-Einordnung der Gesamtgruppe, Patienten mit Subklon wesentlich häufiger in den Risikokategorien *poor* und *very poor* auftreten. Daraus lässt sich schließen, dass Subklone häufiger in bereits komplex veränderten Karyotypen auftreten bzw. dass das Auftreten von Subklonen bei Patienten mit einem fortgeschrittenen MDS mit einem instabilen Chromosomensatz häufiger ist (Neukirchen et al., 2017).

Die vorliegenden Daten legen nahe, dass das Auftreten eines Subklons zum Zeitpunkt der Erstdiagnose mit einer schlechteren Prognose assoziiert ist. So zeigen die Patienten mit Subklon bei Erstdiagnose eine mediane Überlebenszeit von 28 Monaten und die ohne Subklon eine von 50 Monaten ($p = 0,001$). Die gleiche Aussage konnte die Studiengruppe um Bochtler für die AML-Patienten machen (Bochtler et al., 2013). In einem weiteren Schritt wurden die medianen Überlebenszeiten der Patientengruppen mit und ohne Subklon für die einzelnen *WHO*-Subtypen und für Hoch- und Niedrigrisiko-Patienten mit einem medullären Blastenanteil über und unter 5 % betrachtet. Auch wenn die Betrachtung aufgrund der geringen Patientenzahl nicht für jede Subgruppe gelang, so zeigt sich doch in allen untersuchten Subgruppen ein kürzeres Gesamtüberleben, wenn Subklone vorliegen. In der univariaten Betrachtung zeigt sich sowohl für das Gesamtüberleben als auch für die Rate an AML-Progressionen ein signifikanter Einfluss von Subklonen (Neukirchen et al., 2017).

Da ein Teil der MDS-Patienten im Krankheitsverlauf eine AML entwickelt, stand bei der Auswertung der Einfluss der klonalen Evolution auf das Risiko, eine AML zu entwickeln, ebenfalls im Fokus. Betrachtet man zunächst die Prognose der Patienten, die weder eine AML entwickeln, noch eine klonale Evolution aufweisen, ist bei diesen das mediane Überleben mit 70 Monaten merklich länger als bei Patienten mit klonaler Evolution (42 Monate im Median, $p = 0,022$). Die Prognoseverschlechterung durch den Karyotypprogress beeinflusst das Überleben hier deutlich. Bei den Patienten mit AML-Übergang lässt sich keine statistisch signifikante Aussage treffen. Hier erkennt man eine Tendenz zu einem längeren medianen Überleben bei der Kohorte ohne chromosomalen Progress, jedoch zeigt sich im Vergleich mit der Dauer des Überlebens der Patientenkohorte mit AML-Übergang und einer klonalen Evolution kein signifikanter Unterschied (28,5 vs. 24,4 Monate, $p = 0,119$) (Neukirchen et al., 2017).

Allerdings korreliert die Zeit bis zu einem AML-Übergang mit der klonalen Evolution; so zeigen die Patienten ohne eine Änderung des Karyotyps ein progressionsfreies Intervall von 221 Monaten, die mit Karyotypprogress eine signifikant kürzere Zeit bis zum AML-Übergang von nur 35 Monaten ($p < 0,0001$). Die Studiengruppe von Bochtler et al. zeigte auf, dass die Anhäufung von klonalen Aberrationen zu einem AML-Übergang führen kann. Sie beschreiben weiterhin, dass sie eine wichtige Rolle im Fortschreiten von MDS spielen können (Bochtler et al., 2015). Auch die hier bestimmten AML-Raten machen den Einfluss der chromosomalen Aberrationen auf das progressionsfreie Intervall deutlich: mit 52,8 % (mit Karyotypprogress) versus 20,1 % (ohne Karyotypprogress) zeigen mehr Patienten mit einem sich verändernden Karyotyp einen AML-Übergang.

Beschränkt man die Betrachtung des AML-Übergangs auf die BSC-Kohorte, so findet sich ein AML-Übergang bei 23,9 %, wobei die Patienten mit klonaler Evolution im Vergleich zu den Patienten ohne Karyotypprogress eine ursachenspezifische *Hazard Ratio* von 2,233 (95 %-CI = 1,053-4,736, $p = 0,036$) haben. Die BSC-Patienten ohne einen AML-Übergang und ohne einen Karyotypprogress weisen ebenfalls wie die Gesamtkohorte ein signifikant längeres Überleben auf als die Patienten mit klonalem Progress (66 vs. 41 Monate, $p = 0,024$). Die Auswertung bei den AML-Patienten mit und ohne klonale Evolution kommt allerdings, genau wie in der gesamten Patientengruppe, zu keinem statistisch signifikanten Ergebnis (29 vs. 15 Monate,

$p = 0,264$). Es ist allerdings auch hier ein Trend hin zu einem kürzeren Gesamtüberleben zu beobachten.

Bei den Patienten, die im Verlauf eine klonale Evolution durchlaufen, kann konstatiert werden, dass sie vormals in der Mehrzahl nach *NCCSS* als *good* eingestuft (61,4 %) und nach der klonalen Evolution meist der Kategorie *intermediate* (42,6 %) zugeteilt werden. Es scheint sich bei dem Progress also um einen Prozess zu handeln, der allmählich vonstattengeht. Auch Bochtler et. al. beschreiben in ihrer Veröffentlichung dieses schrittweise Ansammeln von Aberrationen während eines typischen AML-Verlaufs (Bochtler et al., 2015). Um ausschließen zu können, dass die Ergebnisse mit den unterschiedlichen Zeitabständen zwischen den Punktionen zusammenhängen, dass also die Patienten mit einer weniger ausgeprägten Anomalie bei der Folgepunktion eher und die anderen später in einem weiter entwickelten Stadium der Krankheit punktiert wurden, wurde außerdem die mediane Zeit bestimmt, die bis zu einer Verschlechterung um eine oder um zwei und mehr *NCCSS*-Kategorien verging. Hierbei fand sich mit 14,3 und 14,6 Monaten kein Unterschied.

Bei der Auswertung der Daten stellt sich außerdem heraus, dass Patienten, die man den *IPSS-R*-Kategorien *very low* und *low* zuordnet, ein geringes Risiko für eine klonale Evolution zeigen. Gleichwohl die Patientenanzahl in der Kategorie *very low* relativ gering und damit statistisch wenig aussagekräftig ist, kann die Anzahl in den anderen Kategorien als statistisch relevant betrachtet werden. 83,4 % der der Kategorie *very low* zugeordneten Patienten und 69 % der Patienten, die der *IPSS-R*-Kategorie *low* zugeteilt werden, zeigen keine Karyotypveränderung im Verlauf. Je weiter die Erkrankung fortschreitet, desto häufiger kommt es im Verlauf zu einer Karyotypveränderung. Betrachtet man nur die Kohorte, die eine klonale Evolution zeigt, so steigt dieser Anteil, je prognostisch ungünstiger die Einordnung nach dem *IPSS-R-Score* ist (*very low*: 6,6 %, *very high*: 41,8 %). Gleiches berichten Bernasconi et al. in ihrer Veröffentlichung aus dem Jahre 2010, wobei sie eine Patientengruppe von 153 Patienten untersuchten. Sie stellten fest, dass Patienten mit einer fortgeschrittenen Erkrankung häufiger zytogenetische Aberrationen aufweisen. Außerdem beschreiben sie, dass diese Aberrationen signifikant das progressionsfreie Intervall und das Überleben beeinträchtigen (Bernasconi et al., 2010). Auch diese Aussage wird von den Ergebnissen dieser Arbeit gestützt, zeigen doch die Patienten ohne Veränderung des Karyotyps mit 41,7 Monaten eine deutlich längere mediane

Überlebenszeit, als es die Patienten mit einem Karyotypprogress tun (27 Monate, $p < 0,0001$) (Neukirchen et al., 2017).

Auch bei den *BSC*-Patienten lässt sich feststellen, dass sich eine klonale Evolution im Verlauf schrittweise entwickelt. Vor dem Progress sind auch hier die meisten Patienten (54,6 %) der *NCCSS*-Kategorie *good* zuzuordnen. Danach befinden sich in dieser Kategorie jedoch nur noch 3,5 % der Patienten, in der Kategorie *intermediate* dagegen 41,1 % (vormals 18,4 %). Die Anzahl an Patienten in den Kategorien *poor* und *very poor* ist dabei ebenfalls gestiegen (*poor*: von 9,9 % auf 12,1 %, *very poor*: von 14,2 % auf 33,3 %) (Neukirchen et al., 2017).

Kritisch zu hinterfragen ist der Grund, weshalb bei den Patienten, deren Daten für diese Arbeit ausgewertet wurden, im Verlauf erneute Knochenmarkpunktionen durchgeführt wurden. Diese Information konnte trotz erheblicher Bemühungen nicht für einen ausreichenden Anteil an Patienten erhoben werden, beeinflusst allerdings die Grundvoraussetzungen dieser Patientengruppe. Da die regelmäßige Punktion keine Routineuntersuchung bei MDS-Patienten darstellt, muss angenommen werden, dass es einen Anlass für die Punktionen gab. Ausgenommen davon sind die Patienten, die an Studien teilnehmen, bei denen es zur Überwachung im Verlauf regelmäßig zu Knochenmarkuntersuchungen kommt. Somit steht die Frage im Raum, ob die hier ausgewertete Patientengruppe als repräsentativ für alle MDS-Erkrankten anzusehen ist und somit eine zufällige Stichprobe darstellt oder ob durch den Anlass der erneuten Punktion ein Selektionsbias entsteht (Neukirchen et al., 2017).

Möglich ist einerseits, dass die Patienten nur deshalb erneut punktiert wurden, weil die klinische Situation oder eine andere Begebenheit einen Hinweis darauf gaben, dass eine Verschlechterung der Situation eingetreten war, die Patientengruppe im Vergleich zur Gesamtheit der MDS-Erkrankten also schlechtere Grundvoraussetzungen aufweist. Auch eine mit einer größeren Wahrscheinlichkeit durchgeführte zweite Punktion bei Patienten, die eine bessere Prognose zeigen, z.B. aufgrund eines jüngeren Alters oder weniger Komorbiditäten und sich aufgrund dessen für intensivere Therapien oder klinische Studien eignen, die einer Überwachung obliegen, kann bessere Grundvoraussetzungen der hier ausgewerteten Patientenkohorte bedingen. Anzunehmen ist Letzteres, da das Überleben der Patientengruppe, die in diese Arbeit mit einbezogen wurde, mit 37 Monaten signifikant länger ist als das Überleben aller zum Zeitpunkt der

hier durchgeführten Datenauswertung im Register gespeicherten Patienten (26 Monate, $p < 0,0001$) und das mediane Alter der Patienten, von denen keine Karyotypauswertung vorliegt, mit 74 Jahren signifikant höher ist ($p < 0,001$) (Neukirchen et al., 2017).

Des Weiteren gilt zu diskutieren, ob das Vorhandensein von Subklonen oder ein chromosomaler Progress aufgrund des Einflusses auf die Prognose zu einer früheren Entscheidung für eine invasive Therapie führen sollte. In einer aktuellen Arbeit von Nachtkamp et al. konnte gezeigt werden, dass lediglich 16,6 % der MDS-Patienten nicht an Ursachen versterben, die unmittelbar mit der Erkrankung zusammenhängen. Bei allen anderen Patienten fanden sich vor allem AML-Progress, Infektionen und Blutungen als häufigste Todesursachen, die durch eine spezifische Therapie beeinflussbar sein können (Nachtkamp et al., 2016).

Eine allogene Stammzelltransplantation als einzig kurativer Therapieansatz wird in erster Linie bei fortgeschrittenem MDS durchgeführt, ebenso wie eine Therapie mit Azacytidin. Es gibt allerdings Berichte in der Literatur, die Hinweise geben, dass diese Therapien aufgrund besserer Ansprechraten durchaus zu einem früheren Zeitpunkt vor dem Progress der Erkrankung erwogen werden können. Cutler et al. berichten z.B. in ihrer Veröffentlichung über allogene Stammzelltransplantationen, dass bei Niedrigrisikopatienten eine Transplantation, die noch vor dem AML-Übergang stattfindet, die besten Überlebenszeiten für die Patienten zeigt (Cutler et al., 2004). Sie argumentieren jedoch auch, dass eine Transplantation ein Risiko darstellt und dass die Patienten dieser Risikogruppe per se gute Überlebenszeiten zeigen, so dass das Risiko nicht zu früh eingegangen werden sollte. Auch Alessandrino et al. empfehlen eine Transplantation in einem noch nicht so weit fortgeschrittenen Krankheitsstadium (Alessandrino et al., 2013). Somit könnte bei Niedrigrisikopatienten ein chromosomaler Progress im Erkrankungsverlauf auf eine schlechtere Prognose hindeuten und dies schon als Anlass genommen werden, eine Therapie zu erwägen.

Zusammenfassend zeigen die vorliegenden Daten, dass eine klonale Progression und das Vorhandensein von Subklonen bei MDS-Patienten mit einer schlechteren Prognose sowie mit einer höheren Rate an AML-Übergängen und einem kürzeren Gesamtüberleben assoziiert sind. Die Daten unterstreichen die Bedeutung chromosomaler Analysen für die Prognoseevaluation. Insbesondere jüngere Patienten, die einer intensiveren Therapie zugeführt werden können, sollten im Verlauf auch

regelmäßig zytogenetische Untersuchungen erhalten. Wenn von einer Knochenmarkpunktion abgesehen werden soll, könnte diese Untersuchung auch aus dem peripheren Blut erfolgen, wie Kollegen aus Göttingen in mehreren Publikationen anschaulich darstellen konnten. FISH-Untersuchungen (Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung) an CD34-Zellen aus dem peripheren Blut von MDS-Patienten sind eine geeignete Methode, um frühzeitig Veränderungen zu erkennen und somit noch vor einem klinischen Progress die Patienten zu identifizieren, bei denen ein höheres Risiko für eine Krankheitsprogression besteht und die von einer früheren Therapieinitiierung profitieren könnten (Bräulke et al., 2013, Bräulke et al., 2015, Neukirchen et al., 2017).

5. Literatur- und Quellenverzeichnis

- ALESSANDRINO, E. P., PORTA, M. G., MALCOVATI, L., JACKSON, C. H., PASCUTTO, C., BACIGALUPO, A., TERESA VAN LINT, M., FALDA, M., BERNARDI, M., ONIDA, F., GUIDI, S., IORI, A. P., CERRETTI, R., MARENCO, P., PIOLTELLI, P., ANGELUCCI, E., ONETO, R., RIPAMONTI, F., RAMBALDI, A., BOSI, A. & CAZZOLA, M. **2013**. Optimal timing of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with myelodysplastic syndrome. *Am J Hematol*, 88, 581-8.
- ARBER, D. A., ORAZI, A., HASSERJIAN, R., THIELE, J., BOROWITZ, M. J., LE BEAU, M. M., BLOOMFIELD, C. D., CAZZOLA, M. & VARDIMAN, J. W. **2016**. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*, 127, 2391-405.
- AUL, C., BOWEN, D. T. & YOSHIDA, Y. **1998**. Pathogenesis, etiology and epidemiology of myelodysplastic syndromes. *Haematologica*, 83, 71-86.
- AUL, C., GATTERMANN, N. & SCHNEIDER, W. **1995**. Epidemiological and etiological aspects of myelodysplastic syndromes. *Leuk Lymphoma*, 16, 247-62.
- BENNETT, J. M. **2000**. World Health Organization classification of the acute leukemias and myelodysplastic syndrome. *Int J Hematol*, 72, 131-3.
- BENNETT, J. M., CATOVSKY, D., DANIEL, M. T., FLANDRIN, G., GALTON, D. A., GRALNICK, H. R. & SULTAN, C. **1982**. Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol*, 51, 189-99.
- BERNASCONI, P., KLERSY, C., BONI, M., CAVIGLIANO, P. M., DAMBRUOSO, I. & ZAPPATORE, R. **2013**. Validation of the new comprehensive cytogenetic scoring system (NCCSS) on 630 consecutive de novo MDS patients from a single institution. *Am J Hematol*, 88, 120-9.
- BERNASCONI, P., KLERSY, C., BONI, M., CAVIGLIANO, P. M., GIARDINI, I., ROCCA, B., ZAPPATORE, R., DAMBRUOSO, I., CALVELLO, C., CARESANA, M. & LAZZARINO, M. **2010**. Does cytogenetic evolution have any prognostic relevance in myelodysplastic syndromes? A study on 153 patients from a single institution. *Ann Hematol*, 89, 545-51.
- BOCHTLER, T., FROHLING, S. & KRAMER, A. **2015**. Role of chromosomal aberrations in clonal diversity and progression of acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 29, 1243-52.
- BOCHTLER, T., STOLZEL, F., HEILIG, C. E., KUNZ, C., MOHR, B., JAUCH, A., JANSSEN, J. W., KRAMER, M., BENNER, A., BORNHAUSER, M., HO, A. D., EHNINGER, G., SCHAICH, M. & KRAMER, A. **2013**. Clonal heterogeneity as detected by metaphase karyotyping is an indicator of poor prognosis in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*, 31, 3898-905.
- BRAULKE, F., JUNG, K., SCHANZ, J., GOTZE, K., MULLER-THOMAS, C., PLATZBECKER, U., GERMING, U., BRUMMENDORF, T. H., BUG, G., OTTMANN, O., GIAGOUNIDIS, A. A., STADLER, M., HOFMANN, W. K., SCHAFHAUSEN, P., LUBBERT, M., SCHLENK, R. F., BLAU, I. W., GANSTER, C., PFEIFFER, S., SHIRNESHAN, K., METZ, M., DETKEN, S., SERAPHIN, J., JENTSCH-ULLRICH, K., BOHME, A., SCHMIDT, B., TRUMPER, L. & HAASE, D. **2013**. Molecular cytogenetic monitoring from CD34+ peripheral blood cells in myelodysplastic syndromes: first results from a prospective multicenter German diagnostic study. *Leuk Res*, 37, 900-6.
- BRAULKE, F., PLATZBECKER, U., MULLER-THOMAS, C., GOTZE, K., GERMING, U., BRUMMENDORF, T. H., NOLTE, F., HOFMANN, W. K., GIAGOUNIDIS, A. A., LUBBERT, M., GREENBERG, P. L., BENNETT, J. M., SOLE, F., MALLO, M., SLOVAK, M. L., OHYASHIKI, K., LE BEAU, M. M., TUCHLER, H., PFEILSTOCKER, M., NOSSLINGER, T., HILDEBRANDT, B., SHIRNESHAN, K., AUL, C., STAUDER, R., SPERR, W. R., VALENT, P., FONATSCH, C., TRUMPER, L., HAASE, D. & SCHANZ, J. **2015**. Validation of cytogenetic risk groups according to International Prognostic Scoring Systems by peripheral blood

- CD34+FISH: results from a German diagnostic study in comparison with an international control group. *Haematologica*, 100, 205-13.
- CHEONG, J. W., KIM, H. J., LEE, K. H., YOON, S. S., LEE, J. H., PARK, H. S., KIM, H. Y., SHIM, H., SEONG, C. M., KIM, C. S., CHUNG, J., HYUN, M. S., JO, D. Y., JUNG, C. W., SOHN, S. K., YOON, H. J., KIM, B. S., JOO, Y. D., PARK, C. Y. & MIN, Y. H. **2014**. Deferasirox improves hematologic and hepatic function with effective reduction of serum ferritin and liver iron concentration in transfusional iron overload patients with myelodysplastic syndrome or aplastic anemia. *Transfusion*, 54, 1542-51.
- CUTLER, C. S., LEE, S. J., GREENBERG, P., DEEG, H. J., PEREZ, W. S., ANASETTI, C., BOLWELL, B. J., CAIRO, M. S., GALE, R. P., KLEIN, J. P., LAZARUS, H. M., LIESVELD, J. L., MCCARTHY, P. L., MILONE, G. A., RIZZO, J. D., SCHULTZ, K. R., TRIGG, M. E., KEATING, A., WEISDORF, D. J., ANTIN, J. H. & HOROWITZ, M. M. **2004**. A decision analysis of allogeneic bone marrow transplantation for the myelodysplastic syndromes: delayed transplantation for low-risk myelodysplasia is associated with improved outcome. *Blood*, 104, 579-85.
- FENAUX, P. & ADES, L. **2013**. How we treat lower-risk myelodysplastic syndromes. *Blood*, 121, 4280-4286.
- FENAUX, P., GIAGOUNIDIS, A., SELLESLAG, D., BEYNE-RAUZY, O., MUFTI, G., MITTELMAN, M., MUUS, P., TE BOEKHORST, P., SANZ, G., DEL CANIZO, C., GUERCI-BRESLER, A., NILSSON, L., PLATZBECKER, U., LUBBERT, M., QUESNEL, B., CAZZOLA, M., GANSER, A., BOWEN, D., SCHLEGELBERGER, B., AUL, C., KNIGHT, R., FRANCIS, J., FU, T. & HELLSTROM-LINDBERG, E. **2011**. A randomized phase 3 study of lenalidomide versus placebo in RBC transfusion-dependent patients with Low-/Intermediate-1-risk myelodysplastic syndromes with del5q. *Blood*, 118, 3765-76.
- FENAUX, P., MUFTI, G. J., HELLSTROM-LINDBERG, E., SANTINI, V., FINELLI, C., GIAGOUNIDIS, A., SCHOCH, R., GATTERMANN, N., SANZ, G., LIST, A., GORE, S. D., SEYMOUR, J. F., BENNETT, J. M., BYRD, J., BACKSTROM, J., ZIMMERMAN, L., MCKENZIE, D., BEACH, C. & SILVERMAN, L. R. **2009**. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. *Lancet Oncol*, 10, 223-32.
- GERMING, U., AUL, C., NIEMEYER, C. M., HAAS, R. & BENNETT, J. M. **2008**. Epidemiology, classification and prognosis of adults and children with myelodysplastic syndromes. *Ann Hematol*, 87, 691-9.
- GERMING, U., GATTERMANN, N., STRUPP, C., AIVADO, M. & AUL, C. **2000**. Validation of the WHO proposals for a new classification of primary myelodysplastic syndromes: a retrospective analysis of 1600 patients. *Leuk Res*, 24, 983-92.
- GERMING, U., KOBBE, G., HAAS, R. & GATTERMANN, N. **2013a**. Myelodysplastische Syndrome: Diagnostik, Prognoseabschätzung und Therapie. *Dtsch Arztebl International*, 110, 783-90.
- GERMING, U. & KÜNDGEN, A. **2012**. Prognostic scoring systems in MDS. *Leuk Res*, 36, 1463-9.
- GERMING, U., NEUKIRCHEN, J. & HAAS, R. **2013b**. Myelodysplastische Syndrome (MDS): Diagnostik, Prognoseabschätzung und Therapie. *kliniker*, 42, 328-334.
- GERMING, U., STRUPP, C., KUENDGEN, A., ISA, S., KNIPP, S., HILDEBRANDT, B., GIAGOUNIDIS, A., AUL, C., GATTERMANN, N. & HAAS, R. **2006**. Prospective validation of the WHO proposals for the classification of myelodysplastic syndromes. *Haematologica*, 91, 1596-1604.
- GREENBERG, P., COX, C., LEBEAU, M. M., FENAUX, P., MOREL, P., SANZ, G., SANZ, M., VALLESPI, T., HAMBLIN, T., OSCIER, D., OHYASHIKI, K., TOYAMA, K., AUL, C., MUFTI, G. & BENNETT, J. **1997**. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood*, 89, 2079-88.
- GREENBERG, P. L., TUECHLER, H., SCHANZ, J., SANZ, G., GARCIA-MANERO, G., SOLE, F., BENNETT, J. M., BOWEN, D., FENAUX, P., DREYFUS, F., KANTARJIAN, H., KUENDGEN, A., LEVIS, A., MALCOVATI, L., CAZZOLA, M., CERMAK, J., FONATSCH, C., LE BEAU, M. M.,

- SLOVAK, M. L., KRIEGER, O., LUEBBERT, M., MACIEJEWSKI, J., MAGALHAES, S. M., MIYAZAKI, Y., PFEILSTOCKER, M., SEKERES, M., SPERR, W. R., STAUDER, R., TAURO, S., VALENT, P., VALLESPI, T., VAN DE LOOSDRECHT, A. A., GERMING, U. & HAASE, D. **2012**. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood*, 120, 2454-65.
- HAASE, D., GERMING, U., SCHANZ, J., PFEILSTOCKER, M., NOSSLINGER, T., HILDEBRANDT, B., KUNDGEN, A., LUBBERT, M., KUNZMANN, R., GIAGOUNIDIS, A. A., AUL, C., TRUMPER, L., KRIEGER, O., STAUDER, R., MULLER, T. H., WIMAZAL, F., VALENT, P., FONATSCH, C. & STEIDL, C. **2007**. New insights into the prognostic impact of the karyotype in MDS and correlation with subtypes: evidence from a core dataset of 2124 patients. *Blood*, 110, 4385-95.
- KRZYWINSKI, M., SCHEIN, J., BIROL, I., CONNORS, J., GASCOYNE, R., HORSMAN, D., JONES, S. J. & MARRA, M. A. **2009**. Circos: an information aesthetic for comparative genomics. *Genome Res*, 19, 1639-45.
- LIST, A., DEWALD, G., BENNETT, J., GIAGOUNIDIS, A., RAZA, A., FELDMAN, E., POWELL, B., GREENBERG, P., THOMAS, D., STONE, R., REEDER, C., WRIDE, K., PATIN, J., SCHMIDT, M., ZELDIS, J. & KNIGHT, R. **2006**. Lenalidomide in the myelodysplastic syndrome with chromosome 5q deletion. *N Engl J Med*, 355, 1456-65.
- MALCOVATI, L., GERMING, U., KUENDGEN, A., DELLA PORTA, M. G., PASCUTTO, C., INVERNIZZI, R., GIAGOUNIDIS, A., HILDEBRANDT, B., BERNASCONI, P., KNIPP, S., STRUPP, C., LAZZARINO, M., AUL, C. & CAZZOLA, M. **2007**. Time-Dependent Prognostic Scoring System for Predicting Survival and Leukemic Evolution in Myelodysplastic Syndromes. *Journal of Clinical Oncology*, 25, 3503-3510.
- NACHTKAMP, K., STARK, R., STRUPP, C., KUNDGEN, A., GIAGOUNIDIS, A., AUL, C., HILDEBRANDT, B., HAAS, R., GATTERMANN, N. & GERMING, U. **2016**. Causes of death in 2877 patients with myelodysplastic syndromes. *Ann Hematol*, 95, 937-44.
- NEUKIRCHEN, J., LAUSEKER, M., BLUM, S., GIAGOUNIDIS, A., LUBBERT, M., MARTINO, S., SIRAGUSA, S., SCHLENK, R. F., PLATZBECKER, U., HOFMANN, W. K., GOTZE, K., PALUMBO, G. A., MAGRIN, S., KUNDGEN, A., AUL, C., HILDEBRANDT, B., HASFORD, J., KOBBE, G., HAAS, R. & GERMING, U. **2014**. Validation of the revised international prognostic scoring system (IPSS-R) in patients with myelodysplastic syndrome: a multicenter study. *Leuk Res*, 38, 57-64.
- NEUKIRCHEN, J., LAUSEKER, M., HILDEBRANDT, B., NOLTING, A. C., KAIVERS, J., KOBBE, G., GATTERMANN, N., HAAS, R. & GERMING, U. **2017**. Cytogenetic clonal evolution in myelodysplastic syndromes is associated with inferior prognosis. *Cancer*, Volume 123, Issue 23, 4608-4616, Copyright © 2017 American Cancer Society, Wiley Periodicals, Inc. ("Wiley").
- NEUKIRCHEN, J., SCHOONEN, W. M., STRUPP, C., GATTERMANN, N., AUL, C., HAAS, R. & GERMING, U. **2011**. Incidence and prevalence of myelodysplastic syndromes: data from the Dusseldorf MDS-registry. *Leuk Res*, 35, 1591-6.
- ROSE, C., BRECHIGNAC, S., VASSILIEF, D., PASCAL, L., STAMATOULLAS, A., GUERCI, A., LARBAA, D., DREYFUS, F., BEYNE-RAUZY, O., CHAURY, M. P., ROY, L., CHEZE, S., MOREL, P. & FENAUX, P. **2010**. Does iron chelation therapy improve survival in regularly transfused lower risk MDS patients? A multicenter study by the GFM (Groupe Francophone des Myelodysplasies). *Leuk Res*, 34, 864-70.
- SANTINI, V., SCHEMENAU, J., LEVIS, A., BALLEARI, E., SAPENA, R., ADES, L., GUERCI, A., BEYNE-RAUZY, O., GOURIN, M. P., CHEZE, S., STAMATOULLAS, A., SANNA, A., GIOIA, D., CAMETTI, G., FERRERO, D., RAFFOUX, E., ROSE, C., POLONI, A., PREBET, T., LEGROS, L., NATARAJAN-AME, S., FENAUX, P., GERMING, U., DREYFUS, F. & PARK, S. **2013**. Can the revised IPSS predict response to erythropoietic-stimulating agents in patients with classical IPSS low or intermediate-1 MDS? *Blood*, 122, 2286-8.

- SCHANZ, J., TUCHLER, H., SOLE, F., MALLO, M., LUNO, E., CERVERA, J., GRANADA, I., HILDEBRANDT, B., SLOVAK, M. L., OHYASHIKI, K., STEIDL, C., FONATSCH, C., PFEILSTOCKER, M., NOSSLINGER, T., VALENT, P., GIAGOUNIDIS, A., AUL, C., LUBBERT, M., STAUDER, R., KRIEGER, O., GARCIA-MANERO, G., FADERL, S., PIERCE, S., LE BEAU, M. M., BENNETT, J. M., GREENBERG, P., GERMING, U. & HAASE, D. **2012**. New Comprehensive Cytogenetic Scoring System for Primary Myelodysplastic Syndromes (MDS) and Oligoblastic Acute Myeloid Leukemia After MDS Derived From an International Database Merge. *Journal of Clinical Oncology*, 30, 820-829.
- VOSO, M. T., FENU, S., LATAGLIATA, R., BUCCISANO, F., PICIOCCHI, A., ALOE-SPIRITI, M. A., BRECCIA, M., CRISCUOLO, M., ANDRIANI, A., MANCINI, S., NISCOLA, P., NASO, V., NOBILE, C., PICCIONI, A. L., D'ANDREA, M., D'ADDOSIO, A., LEONE, G. & VENDITTI, A. **2013**. Revised International Prognostic Scoring System (IPSS) predicts survival and leukemic evolution of myelodysplastic syndromes significantly better than IPSS and WHO Prognostic Scoring System: validation by the Gruppo Romano Mielodisplasie Italian Regional Database. *J Clin Oncol*, 31, 2671-7.
- WAIN, H. M., BRUFORD, E. A., LOVERING, R. C., LUSH, M. J., WRIGHT, M. W. & POVEY, S. **2002**. Guidelines for human gene nomenclature. *Genomics*, 79, 464-70.
- WEST, R. R., STAFFORD, D. A., FARROW, A. & JACOBS, A. **1995**. Occupational and environmental exposures and myelodysplasia: a case-control study. *Leuk Res*, 19, 127-39.

Danksagung

Mein Dank gilt zunächst Herrn Prof. Dr. Germing, der mir die Möglichkeit gegeben hat, diese Arbeit unter seiner Leitung durchzuführen sowie Herrn Prof. Dr. Haas, in dessen Abteilung ich diese Arbeit verfassen durfte.

Frau Dr. Strapatsas (ehem. Neukirchen) danke ich herzlich für die wertschätzende und stets angenehme Zusammenarbeit über den gesamten Betreuungszeitraum, die stetige Hilfsbereitschaft und Unterstützung während der Datenerhebung und –auswertung sowie die mühevollen Arbeit in der Korrekturphase.

Und schließlich, aber nicht zuletzt, möchte ich mich besonders bei meinen Eltern für die uneingeschränkte Unterstützung während meines Studiums und des bisherigen Lebenswegs bedanken.