

---

---

**Klinische Bedeutung der Expression  
lymphatischer Marker  
bei akuter myeloischer Leukämie**

---

---

Stefan Thudium



Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik III - Großhadern  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Vorstand: Prof. Dr. Dr. Michael von Bergwelt  
Bis 30.11.2017: Prof. Dr. Wolfgang Hiddemann

# **Klinische Bedeutung der Expression lymphatischer Marker bei akuter myeloischer Leukämie**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Humanbiologie  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Stefan Thudium

aus  
Waiblingen

2018

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Jan Braess

Mitberichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Christoph Walz

Prof. Dr. Petro E. Petrides

Mitbetreuung durch den

promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Bernhard Heilmeyer

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 25.09.2018

# Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung .....	1
1.1 Das Blut.....	1
1.1.1 Definition .....	1
1.1.2 Zusammensetzung .....	1
1.1.3 Funktion .....	1
1.1.4 Hämatopoese .....	1
1.2 Allgemeines zur AML.....	3
1.2.1 Definition .....	3
1.2.2 Epidemiologie .....	3
1.2.3 Ätiologie .....	3
1.2.4 Pathobiologie.....	4
1.2.5 Klassifikation .....	7
1.2.6 Prognosefaktoren .....	9
1.2.7 Klinisches Bild .....	10
1.3 Diagnostik der AML .....	10
1.3.1 Verdachtsdiagnose und Diagnosesicherung.....	10
1.3.2 Zytomorphologie.....	11
1.3.3 Immunphänotypisierung .....	12
1.3.4 Zytogenetik.....	12
1.3.5 Molekulargenetik .....	12
1.3.6 Cluster of Differentiation (CD) .....	13
1.3.7 Prinzip der Durchflusszytometrie .....	13
1.4 Therapie der AML.....	15
1.4.1 Basisinformationen .....	15
1.4.2 Induktionstherapie .....	15
1.4.3 Postremissionstherapie .....	16
1.4.4 Nachsorge.....	16
1.5 Ziel der Arbeit .....	17
2. Patienten, Material und Methoden .....	19
2.1 Patienten .....	19
2.2 Material .....	19
2.3 Methoden .....	19
2.3.1 Ablauf der Datenerhebung.....	19
2.3.2 Datengewinnung mittels Zytomorphologie .....	22

2.3.3 Datengewinnung mittels Immunphänotypisierung.....	27
2.3.4 Datengewinnung mittels Zytogenetik .....	28
2.3.5 Datengewinnung mittels Molekulargenetik.....	29
2.3.6 Datenerhebung, statistische Auswertung und graphische Darstellung.....	29
3. Ergebnisse .....	31
3.1 Akquirierte Patienten .....	31
3.2 Sozialdemographische Patientendaten.....	31
3.3 Erkrankungsbezogene Patientendaten.....	32
3.3.1 Zytomorphologie.....	32
3.3.2 Immunphänotypisierung .....	32
3.3.3 Zytogenetik.....	34
3.3.4 Molekulargenetik .....	35
3.3.5 Risikoeinteilung .....	36
3.3.6 Verlaufsdaten .....	37
3.4 Zusammenhänge bei den erhobenen Daten im Patientenkollektiv.....	38
3.4.1 Sozialdemographische sowie erkrankungsbezogene Patientendaten und ihr Zusammenhang mit immunphänotypischen Markern .....	38
3.4.2 Immunphänotypische Marker und ihr Zusammenhang mit dem rezidivfreien Überleben und dem Gesamtüberleben der Patienten .....	53
4. Diskussion.....	57
4.1 Bisherige Erkenntnisse über die klinische Bedeutung der Expression lymphatischer Marker bei akuter myeloischer Leukämie .....	57
4.2 Sozialdemographische Patientendaten.....	57
4.3 Erkrankungsbezogene Patientendaten.....	58
4.3.1 Zytomorphologie.....	58
4.3.2 Immunphänotypisierung .....	58
4.3.3 Zytogenetik.....	60
4.3.4 Molekulargenetik .....	61
4.3.5 Risikoeinteilung .....	62
4.3.6 Verlaufsdaten .....	62
4.4 Zusammenhänge bei den erhobenen Daten im Patientenkollektiv.....	63
4.4.1 Sozialdemographische sowie erkrankungsbezogene Patientendaten und ihr Zusammenhang mit immunphänotypischen Markern .....	63
4.4.2 Immunphänotypische Marker und ihr Zusammenhang mit dem rezidivfreien Überleben und dem Gesamtüberleben der Patienten .....	74

5. Zusammenfassung .....	79
6. Verzeichnisse .....	82
6.1 Abkürzungsverzeichnis .....	82
6.2 Literaturverzeichnis .....	84
6.3 Abbildungsverzeichnis .....	95
6.4 Tabellenverzeichnis .....	96
7. Eidesstattliche Versicherung .....	98
8. Danksagung .....	99



# 1. Einleitung

## 1.1 Das Blut

### 1.1.1 Definition

Das menschliche Blut ist eine Körperflüssigkeit, die über das Gefäßsystem nahezu alle Teile des Körpers erreicht und bei einem Erwachsenen etwa 8% des Körpergewichts ausmacht [1], [2].

### 1.1.2 Zusammensetzung

Blut besteht aus Blutplasma und Blutzellen. Das Blutplasma setzt sich zusammen aus Wasser, Monosacchariden, Proteinen, Lipiden, Vitaminen, Elektrolyten, Spurenelementen, Stoffwechselprodukten, Hormonen und gelösten Gasen. Den zellulären Bestandteil, der im Blutplasma suspendiert ist, bilden die Erythrozyten, Thrombozyten und Leukozyten. Die Leukozyten gliedern sich wiederum in die neutrophilen, eosinophilen und basophilen Granulozyten, die Monozyten, die natürlichen Killerzellen sowie die B- und T-Lymphozyten. Die zahlenmäßig größte Fraktion bilden dabei die roten Blutkörperchen [1], [2].

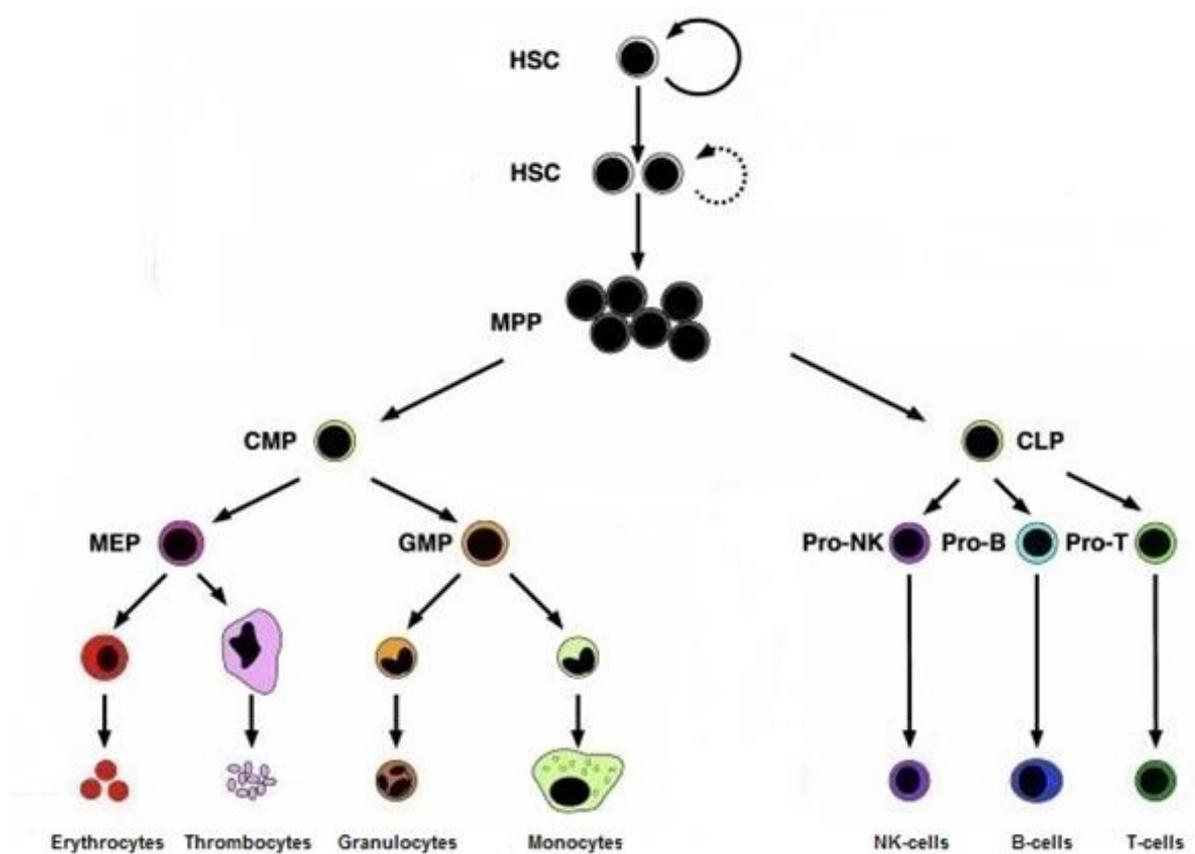
### 1.1.3 Funktion

Zentrale Aufgabe des Blutes ist die Aufrechterhaltung der Funktion verschiedenster Körpergewebe mit Hilfe des Herz-Kreislaufsystems. Dies erfolgt unter anderem durch den Transport von Nährstoffen, Stoffwechselprodukten, Hormonen und gelösten Gasen. Der Sauerstofftransport von der Lunge zu den Geweben und der Kohlenstoffdioxidtransport von den Geweben zur Lunge erfolgt durch die Erythrozyten. Des Weiteren dient das Blut zur Gerinnung. Essentieller Bestandteil hierbei sind die Thrombozyten. Auch die Immunabwehr ist eine wichtige Funktion des Blutes. Die Elimination von Krankheitserregern, abgestorbenen Zellen und Tumorzellen erfolgt durch die Leukozyten. Die Wärmeregulation sowie die Aufrechterhaltung des pH-Wertes des Körpers gehören ebenfalls zu den zentralen Aufgaben des Blutes [1], [2].

### 1.1.4 Hämatopoese

Die Bildung von reifen Blutzellen erfolgt beim Erwachsenen vor allem im Knochenmark durch Zellteilung und Differenzierung einer pluripotenten, hämatopoetischen Stammzelle, aus welcher über Zwischenstufen wiederum die Vorläuferzellen der myeloischen und lymphatischen Zellreihe entstehen. Die Myelopoese beschreibt die Bildung von Erythrozyten, Thrombozyten, Granulozyten und Monozyten. Die Bildung von natürlichen Killerzellen sowie B- und T-Lymphozyten erfolgt im Rahmen der Lymphopoese.

Abgebaut werden die Blutzellen im Retikuloendothelialen System, dem zum Beispiel Milz und Leber angehören. Die Lebenserwartung der Zellen beträgt, je nach Zellart, wenige Tage bis mehrere Jahre [1], [2]. Einen Überblick der Hämatopoese gibt Abbildung 1.1.



HSC (hematopoietic stem cell, hämatopoetische Stammzelle), MPP (multipotent progenitor, multipotente Vorläuferzelle), CMP (common myeloid progenitor, myeloische Vorläuferzelle), CLP (common lymphoid progenitor, lymphatische Vorläuferzelle), MEP (megakaryocytic-erythroid progenitor, Megakaryozyten-Erythrozyten-Vorläuferzelle), GMP (granulocyte-monocyte progenitor, Granulozyten-Monozyten-Vorläuferzelle), Pro-NK (NK-progenitor, NK-Vorläuferzelle), Pro-B (B-progenitor, B-Vorläuferzelle), Pro-T (T-progenitor, T-Vorläuferzelle)

Abbildung 1.1: Hämatopoese [3] (modifiziert)

Die zentrale Bedeutung des Knochenmarks bei der Blutbildung postulierte bereits Neumann im Jahre 1868 [4]. Maximov erwähnte rund 40 Jahre später das Vorhandensein von Stammzellen im Knochenmark mit hämatopoetischen Eigenschaften, die sich zu unterschiedlichen Zellen differenzieren können [5]. 1961 gelang Till und McCulloch der experimentelle Nachweis von hämatopoetischen Stammzellen [6].

Unter physiologischen Bedingungen ist die Blutzellzahl relativ konstant. Reguliert wird die Hämatopoese durch die Hormone Erythropoetin und Thrombopoetin sowie verschiedene Zytokine. Veränderungen in der Blutzellzahl entstehen zum Beispiel durch Sauerstoffmangel, akuten Blutverlust, Infektionen oder durch klonale hämatologische Erkrankungen, wie zum Beispiel einer AML [1], [2].

## **1.2 Allgemeines zur AML**

### 1.2.1 Definition

Die AML ist eine maligne Erkrankung des myeloischen, hämatopoetischen Systems mit klonaler Vermehrung von Blasten aufgrund von genetischen Veränderungen [7]. Sie tritt in der Regel plötzlich auf, schreitet unbehandelt schnell voran und führt bei der Hälfte der Patienten nach fünf Monaten und innerhalb eines Jahres bei allen Patienten zum Tode [8]. Dies geschieht meist aufgrund von unbeherrschbaren Infektionen, Blutungen oder Organversagen [9]. Durch eine intensive Chemotherapie oder eine allogene SZT ist ein Gesamtüberleben von >5 Jahren jedoch nicht selten [10].

### 1.2.2 Epidemiologie

Mit einer Inzidenz von ca. 4 Neuerkrankungen je 100000 Einwohner/Jahr gehört die AML zu den seltenen Formen der malignen Erkrankungen [11]. Sie betrifft mit einem medianen Erkrankungsalter von 67 Jahren hauptsächlich ältere Menschen [12]. Männer haben dabei eine etwas höhere Inzidenz als Frauen [11]. Kinder mit einer akuten Leukämie erkranken hingegen häufiger an einer ALL [13].

### 1.2.3 Ätiologie

Als Ursache der AML wird eine multifaktorielle Genese vermutet wie beispielweise die Exposition gegenüber organischen Lösungsmitteln (z.B. Benzol), ionisierender Strahlung (z.B. Atombombenexplosion) oder aber Zigarettenrauch [14]–[16].

Auch eine Chemotherapie mit Alkylantien (z.B. Melphalan und Cyclophosphamid) oder Topoisomerase-II-Inhibitoren (z.B. Etoposid und Teniposid) kann die Entstehung einer AML fördern [17], [18].

Angeborene (z.B. Down-Syndrom, Klinefelter-Syndrom, Fanconi-Anämie, Bloom-Syndrom, Diamond-Blackfan-Anämie, Kostmann-Syndrom) und erworbene genetische Erkrankungen (z.B. Schwere aplastische Anämie, Paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie) sowie prädisponierende hämatologische Erkrankungen wie das myelodysplastische Syndrom oder myeloproliferative Neoplasien erhöhen ebenfalls das Risiko an einer AML zu erkranken [13], [19], [20].

Beim Großteil aller neu diagnostizierten AMLs ist die Ursache für die Leukämieentstehung jedoch nicht bekannt, da ein auslösender exogener Faktor nicht zu eruieren ist [13].

Geht der Erkrankung eine Chemotherapie und/oder eine Strahlentherapie beziehungsweise eine prädisponierende hämatologische Erkrankung voraus, so spricht man von einer t-AML beziehungsweise von einer s-AML. In allen anderen Fällen spricht man von einer de-novo-AML.

#### 1.2.4 Pathobiologie

Die Entstehung der AML ist ein mehrstufiger Prozess. Faktoren unterschiedlichster Art (näheres hierzu: siehe Kapitel „1.2.3 Ätiologie“) führen dabei im Erbgut einer pluripotenten, hämatopoetischen Stammzelle beziehungsweise einer myeloischen, hämatopoetischen Vorläuferzelle zu zytogenetischen und/oder molekulargenetischen Aberrationen wodurch eine „leukämische Stammzelle“ entsteht. Durch diese leukämische Transformation kommt es zu einer Fehlregulation von Differenzierung, Proliferation und Apoptose im myeloischen, hämatopoetischen System was wiederum zu einer unkontrollierten, klonalen Expansion von primitiven, myeloischen, hämatopoetischen Vorläuferzellen (Blasten) im Knochenmark führt. Daraus resultiert letztendlich eine Akkumulation von Blasten und eine Verdrängung der normalen Hämatopoese im Knochenmark. Außerdem ist bei einer Vielzahl von Patienten eine Ausschwemmung von Blasten aus dem Knochenmark ins periphere Blut zu beobachten [7].

Ob die leukämische Transformation nur auf einer Entwicklungsstufe oder auf verschiedenen Entwicklungsstufen der Hämatopoese stattfinden kann ist Gegenstand der aktuellen Forschung. Einige Wissenschaftler sind der Meinung, dass die leukämische Transformation nur auf der Ebene der pluripotenten, hämatopoetischen Stammzelle stattfinden kann. Die phänotypische Heterogenität der Blasten entsteht nach dieser Hypothese durch eine variabel gestörte Differenzierungsfähigkeit der transformierten pluripotenten Stammzelle [3], [21]. Ein anderes Modell vertritt hingegen die Ansicht, dass die leukämische Transformation auf verschiedenen Entwicklungsstufen der Hämatopoese stattfinden kann. Die phänotypische Heterogenität der Blasten entsteht nach diesem Modell durch die Entwicklungsstufe derjenigen Zelle, die von der leukämischen Transformation betroffen ist [3], [22].

Nach dem sogenannten „two-hit-modell“ müssen für die Diagnose einer AML mindestens zwei zytogenetische oder molekulargenetische Aberrationen nachgewiesen werden [23]–[25]. Zu den häufigsten balancierten zytogenetischen Aberrationen gehören die t(8;21) und die inv(16). 7% beziehungsweise 5% aller AML-Patienten besitzen eine solche Aberration [26]. Sie betreffen den Core-Binding-Transcription-Factor und werden deshalb auch CBF-Leukämien genannt. Balancierte zytogenetische Aberrationen am Retinolsäure-Rezeptor kommen bei der AML ebenfalls häufig vor. Sie werden unter anderem durch die t(15;17) ausgelöst und haben eine hohe Assoziation mit der APL [27]. Da ATRA in therapeutischen Dosen die Differenzierung und Apoptose fördert und die Proliferation hemmt, kommt sie standardmäßig in der Primärtherapie der APL zum Einsatz. Zu den eher seltenen Translokationen bei der AML gehören diverse 11q23-Aberrationen sowie die inv(3), die t(6;9), die t(9;11) und die t(9;22) [26]. Da 11q23-Aberrationen das MLL-Gen betreffen, werden sie auch MLL-Rearrangements genannt. Das durch die t(9;22) verkürzte Chromosom 22 (Philadelphia-Chromosom) ist besonders häufig bei CMLs nachweisbar.

Unbalancierte zytogenetische Aberrationen wie die Trisomie 11, 13 und 21 kommen bei der AML ebenfalls nur selten vor. Die Trisomie 8 ist bei 10% aller AML-Patienten nachweisbar und damit häufig vertreten. Monosomien und Deletionen an den Chromosomen 5 und 7 sind auch eher selten vorzufinden [26]. Treten bei einem Patienten mit einer diagnostizierten AML drei oder mehr nichtverwandte zytogenetische Aberrationen in einem Klon auf, so wird der Karyotyp als komplex aberrant bezeichnet. Dies ist bei 10% aller de-novo-AMLs der Fall [28]. Bei einer t-AML beziehungsweise s-AML werden komplex aberrante Karyotypen hingegen bei 26,9% beziehungsweise 25,0% aller Patienten beobachtet [29].

Die häufigsten molekulargenetischen Aberrationen bei der AML betreffen das NPM1-Gen und das FLT3-Gen. Sie haben eine hohe Assoziation zu einem normalen Karyotyp und treten häufig in Kombination auf [30]. Mit ca. 28% ist die NPM1-Mutation die häufigste molekulargenetische Veränderung bei der AML, abhängig vom Alter und AML-Subtyp [30]. Eine FLT3-ITD betrifft die juxtamembranöse Domäne des FLT3-Rezeptors und kommt bei etwa 21% aller AML-Patienten vor [30]. Die FLT3-TKD führt zu Veränderungen in der Tyrosinkinasedomäne des FLT3-Rezeptors und ist bei ca. 6% aller AML-Patienten nachweisbar [30]. Eine ebenfalls häufig anzutreffende molekulargenetische Aberration bei der AML betrifft das CEBP $\alpha$ -Gen. Die Mutation dieses Gens hat wie die NPM1- und die FLT3-Mutation eine hohe Assoziation zu einem normalen Karyotyp und ist bei etwa 13% aller AMLs mit normalem Karyotyp anzutreffen [31]. Genetische Veränderungen, die das Stammzellfaktor-Rezeptor-Gen (c-Kit-Mutation), das Januskinase-2-Gen (JAK2-Mutation), das Mixed-Lineage-Leukemia-Gene (MLL-PTD) sowie das Rat-Sarcoma-Gene (N-RAS-Mutation) betreffen, kommen bei Patienten mit einer AML ebenfalls vor, zum Teil jedoch nur selten [32]. Sie führen zu Veränderungen in der Funktion von Histon-Methyltransferasen, Transkriptionsfaktoren, Rezeptortyrosinkinasen oder von zentralen Gliedern der Signaltransduktion von Rezeptortyrosinkinasen. Fast die Hälfte aller AML-Patienten hat einen normalen Karyotyp. Bei ihnen können jedoch zum Teil die genannten molekulargenetischen Aberrationen nachgewiesen werden [33].

Bis zu 88,6% aller AML-Patienten weisen auf ihren Blasten zudem quantitative und/oder qualitative Veränderungen im Expressionsmuster der Zellantigene auf [34]. Dies führt zu einem abnormalen Immunphänotyp, dem LAIP, der im gesunden Knochenmark kaum nachweisbar ist. Der LAIP ermöglicht ein MRD-Monitoring im Krankheitsverlauf mit einer sehr hohen Sensitivität, wodurch Rezidive frühzeitig entdeckt werden können, bevor sich diese klinisch äußern [35].

Veränderungen im Expressionsmuster der Zellantigene, die den LAIP charakterisieren, entstehen durch eine unphysiologisch niedrige/hohe Expression eines oder mehrerer Zellantigene sowie durch eine aberrante Antigenexpression, bei der die Blasten zusätzlich linienfremde Antigene tragen, oder eine asynchrone Antigenexpression, bei der die Blasten

zusätzlich Antigene tragen, die ihrem Differenzierungsgrad nicht entsprechen [35]. Eine unphysiologisch hohe CD34-Antigenexpression ist beispielsweise bei ca. 84% aller AML M2-Patienten mit einer t(8;21) nachweisbar während aberrante Antigenexpressionen bei etwa 34,0% und asynchrone Antigenexpressionen bei etwa 82,0% aller de-novo-AMLs vorliegen [34], [36].

Die Bedeutung dieser pathobiologischen Antigenexpressionen ist allerdings bisher noch nicht gut untersucht obwohl sie schon seit längerer Zeit bekannt sind. Einige Zusammenhänge zwischen zytogenetischen und molekulargenetischen Aberrationen sowie dem Immunphänotyp der AML-Blasten konnten jedoch bereits mehrfach nachgewiesen werden. Dabei wurden auch schon die lymphatischen Zellmarker näher betrachtet. So konnte die t(8;21) beispielsweise mit einer vermehrten CD19- und CD56-Expression in Verbindung gebracht werden [37]–[39]. Ausgeprägte CD2-Expressionen charakterisieren hingegen das Antigenmuster von Patienten mit einer t(15,17) und erhöhte CD2 sowie CD4-Expressionen das einer inv(16) [40]–[42]. Das Antigenexpressionsverhalten von AML-Patienten mit einem normalen Karyotyp und einer NPM1-Mutation ist hingegen häufig durch eine reduzierte CD2- und CD7-Expression gekennzeichnet [43]–[45]. Eine starke CD7-Expression ist im Vergleich dazu vermehrt bei AML-Patienten mit einem normalen Karyotyp und einer CEBP $\alpha$ -Mutation zu beobachten während die Blasten von Patienten mit einem normalen Karyotyp und einer FLT3-ITD häufig zusätzlich durch eine reduzierte CD56-Expression geprägt sein können [46]–[49]. Zytogenetische und molekulargenetische Aberrationen, die bei AML-Patienten weniger oft anzutreffen sind, wurden dagegen auf Zusammenhänge mit den exprimierten Zellantigenen bisher noch nicht in größerem Umfang analysiert.

Auch etliche Zusammenhänge zwischen dem Immunphänotyp der AML-Blasten und dem Überleben der Patienten wurden bereits publiziert. Teilweise ist die Datenlage für die lymphatischen Antigene jedoch sehr dünn während die Bedeutung anderer lymphatischer Zellmarker kontrovers diskutiert wird. So ist beispielweise der Einfluss einer CD2-Expression auf das Überleben von AML-Patienten bisher noch nicht eingehend untersucht [50]–[53], während die Datenlage der CD7- und CD56-Expression bezüglich dem rezidivfreien Überleben und dem Gesamtüberleben zwiespältig ist [54], [55]. Eine CD7-Expression konnte in einer Vielzahl von Studien mit einer schlechten Prognose in Verbindung gebracht werden [56]–[59]. Jedoch wurde in einer ähnlich großen Anzahl an Arbeiten diese Korrelation nicht beobachtet [60]–[63]. Wenige Studien konnten auch der CD56-Expression einen negativen Einfluss auf die Prognose nachweisen [64], [65]. Zahlreiche wissenschaftliche Arbeiten, die bei dieser AML-Subpopulation kein abweichendes rezidivfreies Überleben oder Gesamtüberleben beobachteten, widersprechen hingegen diesen Erkenntnissen [51], [55], [66].

### 1.2.5 Klassifikation

Eine Einteilung der AML ist sowohl nach der FAB-Klassifikation als auch der WHO-Klassifikation möglich.

Die FAB-Klassifikation wurde 1976 von einer Hämatopathologen-Gruppe aus Frankreich, USA und England etabliert und 1985 revidiert [67], [68]. Nach dieser Klassifikation muss für die Diagnose einer AML der Anteil der Blasten im Knochenmark mindestens 30% betragen. Eine Einteilung erfolgt aufgrund zytomorphologischer Merkmale der Blasten in 11 FAB-Klassen (FAB M0 bis FAB M7 mit Unterklassen) [68].

Die WHO-Klassifikation wurde erst 2001 von der World-Health-Organisation eingeführt und 2008 nochmals überarbeitet [69], [70]. Nach dieser aktuell gültigen Klassifikation reicht für die Diagnose einer AML ein Blastenanteil im Knochenmark von mindestens 20%. Eine Diagnosestellung ist auch bei einem Blastenanteil von weniger als 20% möglich, wenn AML-typische genetische Veränderungen, wie zum Beispiel eine t(8;21), t(15;17) oder inv(16) nachweisbar sind. Die Einteilung erfolgt auf Basis zytomorphologischer, immunphänotypischer, zytogenetischer und molekulargenetischer Merkmale der Blasten in 7 WHO-Kategorien [70]. Eine neuerliche Überarbeitung der WHO-Klassifikation hat stattgefunden [71]. Das entsprechende WHO-Buch steht aber noch aus.

Aus der FAB-Klassifikation lassen sich im Vergleich zur WHO-Klassifikation, mit Ausnahme der APL, nur wenige prognostische Aussagen und direkte therapeutische Konsequenzen ableiten. Aufgrund der Berücksichtigung klinischer Faktoren und deren Relevanz für die therapeutischen Erwägungen hat die WHO-Klassifikation die FAB-Klassifikation inzwischen weitgehend abgelöst.

Tabelle 1.1: FAB-Klassifikation [68]

FAB-Subtype	Cytomorphology	Typical translocations
M0	AML with minimal differentiation	
M1	AML without maturation	t(8;21)
M2	AML with maturation	t(8;21)
M3	Acute promyelocytic leukemia	t(15;17)
M3v	Acute promyelocytic leukemia, variante	t(15;17)
M4	Acute myelomonocytic leukemia	
M4eo	Acute myelomonocytic leukemia with eosinophilia	inv(16)/t(16;16)
M5a	Acute monocytic leukemia	11q23-Aberrations
M5b	Acute monoblastic leukemia	11q23-Aberrations
M6	Acute erythroid leukemia	
M7	Acute megakaryoblastic leukemia	

Tabelle 1.2: WHO-Klassifikation (2008) [70]

Category	Entity
AML with recurrent genetic abnormalities	<ul style="list-style-type: none"> <li>- AML with t(8;21) RUNX1-RUNX1T1</li> <li>- AML with inv(16)/t(16;16) CBFβ-MYH11</li> <li>- APL with t(15;17) PML-RARA</li> <li>- AML with t(9;11) MLLT3-MLL</li> <li>- AML with t(6;9) DEK-NUP214</li> <li>- AML with inv(3)/t(3;3) RPN1-EVI1</li> <li>- AML with t(1;22) RBM15-MKL1</li> <li>- Provisional entity: AML with mutated NPM1</li> <li>- Provisional entity: AML with mutated CEBPα</li> </ul>
AML with myelodysplasia-related changes	
Therapy-related myeloid neoplasms	
AML, not otherwise specified	<ul style="list-style-type: none"> <li>- AML with minimal differentiation (FAB M0)</li> <li>- AML without maturation (FAB M1)</li> <li>- AML with maturation (FAB M2)</li> <li>- Acute myelomonocytic leukemia (FAB M4)</li> <li>- Acute monoblastic/monocytic leuk (FAB M5)</li> <li>- Acute erythroid leukemia (FAB M6) Pure erythroid leukemia Erythroleukemia, erythroid/myeloid</li> <li>- Acute megakaryoblastic leukemia (FAB M7)</li> <li>- Acute basophilic leukemia</li> <li>- Acute panmyelosis with myelofibrosis</li> </ul>
Myeloid sarcoma	
Myeloid proliferations related to Down syndrome	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Transient abnormal myelopoiesis</li> <li>- Myeloid leukemia associated with Down syndrome</li> </ul>
Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm	-

### 1.2.6 Prognosefaktoren

Die AML ist eine pathobiologisch und prognostisch sehr heterogene Erkrankung [72]. Für die Prognose relevante zytogenetische und molekulargenetische Aberrationen wurden vom ELN in einem Risiko-Score zusammengetragen und sind der Tabelle 1.3 zu entnehmen. 2017 fand eine Überarbeitung des ELN-Risiko-Scores statt [73].

Diese zytogenetischen und molekulargenetischen Aberrationen haben neben dem Alter bei Diagnosestellung den größten Einfluss auf die Prognose der Patienten [33], [74], [75]. Weitere prognostisch relevante Parameter sind das Ergebnis der Induktionstherapie sowie der Allgemeinzustand und die Leukozytenzahl des Patienten zum Zeitpunkt der Diagnose [76]–[78].

Tabelle 1.3: Risikogruppeneinteilung nach dem ELN-Risiko-Score (2010) [79]

Genetic group	Subsets
Favorable	<ul style="list-style-type: none"> <li>- t(8;21); RUNX1-RUNX1T1</li> <li>- inv(16)/t(16;16); CBFβ-MYH11</li> <li>- Mutated NPM1 without FLT3-ITD (normal karyotype)</li> <li>- Mutated CEBPα (normal karyotype)</li> </ul>
Intermediate I	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mutated NPM1 and FLT3-ITD (normal karyotype)</li> <li>- Wild-type NPM1 and FLT3-ITD (normal karyotype)</li> <li>- Wild-type NPM1 without FLT3-ITD (normal karyotype)</li> </ul>
Intermediate II	<ul style="list-style-type: none"> <li>- t(9;11); MLLT3-MLL</li> <li>- Cytogenetic abnormalities not classified as favorable or adverse</li> </ul>
Adverse	<ul style="list-style-type: none"> <li>- inv(3)/t(3;3); RPN1-EVI1</li> <li>- t(6;9); DEK-NUP214</li> <li>- t(v;11)(v;q23); MLL rearranged</li> <li>- -5 or del(5q)</li> <li>- -7</li> <li>- abnl(17p)</li> <li>- complex karyotype*</li> </ul>

\* = In Abwesenheit von t(8;21), t(15;17), inv(16), t(9;11), t(v;11)(v;q23), t(6;9) und inv(3); (v = variable)

Wichtig zur Prognoseabschätzung sind allerdings nicht nur die vorliegenden Aberrationen und Prognosefaktoren. Auch deren „Therapiefähigkeit“ spielt eine große Rolle. Vor Einführung der spezifischen ATRA-Therapie zählte beispielsweise die APL wegen ihrer hohen Frühmortalität zu den AML-Unterformen mit einer schlechten Prognose, wohingegen sie heute aufgrund ihrer spezifischen Behandlung als günstiger AML-Subtyp einzustufen ist [80]. Die Bedeutung mancher Prognosefaktoren ist jedoch noch nicht abschließend geklärt.

### 1.2.7 Klinisches Bild

Das klinische Erscheinungsbild bei der AML entsteht durch eine zunehmende Verdrängung der normalen Hämatopoese im Knochenmark. Dies führt letztlich zu einer Anämie, Thrombozytopenie und Granulozytopenie.

Symptome der Anämie sind Blässe, allgemeine Schwäche, Müdigkeit, verminderte Leistungsfähigkeit, Krankheitsgefühl, Dyspnoe und Tachykardie [81]. Sie sind die Folge einer verminderten Sauerstoffaufnahme in der Lunge.

Zu den Symptomen der Thrombozytopenie zählen Petechien, Hämatome, Blutungen des Zahnfleisches und der Nasenschleimhaut, Ekchymosen sowie Menorrhagien [81]. Diese Symptome können durch Störungen der plasmatischen Gerinnung, wie sie bei der APL auftreten können, verstärkt werden.

Häufige Symptome der Granulozytopenie sind Infektionen mit Fieber. Meist handelt es sich hierbei um eine Pneumonie, eine Tonsillitis oder die Bildung von Mundsoor [81]. Sie treten durch eine Schwächung des Immunsystems auf.

Durch eine vermehrte Bildung von neoplastischen Leukozyten kann es aufgrund einer intramedullären Blasteninfiltration zu Knochenschmerzen kommen. Extramedulläre Blasteninfiltrationen führen hingegen zu einer Gingivahyperplasie, Lymphadenopathie, Splenomegalie, Hepatomegalie oder Hautinfiltraten, in seltenen Fällen auch zu einer Meningeosis Leucaemica [81].

Durch Perfusionsstörungen aufgrund einer Leukostase, die gehäuft bei Werten über 100000 Leukozyten/ $\mu$ l auftreten, kann es zu Verwirrung, Luftnot oder Angina-Pectoris-Beschwerden kommen [81].

Daneben gibt es bei der AML auch normale oder sogar erniedrigte Leukozytenzahlen (aleukämischer Verlauf) [81].

Auch B-Symptome wie Fieber, Nachtschweiß und Gewichtsverlust können vorhanden sein [72].

## **1.3 Diagnostik der AML**

### 1.3.1 Verdachtsdiagnose und Diagnosesicherung

Durch das klinische Bild und durch die Untersuchung des peripheren Blutes ergibt sich die Verdachtsdiagnose [72]. Die dabei auftretenden Symptome sowie Blutbildveränderungen wurden bereits im Kapitel „1.2.7 Klinisches Bild“ ausführlich beschrieben.

Zur Diagnosesicherung und zur Ermittlung therapeutisch sowie prognostisch relevanter Parameter wird das Knochenmark näher analysiert. Im Ausnahmefall kann die Diagnosesicherung auch mit peripherem Blut erfolgen [72].

Die Knochenmarkentnahme erfolgt durch Punktion der Spina iliaca posterior superior (Beckenkammpunktion) oder des Sternums (Sternalpunktion) mit Hilfe einer Punktionsnadel nach Klima-Rosegger unter Lokalanästhesie. Als Untersuchungsmaterial dient meistens Knochenmarkaspirat [72]. Wird die Untersuchung an einer Blutprobe durchgeführt, so wird diese im Rahmen einer Blutentnahme aus einer peripheren Vene gewonnen.

Bei dem Verdacht auf eine Leukämie steht am Anfang der eindeutigen Diagnosestellung stets die Zytomorphologie mit zytochemischer Färbung. Sie stellt die Weichen für den sinnvollen Einsatz der weiteren Diagnoseverfahren zu denen die Immunphänotypisierung, die Zytogenetik und die Molekulargenetik zählen [72].

Für die Diagnosestellung einer AML muss, nach der WHO-Klassifikation, der Blastenanteil im Knochenmark mindestens 20% betragen [69], [70]. Ist der Blastenanteil im Knochenmark kleiner als 20%, so ist eine Diagnosestellung ebenfalls möglich, sofern AML-typische genetische Veränderungen wie zum Beispiel eine t(8;21), t(15;17) oder inv(16) nachweisbar sind [70].

Nach dem dominierenden Zelltyp und dem Entwicklungsgrad der Zellen im hämatopoetischen System sowie den vorliegenden zytogenetischen und molekulargenetischen Aberrationen kann die AML dann einem entsprechenden Subtyp zugeordnet werden.

Zum Infektausschluss werden auch eine mikrobiologische Untersuchung und eine Virusserologie durchgeführt sowie eine Röntgenaufnahme des Thorax und der Nasennebenhöhlen erstellt. Ein Lungenfunktionstest und eine Sonographie des Abdomens sind ebenfalls essentiell. Gerinnungstests sollen eine disseminierte intravasale Gerinnung ausschließen. Zur Beurteilung der Therapiefähigkeit werden Elektrolyte, Nieren- und Leberparameter erhoben und bei kardialer Vorerkrankung auch ein Elektrokardiogramm und eine Echokardiographie erstellt. Für eine eventuell bevorstehende Bluttransfusion oder Stammzelltransplantation wird außerdem eine Blutgruppenbestimmung und HLA-Typisierung durchgeführt [72].

### 1.3.2 Zytomorphologie

Mit Hilfe der Zytomorphologie ist in den meisten Fällen die Einordnung der Leukämie hinsichtlich der Eigenschaften akut versus chronisch und myeloisch versus lymphatisch möglich. Außerdem kann eine Einteilung nach der FAB-Klassifikation erfolgen [72].

Dabei werden Ausstrichpräparate vom Untersuchungsmaterial mit verschiedenen chemischen Reagenzien angefärbt und anschließend unter einem Lichtmikroskop begutachtet um die Zellen im Präparat anhand ihrer Form und Struktur einem bestimmten Zelltyp zuordnen zu können [79]. Gängige Färbeverfahren hierbei sind die panoptische Methode von Pappenheim (May-Grünwald-Giemsa) sowie die POX-, EST-Färbung [79].

### 1.3.3 Immunphänotypisierung

Die Analyse der Zellmarker auf der Oberfläche und im Zytosol der myeloischen Blasten dient vor allem der Diagnosesicherung. Sie kann in Zweifelsfällen wichtige zusätzliche Informationen liefern und ist somit ein weiterer wichtiger Mosaikbaustein bei der Diagnosestellung einer AML [72].

Sie erfolgt mit Hilfe eines Durchflusszytometers und monoklonalen, fluoreszenzmarkierten Antikörpern womit die Zellen anhand ihrer Größe, Granularität und exprimierten Antigene nach ihrer Art und Anzahl bestimmt werden können [79]. Einen allgemeinen Konsens für das Cut-Off-Level für die Antigenbestimmung gibt es nicht. Für gewöhnlich gilt ein extrazelluläres beziehungsweise intrazelluläres Antigen als vorhanden, wenn es auf mehr als 20% beziehungsweise 10% der untersuchten Zellen nachgewiesen werden kann [79]. Weitere Informationen zur Durchflusszytometrie sind dem Kapitel „1.3.7 Prinzip der Durchflusszytometrie“ zu entnehmen.

### 1.3.4 Zytogenetik

Gebräuchliche Analyseverfahren in der Zytogenetik sind die Chromosomenbänderungsanalyse und die FISH [72].

Diese Analyseverfahren ermöglichen die Bestimmung zytogenetischer Aberrationen. Der Karyotyp der Leukämiezellen ist derzeit der wichtigste unabhängige prognostische Faktor bei der AML [74].

Die am häufigsten eingesetzte Chromosomenbänderungstechnik in der AML-Diagnostik ist die G-Bänderung. Bei der FISH gehören zu den verbreitetsten Analyseverfahren die Interphase-FISH, die Metaphase-FISH und die 24-Farben-FISH [72]. Sie werden meist in Ergänzung zur Chromosomenbänderungsanalyse angewendet um die dort nachgewiesenen zytogenetischen Aberrationen zu bestätigen oder einen Erkrankungsverlauf gezielt nachzuweisen.

### 1.3.5 Molekulargenetik

In der Molekulargenetik kommen verschiedene PCR-Varianten mit anschließender Gelelektrophorese zur Anwendung [72].

Sie machen es möglich, Aberrationen auf molekularer Ebene zu detektieren, die mit zytogenetischen Verfahrenstechniken nicht erkennbar sind. Fast die Hälfte aller AML-Patienten hat einen normalen Karyotyp [33].

Zu den häufigsten PCR-Varianten gehören die klassische PCR, die Nested PCR und die RT-PCR [72]. Die elektrophoretische Auftrennung erfolgt in der Regel in einem Agarosegel. Zur Überwachung eines Krankheitsverlaufs beziehungsweise zur Ermittlung der MRD kommt die q-PCR zum Einsatz.

### 1.3.6 Cluster of Differentiation (CD)

CDs sind zellmembrangebundene oder im Zytosol liegende Glykoproteine, die entwicklungspezifisch oder zelltypabhängig exprimiert werden.

Sie haben Rezeptorfunktion, Signalfunktion, Enzymaktivität oder dienen der interzellulären Kommunikation.

Entsprechend ihrer funktionellen oder biochemischen Kriterien werden sie gruppiert. Eine Einteilung erfolgte 1981 nach internationaler Übereinkunft durch die HLDA-Konferenz und wird in regelmäßigen Abständen aktualisiert und erweitert. Derzeit sind über 300 verschiedene CDs bekannt (CD1–CD339) wobei einige Lücken vorhanden sind und teilweise auch Unterteilungen vorliegen [82]. Relevante CDs für die AML-Diagnostik sind der Tabelle 1.4 zu entnehmen.

Mit Hilfe der Durchflusszytometrie lassen sich in der AML-Diagnostik die von myeloischen Blasten exprimierten CDs analysieren.

Tabelle 1.4: Expressionsverhalten ausgewählter extrazellulärer und intrazellulärer CDs verschiedener Blutzellen [79], [83]

Zellen	CDs/Antigene
Progenitorzellen	CD10, CD34, CD38, CD117, cyTdT, HLA-DR
Erythrozytäre Reihe	CD235a
Thrombozytäre Reihe	CD61
Granulozytäre Reihe	CD11b, CD13, CD15, CD33, CD65, cyMPO
Monozytäre Reihe	CD11b, CD13, CD14, CD33, CD36, CD64 CD65, cyLF
NK-Zellen	CD56
B-Lymphatische Reihe	CD19, CD20, CD24, cyCD22, cyCD79a
T-Lymphatische Reihe	CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, cyCD3

### 1.3.7 Prinzip der Durchflusszytometrie

Die Durchflusszytometrie ist ein Analyseverfahren zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von Zellen in einer Blut- oder Knochenmarkprobe auf Einzelzellniveau anhand ihrer Größe, Granularität und exprimierten Zellantigene [84].

Um beispielsweise in einer Blutprobe die B- und T-Lymphozyten näher betrachten zu können, wird das zu untersuchende Probenmaterial zuerst aufbereitet und gereinigt sowie anschließend mit monoklonalen, fluoreszenzmarkierten Antikörpern inkubiert. Dadurch binden gelbrot fluoreszierende CD19-PE-Antikörper spezifisch an CD19 von B-Lymphozyten und lilafarben fluoreszierende CD3-FITC-Antikörper spezifisch an CD3 von T-Lymphozyten. Folglich werden die B-Lymphozyten mit einem gelbroten Fluoreszenzfarbstoff und die T-Lymphozyten mit einem lilafarbenen Fluoreszenzfarbstoff markiert.

Die Zellen des aufbereiteten Probenmaterials durchfließen bei der anschließenden Analyse im Durchflusszytometer kettenförmig (ca. 1000 Zellen/Sekunde) eine Messkammer aus Glas in welcher sich ein Laser befindet. Beim Durchqueren des Laserstrahls erzeugt jede einzelne Zelle ein Streulicht und die monoklonalen, fluoreszierenden Antikörper auf der Oberfläche der Zelle ein Fluoreszenzlicht die jeweils mit mehreren Detektoren erfasst werden [85].

Das Streulicht wird dabei an zwei Stellen gemessen. Der Forward-Scatter-Detektor misst das Vorwärtsstreulicht, welches Auskunft über die Größe der Zelle gibt. Kleine Zellen verursachen ein kleines Vorwärtsstreulichtsignal und große Zellen ein großes Vorwärtsstreulichtsignal. Der Side-Scatter-Detektor misst das Seitwärtsstreulicht, welches Auskunft über die Granularität der Zelle gibt. Zellen ohne Granula verursachen ein kleines Seitwärtsstreulichtsignal und Zellen mit Granula ein großes Seitwärtsstreulichtsignal [85].

Das Fluoreszenzlicht wird bei einem 3-Farben-Durchflusszytometer an drei Stellen gemessen. Ein PE-Detektor erkennt Zellen, die gelbrot-fluoreszierende Antikörper binden (z.B. CD19-positive B-Lymphozyten mit CD19-PE-Antikörpern). Ein FITC-Detektor detektiert Zellen, die lilafarben-fluoreszierende Antikörper binden (z.B. CD3-positive T-Lymphozyten mit CD3-FITC-Antikörpern). Das grüne Fluoreszenzlicht von PC5-Antikörpern wird hingegen von einem PC5-Detektor gemessen [85].

Aufgrund unterschiedlicher Emissionsspektren können mehrere Fluoreszenzfarbstoffe gleichzeitig zur Analyse eingesetzt werden. Von zentraler Bedeutung ist dabei jedoch die Überlappung der unterschiedlichen Emissionsspektren [85].

Um die Streulicht-Messergebnisse und Fluoreszenzlicht-Messergebnisse anschaulich darzustellen, werden die entstehenden Lichtsignale am Forward-Scatter-, Side-Scatter- und an den Fluoreszenz-Detektoren verstärkt, in elektrische Signale umgewandelt und auf einem Bildschirm in einer Dot-Plot-Grafik dargestellt. Jeder Punkt im Dot-Plot entspricht dabei einer Zelle (Ergebnis). Das Streulicht-Dot-Plot wird dabei automatisch erstellt. Das Fluoreszenzlicht-Dot-Plot wird erst dargestellt nachdem eine Ansammlung von Zellen im Streulicht-Dot-Plot gated wurde (hier: Lymphozyten). Beispiele für ein Streulicht- und Fluoreszenzlicht-Dot-Plot sind der Abbildung 1.2 zu entnehmen.

Beim Streulicht-Dot-Plot wird in der Regel auf der x-Achse das Vorwärtsstreulicht (Größe der Zellen) und auf der y-Achse das Seitwärtsstreulicht (Granularität der Zellen) aufgetragen. Dadurch erkennt man Anhäufungen von Zellen mit ähnlichen Streulichteigenschaften.

Beim Fluoreszenzlicht-Dot-Plot wird auf der x-Achse das lilafarbene Fluoreszenzlicht (T-Lymphozyten) und auf der y-Achse das gelbrote Fluoreszenzlicht (B-Lymphozyten) aufgetragen. So lassen sich Zellen mit ähnlichen Fluoreszenzlicheigenschaften leichter identifizieren.

Die Farben der Dots im Streulicht-Dot-Plot und im Fluoreszenzlicht-Dot-Plot haben keine Bedeutung. Sie können beliebig ausgewählt werden.

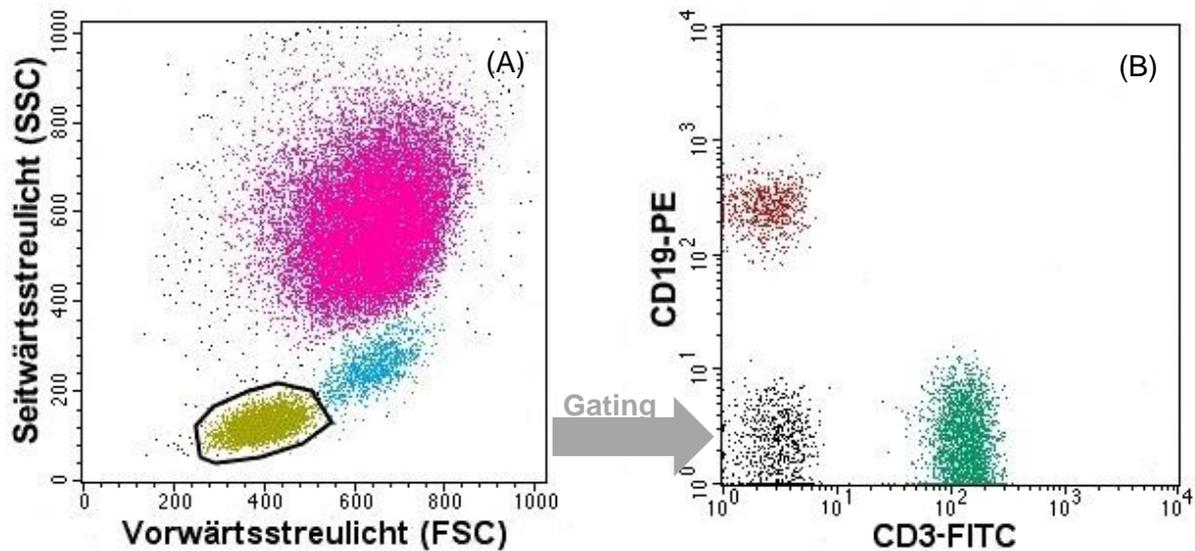


Abbildung A: hellgrüne Zellansammlung: Lymphozyten (klein, kaum Granula), blaue Zellansammlung: Monozyten (groß, kaum Granula), rosafarbene Zellansammlung: neutrophile Granulozyten (groß, viel Granula); Abbildung B: dunkelgrüne Zellansammlung: T-Lymphozyten, rote Zellansammlung: B-Lymphozyten, schwarze Zellansammlung: sonstige Zellen

Abbildung 1.2: Streulicht-Dot-Plot (A) und Fluoreszenzlicht-Dot-Plot (B) [86] (modifiziert)

## 1.4 Therapie der AML

### 1.4.1 Basisinformationen

Die Therapie der AML sollte nach Möglichkeit immer an einem erfahrenen, hämatologisch-onkologischen Zentrum in einer prospektiven, klinischen Therapiestudie erfolgen.

Sie setzt sich zusammen aus einer Induktionstherapie, einer Postremissionstherapie sowie einer Nachsorge und enthält seit fast drei Jahrzehnten das Chemotherapeutikum Cytarabin, meist in Kombination mit einem Anthracyclin. In besonderen Fällen kommt auch die allogene SZT als Therapieoption zum Einsatz [87]. Patienten mit einer APL erhalten aufgrund signifikant besserer Behandlungsergebnisse eine spezifische Therapie mit ATRA + ATO [88], [89].

### 1.4.2 Induktionstherapie

Mit Hilfe der Induktionstherapie wird das Erreichen einer kompletten Remission angestrebt. Ziel ist dabei die Beseitigung aller Krankheitssymptome sowie die Normalisierung des peripheren Blutes und des Knochenmarks mit einem Blastenanteil von  $< 5\%$  bei gleichzeitiger Wiederherstellung der normalen Hämatopoese [81].

Sie erfolgt nicht risikoadaptiert meist als Doppelinduktion und sollte nach Diagnosestellung so früh wie möglich begonnen werden [79].

Eine Verzögerung des Therapiebeginns um mehr als fünf Tage hat eine deutliche Verschlechterung des Therapieergebnisses zur Folge [90].

Typische Chemotherapeutika sind Cytarabin in Kombination mit Daunorubicin oder Mitoxantron [79].

#### 1.4.3 Postremissionstherapie

Die Postremissionstherapie dient zum Erhalt der kompletten Remission und zur weiteren Reduktion der Leukämiebelastung. Sie soll den Patienten endgültig heilen und das Rezidivrisiko weitgehend reduzieren [81].

Sie erfolgt risikoadaptiert nach Eintritt der kompletten Remission durch eine Konsolidierungstherapie oder eine allogene SZT, abhängig von der Risikokonstellation des Patienten und der Verfügbarkeit eines passenden Stammzellspenders [79].

Die Konsolidierungstherapie kommt vor allem bei AML-Patienten zur Anwendung, die eine günstige oder intermediäre Prognose haben und besteht aus mehreren Kursen einer konventionellen Chemotherapie die von der Zusammensetzung ähnlich der Induktionstherapie sind [79].

Die allogene SZT kommt hingegen hauptsächlich bei AML-Patienten mit ungünstiger oder intermediärer Prognose zum Einsatz, da hier die Therapieergebnisse bezüglich des Gesamtüberlebens signifikant besser sind im Vergleich zur Konsolidierungstherapie [91].

#### 1.4.4 Nachsorge

Die Nachsorge erfolgt durch eine engmaschige Kontrolle der klinischen Symptome, des peripheren Blutes und vor allem des Knochenmarks wenn eine komplette Remission vorliegt um ein eventuell auftretendes Rezidiv möglichst frühzeitig diagnostizieren und therapieren zu können [92].

Sie wird im Anschluss an die Postremissionstherapie durchgeführt und kann dank der MRD-Diagnostik bereits kleinste Mengen maligner Zellen im Knochenmark erfassen. Diese ist bei der Diagnose von Rezidiven besonders wichtig, da ein Anstieg der MRD-Last dem klinischen Rezidiv oft Monate vorausgeht. Fast 16% aller Rezidive gehen ohne Veränderungen im Blutbild einher [92].

Der zeitliche Ablauf der Kontrollen ist nach den jeweiligen Erfordernissen der Studien geregelt. Meist finden sie im Abstand von 4 bis 12 Wochen statt. 24 Monate nach Abschluss der Therapie muss sich der Patient in der Regel über mehrere Jahre nur noch alle 12 Monate vorstellen [92].

In Abhängigkeit vom AML-Subtyp kann die Prognose bezüglich des Erreichens einer kompletten Remission sowie dem rezidivfreien Überleben und dem Gesamtüberleben variieren. Etwa 69% aller AML-Patienten (ohne AML M3) erreichen durch eine

Chemotherapie eine komplette Remission. Die 3-Jahres-rezidivfreie Überlebensrate liegt bei ca. 33% und die 3-Jahres Gesamtüberlebenszeit bei ca. 32% [93].

Die APL hat aufgrund der spezifischen Therapie mit ATRA eine besonders gute Prognose. Eine komplette Remission kann regelmäßig bei etwa 93% der APL-Patienten beobachtet werden. Die 10-Jahres rezidivfreie Überlebenszeit liegt bei ca. 64% und die 10-Jahres-Gesamtüberlebenszeit bei ca. 82% [94].

## 1.5 Ziel der Arbeit

Ziel dieser Arbeit war es zu überprüfen, ob bei AML-Patienten:

1. Zusammenhänge zwischen sozialdemographischen (z.B. Geschlecht und Alter bei Diagnosestellung) oder erkrankungsbezogenen Patientendaten (z.B. FAB-Subtyp, balancierte/unbalancierte zytogenetische Aberrationen, molekulargenetische Aberrationen und ELN-Risiko-Score) und der Expression einzelner lymphatischer Zellantigene auf myeloischen Blasten bestehen. Koexpressionen lymphatischer Zellantigene mit Vorläuferzellmarkern auf myeloischen Blasten sollten in den Zusammenhangsanalysen ebenfalls berücksichtigt werden.
2. Zusammenhänge zwischen der Expression einzelner lymphatischer Zellantigene auf myeloischen Blasten und dem rezidivfreien Überleben oder dem Gesamtüberleben der Patienten bestehen. Auch hier galt es Koexpressionen lymphatischer Zellantigene mit Vorläuferzellmarkern auf myeloischen Blasten in die statistische Auswertung einzubeziehen.

Mehrere wissenschaftliche Arbeiten befassten sich bereits mit diesem Thema. Diese berücksichtigen jedoch meist nur die häufig anzutreffenden zytogenetischen und molekulargenetischen Aberrationen in ihren Zusammenhangsanalysen [95]. Zudem ist die Datenlage bezüglich der Prognose in Abhängigkeit der exprimierten lymphatischen Zellantigene oft kontrovers [96].

Ausführliche Untersuchungen, die sozialdemographische (z.B. Geschlecht und Alter bei Diagnosestellung) und erkrankungsbezogene Patientendaten (z.B. FAB-Subtyp, balancierte/unbalancierte zytogenetische Aberrationen, molekulargenetische Aberrationen und ELN-Risiko-Score) sowie das rezidivfreie Überleben und das Gesamtüberleben der Patienten auf Zusammenhänge mit der Expression einzelner lymphatischer Zellantigene auf myeloischen Blasten und Koexpressionen lymphatischer Zellantigene mit Vorläuferzellmarkern auf myeloischen Blasten in einem größeren Patientenkollektiv untersuchen, wurden bisher noch nicht durchgeführt. Die vorliegende Arbeit sollte diese Zusammenhänge näher beleuchten.

Bestehende Zusammenhänge könnten die Diagnose erleichtern, da durchflusszytometrische Untersuchungen im Vergleich zu zytogenetischen und molekulargenetischen Analysen meist schneller und oft kostengünstiger durchzuführen sind. Zudem könnten prognostische Aussagen anhand der exprimierten lymphatischen Zellantigene konkret gefällt werden.

## **2. Patienten, Material und Methoden**

### **2.1 Patienten**

In das Patientenkollektiv wurden Personen aufgenommen, die im Zeitraum 1997 bis 2007 durch das LfL der III. Medizinischen Klinik des Klinikums Großhadern die Erstdiagnose „akute myeloische Leukämie“ erhielten. Dies umfasste sowohl Patienten aus dem eigenen Haus als auch Patienten von anderen Kliniken und niedergelassenen Ärzten von denen Knochenmarkaspirat oder peripheres Blut im genannten Zeitraum zur Analyse eingesendet wurde.

Das Mindestalter zum Einschluss in das Patientenkollektiv betrug 18 Jahre, eine Altersobergrenze wurde nicht festgelegt.

Patienten, bei denen ein MDS oder eine andere Leukämieform diagnostiziert wurde, wurden nicht berücksichtigt.

### **2.2 Material**

Als Untersuchungsmaterial diente mit EDTA oder Heparin antikoaguliertes Knochenmarkaspirat, im Ausnahmefall auch peripheres Blut.

Das Knochenmarkaspirat wurde durch Punktion der Spina iliaca posterior superior (Beckenkammpunktion) oder des Sternums (Sternalpunktion) mit Hilfe einer Punktionsnadel nach Klima-Rosegger unter Lokalanästhesie gewonnen. Die Entnahme von peripherem Blut erfolgte in der Regel aus einer Armvene.

### **2.3 Methoden**

#### 2.3.1 Ablauf der Datenerhebung

An erster Stelle der Datenerhebung galt es die Fälle zu ermitteln, die im Zeitraum 1997 bis 2007 durch das LfL der III. Medizinischen Klinik des Klinikums Großhadern die Erstdiagnose „akute myeloische Leukämie“ erhielten. Dies erfolgte mit der internen elektronischen Datenbank des LfL.

Die Patienten hatten zum Zeitpunkt der Einsendung ihres Knochenmarkaspirates beziehungsweise peripheren Blutes ihr Einverständnis zur wissenschaftlichen Auswertung ihrer Daten gegeben.

Anschließend wurden von diesen Patienten sowohl die soziodemographischen als auch die erkrankungsbezogenen Patientendaten erhoben. Pro Patient wurden so bis zu 83 verschiedene Variablen eruiert. Eine genaue Zusammenstellung aller ermittelten Patientendaten ist den Tabellen 2.1 und 2.2 zu entnehmen. Die Recherche dieser Patientendaten erfolgte ebenfalls weitgehend mit der internen elektronischen Datenbank des LfL. Nur wenige Daten wurden außerhalb dieser Datenbank erhoben.

Der Wohnort des Patienten - zur Anforderung einer Meldebescheinigung - sowie die Anschrift des einsendenden Klinikums beziehungsweise des einsendenden niedergelassenen Arztes - zur Anforderung von Arztbriefen - wurden anhand des Anforderungsbogens ermittelt.

Das Rezidivdatum, der Todestag sowie das LFU wurden mit Hilfe von Informationen der Studienzentrale (vgl. Studienpatienten) beziehungsweise mit Hilfe von angeforderten Arztbriefen und Meldebescheinigungen aus den jeweiligen Kliniken/Arztpraxen oder Gemeinden (vgl. Nicht-Studienpatienten) erhoben. Die verwendeten Anschreiben zeigen die Abbildungen 2.1 und 2.2.

Zur Bestimmung des Immunphänotyps wurden die entsprechenden Patientendatenblätter (Dot-Plots) der durchflusszytometrischen Analyse ausgewertet. Diese befinden sich gesammelt in Form von pdf-Dateien auf dem Netzlaufwerk des LfL. Ein Teilausschnitt eines Patientendatenblatts (Dot-Plots) ist in der Abbindung 2.3 dargestellt. Wie dieses zu interpretieren ist, kann dem Kapitel „1.3.7 Prinzip der Durchflusszytometrie“ entnommen werden.

Alle erhobenen Patientendaten wurden für die nachfolgende Auswertung durch die Verwendung von Chiffrenummern anonymisiert.

Tabelle 2.1: Erhobene soziodemographische Patientendaten

Soziodemographische Patientendaten	
Vorname	
Nachname	
Initialien	
Geschlecht	
Geburtsdatum	
Alter	
Interne Labornummer des LfL München	
Studienpatienten	Nicht-Studienpatienten
Studie	Zusendende Klinik beziehungsweise zusendender niedergelassener Arzt
Studienidentifikationsnummer	Wohnort

Tabelle 2.2: Erhobene erkrankungsbezogene Patientendaten

Erkrankungsbezogene Patientendaten			
Zytomorphologie			
FAB-Befund			
FAB-Grenzbefund			
Blastenanteil im Knochenmark [%]			
Blastenanteil im peripheren Blut [%]			
Immunphänotypisierung			
Vorläuferzell-Marker	Myeloische Marker	Lymphatische Marker	Ermittelte Koexpressionen
CD10	CD11b	CD2	CD2+CD34
CD34	CD13	CD4	CD4+CD13
CD38	CD14	CD7	CD7+CD34
CD117	CD15	CD19	CD10+CD34
cyTdT	CD33	CD56	CD19+CD34
HLA-DR	CD36	cyCD3	CD56+CD34
	CD61	cyCD22	
	CD64	cyCD79a	
	CD65		
	CD235a		
	cyLF		
	cyMPO		
Zellen im Gate [%]			
Zytogenetik			
Karyogramm			
Karyotyp normal			
Karyotyp komplex			
Balancierte zytogenetische Aberrationen		Unbalancierte zytogenetische Aberrationen	
11q23-Aberrationen <sup>CF</sup> , MLL-Rear. <sup>PCR</sup>		+8 <sup>CF</sup>	
inv(3) <sup>CF</sup> , RPN1-EVI1 <sup>PCR</sup>		+11 <sup>CF</sup>	
t(6;9) <sup>CF</sup> , DEK-NUP214 <sup>PCR</sup>		+13 <sup>CF</sup>	
t(8;21) <sup>CF</sup> , RUNX1-RUNX1T1 <sup>PCR</sup>		+21 <sup>CF</sup>	
t(9;11) <sup>CF</sup> , MLLT3-MLL <sup>PCR</sup>		-5/del(5q) <sup>CF</sup>	
t(9;22) <sup>CF</sup> , BCR-ABL <sup>PCR</sup>		-7/del(7q) <sup>CF</sup>	
t(15;17) <sup>CF</sup> , PML-RAR $\alpha$ <sup>PCR</sup>			
inv(16) <sup>CF</sup> , CBF $\beta$ -MYH11 <sup>PCR</sup>			

Molekulargenetik
CEBP $\alpha$ -Mutation*
FLT3-ITD*
NPM1-Mutation*
c-KIT-Mutation
FLT3-TKD
JAK2-Mutation
MLL-PTD
N-RAS-Mutation
NPM1-wt & FLT3-ITD+*
NPM1-mut & FLT3-ITD-*
NPM1-mut & FLT3-ITD+*
NPM1-wt & FLT3-ITD-*
Risikoeinteilung
ELN-Risiko-Score
Verlaufsdaten
Diagnosedatum
Rezidiv
Datum des Rezidivs
Rezidivfreies Überleben in Tagen
Exitus
Datum des Todestages bzw. des LFU
Gesamtüberleben in Tagen

\* = nur Patienten mit normalem Karyotyp berücksichtigt

CF = Ergebnis von Chromosomenbänderungsanalyse und/oder FISH

PCR = Ergebnis von PCR

### 2.3.2 Datengewinnung mittels Zytomorphologie

Die zytomorphologische Analyse erfolgte mit EDTA antikoaguliertem Knochenmarkaspirat und/oder peripherem Blut. Von diesem wurden Ausstrichpräparate auf Objektträgern angefertigt, um die Zellen lichtmikroskopisch untersuchen zu können. Zur leichteren Differenzierung der Zellen wurde nach der panoptischen Methode von Pappenheim (May-Grünwald-Giemsa) angefärbt. Um myeloische und monozytäre Zellen besser charakterisieren und identifizieren zu können, kam zusätzlich eine POX- und EST-Färbung zum Einsatz.

Für die zytomorphologische Beurteilung der Zellen wurden die Ausstriche unter einem Axioskop 40 (Carl Zeiss, Oberkochen, Deutschland) zuerst mit einer kleinen Vergrößerung



CAMPUS GROßHADERN  
MEDIZINISCHE KLINIK UND  
POLIKLINIK III  
DIREKTOR: PROF. DR. W. HIDDEMANN



Klinikum der Universität München · Medizinische Klinik und Poliklinik III · Marchioninstr. 15 ·  
81377 München

Einwohnermeldeamt Musterstadt  
Musterstraße 1  
12345 Musterstadt

Ansprechpartner:  
Stefan Thudium

Telefon +49 (0)89 7095 – 4977  
Telefax +49 (0)89 7095 – 4971  
Stefan.Thudium@med.uni-muenchen.de

<http://med3.klinikum.uni-muenchen.de>

Postanschrift:  
Marchioninstr. 15  
D-81377 München

Ihr Zeichen:

Unser Zeichen:

München TT.MM.JJJJ

Sehr geehrte Damen und Herren,

ich führe eine wissenschaftliche Auswertung bzgl. Proben durch, die in unserem Labor analysiert wurden. Aus diesem Grund benötige ich Überlebensdaten der von uns untersuchten Personen. Unsere Abteilung (Universitätsklinikum München) ist Bestandteil der Behandlungskette. Ich bitte Sie um die Mitteilung ob die Person noch lebt, der aktuellen Adresse der genannten Person bzw. Mitteilung des Todestages, falls die Person verstorben sein sollte.

Nachname: Mustermann  
Vorname: Max  
Geb.: TT.MM.JJJJ

Falls Sie weitere Informationen benötigen, stehe ich Ihnen jederzeit zur Verfügung. Das Uniklinikum München ist gemäß Art. 4 Abs. 1 KG von Gebühren befreit.

Für Ihre Hilfe bin ich Ihnen sehr dankbar und verbleibe mit freundlichen Grüßen.

Stefan Thudium

Labor für Leukämiediagnostik  
Klinikum der Universität München  
Medizinische Klinik und Poliklinik III  
Marchioninistraße 15  
81377 München

Das Klinikum der Universität München ist eine Anstalt des öffentlichen Rechts

Direktor der Klinik: Prof. Dr. med. W. Hiddemann  
öffentl. Verkehr: U6, 56, 266, 269 oder N+1 bis Haltestelle Klinikum Großhadern

Abbildung 2.1: Anschreiben Einwohnermeldeämter



CAMPUS GROßHADERN  
MEDIZINISCHE KLINIK UND  
POLIKLINIK III  
DIREKTOR: PROF. DR. W. HIDDEMANN



Klinikum der Universität München · Medizinische Klinik und Poliklinik III · Marchioninstr. 15 ·  
81377 München

Klinikum Musterstadt  
Musterstraße 2  
12345 Musterstadt

Ansprechpartner:  
Stefan Thudium

Telefon +49 (0)89 7095 – 4977  
Telefax +49 (0)89 7095 – 4971  
Stefan.Thudium@med.uni-muenchen.de

<http://med3.klinikum.uni-muenchen.de>

Postanschrift:  
Marchioninstr. 15  
D-81377 München

Ihr Zeichen:

Unser Zeichen:

München TT.MM.JJJJ

Sehr geehrte Damen und Herren,

ich führe eine wissenschaftliche Auswertung bzgl. Proben durch, die in unserem Labor analysiert wurden. Da ich im Rahmen der Datenerhebung auch klinische Merkmale berücksichtige, benötige ich zur Komplettierung des Datensatzes den letzten Arztbrief des Patienten, von welchen wir Proben analysiert haben. Unsere Abteilung (Universitätsklinikum München) ist Bestandteil der Behandlungskette.

Ich bitte um den letzten Arztbrief des folgenden Patienten:

Nachname: Mustermann  
Vorname: Max  
Geb.: TT.MM.JJJJ

Falls Sie weitere Informationen benötigen, stehe ich Ihnen jederzeit zur Verfügung. Das Uniklinikum München ist gemäß Art. 4 Abs. 1 KG von Gebühren befreit.

Für Ihre Hilfe bin ich Ihnen sehr dankbar und verbleibe mit freundlichen Grüßen.

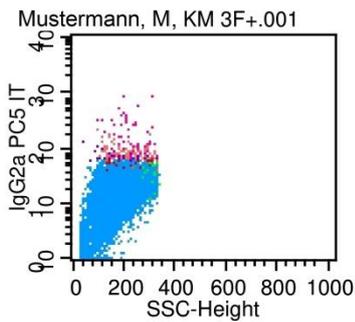
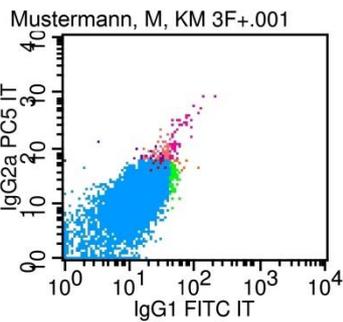
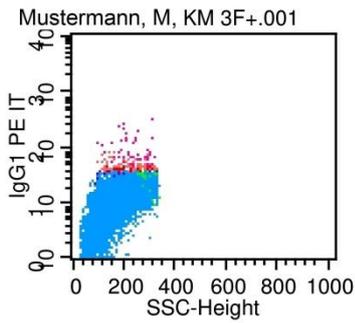
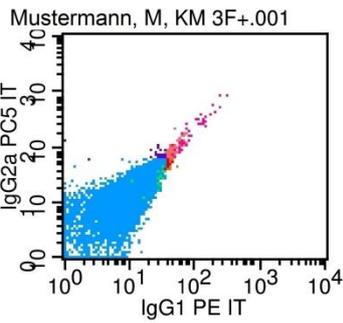
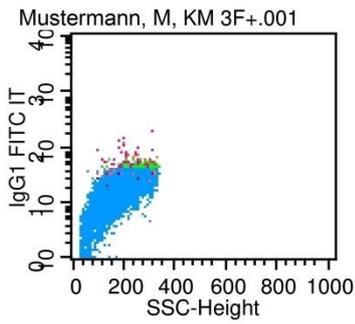
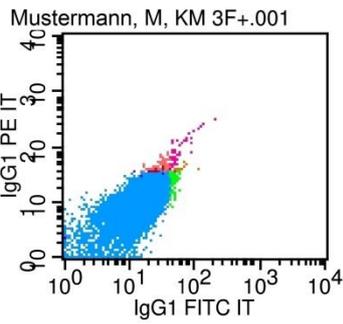
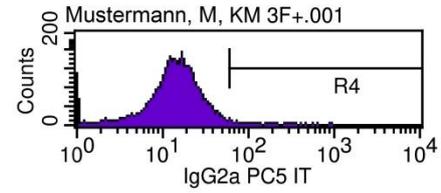
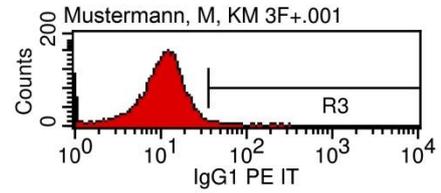
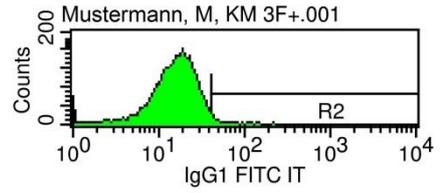
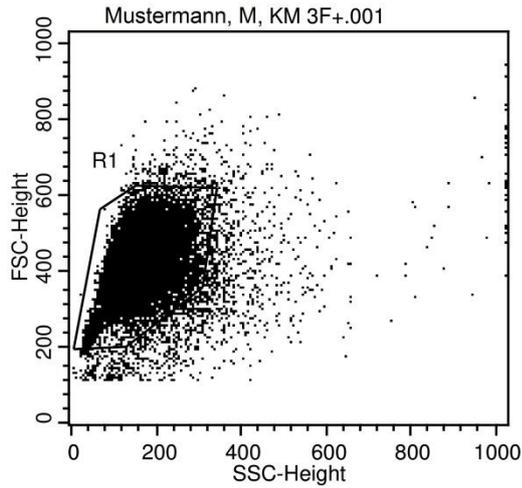
Stefan Thudium

Labor für Leukämiediagnostik  
Klinikum der Universität München  
Medizinische Klinik und Poliklinik III  
Marchioninistraße 15  
81377 München

Das Klinikum der Universität München ist eine Anstalt des öffentlichen Rechts

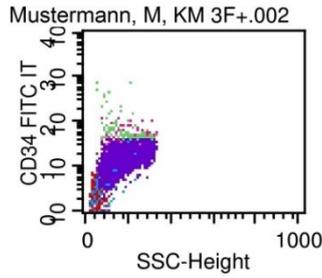
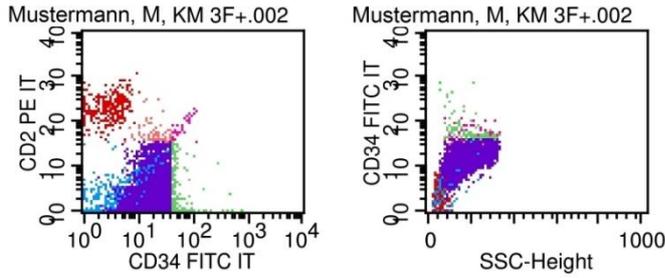
Direktor der Klinik: Prof. Dr. med. W. Hiddemann  
öffentl. Verkehr: U6, 56, 266, 269 oder N41 bis Haltestelle Klinikum Großhadern

Abbildung 2.2: Anschreiben Kliniken/niedergelassene Ärzte



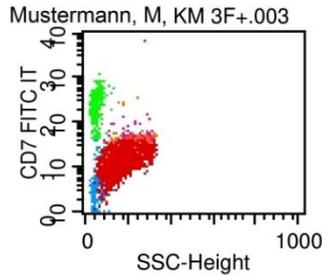
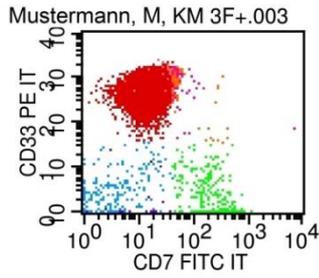
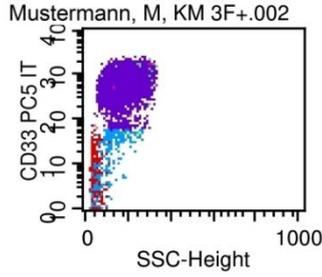
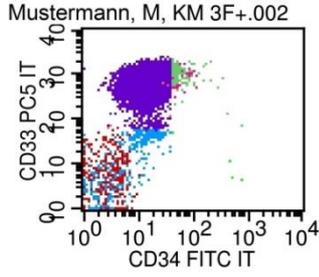
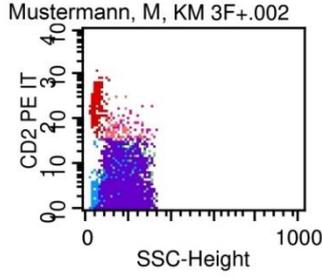
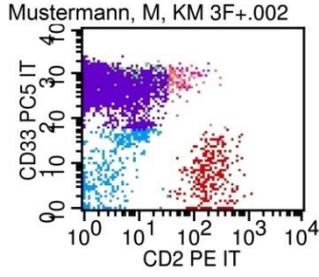
File: Mustermann, M, KM 3F+.001  
 Sample ID: 0649/07  
 Tube: 1a -Isotyp  
 Acquisition Date: 02-Aug-07  
 Total Events: 20000  
 X Parameter: SSC-Height (Linear)  
 Y Parameter: IgG1 FITC IT (Log)

Gate	Events	% Gated	% Total
G1	18388	100.00	91.94
nur FITC	97	0.53	0.48
nur PE	47	0.26	0.24
nur PC5	44	0.24	0.22
FITC+PE+PC5	56	0.30	0.28
FITC+PE	69	0.38	0.34
PE+PC5	137	0.75	0.69
FITC+PC5	61	0.33	0.30
FITC	171	0.93	0.85
PE	197	1.07	0.98
PC5	186	1.01	0.93



File: Mustermann, M, KM 3F+.002  
 Sample ID: 0649/07  
 Tube: 2a -CD34/CD2/CD33  
 Acquisition Date: 02-Aug-07  
 Total Events: 20000  
 X Parameter: SSC-Height (Linear)  
 Y Parameter: CD34 FITC IT (Log)

Gate	Events	% Gated	% Total
G1	18341	100.00	91.70
nur FITC	5	0.03	0.03
nur PE	296	1.61	1.48
nur PC5	17339	94.54	86.69
FITC+PE+PC5	44	0.24	0.22
FITC+PE	44	0.24	0.22
PE+PC5	120	0.65	0.60
FITC+PC5	257	1.40	1.29
FITC	262	1.43	1.31
PE	416	2.27	2.08
PC5	17672	96.35	88.36



File: Mustermann, M, KM 3F+.003  
 Sample ID: 0649/07  
 Tube: 3a -CD7/CD33/CD34  
 Acquisition Date: 02-Aug-07  
 Total Events: 20000  
 X Parameter: SSC-Height (Linear)  
 Y Parameter: CD7 FITC IT (Log)

Gate	Events	% Gated	% Total
G1	18409	100.00	92.05
nur FITC	292	1.59	1.46
nur PE	17250	93.70	86.25
nur PC5	19	0.10	0.10
FITC+PE+PC5	96	0.52	0.48
FITC+PE	262	1.42	1.31
PE+PC5	495	2.69	2.48
FITC+PC5	97	0.53	0.48
FITC	555	3.01	2.77
PE	17911	97.29	89.55
PC5	515	2.80	2.57

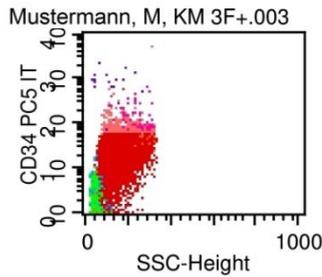
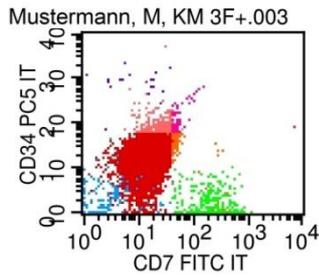
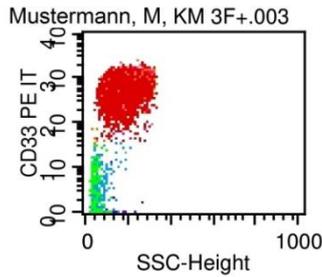
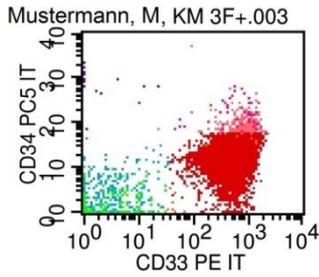


Abbildung 2.3: Dot-Plots

(100-200-fach) untersucht, wobei die Anzahl der erythrozytären Zellen, thrombozytären Zellen und leukozytären Zellen geschätzt und mit dem kleinen Blutbild verglichen wurden. Dann wurden mit einer 600-1000-fachen Vergrößerung 200 (Knochenmarkspirat) oder 100 (peripheres Blut) Leukozyten differenziert und mit dem Differentialblutbild verglichen.

### 2.3.3 Datengewinnung mittels Immunphänotypisierung

Für die Immunphänotypisierung wurde Knochenmarkspirat oder peripheres Blut verwendet welches mit Hilfe von EDTA oder Heparin antikoaguliert wurde. Dieses wurde mittels Erythrozytenlyse und Ficoll aufgereinigt, um die mononukleären Zellen gegenüber anderen Zellen und Partikeln mittels Dichtegradientenzentrifugation anzureichern. Anschließend wurde die aufgereinigte Probe mit fluoreszenzmarkierten, monoklonalen Antikörpern entsprechend dem in Tabelle 2.3 gezeigten Panel inkubiert, um die Zellen entsprechend ihrer exprimierten CDs zu markieren. Zum Entfernen nicht gebundener monoklonaler Antikörper wurde die Probe zum Schluss noch mit einer PBS-Lösung gewaschen in welcher die Zellen auch resuspendiert wurden. Zur Detektion intrazellulärer Antigene wurde die Zellsuspension vor der Inkubation mit einem Lysereagenz behandelt um die Zellmembran für die Antikörper zu öffnen.

Da im Laufe der Jahre das AML-Panel nach und nach erweitert wurde, kam das komplette Panel nicht bei allen Patienten zur Anwendung. Untersuchungsmaterial, das vor dem Jahre 2000 analysiert wurde, wurde nur mit einem Teil der fluoreszenzmarkierten, monoklonalen Antikörper des AML-Panels aus Tabelle 2.3 inkubiert. Patienten mit einem Erstdiagnosedatum ab 2006 wurden hingegen fast ausschließlich mit dem kompletten AML-Panel untersucht.

Bei den Antikörpern des Panels handelt es sich um direkt fluorochrommarkierte, monoklonale Antikörper vom Typ IgG1 und IgG2. Antigene, die normalerweise stark auf der Zelloberfläche der zu untersuchenden Zellen exprimiert werden, wurden mit Antikörpern untersucht, die mit dem vergleichsweise schwach fluoreszierenden Fluorochrom FITC konjugiert sind. Schwach exprimierte Antigene wurden hingegen vorzugsweise mit Antikörpern detektiert, die die stark fluoreszierenden Fluorochrome PE oder PC5 tragen.

Zur Bestimmung des Immunphänotyps wurde das Untersuchungsmaterial durchflusszytometrisch mit Hilfe eines FACSCalibur (Becton-Dickinson, San José, CA, USA) in 3-Farben-Technik analysiert. Die durchflusszytometrische Datenaufnahme und -auswertung erfolgte mit dem Softwareprogramm CellQuest (Becton-Dickinson, San José, CA, USA). Ein Isotypenabgleich gegen IgG1 bzw. IgG2 wurde stets durchgeführt. Ein CD45-Gating wurde aufgrund der 3-Farben-Technik des Durchflusszytometers nicht gemacht. Pro Analyse wurden 20000 Ereignisse gemessen. Gated wurde die Blastenpopulation im

Streulicht-Dot-Plot. Extrazelluläre/intrazelluläre Antigenexpressionen wurden dabei als positiv gewertet, wenn mehr als 20%/10% der Zellen eine im Vergleich zur Negativkontrolle (vgl. Isotypenabgleich) positive Immunfluoreszenz aufwiesen.

Tabelle 2.3: AML-Panel

Röhrchen \ Fluorochrom	FITC	PE	PC5
01	IgG1	IgG1	IgG2a
02	CD34	CD2	CD33
03	CD7	CD33	CD34
04	CD34	CD56	CD33
05	CD11b	CD117	CD34
06	CD64	CD4	CD45RA
07	CD34	CD13	CD19
08	CD65	CD87	CD34
09	CD15	CD34	CD33
10	HLA-DR	CD33	CD34
11	CD4	CD13	CD14
12	CD34	7.1	CD33
13	CD61	CD14	CD45RA
14	CD36	CD235a	CD45RA
15	CD15	CD13	CD33
16	CD38	CD34	CD10
17	cyIgG1	cyIgG1	cyIgG2a
18	cyMPO	cyLF	cyCD15
19	cyTdT	cyCD22	cyCD3
20	cyTdT	cyCD79a	cyCD3

#### 2.3.4 Datengewinnung mittels Zytogenetik

Für die zytogenetischen Untersuchungen wurde mit Heparin antikoaguliertes Knochenmarkaspirat oder peripheres Blut verwendet.

Dieses wurde für die Chromosomenbänderungsanalyse und für einzelne FISH-Techniken zuerst mit einer Nährstofflösung versetzt und anschließend kultiviert, damit sich die Zellen teilen und vermehren. Zur Arretierung der Zellen in der Metaphase kam das Spindelgift Colchicin zum Einsatz. Nach dem Lysieren und Fixieren der Zellen wurde das Material auf einen Objektträger getropft und zum Schluss noch mit einer G-Bänderung gefärbt (vgl. Chromosomenbänderungsanalyse) beziehungsweise mit einem DNA-Sondengemisch versehen und hybridisiert (vgl. FISH).

Zur Bestimmung des Karyotyps mittels Chromosomenbänderungsanalyse diente ein Axioplan 2 (Carl Zeiss, Oberkochen, Deutschland). Für die Auswertung (Digitalisierung und Karyotypisierung) kamen die Softwareprogramme Metafer (MetaSystems, Altlussheim, Deutschland) und Ikaros (MetaSystems, Altlussheim, Deutschland) zur Anwendung. Entsprechend internationalem Konsens wurden für die Befundung 20-25 Metaphasen analysiert. Anhand der spezifischen Chromosomengröße und –bandenmusterung wurden die Chromosomen sortiert und der Karyotyp entsprechend des ISCN klassifiziert.

Die FISH erfolgte mit Hilfe eines Axioplan 2 (Carl Zeiss, Oberkochen, Deutschland) mit entsprechenden Filtern und einem CoolCube 1 (MetaSystems, Altlussheim, Deutschland) als CCD-Kamera. Die so erhobenen Daten wurden mit dem Softwareprogramm ISIS (MetaSystems, Altlussheim, Deutschland) ausgewertet. Abhängig von der Untersuchungsmethode wurden bei der Befundung bis zu 100 Zellkerne ausgewertet.

### 2.3.5 Datengewinnung mittels Molekulargenetik

Die Antikoagulation des Knochenmarkspirates oder peripheren Blutes für die molekulargenetischen Untersuchungen erfolgte mit EDTA oder Heparin.

Dieses wurde, wie bei der Immunphänotypisierung, mittels Erythrozytenlyse und Ficoll aufgereinigt, um die mononukleären Zellen gegenüber anderen Zellen und Partikeln mittels Dichtegradientenzentrifugation anzureichern. Zum Schluss wurden die mononukleären Zellen in der Probe noch lysiert um die DNA zu isolieren/analysieren.

Die DNA-Amplifizierung erfolgte in einem T3-Thermocycler (Biometra, Göttingen, Deutschland).

Für die anschließende gelelektrophoretische Auftrennung der Amplifikationsprodukte kam eine Horizon 11-14/PS 304 LTI (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) zum Einsatz. Als Gelkammer diente ein 1,8%iges Agarosegel. Angefärbt wurde mit einer Ethidiumbromidlösung.

### 2.3.6 Datenerhebung, statistische Auswertung und graphische Darstellung

Die Datenerhebung erfolgte mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft Excel, Version 2010 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA). Die statistische Auswertung der erhobenen Daten wurde mittels dem Statistikprogramm SPSS, Version 23 (IBM, Armonk, NY, USA) durchgeführt.

Mittelwert, Median, Minimum, Maximum und Summe wurden für die Lagemaße und Streuungen (Deskriptive Statistik) verwendet.

Zur Ermittlung von Zusammenhängen dienten Kreuztabellen.

Kaplan-Meier-Kurven (univariate Analyse) und Cox-Regression (multivariate Analyse) wurden für die Überlebenszeitanalysen herangezogen.

Um möglichst hohe Fallzahlen für die statistische Auswertung zu bekommen, wurden nur Zellantigene in der Auswertung berücksichtigt, bei denen weniger als 10% der Werte fehlten. Diese fehlenden Werte wurden mit dem Medianwert der jeweiligen Variablen aufgefüllt. Ein p-Wert  $\leq 0.05$  galt bei allen Tests als statistisch signifikant.

Tabellen, Balkendiagramme und Grafiken wurden mit Microsoft Word, Version 2010 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) und SPSS, Version 23 (IBM, Armonk, NY, USA) erstellt.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Akquirierte Patienten

Im Rahmen der Datenerhebung konnten 868 Patienten in das Patientenkollektiv aufgenommen werden. Einzelheiten zur Akquirierung der Patienten sind dem Kapitel „2.1 Patienten“ zu entnehmen.

#### 3.2 Soziodemographische Patientendaten

Das Gesamtkollektiv bestand aus 423/868 (48,7%) Frauen und 445/868 (51,3%) Männern. Zum Diagnosezeitpunkt hatte der jüngste Patient ein Alter von 18 Jahren, der älteste Patient war 90 Jahre alt. Das durchschnittliche Patientenalter lag bei 59 Jahren (Median: 62 Jahre).

591/868 (68,1%) akquirierten Patienten waren Teilnehmer der AML-CG-99-Studie und 16/868 (1,8%) Patienten waren Teilnehmer der AML-CG-APL2005-Studie. Bei den restlichen 261/868 (30,1%) Patienten handelte es sich um AML-Fälle, die zum Zeitpunkt ihrer Erstdiagnose nicht in eine Therapiestudie eingeschlossen wurden.

Einzelheiten zu den soziodemographischen Daten der Patienten sind den Abbildungen 3.1 und 3.2 zu entnehmen.

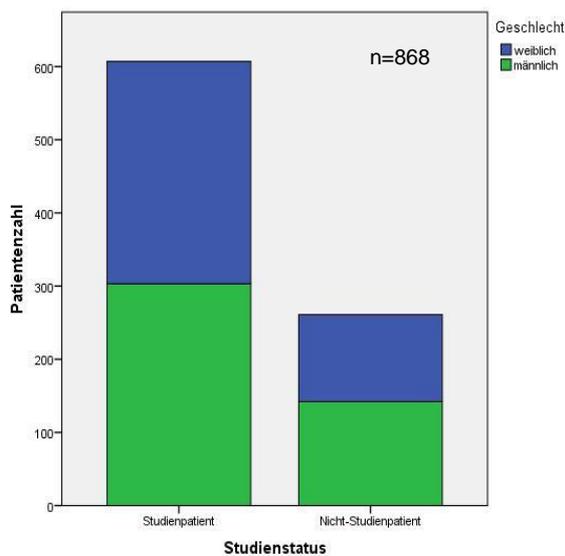


Abbildung 3.1:  
Studienstatus und Geschlechterverteilung  
im Patientenkollektiv

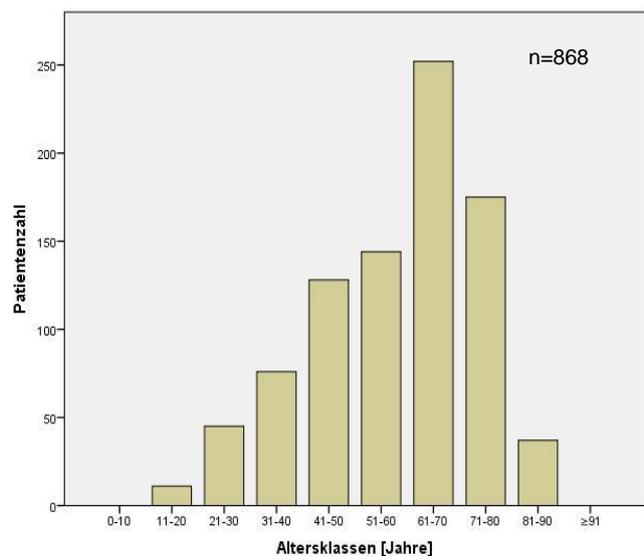


Abbildung 3.2:  
Altersklassenverteilung im  
Patientenkollektiv

### 3.3 Erkrankungsbezogene Patientendaten

#### 3.3.1 Zytomorphologie

Der FAB-Subtyp konnte bei 811/868 (93,4%) Patienten erhoben werden. Die restlichen 57/868 (6,6%) Patienten konnten keinem Subtyp zugeordnet werden, da dieser bei Diagnosestellung nicht bestimmt wurde. Dies betraf vor allem Patienten mit einer t-AML oder s-AML. Tabelle 3.1 gibt die Verteilung der einzelnen AML-Subtypen im Patientenkollektiv wieder.

Tabelle 3.1: Relative Häufigkeiten der FAB-Subtypen im Patientenkollektiv

FAB-Subtyp	Häufigkeit
AML M0	40/811 (4,9%)
AML M1	180/811 (22,2%)
AML M2	298/811 (36,7%)
AML M3	14/811 (1,7%)
AML M3v	7/811 (0,9%)
AML M4	135/811 (16,6%)
AML M4eo	71/811 (8,8%)
AML M5a	26/811 (3,2%)
AML M5b	20/811 (2,5%)
AML M6	19/811 (2,3%)
AML M7	1/811 (0,1%)

Der häufigste AML-Subtyp im Patientenkollektiv war mit 298/811 (36,7%) Patienten die AML M2. 180/811 (22,2%) Patienten hatten eine AML M1. Mit 135/811 (16,6%) Patienten folgte der AML-Subtyp M4 und mit 71/811 (8,8%) Patienten schließlich die AML M4eo. Alle anderen AML-Subtypen waren mit <5% im Patientenkollektiv repräsentiert. Der durchschnittliche Blastenanteil im Knochenmark und peripheren Blut lag bei 72,6% (Median: 80,0%) sowie 62,8% (Median: 70,0%).

#### 3.3.2 Immunphänotypisierung

Von allen 868 akquirierten Patienten im Kollektiv wurde zum Zeitpunkt ihrer Erstdiagnose der Immunphänotyp bestimmt. Da bei der durchflusszytometrischen Analyse etwas unterschiedliche AML-Panels zur Anwendung kamen, sind die Fallzahlen der einzelnen Zellantigene und ermittelten Koexpressionen nicht ganz einheitlich (näheres hierzu: siehe Kapitel „2.3.3 Datengewinnung mittels Immunphänotypisierung“ und „2.3.6 Datenerhebung, statistische Auswertung und graphische Darstellung“). Die exprimierten hämatopoetischen

Vorläuferzellantigene, myeloischen und lymphatischen Zellantigene sowie die ermittelten Koexpressionen mit ihren jeweiligen Expressionshäufigkeiten sind der Tabelle 3.2 zu entnehmen.

Tabelle 3.2: Relative Häufigkeiten der Zellantigenexpressionen im Patientenkollektiv

Zellantigen	Häufigkeit
<b>Hämatopoetische Vorläuferzellantigene</b>	
CD10	5/172 (2,9%)
CD34	443/868 (51,0%)
CD38	486/496 (98,0%)
CD117	624/868 (71,9%)
cyTdT	184/868 (21,2%)
HLA-DR	725/868 (83,5%)
<b>Myeloische Zellantigene</b>	
CD11b	576/868 (66,4%)
CD13	815/868 (93,9%)
CD14	286/868 (32,9%)
CD15	654/868 (75,3%)
CD33	815/868 (93,9%)
CD36	545/868 (62,8%)
CD61	293/868 (33,8%)
CD64	530/868 (61,1%)
CD65	624/868 (71,9%)
CD235a	154/868 (17,7%)
cyLF	361/868 (41,6%)
cyMPO	675/868 (77,8%)
<b>Lymphatische Zellantigene</b>	
CD2	208/868 (24,0%)
CD4	521/868 (60,0%)
CD7	266/868 (30,6%)
CD19	81/868 (9,3%)
CD56	194/868 (22,4%)
cyCD3	142/868 (16,4%)
cyCD22	106/868 (12,2%)
cyCD79a	162/360 (45,0%)

Ermittelte Koexpressionen	
CD2+CD34	16/868 (1,8%)
CD4+CD13	254/868 (29,3%)
CD7+CD34	81/868 (9,3%)
CD10+CD34	0/108 (0,0%)
CD19+CD34	39/868 (4,5%)
CD56+CD34	63/868 (7,3%)

CD38, HLA-DR und CD117 wurden von den hämatopoetischen Vorläuferzellantigenen am häufigsten exprimiert. Zu den am meisten detektierten myeloischen Zellantigenen gehörten CD13, CD33 und cyMPO. Oft exprimierte lymphatische Zellantigene waren CD4, cyCD79a und CD7. Zu den häufigsten Koexpressionen zählten die CD4+CD13-, CD7+CD34- und CD56+CD34-Koexpression. Eine CD10+CD34-Koexpression konnte im Vergleich dazu bei keinem Patienten beobachtet werden. Das arithmetische Mittel der gegateten Zellen im Streulicht-Dot-Plot lag bei 85,4% (Median: 93,0%).

### 3.3.3 Zytogenetik

Eine Chromosomenanalyse zum Zeitpunkt der Diagnosestellung unter Verwendung der Chromosomenbänderungsanalyse und der FISH konnte bei 864/868 (99,5%) akquirierten Patienten erfolgen. Bei 4/868 (0,5%) Patienten war dies allerdings nicht möglich, da zu wenig oder zu altes Untersuchungsmaterial beziehungsweise nicht teilungsfähige Knochenmarkzellen oder Blutzellen vorlagen. Die erhobenen balancierten und unbalancierten zytogenetischen Veränderungen sowie deren Häufigkeiten im Patientenkollektiv gibt die Tabelle 3.3 wieder.

Tabelle 3.3: Rel. Häufigkeiten der zytogenetischen Aberrationen im Patientenkollektiv

Zytogenetische Aberration	Häufigkeit
Balancierte zytogenetische Aberrationen	
11q23-Aberrationen <sup>CF</sup> , MLL-Rear. <sup>PCR</sup>	21/864 (2,4%)
inv(3) <sup>CF</sup> , RPN1-EVI1 <sup>PCR</sup>	6/864 (0,7%)
t(6;9) <sup>CF</sup> , DEK-NUP214 <sup>PCR</sup>	2/864 (0,2%)
t(8;21) <sup>CF</sup> , RUNX1-RUNX1T1 <sup>PCR</sup>	58/864 (6,7%)
t(9;11) <sup>CF</sup> , MLLT3-MLL <sup>PCR</sup>	7/864 (0,8%)
t(9;22) <sup>CF</sup> , BCR-ABL <sup>PCR</sup>	3/864 (0,3%)
t(15;17) <sup>CF</sup> , PML-RAR $\alpha$ <sup>PCR</sup>	20/864 (2,3%)
inv(16) <sup>CF</sup> , CBF $\beta$ -MYH11 <sup>PCR</sup>	70/864 (8,1%)

Unbalancierte zytogenetische Aberrationen	
+8 <sup>CF</sup>	61/864 (7,1%)
+11 <sup>CF</sup>	6/864 (0,7%)
+13 <sup>CF</sup>	10/864 (1,2%)
+21 <sup>CF</sup>	23/864 (2,7%)
-5/del(5q) <sup>CF</sup>	35/864 (4,1%)
-7/del(7q) <sup>CF</sup>	44/864 (5,1%)

CF = Ergebnis von Chromosomenbänderungsanalyse und/oder FISH

PCR = Ergebnis von PCR

Die inv(16), die t(8;21) und 11q23-Aberrationen traten von den balancierten zytogenetischen Aberrationen am häufigsten auf. Bei den unbalancierten zytogenetischen Anomalien waren die Trisomie 8 sowie Monosomien beziehungsweise Deletionen am langen Arm der Chromosomen 5 und 7 am häufigsten vertreten. 354/864 (41,0%) Patienten wiesen einen aberranten und 510/864 (59,0%) einen normalen Karyotyp auf. Ein komplex aberranter Karyotyp konnte bei 65/864 (7,5%) AML-Erstdiagnosen ermittelt werden.

### 3.3.4 Molekulargenetik

Eine molekulargenetische Analyse mittels PCR und anschließender Agarosegelelektrophorese wurde bei allen 868 Patienten durchgeführt. Da eine breite molekulargenetische Untersuchung auf mehrere Mutationen jedoch erst im Laufe des Untersuchungszeitraums routinemäßig durchgeführt wurde, war eine vollständige Erhebung aller Mutationen hier nicht gegeben. Aus diesem Grund unterscheiden sich die Fallzahlen bei den einzelnen molekulargenetischen Aberrationen. Einen Überblick über die bestimmten molekulargenetischen Anomalien sowie deren Häufigkeiten im Kollektiv liefert Tabelle 3.4.

Tabelle 3.4: Rel. Häufigkeiten der molekulargenetischen Aberrationen im Patientenkollektiv

Molekulargenetische Aberration	Häufigkeit
CEBP $\alpha$ -Mutation*	17/108 (15,7%)
FLT3-ITD*	187/509 (36,7%)
NPM1-Mutation*	260/506 (51,4%)
c-KIT-Mutation	19/638 (3,0%)
FLT3-TKD	29/682 (4,3%)
JAK2-Mutation	6/376 (1,6%)
MLL-PTD	61/823 (7,4%)
N-RAS-Mutation	49/475 (10,3%)

NPM1-wt & FLT3-ITD+*	135/505 (26,7%)
NPM1-mut & FLT3-ITD-*	59/505 (11,7%)
NPM1-mut & FLT3-ITD+*	124/505 (24,6%)
NPM1-wt & FLT3-ITD-*	187/505 (37,0%)

\* = nur Patienten mit normalem Karyotyp berücksichtigt

Die häufigsten Aberrationen auf molekularer Ebene waren die NPM1-Mutation, die FLT3-ITD und die CEBP $\alpha$ -Mutation. Auch im Gesamtkollektiv waren sie oft vertreten. Bei Patienten mit einem normalen Karyotyp konnten sie jedoch besonders häufig analysiert werden. 484/868 (55,8%) Patienten hatten eine oder mehrere der untersuchten molekulargenetischen Mutationen aus Tabelle 3.4.

### 3.3.5 Risikoeinteilung

Eine Risikoeinteilung entsprechend dem ELN konnte bei 859/868 (99,0%) Patienten vorgenommen werden. Lediglich 9/868 (1,0%) Patienten konnten dem ELN-Risiko-Score nicht zugeordnet werden, da zum Diagnosezeitpunkt keine zytogenetische oder umfangreiche molekulargenetische Analyse durchgeführt werden konnte beziehungsweise ihre Ergebnisse nicht auswertbar waren. 261/859 (30,4%) Patienten wurden als „Favorable“, 370/859 (43,1%) Patienten als „Intermediate I“, 124/859 (14,4%) Patienten als „Intermediate II“ und 104/859 (12,1%) Patienten als „Adverse“ eingestuft. Diese Ergebnisse sind in Abbildung 3.3 nochmals graphisch dargestellt.

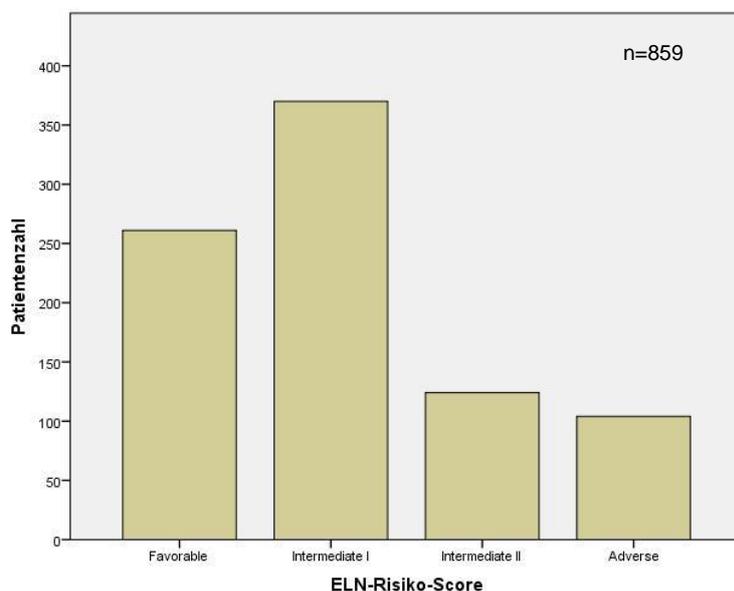


Abbildung 3.3:  
ELN-Risiko-Score-Zuordnung im  
Patientenkollektiv

### 3.3.6 Verlaufsdaten

357/868 (41,1%) Patienten konnten zur Berechnung des rezidivfreien Überlebens herangezogen werden. Da sich 511/868 (58,9%) Patienten nach der Induktionstherapie nicht in CR befanden oder von ihnen keine Verlaufsdaten von der Studienzentrale beziehungsweise keine Arztbriefe von den Kliniken/niedergelassenen Ärzten für den Remissionsstatus eingeholt werden konnten, war eine Bestimmung des rezidivfreien Überlebens in diesen Fällen nicht möglich. Die minimale/maximale rezidivfreie Überlebenszeit lag bei 24/4299 Tagen. Nach der Kaplan-Meier-Analyse betrug das mediane rezidivfreie Überleben 612 Tage und die 3-Jahres-rezidivfreie Überlebensrate 42,7%. Bis zum Zeitpunkt der Datenerhebung hatten 213/357 (59,7%) Patienten ein Rezidiv oder waren verstorben. 144/357 (40,3%) Patienten befanden sich weiterhin in CR und wurden entsprechend zensiert (Abbildung 3.4). Das Gesamtüberleben konnte von insgesamt 846/868 (97,5%) Patienten ermittelt werden. Nur bei 22/868 (2,5%) Patienten war dies nicht möglich, da keine Überlebensdaten von der Studienzentrale beziehungsweise keine Meldebescheinigungen von den Einwohnermeldeämtern eingeholt werden konnten. Die Gesamtüberlebenszeit lag zwischen 0 und 4597 Tagen. Nach der Kaplan-Meier-Analyse betrug die mediane Gesamtüberlebenszeit 452 Tage und die 3-Jahres-rezidivfreie Überlebensrate 35,7%. 571/846 (67,5%) Patienten waren bis zum Zeitpunkt der Datenerhebung bereits verstorben. Bei den restlichen 275/846 (32,5%) Patienten war noch kein Ereignis eingetreten, sie wurden entsprechend zensiert (vgl. Abbildung 3.5).

Für die 357/868 (41,1%) Patienten, die sich nach der Induktionstherapie in CR befanden und bei denen ein aktueller Remissionsstatus vorhanden war, lag die Gesamtüberlebenszeit zwischen 35 und 4597 Tagen, die mediane Gesamtüberlebenszeit bei 1491 Tagen und die 3-Jahres-Überlebensrate bei 54,6%. Zum Zeitpunkt der Datenerhebung waren 178/357 (49,9%) Patienten verstorben und 179/357 (50,1%) Patienten am Leben (vgl. Abbildung 3.6).

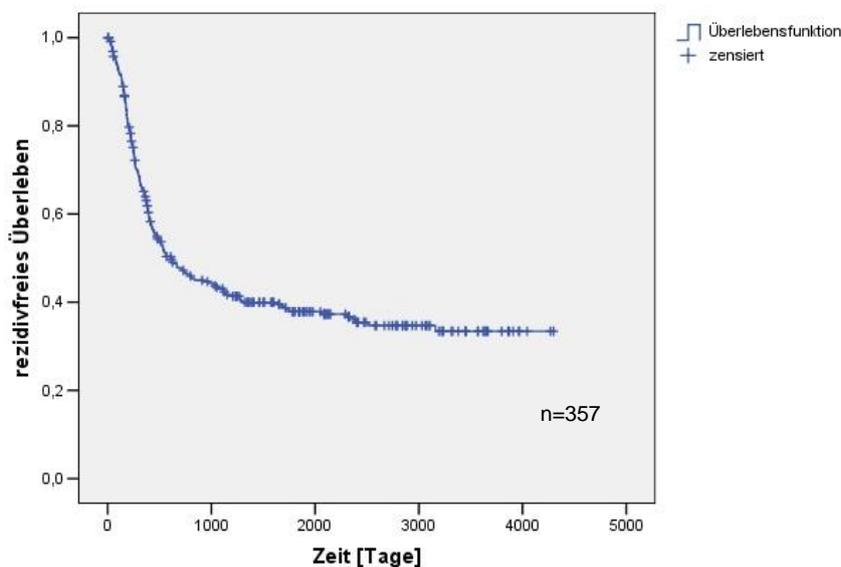


Abbildung 3.4:  
Rezidivfreies Überleben  
im Patientenkollektiv (nur  
AML-Patienten mit  
dokumentierter CR)

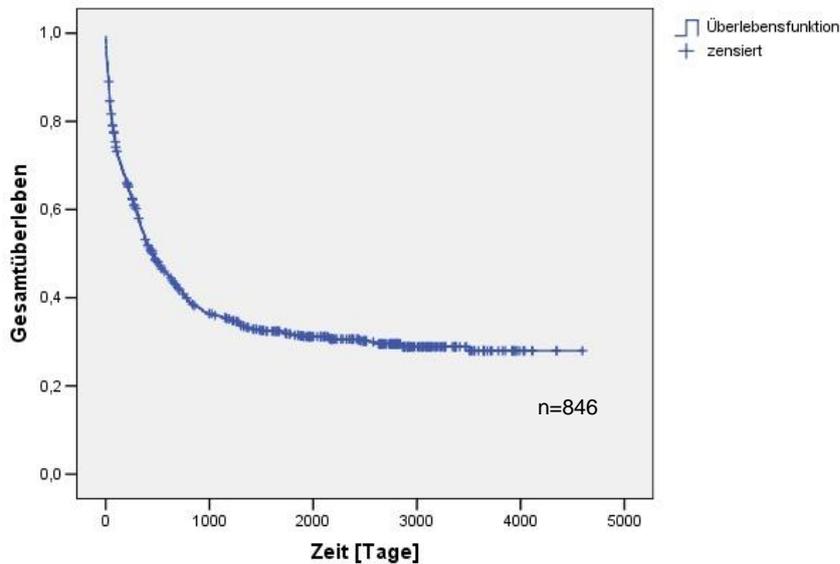


Abbildung 3.5:  
Gesamtüberleben im  
Patientenkollektiv (nur  
AML-Patienten mit  
dokumentiertem Follow-  
Up)

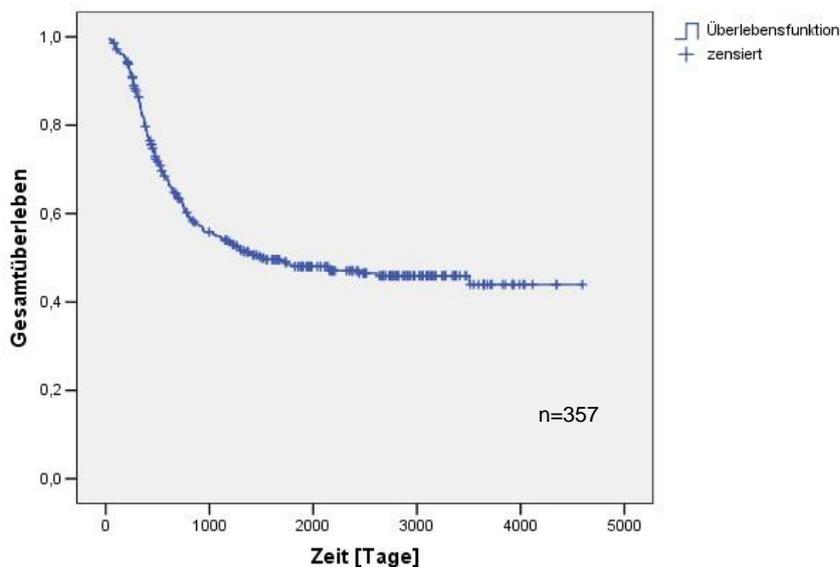


Abbildung 3.6:  
Gesamtüberleben im  
Patientenkollektiv (nur  
AML-Patienten mit  
dokumentierter CR)

### 3.4 Zusammenhänge bei den erhobenen Daten im Patientenkollektiv

#### 3.4.1 Sozialdemographische sowie erkrankungsbezogene Patientendaten und ihr Zusammenhang mit immunphänotypischen Markern

Bei der Untersuchung der sozialdemographischen (Geschlecht und Alter bei Diagnosestellung) und erkrankungsbezogenen Patientendaten (FAB-Subtyp, balancierte/unbalancierte zytogenetische Aberrationen, molekulargenetische Aberrationen und ELN-Risiko-Score) auf Zusammenhänge mit immunphänotypischen Markern wurden die lymphatischen Zellantigene (CD2, CD4, CD7, CD19, CD56, cyCD3, cyCD22 und cyTdT) und die ermittelten Koexpressionen (CD2+CD34, CD4+CD13, CD7+CD34, CD19+CD34 und CD56+CD34) in der statistischen Auswertung berücksichtigt.

Da das intrazelluläre lymphatische Zellantigen cyCD79a sowie die Koexpression CD10+CD34 nur bei wenigen Patienten aus dem Kollektiv bestimmt wurden, wurden diese in den Zusammenhangsanalysen nicht näher berücksichtigt.

Die ermittelten Expressionshäufigkeiten der lymphatischen Zellantigene und der Koexpressionen bei den jeweiligen sozialdemographischen und erkrankungsbezogenen Patientendaten sind in der Tabelle 3.5 detailliert aufgeführt. Signifikante Zusammenhänge sind dabei fett markiert. Eine vereinfachte Darstellung einiger ausgewählter Zusammenhänge liefert die Tabelle 3.6.

Bei fast allen sozialdemographischen und erkrankungsbezogenen Patientendaten konnten signifikante Zusammenhänge mit den lymphatischen Zellantigenen und den ermittelten Koexpressionen beobachtet werden. Lediglich bei der Trisomie 21 wurden keine Zusammenhänge mit der Expression dieser Zellantigene und Koexpressionen festgestellt.

#### *Geschlecht:*

Bei Männern wurde im Vergleich zu Frauen eine signifikant höhere CD56-Expression und CD19+CD34-Koexpression sowie eine signifikant niedrigere CD4-Expression detektiert.

#### *Alter bei Diagnosestellung:*

Jüngere Patienten (< 60 Jahre) waren im Vergleich zu älteren Patienten (≥ 60 Jahre) mit einer signifikant stärkeren CD19-Expression sowie CD19+CD34- und CD56+CD34-Koexpression assoziiert.

#### *FAB-Subtyp:*

Auch beim FAB-Subtyp konnten mehrere signifikante Zusammenhänge mit den exprimierten lymphatischen Zellantigenen beziehungsweise den ermittelten Koexpressionen nachgewiesen werden.

Eine verbreitete CD7-, CD19-, cyTdT- und CD7+CD34-Expression war zum Beispiel typisch für das Expressionsmuster der AML M0.

Patienten, die dem FAB-Subtyp M1 zugewiesen wurden, waren nur durch eine geringe Expression der Zellmarker CD2, CD4 und cyCD22 gekennzeichnet, während die myeloischen Blasten von Patienten mit einer AML M2 im Gegenzug eine ausgeprägte CD7-, CD19-, CD7+CD34-, CD19+CD34- und CD56+CD34-Expression aufwiesen. Die Zellantigene CD4, cyTdT und CD4+CD13 charakterisierten nur selten die AML-Blasten dieser Patienten.

Auch die Patienten mit einer AML M3 waren im vorliegenden Patientenkollektiv durch ein markantes Expressionsverhalten geprägt. Sie zeigten oftmals eine eingeschränkte CD4-, CD7-, CD56- und cyTdT-Expression auf ihren Blasten.

Bei Patienten mit einer AML M3v wurden hingegen die Zellmarker CD2, cyCD3 und CD2+CD34 häufig durchflusszytometrisch analysiert und CD4-Expressionen nur bei wenigen Patienten auf den Blasten detektiert.

AML M4-Patienten konnten des Öfteren mit einer CD4-, cyCD22-, cyTdT- und CD4+CD13-Expression in Verbindung gebracht werden. Zusätzlich waren die Zellmarker CD19, CD7+CD34, CD19+CD34 und CD56+CD34 fast nicht auf der Zellmembran der AML-Blasten dieser FAB-Subgruppe exprimiert.

Im Vergleich dazu bildeten die myeloischen Blasten der AML M4eo-Patienten vermehrt die Zellantigene CD2 und CD4+CD13 auf ihrer Zellmembran aus. Die Zellmarker CD7, CD19, CD56, cyCD22, CD7+CD34 und CD56+CD34 waren verglichen dazu nur in einem geringen Ausmaß vorzufinden.

Auch die Patienten mit einer AML M5a waren durch ein typisches Expressionsmuster charakterisiert. Sie trugen häufig die Zellantigene CD4, CD56 sowie die Koexpression CD4+CD13 und nur selten die Zellmarker CD2 sowie CD7 auf ihren Blasten.

Bei Patienten mit einer AML M5b wurde ebenfalls eine außerordentliche CD4, CD56 und CD4+CD13-Expression gesichtet. Außerdem war bei diesen Patienten der Zellmarker cyTdT vermehrt im Zytosol der analysierten Blasten vorzufinden.

Patienten, die der FAB-Subgruppe M6 zugeordnet wurden, waren im Verhältnis dazu nur durch eine verminderte Expression der Zellantigene CD4, cyTdT und CD4+CD13 charakterisiert, wohingegen die myeloischen Blasten von Patienten mit einer AML M7 nur eine starke Expression des zytosolischen Zellmarkers cyCD3 aufwiesen. Weitere Zusammenhänge konnten hier nicht festgestellt werden.

#### *Balancierte zytogenetische Aberrationen:*

Auch bei allen ermittelten balancierten zytogenetischen Aberrationen konnten signifikante Zusammenhänge mit den exprimierten lymphatischen Zellantigenen und den ermittelten Koexpressionen beobachtet werden.

AML-Patienten mit 11q23-Aberrationen bei Diagnosestellung wurden zum Beispiel vermehrt mit einer cyCD22-Expression und einer CD4+CD13-Koexpression in Verbindung gebracht. Ein signifikant reduziertes Expressionsverhalten eines oder mehrerer Zellmarker konnte bei dieser zytogenetisch definierten Subpopulation allerdings nicht festgestellt werden. Patienten mit einer AML M5a oder M5b, die bekanntlich mit 11q23-Aberrationen assoziiert sind, zeigten dabei nicht mehr signifikante Zusammenhänge zwischen der vorliegenden zytogenetischen Aberration und den exprimierten Zellantigenen sowie den ermittelten Koexpressionen als das Gesamtkollektiv (nicht in Tabelle 3.5 aufgeführt).

Dagegen hatten Patienten mit einer inv(3) häufiger eine CD19- und CD2+CD34-Expression als Patienten, die diese zytogenetische Aberration nicht aufwiesen.

Für die t(6;9) konnte eine Assoziation mit der Koexpression der Zellantigene CD7+CD34 gefunden werden.

AML-Patienten mit einer t(8;21) waren durch eine starke Expression der Zellmarker CD19, CD56, CD19+CD34 und CD56+CD34 sowie eine schwache Expression der Zellantigene CD4, CD4+CD13 und CD7+CD34 gekennzeichnet. Bei Patienten, die bei Diagnosestellung dem FAB-Subtyp M1 oder M2 zugeordnet wurden und eine t(8;21) aufwiesen, waren diese Zusammenhänge besonders deutlich ausgeprägt (nicht in Tabelle 3.5 aufgeführt).

Demgegenüber trugen viele Patienten mit einer t(9;11) die Zellantigene CD4 und cyCD22 auf der Zelloberfläche beziehungsweise im Zytosol ihrer myeloischen Blasten und hatten eine CD4+CD13-Koexpression.

Für die t(9;22) galt dies für die Zellmarker CD19, CD19+CD34 und CD56+CD34.

Eine starke cyCD3-Expression und CD2+CD34-Koexpression sowie eine mäßig ausgeprägte CD4- und CD7-Expression aber auch CD4+CD13-Koexpression formten das Expressionsmuster der prognostisch günstigen t(15,17)+ AMLs, wohingegen das Expressionsmuster der inv(16) unter anderem durch eine erhöhte Detektion des Zellantigens CD2 und der Koexpression CD4+CD13 charakterisiert war. Des Weiteren wurden die Zellmarker CD7, CD19, CD56, cyCD22 und CD56+CD34 bei AML-Patienten mit dieser zytogenetischen Aberration seltener exprimiert als bei Patienten, die diese Anomalie nicht aufwiesen.

#### *Unbalancierte zytogenetische Aberrationen:*

Für mehrere unbalancierte zytogenetische Aberrationen konnten ebenfalls signifikante Zusammenhänge mit den exprimierten lymphatischen Zellmarkern und den ermittelten Koexpressionen nachgewiesen werden.

Die Trisomie 8 war beispielsweise nur vereinzelt durch eine Expression des lymphatischen Markes CD7 charakterisiert.

AML-Blasten, deren Karyotyp eine Trisomie 11 aufwies, waren hingegen durch eine starke cyCD22-, CD7+CD34- und CD56+CD34-Expression sowie eine schwache CD4-Expression gekennzeichnet, während bei AML Patienten mit einer Trisomie 13 häufiger eine cyTdT-Expression festgestellt wurde als bei Patienten, die diese Aberration nicht aufwiesen. Ein signifikant reduziertes Expressionsverhalten eines lymphatischen Zellmarkers oder einer ermittelten Koexpression konnte bei dieser AML-Subpopulation hingegen nicht festgestellt werden.

Patienten mit einem Down-Syndrom hatten überhaupt kein spezifisches Expressionsverhalten bezüglich der untersuchten lymphatischen Zellantigene und Koexpressionen.

Monosomien beziehungsweise Deletionen am langen Arm des Chromosoms 5 wurden des Öfteren mit einer erhöhten cyCD22-Expression sowie CD7+CD34- und CD56+CD34-Koexpression assoziiert. Außerdem bildeten Patienten mit diesen Anomalien das zytosolische Zellantigen cyTdT weniger oft aus als AML-Patienten, die keine oder andere zytogenetische Aberrationen trugen.

Monosomien beziehungsweise Deletionen am langen Arm des Chromosoms 7 waren dagegen durch eine gehäufte CD2- und CD7-Expression sowie CD2+CD34-Koexpression geprägt. Ein signifikant reduziertes Expressionsverhalten eines oder mehrerer der analysierten Zellantigene konnte bei dieser Patientengruppe nicht festgestellt werden.

#### *Molekulargenetische Aberrationen:*

Einige signifikante Zusammenhänge ließen sich zwischen den untersuchten molekulargenetischen Aberrationen und dem Immunphänotyp nachweisen.

AML-Patienten mit einer CEBP $\alpha$ -Mutation und einem normalen Karyotyp trugen zum Beispiel weniger oft die Zellmarker CD4 und CD4+CD13 auf der Zelloberfläche ihrer Blasten als Patienten, die diese molekulargenetische Aberration nicht aufwiesen. Weitere Expressionsunterschiede konnten in dieser Subgruppe jedoch nicht beobachtet werden.

Bei Patienten, die eine FLT3-ITD aufwiesen und gleichzeitig keine zytogenetischen Anomalien vorliegen hatten, wurden vermehrt die Zellmarker CD4+CD13 und CD7+CD34 durchflusszytometrisch gefunden sowie CD2-Expressionen und CD56+CD34-Koexpressionen nur selten auf den Blasten detektiert.

AML-Patienten mit einer NPM1-Mutation und einem normalen Karyotyp exprimierten hingegen in großer Zahl das Zellantigen CD4 auf der Zelloberfläche ihrer Blasten bei zeitgleicher Abwesenheit der Zellmarker CD2, CD7, cyTdT und der Koexpressionen CD7+CD34 und CD56+CD34.

Bei AML-Patienten mit einer c-KIT-Mutation, FLT3-TKD, JAK2-Mutation, MLL-PTD oder N-RAS-Mutation konnten auch mehrere signifikante Zusammenhänge mit dem Immunphänotyp nachgewiesen werden.

AML-Blasten von Patienten mit einer Punktmutation im Transkriptionsfaktor c-KIT waren durch eine ausgeprägte CD56+CD34-Koexpression sowie eine schwache CD2- und CD4-Expression gekennzeichnet, wohingegen eine starke CD2+CD34- und CD4+CD13-Koexpression bei gleichzeitiger Abwesenheit des Zellantigens cyCD3 häufig bei Patienten mit FLT3-TKD nachgewiesen werden konnte.

Die JAK2-Mutation wurde im vorliegenden Patientenkollektiv mit einer ausgeprägten CD2+CD34-Koexpression sowie einer vereinzelter CD4-Expression vermehrt in Verbindung gebracht.

AML-Blasten von Patienten mit einer MLL-PTD waren mit einer erhöhten CD4-Expression assoziiert, während eine CD2- und CD4-Expression sowie CD4+CD13-Koexpression häufiger bei Patienten mit einer N-RAS-Mutation beobachtet wurden als bei Patienten, die diese molekulargenetische Aberration nicht hatten.

Auch bei AML-Patienten mit einem normalen Karyotyp, die gleichzeitig eine NPM1-Mutation und/oder eine FLT3-ITD aufwiesen, wurden mehrere signifikante Zusammenhänge mit dem Immunphänotyp beobachtet.

Patienten mit einer prognostisch ungünstigen FLT3-ITD und einem normalen Karyotyp wiesen im Vergleich zu Patienten, die andere molekulargenetische Aberrationen und keine zytogenetischen Veränderungen hatten, eine höhere cyTdT-Expression und CD7+CD34-Koexpression sowie eine niedrigere CD56-Expression auf.

Dagegen waren Patienten mit einer prognostisch günstigen NPM1-Mutation und einem normalen Karyotyp im Vergleich zu Patienten, die diese molekulargenetische Aberration nicht aufwiesen und keine zytogenetischen Veränderungen hatten, seltener mit einer CD7-, cyTdT- und CD7+CD34-Expression assoziiert.

Eine verminderte CD2-Expression wurde üblicherweise bei Patienten beobachtet, die sowohl eine FLT3-ITD und NPM1-Mutation aufwiesen, als auch einen normalen Karyotyp besaßen.

Im Vergleich dazu wurden ausgeprägte CD2-, CD7-, cyCD3- und CD56+CD34-Expressionen sowie eine schwache CD4-, und CD4+CD13-Expression vermehrt bei Patienten festgestellt, die einen normalen Karyotyp hatten, jedoch weder eine FLT3-ITD noch eine NPM1-Mutation aufwiesen.

#### *ELN-Risiko-Score:*

Viele signifikante Zusammenhänge zeigten sich auch zwischen dem ELN-Risiko-Score und den exprimierten lymphatischen Zellantigenen beziehungsweise den ermittelten Koexpressionen.

Die Blasten von AML-Patienten mit einem günstigen ELN-Risiko-Score wiesen beispielweise im Vergleich zu AML-Patienten, die einer anderen Risikogruppe zugeordnet wurden, in größerer Zahl eine CD19-, CD19+CD34- und CD56+CD34-Expression und nur vereinzelt eine CD7-, cyCD22- und CD7+CD34-Expression auf.

Eine ausgeprägte Expression des Zellantigens CD7 sowie eine seltene CD56-, CD19+CD34- und CD56+CD34-Expression kennzeichneten das ELN-Risiko-Score „Intermediate I“ wohingegen eine erhöhte CD2+CD34-Koexpression aber auch eine vermehrte Abwesenheit der Zellmarker CD4, CD7, CD19 und CD19+CD34 den Immunphänotyp des ELN-Risiko-Scores „Intermediate II“ prägten.

Die Blasten von AML-Patienten mit einem ungünstigen ELN-Risiko-Score waren im vorliegenden Patientenkollektiv durch eine häufige Expression der Zellmarker CD7, cyCD22,

CD7+CD34 und CD56+CD34 charakterisiert. Ein signifikant reduziertes Expressionsverhalten eines oder mehrerer Zellantigene konnte in dieser Risikogruppe hingegen nicht beobachtet werden.

Tabelle 3.5: Sozialdemographische sowie erkrankungsbezogene Patientendaten und ihr Zusammenhang mit immunphänotypischen Markern

Koexpression Zellantigen Marker	CD2	CD4	CD7	CD19	CD56	CyCD3	CyCD22	CyTdT	CD2 + CD34	CD4 + CD13	CD7 + CD34	CD19 + CD34	CD56 + CD34
Geschlecht (n=868)													
Weiblich (n=423)	23,6%	63,6%	31,0%	8,0%	18,4%	17,7%	13,7%	19,6%	1,7%	31,4%	9,9%	3,1%	5,7%
Männlich (n=445)	24,3%	56,6%	30,3%	10,6%	26,1%	15,1%	10,8%	22,7%	2,0%	27,2%	8,8%	5,8%	8,8%
Signifikanz p	0,828	<b>0,036</b>	0,840	0,201	<b>0,007</b>	0,287	0,188	0,268	0,687	0,169	0,555	<b>0,049</b>	0,079
Alter bei Diagnosestellung (n=868)													
< 60 Jahre (n=385)	25,2%	59,5%	31,9%	12,7%	20,3%	16,9%	13,0%	23,1%	1,6%	30,6%	8,3%	6,5%	9,6%
≥ 60 Jahre (n=483)	23,0%	60,5%	29,6%	6,6%	24,0%	15,9%	11,6%	19,7%	2,1%	28,2%	10,1%	2,9%	5,4%
Signifikanz p	0,448	0,771	0,457	<b>0,002</b>	0,187	0,710	0,534	0,217	0,577	0,423	0,356	<b>0,011</b>	<b>0,017</b>
FAB-Subtyp (n=811)													
FAB M0													
Negativ (n=771)	24,0%	60,8%	29,6%	8,4%	22,3%	16,1%	11,8%	20,5%	1,9%	30,2%	8,8%	4,8%	7,1%
Positiv (n=40)	22,5%	55,0%	50,0%	20,0%	22,5%	25,0%	12,5%	40,0%	0,0%	25,0%	22,5%	2,5%	15,0%
Signifikanz p	0,829	0,462	<b>0,006</b>	<b>0,013</b>	0,977	0,139	0,894	<b>0,003</b>	0,373	0,482	<b>0,004</b>	0,502	0,066
FAB M1													
Negativ (n=631)	27,4%	62,8%	31,4%	8,9%	22,5%	17,6%	13,2%	21,2%	1,7%	30,9%	8,7%	4,8%	7,9%
Positiv (n=180)	11,7%	52,8%	27,8%	9,4%	21,7%	12,8%	7,2%	22,2%	2,2%	26,7%	12,2%	4,4%	6,1%
Signifikanz p	<b>0,000</b>	<b>0,016</b>	0,355	0,814	0,812	0,125	<b>0,030</b>	0,776	0,674	0,274	0,157	0,862	0,416
FAB M2													
Negativ (n=513)	23,2%	63,9%	27,1%	6,4%	20,9%	16,4%	11,7%	25,1%	1,8%	36,1%	7,4%	1,9%	3,9%
Positiv (n=298)	25,2%	54,7%	36,6%	13,4%	24,8%	16,8%	12,1%	15,1%	2,0%	19,5%	13,1%	9,4%	13,8%
Signifikanz p	0,526	<b>0,009</b>	<b>0,005</b>	<b>0,001</b>	0,190	0,881	0,870	<b>0,001</b>	0,792	<b>0,000</b>	<b>0,008</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
FAB M3													
Negativ (n=797)	24,1%	61,2%	31,1%	9,2%	22,7%	16,3%	12,0%	21,8%	1,9%	30,2%	9,7%	4,8%	7,7%
Positiv (n=14)	14,3%	21,4%	0,0%	0,0%	0,0%	28,6%	0,0%	0,0%	0,0%	14,3%	0,0%	0,0%	0,0%
Signifikanz p	0,394	<b>0,003</b>	<b>0,012</b>	0,235	<b>0,043</b>	0,221	0,167	<b>0,049</b>	0,604	0,196	0,222	0,403	0,282

FAB M3v													
Negativ (n=804)	23,5%	61,1%	30,8%	9,1%	22,4%	16,0%	11,9%	21,5%	1,4%	30,2%	9,6%	4,7%	7,5%
Positiv (n=7)	71,4%	0,0%	0,0%	0,0%	14,3%	71,4%	0,0%	14,3%	57,1%	0,0%	0,0%	0,0%	14,3%
Signifikanz p	<b>0,003</b>	<b>0,001</b>	0,078	0,403	0,608	<b>0,000</b>	0,330	0,643	<b>0,000</b>	0,082	0,389	0,556	0,496
FAB M4													
Negativ (n=676)	24,6%	56,2%	29,7%	9,9%	22,2%	17,0%	9,8%	20,1%	2,2%	28,0%	10,7%	5,6%	9,0%
Positiv (n=135)	20,7%	82,2%	34,8%	4,4%	23,0%	14,1%	22,2%	28,1%	0,0%	40,0%	3,7%	0,0%	0,0%
Signifikanz p	0,343	<b>0,000</b>	0,242	<b>0,043</b>	0,844	0,401	<b>0,000</b>	<b>0,038</b>	0,081	<b>0,005</b>	<b>0,012</b>	<b>0,005</b>	<b>0,000</b>
FAB M4eo													
Negativ (n=740)	20,3%	59,6%	32,4%	9,6%	24,2%	16,5%	12,7%	20,7%	1,9%	27,3%	10,1%	5,0%	8,2%
Positiv (n=71)	62,0%	70,4%	11,3%	2,8%	2,8%	16,9%	2,8%	29,6%	1,4%	57,7%	2,8%	1,4%	0,0%
Signifikanz p	<b>0,000</b>	0,075	<b>0,000</b>	<b>0,034</b>	<b>0,000</b>	0,928	<b>0,014</b>	0,081	0,773	<b>0,000</b>	<b>0,044</b>	0,171	<b>0,012</b>
FAB M5a													
Negativ (n=785)	24,7%	59,5%	31,3%	9,3%	21,4%	16,9%	11,7%	21,7%	1,9%	28,9%	9,8%	4,8%	7,6%
Positiv (n=26)	0,0%	92,3%	7,7%	0,0%	50,0%	3,8%	15,4%	15,4%	0,0%	61,5%	0,0%	0,0%	3,8%
Signifikanz p	<b>0,004</b>	<b>0,001</b>	<b>0,010</b>	0,103	<b>0,001</b>	0,077	0,569	0,443	0,477	<b>0,000</b>	0,093	0,251	0,470
FAB M5b													
Negativ (n=791)	23,8%	59,9%	30,3%	9,2%	21,5%	16,2%	11,8%	20,9%	1,9%	29,1%	9,7%	4,8%	7,7%
Positiv (n=20)	30,0%	85,0%	40,0%	0,0%	55,0%	30,0%	15,0%	45,0%	0,0%	65,0%	0,0%	0,0%	0,0%
Signifikanz p	0,519	<b>0,023</b>	0,355	0,154	<b>0,000</b>	0,100	0,658	<b>0,009</b>	0,534	<b>0,001</b>	0,142	0,315	0,197
FAB M6													
Negativ (n=792)	24,1%	61,4%	30,9%	9,2%	22,7%	16,5%	11,7%	22,0%	1,9%	30,6%	9,7%	4,8%	7,6%
Positiv (n=19)	15,8%	26,3%	15,8%	0,0%	5,3%	15,8%	15,8%	0,0%	0,0%	5,3%	0,0%	0,0%	5,3%
Signifikanz p	0,400	<b>0,002</b>	0,157	0,165	0,071	0,931	0,589	<b>0,021</b>	0,545	<b>0,017</b>	0,153	0,328	0,706
FAB M7													
Negativ (n=810)	23,8%	60,5%	30,5%	9,0%	22,3%	16,4%	11,9%	21,5%	1,9%	30,0%	9,5%	4,7%	7,5%
Positiv (n=1)	100,0%	100,0%	100,0%	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
Signifikanz p	0,074	0,419	0,132	0,753	0,592	<b>0,025</b>	0,714	0,601	0,891	0,513	0,746	0,824	0,775

Balancierte zytogenetische Aberrationen (n=864)													
11q23-Aberrationen													
Negativ (n=843)	24,3%	59,9%	30,8%	9,1%	22,7%	16,6%	11,7%	21,1%	1,9%	28,8%	9,5%	4,5%	7,4%
Positiv (n=21)	14,3%	76,2%	19,0%	19,0%	14,3%	9,5%	33,3%	28,6%	0,0%	52,4%	0,0%	4,8%	4,8%
Signifikanz p	0,288	0,132	0,246	0,124	0,364	0,387	<b>0,003</b>	0,410	0,524	<b>0,019</b>	0,138	0,956	0,652
inv(3)													
Negativ (n=858)	23,9%	60,3%	30,3%	9,2%	22,3%	16,3%	12,2%	21,3%	1,7%	29,5%	9,3%	4,5%	7,2%
Positiv (n=6)	50,0%	66,7%	66,7%	33,3%	50,0%	33,3%	16,7%	16,7%	16,7%	16,7%	0,0%	0,0%	16,7%
Signifikanz p	0,136	0,749	0,054	<b>0,043</b>	0,105	0,262	0,742	0,781	<b>0,007</b>	0,492	0,432	0,593	0,375
t(6;9)													
Negativ (n=862)	24,1%	60,3%	30,5%	9,4%	22,5%	16,5%	12,2%	21,2%	1,9%	29,5%	9,2%	4,5%	7,3%
Positiv (n=2)	0,0%	50,0%	50,0%	0,0%	0,0%	0,0%	50,0%	50,0%	0,0%	0,0%	50,0%	0,0%	0,0%
Signifikanz p	0,425	0,766	0,550	0,649	0,446	0,530	0,103	0,321	0,846	0,361	<b>0,047</b>	0,758	0,691
t(8;21)													
Negativ (n=806)	24,4%	62,0%	31,3%	5,7%	19,9%	16,5%	12,8%	21,3%	2,0%	31,3%	9,8%	1,1%	4,5%
Positiv (n=58)	19,0%	36,2%	20,7%	60,3%	58,6%	15,5%	5,2%	20,7%	0,0%	3,4%	1,7%	51,7%	46,6%
Signifikanz p	0,346	<b>0,000</b>	0,091	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	0,845	0,088	0,907	0,279	<b>0,000</b>	<b>0,040</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
t(9;11)													
Negativ (n=857)	24,3%	60,0%	30,8%	9,5%	22,5%	16,5%	12,0%	21,2%	1,9%	28,9%	9,3%	4,6%	7,4%
Positiv (n=7)	0,0%	100,0%	0,0%	0,0%	14,3%	14,3%	42,9%	28,6%	0,0%	85,7%	0,0%	0,0%	0,0%
Signifikanz p	0,135	<b>0,031</b>	0,078	0,393	0,603	0,878	<b>0,013</b>	0,637	0,715	<b>0,001</b>	0,396	0,564	0,456
t(9;22)													
Negativ (n=861)	24,0%	60,3%	30,4%	9,2%	22,3%	16,5%	12,3%	21,4%	1,9%	29,4%	9,3%	4,3%	7,1%
Positiv (n=3)	33,3%	66,7%	66,7%	66,7%	66,7%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	33,3%	0,0%	66,7%	66,7%
Signifikanz p	0,707	0,821	0,174	<b>0,001</b>	0,066	0,442	0,516	0,367	0,812	0,881	0,579	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
t(15;17)													
Negativ (n=844)	23,8%	61,5%	31,3%	9,6%	22,9%	15,8%	12,6%	21,7%	1,4%	30,0%	9,5%	4,6%	7,3%
Positiv (n=20)	35,0%	10,0%	0,0%	0,0%	5,0%	45,0%	0,0%	5,0%	20,0%	5,0%	0,0%	0,0%	5,0%
Signifikanz p	0,248	<b>0,000</b>	<b>0,003</b>	0,146	0,058	<b>0,000</b>	0,091	0,072	<b>0,000</b>	<b>0,015</b>	0,148	0,325	0,690

inv(16)													
Negativ (n=794)	20,7%	59,4%	32,2%	10,1%	24,2%	16,4%	13,1%	20,5%	1,9%	26,8%	9,8%	4,9%	7,9%
Positiv (n=70)	62,9%	70,0%	11,4%	1,4%	2,9%	17,1%	2,9%	30,0%	1,4%	58,6%	2,9%	0,0%	0,0%
Signifikanz p	<b>0,000</b>	0,084	<b>0,000</b>	<b>0,017</b>	<b>0,000</b>	0,868	<b>0,012</b>	0,064	0,784	<b>0,000</b>	0,054	0,058	<b>0,014</b>
Unbalancierte zytogenetische Aberrationen (n=864)													
+8													
Negativ (n=803)	24,5%	60,9%	32,1%	9,5%	22,4%	16,9%	12,0%	21,2%	1,9%	29,1%	9,6%	4,4%	7,6%
Positiv (n=61)	18,0%	52,5%	9,8%	8,2%	23,0%	9,8%	16,4%	23,0%	1,6%	32,8%	4,9%	6,6%	3,3%
Signifikanz p	0,252	0,194	<b>0,000</b>	0,743	0,923	0,149	0,308	0,743	0,898	0,547	0,225	0,425	0,211
+11													
Negativ (n=858)	24,2%	60,6%	30,4%	9,4%	22,3%	16,3%	12,0%	21,3%	1,9%	29,5%	9,1%	4,5%	7,1%
Positiv (n=6)	0,0%	16,7%	50,0%	0,0%	50,0%	33,3%	50,0%	16,7%	0,0%	16,7%	33,3%	0,0%	33,3%
Signifikanz p	0,166	<b>0,028</b>	0,299	0,429	0,105	0,262	<b>0,005</b>	0,781	0,736	0,492	<b>0,041</b>	0,593	<b>0,014</b>
+13													
Negativ (n=854)	24,1%	60,5%	30,7%	9,5%	22,5%	16,4%	12,2%	21,0%	1,9%	29,5%	9,3%	4,6%	7,3%
Positiv (n=10)	20,0%	40,0%	20,0%	0,0%	20,0%	20,0%	20,0%	50,0%	0,0%	20,0%	10,0%	0,0%	10,0%
Signifikanz p	0,762	0,187	0,466	0,306	0,852	0,760	0,454	<b>0,026</b>	0,662	0,512	0,935	0,489	0,740
+21													
Negativ (n=841)	24,0%	60,3%	30,4%	9,4%	22,2%	16,1%	12,1%	21,3%	1,9%	29,5%	9,3%	4,5%	7,0%
Positiv (n=23)	26,1%	60,9%	34,8%	8,7%	30,4%	30,4%	17,4%	21,7%	0,0%	26,1%	8,7%	4,3%	17,4%
Signifikanz p	0,819	0,955	0,656	0,910	0,353	0,066	0,448	0,958	0,504	0,724	0,925	0,969	0,059
-5/del(5q)													
Negativ (n=829)	24,4%	60,3%	30,0%	9,8%	22,1%	16,5%	11,6%	22,0%	1,9%	29,3%	8,6%	4,7%	6,9%
Positiv (n=35)	17,1%	60,0%	42,9%	0,0%	31,4%	14,3%	28,6%	5,7%	0,0%	31,4%	25,7%	0,0%	17,1%
Signifikanz p	0,328	0,970	0,107	0,052	0,194	0,726	<b>0,003</b>	<b>0,022</b>	0,407	0,788	<b>0,001</b>	0,189	<b>0,022</b>
-7 del(7q)													
Negativ (n=820)	23,0%	59,6%	29,4%	9,4%	22,2%	16,0%	12,3%	21,6%	1,6%	29,3%	9,1%	4,6%	7,0%
Positiv (n=44)	43,2%	72,7%	52,3%	9,1%	27,3%	25,0%	11,4%	15,9%	6,8%	31,8%	11,4%	2,3%	13,6%
Signifikanz p	<b>0,002</b>	0,084	<b>0,001</b>	0,947	0,432	0,116	0,851	0,370	<b>0,012</b>	0,718	0,621	0,462	0,097

Molekulargenetische Aberrationen (n=108-823)													
CEBPα-Mutation* (n=108)													
Negativ (n=91)	9,9%	65,9%	35,2%	13,2%	9,9%	15,4%	6,6%	34,1%	2,2%	38,5%	9,9%	1,1%	1,1%
Positiv (n=17)	0,0%	29,4%	41,2%	5,9%	11,8%	0,0%	0,0%	17,6%	0,0%	5,9%	17,6%	5,9%	5,9%
Signifikanz p	0,176	<b>0,005</b>	0,636	0,396	0,815	0,083	0,276	0,181	0,537	<b>0,009</b>	0,350	0,179	0,179
FLT3-ITD* (n= 509)													
Negativ (n=322)	22,4%	61,5%	32,6%	5,0%	20,8%	16,8%	12,4%	19,6%	0,9%	25,2%	6,5%	1,2%	3,4%
Positiv (n=187)	15,0%	67,4%	35,8%	8,0%	15,5%	12,3%	12,3%	25,1%	2,1%	35,3%	12,8%	1,1%	0,5%
Signifikanz p	<b>0,043</b>	0,183	0,459	0,165	0,141	0,175	0,968	0,141	0,260	<b>0,015</b>	<b>0,016</b>	0,862	<b>0,039</b>
NPM1-Mutation* (n= 506)													
Negativ (n=246)	26,8%	59,3%	38,6%	6,9%	16,7%	17,9%	11,8%	25,6%	1,6%	25,6%	13,0%	2,0%	4,1%
Positiv (n=260)	13,1%	68,1%	29,2%	5,4%	21,2%	12,3%	13,1%	17,7%	1,2%	31,5%	4,2%	0,4%	0,8%
Signifikanz p	<b>0,000</b>	<b>0,041</b>	<b>0,026</b>	0,474	0,198	0,079	0,661	<b>0,030</b>	0,649	0,140	<b>0,000</b>	0,087	<b>0,015</b>
cKIT (n= 638)													
Negativ (n=619)	26,0%	60,3%	29,2%	9,4%	22,6%	15,3%	12,8%	23,4%	2,1%	28,4%	8,4%	4,8%	6,9%
Positiv (n=19)	5,3%	36,8%	21,1%	15,8%	36,8%	15,8%	5,3%	15,8%	0,0%	15,8%	10,5%	10,5%	26,3%
Signifikanz p	<b>0,041</b>	<b>0,041</b>	0,438	0,349	0,147	0,958	0,331	0,437	0,523	0,227	0,743	0,264	<b>0,002</b>
FLT3-TKD (n=682)													
Negativ (n=653)	24,0%	62,8%	31,5%	10,1%	22,5%	17,5%	10,0%	20,1%	1,7%	30,8%	10,0%	5,1%	8,3%
Positiv (n=29)	17,2%	69,0%	34,5%	3,4%	17,2%	3,4%	3,4%	20,7%	6,9%	48,3%	6,9%	3,4%	6,9%
Signifikanz p	0,400	0,500	0,739	0,238	0,505	<b>0,049</b>	0,246	0,934	<b>0,045</b>	<b>0,047</b>	0,588	0,698	0,792
JAK2-Mutation (n=376)													
Negativ (n=370)	23,0%	63,0%	34,1%	8,1%	24,1%	15,9%	11,9%	15,9%	1,9%	31,4%	11,1%	3,8%	7,6%
Positiv (n=6)	16,7%	16,7%	33,3%	0,0%	0,0%	16,7%	16,7%	0,0%	16,7%	0,0%	16,7%	0,0%	0,0%
Signifikanz p	0,715	<b>0,020</b>	0,971	0,467	0,169	0,962	0,721	0,287	<b>0,013</b>	0,099	0,667	0,627	0,484
MLL-PTD (n=823)													
Negativ (n=762)	25,2%	59,2%	31,4%	9,3%	23,2%	17,1%	13,1%	19,7%	2,0%	28,1%	10,1%	4,7%	7,9%
Positiv (n=61)	16,4%	72,1%	24,6%	8,2%	18,0%	9,8%	8,2%	26,2%	0,0%	39,3%	3,3%	1,6%	1,6%
Signifikanz p	0,124	<b>0,047</b>	0,270	0,771	0,352	0,144	0,267	0,220	0,269	0,062	0,082	0,263	0,074

N-RAS-Mutation (n=475)													
Negativ (n=426)	23,7%	60,1%	31,0%	11,3%	22,3%	16,4%	10,6%	24,9%	2,3%	28,2%	9,4%	5,2%	8,7%
Positiv (n=49)	40,8%	79,6%	22,4%	10,2%	24,5%	10,2%	6,1%	16,3%	0,0%	49,0%	6,1%	8,2%	4,1%
Signifikanz p	<b>0,009</b>	<b>0,008</b>	0,217	0,823	0,728	0,258	0,329	0,184	0,278	<b>0,003</b>	0,450	0,382	0,266
NPM1-wt & FLT3-ITD+* (n=505)													
Negativ (n=370)	19,5%	63,7%	33,4%	5,6%	20,9%	15,5%	12,8%	20,0%	1,1%	28,0%	6,5%	0,9%	2,7%
Positiv (n=135)	22,0%	64,4%	35,6%	8,5%	5,1%	11,9%	10,2%	33,9%	3,4%	33,9%	23,7%	3,4%	0,0%
Signifikanz p	0,647	0,913	0,739	0,381	<b>0,004</b>	0,467	0,568	<b>0,014</b>	0,161	0,349	<b>0,000</b>	0,097	0,202
NPM1-mut & FLT3-ITD-* (n=505)													
Negativ (n=446)	21,9%	62,7%	37,6%	7,0%	18,1%	15,9%	12,4%	24,1%	1,6%	28,9%	10,8%	1,4%	3,0%
Positiv (n=59)	14,1%	66,7%	23,0%	3,0%	21,5%	12,6%	12,6%	14,8%	0,7%	28,1%	2,2%	0,7%	0,7%
Signifikanz p	0,051	0,412	<b>0,002</b>	0,087	0,393	0,351	0,962	<b>0,026</b>	0,454	0,865	<b>0,002</b>	0,575	0,145
NPM1-mut & FLT3-ITD+* (n=505)													
Negativ (n=381)	22,3%	61,9%	33,1%	5,5%	18,4%	16,0%	12,1%	21,8%	1,3%	26,5%	9,2%	1,6%	2,9%
Positiv (n=124)	12,1%	69,4%	35,5%	7,3%	21,0%	12,1%	13,7%	21,0%	1,6%	35,5%	6,5%	0,0%	0,8%
Signifikanz p	<b>0,013</b>	0,136	0,621	0,475	0,522	0,290	0,632	0,848	0,804	0,055	0,343	0,160	0,186
NPM1-wt & FLT3-ITD-* (n=505)													
Negativ (n=318)	14,8%	67,3%	30,2%	5,7%	18,2%	12,3%	12,6%	20,8%	1,6%	32,1%	7,9%	0,9%	0,6%
Positiv (n=187)	28,3%	57,8%	39,6%	6,4%	20,3%	19,8%	12,3%	23,0%	1,1%	23,0%	9,6%	1,6%	5,3%
Signifikanz p	<b>0,000</b>	<b>0,031</b>	<b>0,031</b>	0,728	0,565	<b>0,022</b>	0,927	0,555	0,641	<b>0,029</b>	0,493	0,508	<b>0,001</b>
ELN-Risiko-Score (n=859)													
Favorable													
Negativ (n=598)	22,6%	60,2%	35,3%	6,5%	21,7%	17,4%	14,0%	21,7%	2,3%	28,6%	12,0%	1,3%	6,0%
Positiv (n=261)	28,0%	60,5%	19,2%	15,3%	24,5%	14,2%	8,4%	20,3%	0,8%	31,0%	2,3%	11,9%	10,3%
Signifikanz p	0,090	0,926	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	0,370	0,242	<b>0,021</b>	0,637	0,116	0,470	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,025</b>
Intermediate I													
Negativ (n=489)	26,0%	58,5%	24,9%	10,8%	26,0%	16,8%	12,3%	19,2%	2,0%	29,7%	7,8%	7,0%	10,6%
Positiv (n=370)	21,9%	62,7%	37,6%	7,0%	18,1%	15,9%	12,4%	24,1%	1,6%	28,9%	10,8%	1,4%	3,0%
Signifikanz p	0,167	0,211	<b>0,000</b>	0,056	<b>0,006</b>	0,747	0,943	0,087	0,649	0,815	0,125	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>

Intermediate II													
Negativ (n=735)	24,5%	62,2%	31,8%	10,2%	21,6%	15,8%	12,4%	21,4%	1,5%	29,9%	8,7%	5,2%	7,1%
Positiv (n=124)	22,6%	49,2%	21,8%	3,2%	28,2%	20,2%	12,1%	21,0%	4,0%	25,8%	11,3%	0,8%	8,9%
Signifikanz p	0,646	<b>0,006</b>	<b>0,024</b>	<b>0,013</b>	0,104	0,223	0,929	0,921	<b>0,035</b>	0,351	0,354	<b>0,031</b>	0,478
Adverse													
Negativ (n=755)	24,1%	59,7%	28,6%	9,3%	22,0%	16,0%	11,0%	22,3%	1,7%	29,1%	7,9%	4,9%	6,5%
Positiv (n=104)	25,0%	64,4%	43,3%	8,7%	26,9%	19,2%	22,1%	14,4%	2,9%	30,8%	17,3%	1,9%	13,5%
Signifikanz p	0,842	0,360	<b>0,002</b>	0,838	0,259	0,408	<b>0,001</b>	0,068	0,411	0,732	<b>0,002</b>	0,171	<b>0,011</b>

n = Fallzahl

\* = nur Patienten mit normalem Karyotyp berücksichtigt

**fett** = Signifikanz  $p < 0,05$

Tabelle 3.6: Expressionsmuster ausgewählter zytogenetischer und molekulargenetischer Aberrationen

Koexpression Zellantigen Marker	CD2	CD4	CD7	CD19	CD56	CyCD3	CyCD22	CyTdT	CD2 + CD34	CD4 + CD13	CD7 + CD34	CD19 + CD34	CD56 + CD34
t(8;21)		-		+	+					-	-	+	+
t(15;17)		-	-			+			+	-			
inv(16)	+		-	-	-		-			+			-
CEBP $\alpha$ - Mutation*		-								-			
FLT3-ITD*	-									+	+		-
NPM1- Mutation*	-	+	-					-			-		-
NPM1-wt & FLT3-ITD+*					-			+			+		
NPM1-mut & FLT3-ITD-*			-					-			-		
NPM1-mut & FLT3-ITD+*	-												
NPM1-wt & FLT3-ITD-*	+	-	+			+				-			+

\* = nur Patienten mit normalem Karyotyp berücksichtigt

+ bzw. - = Antigen wird häufiger bzw. seltener exprimiert (Signifikanz  $p < 0,05$ )

### 3.4.2 Immunphänotypische Marker und ihr Zusammenhang mit dem rezidivfreien Überleben und dem Gesamtüberleben der Patienten

Auf der Suche nach Zusammenhängen zwischen immunphänotypischen Markern sowie dem rezidivfreien Überleben und dem Gesamtüberleben der Patienten wurden wie in Kapitel „3.4.1 Sozialdemographische sowie erkrankungsbezogene Patientendaten und ihr Zusammenhang mit immunphänotypischen Markern“ die lymphatischen Zellantigene (CD2, CD4, CD7, CD19, CD56, cyCD3, cyCD22 und cyTdT) und die ermittelten Koexpressionen (CD2+CD34, CD4+CD13, CD7+CD34, CD19+CD34 und CD56+CD34) in der Auswertung berücksichtigt. Das intrazelluläre lymphatische Zellantigen cyCD79a sowie die Koexpression CD10+CD34 wurden wie bei den vorausgehenden Zusammenhangsanalysen aufgrund niedriger Fallzahlen in den Berechnungen nicht näher betrachtet.

Die Ergebnisse der univariaten Analyse sind den Tabellen 3.7 und 3.8 zu entnehmen. Signifikante Zusammenhänge zwischen immunphänotypischen Markern sowie dem rezidivfreien Überleben und dem Gesamtüberleben der Patienten sind fett markiert und in Form von Kaplan-Meier-Kurven in den Abbildungen 3.7-3.10 dargestellt.

Die Expression der meisten lymphatischen Zellantigene und Koexpressionen zeigte keinen signifikanten Einfluss auf das rezidivfreie Überleben oder das Gesamtüberleben der Patienten. Lediglich für den lymphatischen Zellmarker CD2 und die Koexpressionen CD19+CD34 sowie CD56+CD34 konnten Zusammenhänge mit der Prognose der Patienten beobachtet werden.

#### *Rezidivfreies Überleben:*

Einen signifikant günstigen Zusammenhang bezüglich des rezidivfreien Überlebens ergab sich durch eine CD2-Expression sowie eine CD56+CD34-Koexpression.

#### *Gesamtüberleben:*

Beim Gesamtüberleben konnte ein günstiger Zusammenhang mit einer CD2-Expression sowie einer CD19+CD34-Koexpression beobachtet werden.

Alle signifikanten Zusammenhänge zwischen den lymphatischen Zellantigenen beziehungsweise den ermittelten Koexpressionen und dem rezidivfreien Überleben beziehungsweise dem Gesamtüberleben der AML-Patienten aus der univariaten Analyse konnten auch in der multivariaten Analyse beobachtet werden. Bei dieser wurden nur die Zellantigene und Koexpressionen berücksichtigt, die in der univariaten Analyse eine Signifikanz  $p < 0,1$  hatten. Die Ergebnisse sind den beiden Tabellen 3.9 und 3.10 zu entnehmen.

Tabelle 3.7: Immunphänotypische Marker und ihr Zusammenhang mit dem rezidivfreien Überleben der Patienten (Kaplan-Meier, Patientenzahl n = 357)

Lymphatische Zellantigene	Signifikanz p (Wertung)	Ermittelte Koexpressionen	Signifikanz p (Wertung)
CD2	<b>0,010</b> (günstig)	CD2+CD34	0,062
CD4	0,104	CD4+CD13	0,920
CD7	0,088	CD7+CD34	0,302
CD19	0,134	CD19+CD34	0,186
CD56	0,398	CD56+CD34	<b>0,032</b> (günstig)
cyCD3	0,435		
cyCD22	0,275		
cyTdT	0,359		

**fett** = Signifikanz  $p < 0,05$

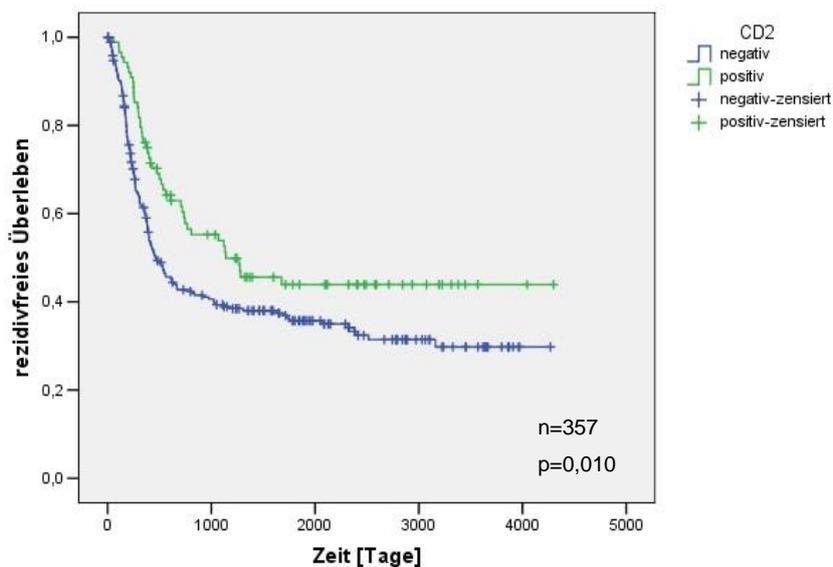


Abbildung 3.7:  
Zusammenhang zwischen einer CD2-Expression und dem rezidivfreien Überleben

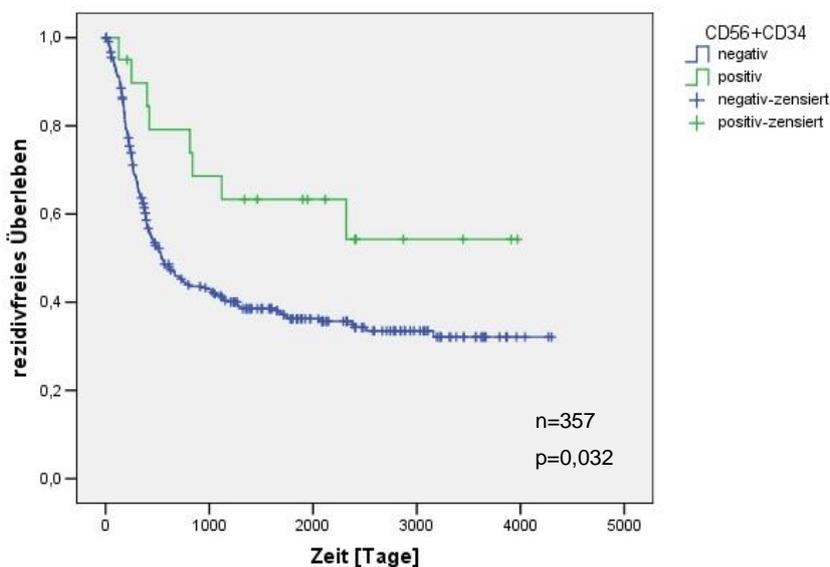


Abbildung 3.8:  
Zusammenhang zwischen einer CD56+CD34-Koexpression und dem rezidivfreien Überleben

Tabelle 3.8: Immunphänotypische Marker und ihr Zusammenhang mit dem Gesamtüberleben der Patienten (Kaplan-Meier, Patientenzahl n = 846)

Lymphatische Zellantigene	Signifikanz p (Wertung)	Ermittelte Koexpressionen	Signifikanz p (Wertung)
CD2	<b>0,000</b> (günstig)	CD2+CD34	0,216
CD4	0,450	CD4+CD13	0,572
CD7	0,935	CD7+CD34	0,226
CD19	0,121	CD19+CD34	<b>0,010</b> (günstig)
CD56	0,355	CD56+CD34	0,054
cyCD3	0,095		
cyCD22	0,127		
cyTdT	0,922		

fett = Signifikanz  $p < 0,05$

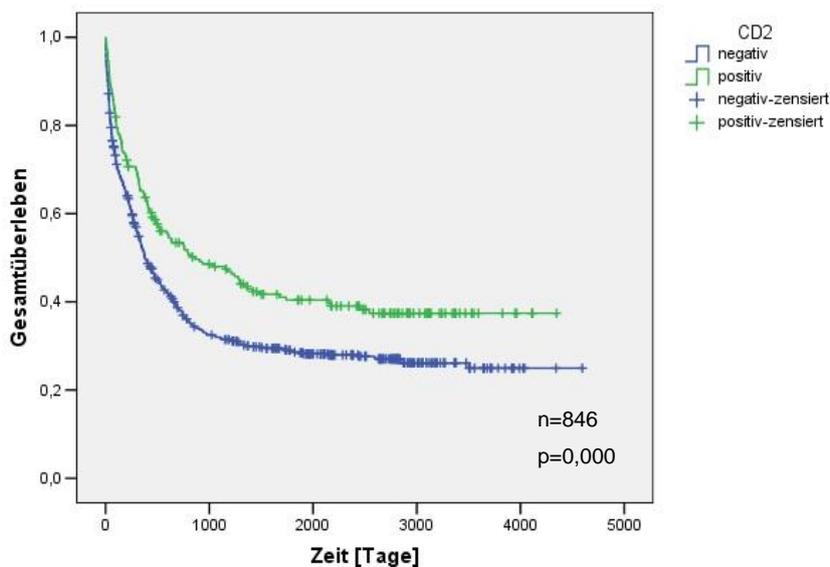


Abbildung 3.9:  
Zusammenhang zwischen einer CD2-Expression und dem Gesamtüberleben

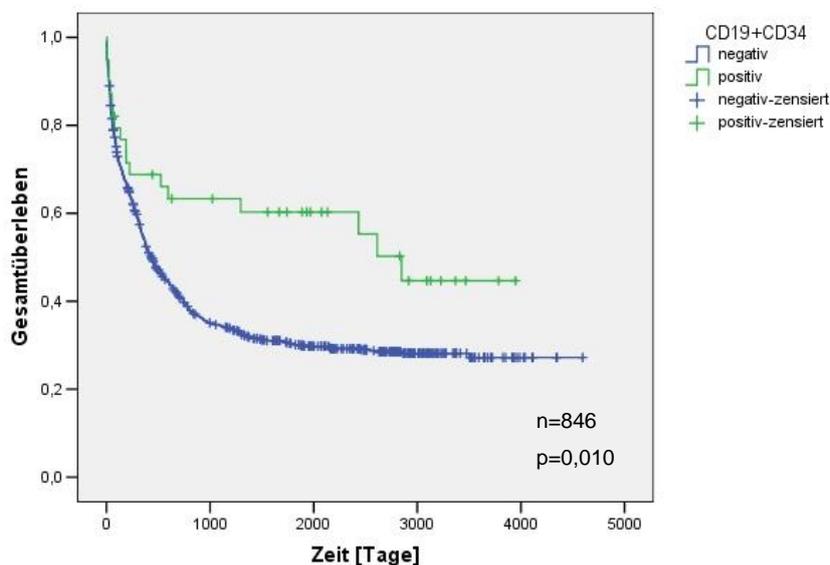


Abbildung 3.10:  
Zusammenhang zwischen einer CD19+CD34-Koexpression und dem Gesamtüberleben

Tabelle 3.9: Immunphänotypische Marker und ihr Zusammenhang mit dem rezidivfreien Überleben der Patienten (Cox-Regression, Patientenzahl n = 357)

Zellmarker	Signifikanz p	HR bei positiver Expression	95% KI
CD2	<b>0,004</b>	0,604	0,429 – 0,851
CD7	<b>0,005</b>	1,536	1,141 – 2,067
CD2+CD34	0,229	0,295	0,041 – 2,151
CD56+CD34	<b>0,033</b>	0,461	0,227 – 0,939

**fett** = Signifikanz  $p < 0,05$

Tabelle 3.10: Immunphänotypische Marker und ihr Zusammenhang mit dem Gesamtüberleben der Patienten (Cox-Regression, Patientenzahl n = 846)

Zellmarker	Signifikanz p	HR bei positiver Expression	95% KI
CD2	<b>0,001</b>	0,705	0,569 – 0,875
cyCD3	0,796	0,968	0,759 – 1,235
CD19+CD34	<b>0,042</b>	0,598	0,365 – 0,981
CD56+CD34	0,301	0,826	0,576 – 1,186

**fett** = Signifikanz  $p < 0,05$

## **4. Diskussion**

### **4.1 Bisherige Erkenntnisse über die klinische Bedeutung der Expression lymphatischer Marker bei akuter myeloischer Leukämie**

Viele de-novo-AML-Patienten weisen auf ihren Blasten qualitative und/oder quantitative Veränderungen im Expressionsmuster der Zellantigene auf, deren Bedeutung bis heute noch nicht vollständig untersucht ist [34].

Einige Zusammenhänge zwischen soziodemographischen sowie erkrankungsbezogenen Patientendaten und der Expression lymphatischer Zellantigene auf myeloischen Blasten konnten jedoch bereits teilweise nachgewiesen werden. Dies betrifft vor allem die häufig anzutreffenden zytogenetischen sowie molekulargenetischen Aberrationen [95].

Auch etliche Zusammenhänge zwischen der Expression lymphatischer Zellmarker auf myeloischen Blasten und der Prognose der Patienten wurden bereits publiziert. Für wenige lymphatische Zellantigene ist die Datenlage jedoch bisher sehr dünn, während die Bedeutung anderer lymphatischer Zellmarker kontrovers diskutiert wird [96].

Ausführliche statistische Analysen an einem großen Patientenkollektiv, die sowohl soziodemographische und erkrankungsbezogene Patientendaten als auch das Überleben der Patienten auf Zusammenhänge mit Koexpressionen lymphatischer Zellantigene mit Vorläuferzellmarkern auf AML-Blasten untersuchen, wurden hingegen bisher kaum durchgeführt. Entsprechend begrenzt sind auch die Erkenntnisse diesbezüglich.

### **4.2 Soziodemographische Patientendaten**

Die Geschlechtsverteilung hatte mit 51,3% versus 48,7% die aus der Literatur bekannte leichte Überzahl von männlichen AML-Patienten im Vergleich zu weiblichen AML-Patienten [11].

Bei der Altersverteilung zeigte sich ein Groß in der siebten Altersdekade sowie ein Median von 62 Jahren. Dieser befand sich damit leicht unter dem Altersdurchschnitt bereits publizierter Daten (Median: 67 Jahre) [12].

Die Verteilung von Studienpatienten zu Nicht-Studienpatienten lag bei 607:261. Dieses Verhältnis spiegelt in etwa den Anteil an AML-Patienten wieder, die sich bei Diagnosestellung – sofern sie den Einschlusskriterien entsprechen - für eine Studienteilnahme qualifizieren.

Der hohe Anteil an Studienpatienten könnte eine Erklärung für das relativ niedrige Durchschnittsalter im Patientenkollektiv sein. Denn jüngere Patienten erfüllen leichter die Einschlusskriterien einer Studie.

## 4.3 Erkrankungsbezogene Patientendaten

### 4.3.1 Zytomorphologie

Die FAB-Subtypen-Verteilung reflektierte weitgehend die Häufigkeiten der einzelnen FAB-Subtypen, wie sie bei neu erkrankten AML-Patienten in einem größeren Kollektiv anzutreffen sind. Nur bei wenigen Subgruppen kam es zu kleineren Abweichungen (vgl. Tabelle 4.1).

Tabelle 4.1: Relative Häufigkeiten der FAB-Subtypen im Patientenkollektiv im Vergleich zu anderen Studien

FAB-Subtyp	Häufigkeiten im vorliegenden Patientenkollektiv	Häufigkeiten in anderen Studien [67], [68]
AML M0	40/811 (4,9%)	<5%
AML M1	180/811 (22,2%)	15-20%
AML M2	298/811 (36,7%)	25-30%
AML M3	14/811 (1,7%)	5-10%
AML M3v	7/811 (0,9%)	
AML M4	135/811 (16,6%)	25-30%
AML M4eo	71/811 (8,8%)	
AML M5a	26/811 (3,2%)	10-15%
AML M5b	20/811 (2,5%)	
AML M6	19/811 (2,3%)	<5%
AML M7	1/811 (0,1%)	<5%

Die FAB-Subtypen M3/M3v und M5a/M5b waren dabei etwas seltener vertreten als in vorausgehenden wissenschaftlichen Arbeiten. Der Anteil der Patienten mit einer AML M1 und M2 war im Zuge dessen leicht erhöht.

Die prozentualen Abweichungen der einzelnen FAB-Subtypen sind aber geringfügig. Ein Grund für die kleinen Abweichungen könnte der Anteil an Nicht-Studienpatienten sein, der in anderen Arbeiten nicht berücksichtigt wurde. Vorausgehende Studien haben ebenfalls in abnehmender Reihenfolge den FAB-Subtypen M2, M1, M4 und M4eo die meisten Patienten zugeordnet.

### 4.3.2 Immunphänotypisierung

Auch die Expressionsstärke der hämatopoetischen Vorläuferzellantigene, der myeloischen und lymphatischen Zellantigene sowie der ermittelten Koexpressionen lagen weitgehend in den Größenbereichen bereits publizierter Daten, sofern dies bisher geschehen war. Nur für wenige Zellantigene, die hier näher betrachtet wurden, konnten keine Vergleichsquellen

ermittelt werden. Die Expressionshäufigkeiten der meisten Zellantigene und Koexpressionen wurden jedoch in der Regel bereits in mindestens einer Arbeit publiziert (vgl. Tabelle 4.2).

Tabelle 4.2: Relative Häufigkeiten der Zellantigenexpressionen im Patientenkollektiv im Vergleich zu anderen Studien

Zellantigen	Häufigkeiten im vorliegenden Patientenkollektiv	Häuf. in anderen Stud. [40], [97]–[100]
<b>Hämatopoetische Vorläuferzellantigene</b>		
CD10	5/172 (2,9%)	0,0-10,0%
CD34	443/868 (51,0%)	55,0-68,0%
CD38	486/496 (98,0%)	60,0-92,3%
CD117	624/868 (71,9%)	48,4-81,7%
cyTdT	184/868 (21,2%)	6,9-18,0%
HLA-DR	725/868 (83,5%)	72,8-87,0%
<b>Myeloische Zellantigene</b>		
CD11b	576/868 (66,4%)	29,0-33,3%
CD13	815/868 (93,9%)	73,9-95,0%
CD14	286/868 (32,9%)	10,6-29,2%
CD15	654/868 (75,3%)	51,6-74,3%
CD33	815/868 (93,9%)	82,1-96,1%
CD36	545/868 (62,8%)	59,0%
CD61	293/868 (33,8%)	21,2%
CD64	530/868 (61,1%)	
CD65	624/868 (71,9%)	57,6%
CD235a	154/868 (17,7%)	3,3-6,7
cyLF	361/868 (41,6%)	
cyMPO	675/868 (77,8%)	73,0-83,0%
<b>Lymphatische Zellantigene</b>		
CD2	208/868 (24,0%)	3,0-18%
CD4	521/868 (60,0%)	48,1-67,0%
CD7	266/868 (30,6%)	8,8-37,0%
CD19	81/868 (9,3%)	2,1-16,0%
CD56	194/868 (22,4%)	13,0-29,2%
cyCD3	142/868 (16,4%)	1,2
cyCD22	106/868 (12,2%)	0,4%
cyCD79a	162/360 (45,0%)	2,0%

Ermittelte Koexpressionen		
CD2+CD34	16/868 (1,8%)	3,0%
CD4+CD13	254/868 (29,3%)	44,0%
CD7+CD34	81/868 (9,3%)	12,0%
CD10+CD34	0/108 (0,0%)	3,0%
CD19+CD34	39/868 (4,5%)	5,7%
CD56+CD34	63/868 (7,3%)	7,9%

Bei den Zellantigenen CD11b, CD61, CD65, CD235a, cyCD3, cyCD22 und cyCD79a sowie der Koexpression CD4+CD13 traten größere Abweichungen (> 10%-Punkte vom ermittelten Wert) bei den Expressionshäufigkeiten auf.

Die Unterschiede in der Expressionsstärke der Zellantigene und Koexpressionen sind am ehesten auf die Verwendung verschiedener fluoreszenzmarkierter Antikörper, unterschiedliches Gaten und durch eine andere Festlegung des Cut-Off-Levels zurückzuführen. Größere Abweichungen traten zumal bei den Zellantigenen und Koexpressionen auf, bei denen als Referenzwert nur eine wissenschaftliche Quelle zur Verfügung stand. Alle anderen Expressionshäufigkeiten lagen im Bereich bereits publizierter Daten beziehungsweise sehr nahe an diesen Werten.

#### 4.3.3 Zytogenetik

Die Häufigkeiten der detektierten zytogenetischen Veränderungen im Kollektiv waren ebenfalls mit den Zahlengrößen früherer Publikationen vergleichbar (vgl. Tabelle 4.3).

Tabelle 4.3: Relative Häufigkeiten der zytogenetischen Aberrationen im Patientenkollektiv im Vergleich zu anderen Studien

Zytogenetische Aberration	Häufigkeiten im vorliegenden Patientenkollektiv	Häufigkeiten in anderen Studien [26], [101]
Balancierte zytogenetische Aberrationen		
11q23-Aberr. <sup>CF</sup> , MLL-Rear. <sup>PCR</sup>	21/864 (2,4%)	3-7%
inv(3) <sup>CF</sup> , RPN1-EVI1 <sup>PCR</sup>	6/864 (0,7%)	1-2%
t(6;9) <sup>CF</sup> , DEK-NUP214 <sup>PCR</sup>	2/864 (0,2%)	1-2%
t(8;21) <sup>CF</sup> , RUNX1-RUNX1T1 <sup>PCR</sup>	58/864 (6,7%)	7-8%
t(9;11) <sup>CF</sup> , MLLT3-MLL <sup>PCR</sup>	7/864 (0,8%)	1%
t(9;22) <sup>CF</sup> , BCR-ABL <sup>PCR</sup>	3/864 (0,3%)	1%
t(15;17) <sup>CF</sup> , PML-RAR $\alpha$ <sup>PCR</sup>	20/864 (2,3%)	4-13%
inv(16) <sup>CF</sup> , CBF $\beta$ -MYH11 <sup>PCR</sup>	70/864 (8,1%)	5-9%

Unbalancierte zytogenetische Aberrationen		
+8 <sup>CF</sup>	61/864 (7,1%)	9-10%
+11 <sup>CF</sup>	6/864 (0,7%)	1%
+13 <sup>CF</sup>	10/864 (1,2%)	2%
+21 <sup>CF</sup>	23/864 (2,7%)	3%
-5/del(5q) <sup>CF</sup>	35/864 (4,1%)	4-6%
-7/del(7q) <sup>CF</sup>	44/864 (5,1%)	7-9%

CF = Ergebnis von Chromosomenbänderungsanalyse und/oder FISH

PCR = Ergebnis von PCR

Nur bei den 11q23-Aberrationen, der t(15;17), der Trisomie 8 und der Monosomie 7 beziehungsweise del(7q) kam es zu leichten Diskrepanzen bereits ermittelter Häufigkeiten. Die niedrigen Fallzahlen mit diesen balancierten/unbalancierten zytogenetischen Aberrationen dürften mit dem vergleichsweise kleinen Patientenanteil mit einem aberranten Karyotyp in diesem Kollektiv zurückzuführen sein (41,0% versus 50,0-58,0%) [33], [60].

#### 4.3.4 Molekulargenetik

Auch beim Auftreten der molekulargenetischen Aberrationen zeigten sich nur leichte Abweichungen zu anderen AML-Patientenkollektiven (vgl. Tabelle 4.4).

Tabelle 4.4: Relative Häufigkeiten der molekulargenetischen Aberrationen im Patientenkollektiv im Vergleich zu anderen Studien

Molekulargenetische Aberration	Häufigkeiten im vorliegenden Patientenkollektiv	Häufigkeiten in anderen Studien[43], [102]–[106]
CEBP $\alpha$ -Mutation*	17/108 (15,7%)	10-18%
FLT3-ITD*	187/509 (36,7%)	28-34%
NPM1-Mutation*	260/506 (51,4%)	45–54%
c-KIT-Mutation	19/638 (3,0%)	2-4%
FLT3-TKD	29/682 (4,3%)	5-10%
JAK2-Mutation	6/376 (1,6%)	3%
MLL-PTD	61/823 (7,4%)	4-14%
N-RAS-Mutation	49/475 (10,3%)	8-13%
NPM1-wt & FLT3-ITD+*	135/505 (26,7%)	12,7-30,7%
NPM1-mut & FLT3-ITD-*	59/505 (11,7%)	13,5-28,7%
NPM1-mut & FLT3-ITD+*	124/505 (24,6%)	9,7-24,0%
NPM1-wt & FLT3-ITD-*	187/505 (37,0%)	34,0-46,1%

\* = nur Patienten mit normalem Karyotyp berücksichtigt

Vor allem die molekulargenetischen Aberrationen, die mit einem normalen Karyotyp in Verbindung gebracht werden (vgl. NPM1-Mutation, FLT3-ITD und CEBP $\alpha$ -Mutation), waren im Vergleich zu anderen wissenschaftlichen Arbeiten eher häufig anzutreffen.

Die erhöhten Patientenfallzahlen mit diesen molekulargenetischen Veränderungen sind ebenfalls auf den relativ großen Patientenanteil mit einem normalen Karyotyp im vorliegenden Kollektiv zurückzuführen (59,0% versus 42,0-50,0 %) [33], [60].

#### 4.3.5 Risikoeinteilung

Den ELN-Risikogruppen „Favorable“, „Intermediate I“, „Intermediate II“ und „Adverse“ konnten 30,4%, 43,1%, 14,4% und 12,1% der Patienten zugeordnet werden (vgl. Tabelle 4.5).

Tabelle 4.5: Relative Häufigkeiten der ELN-Risiko-Gruppen im Patientenkollektiv im Vergleich zu anderen Studien

ELN-Risiko-Gruppe	Häufigkeiten im vorliegenden Patientenkollektiv	Häufigkeiten in anderen Studien [107]–[109]
Favorable	261/859 (30,4%)	19,8-22,0%
Intermediate I	370/859 (43,1%)	14,2-46,0%
Intermediate II	124/859 (14,4%)	12,0-30,0%
Adverse	104/859 (12,1%)	20,0-31,2%

Die Risikogruppe „Favorable“ war damit etwas häufiger vertreten als bisher in der Literatur angegeben. Infolge dessen hatte die Risikogruppe „Adverse“ eine vergleichsweise kleine Patientenzahl.

Eine Verschiebung der prozentualen Häufigkeiten zu Gunsten der Risikogruppe „Favorable“ und zu Lasten der Risikogruppe „Adverse“ kann durch eine vergleichsweise hohe Anzahl an Patienten mit normalem Karyotyp erklärt werden (näheres hierzu: siehe Kapitel „4.3.3 Zytogenetik“ und „4.3.4 Molekulargenetik“).

#### 4.3.6 Verlaufsdaten

Das mediane rezidivfreie Überleben sowie die 3-Jahres-rezidivfreie Überlebensrate betragen nach der Kaplan-Meier-Analyse 612 Tage beziehungsweise 42,7%.

Für das Gesamtüberleben befanden sich diese Kenngrößen bei 452 Tagen beziehungsweise 35,7% und lagen somit gleichauf mit anderen bereits publizierten Überlebensdaten [93].

## 4.4 Zusammenhänge bei den erhobenen Daten im Patientenkollektiv

### 4.4.1 Sozialdemographische sowie erkrankungsbezogene Patientendaten und ihr Zusammenhang mit immunphänotypischen Markern

#### *Geschlecht:*

Die signifikant erhöhte Expression des Zellantigens CD56 und der Koexpression CD19+CD34 sowie die signifikant reduzierte CD4-Expression auf den Blasten männlicher AML-Patienten wurde bisher noch nicht beschrieben.

Bereits veröffentlichte wissenschaftliche Arbeiten zu diesem Sachverhalt konnten für die untersuchten Zellmarker CD2, CD4, CD7, CD19, CD56 und cyTdT keine Zusammenhänge mit dem Geschlecht nachweisen, womöglich aufgrund kleinerer Patientenkollektive [42], [50], [55], [57], [110]. Zusammenhangsanalysen, die die zeitgleiche Expression lymphatischer Zellmarker mit hämatopoetischen Vorläuferzellmarkern auf AML-Blasten und dem Geschlecht untersuchen, wurden bis zum heutigen Zeitpunkt noch nicht durchgeführt.

Die erhöhte CD56- und CD19+CD34-Expression sowie die reduzierte CD4-Expression bei männlichen AML-Patienten sind teilweise nachzuvollziehen, wenn man bedenkt, dass männliche AML-Patienten – im Vergleich zu weiblichen AML-Patienten – häufiger eine t(8;21) aufweisen [38], [111], [112]. Da diese Aberration wiederum hoch assoziiert ist mit der Expression von CD56 und CD19+CD34 sowie der Abwesenheit von CD4, sind bei männlichen AML-Patienten auch die Zellantigene CD56 und CD19+CD34 häufiger sowie der Zellmarker CD4 nur selten auf den Blasten ausgebildet (vgl. hierzu: Seite 40ff „Balancierte zytogenetische Aberrationen“). Zusammenhangsanalysen ohne die Einbeziehung von Patienten mit einer t(8;21) bestätigen diese Vermutung für die Koexpression von CD19. CD56 bleibt auch ohne Einbeziehung von t(8;21)+ Patienten bei Männern mit einer AML signifikant gehäuft. Die Ergebnisse dieser Berechnungen sind der Tabelle 4.6 zu entnehmen.

Tabelle 4.6: Ermittelte Expressionshäufigkeiten ausgewählter Zellantigene/Koexpressionen in Abhängigkeit vom Geschlecht der Patienten im Gesamtkollektiv mit/ohne t(8;21)+ AMLs

Kollektiv	Gesamtkollektiv (n <sub>W</sub> =423 bzw. n <sub>M</sub> =445)			Gesamtkollektiv ohne t(8;21)+AMLs (n <sub>W</sub> =400 bzw. n <sub>M</sub> =406)		
	CD4	CD56	CD19+ CD34	CD4	CD56	CD19+ CD34
Weiblich	63,6%	18,4%	3,1%	65,3%	16,0%	1,0%
Männlich	56,6%	26,1%	5,8%	58,9%	23,6%	1,2%
Signifikanz p	<b>0,036</b>	<b>0,007</b>	<b>0,049</b>	0,062	<b>0,007</b>	0,754

**fett** = Signifikanz p < 0,05

### Alter bei Diagnosestellung:

Über eine signifikant vermehrte CD19-Expression sowie CD19+CD34- und CD56+CD34-Koexpression bei AML-Patienten jüngeren Alters (< 60 Jahre) wurde zum Teil schon berichtet.

Für die bis dato untersuchten Zellantigene CD2, CD7, CD56 und cyTdT konnten jedoch auch in vorausgehenden wissenschaftlichen Arbeiten keine Zusammenhänge mit dem Alter nachgewiesen werden [50], [55], [57], [110]. Miwa et al. beobachteten hingegen im Vergleich zu den Erkenntnissen dieser Arbeit in einem Kollektiv mit 495 de-novo-AML-Patienten eine signifikant höhere CD4-Expression bei älteren Personen [42]. Auch im vorliegenden größeren Patientenkollektiv wurde bei dieser Personengruppe eine vermehrte CD4-Expression gesichtet, allerdings erwies sich diese als nicht signifikant ( $p=0,771$ ). Die in diesem Patientenkollektiv detektierte erhöhte CD19-Expression bei jüngeren AML-Patienten wurde dagegen auch schon von Legrand et al. so beschrieben [98]. Untersuchungen, die die zeitgleiche Expression lymphatischer Zellmarker mit hämatopoetischen Vorläuferzellmarkern auf Zusammenhänge mit dem Patientenalter analysieren, wurden bisher noch nicht veröffentlicht und werden an dieser Stelle das erste Mal beschrieben.

Die vermehrte CD19-Expression sowie CD19+CD34- und CD56+CD34-Koexpression bei jüngeren AML-Patienten kann mit der erhöhten Detektion dieser Zellantigene bei AML-Patienten mit einer  $t(8;21)$  begründet werden (vgl. Seite 40ff „Balancierte zytogenetische Aberrationen“). Da AML-Patienten jüngeren Alters (< 60 Jahre) - im Vergleich zu älteren AML-Patienten ( $\geq 60$  Jahre) – signifikant häufiger diese prognostisch günstige zytogenetische Aberration aufweisen, sind in diesem Patientenkollektiv auch das Zellantigen CD19 und die Koexpressionen CD19+CD34 und CD56+CD34 öfter auf den AML-Blasten vorzufinden [38], [113], [114]. Berechnungen ohne die Berücksichtigung von Patienten mit einer  $t(8;21)$  untermauern diesen Zusammenhang. Die Ergebnisse der Kreuztabellen-Analyse können der Tabelle 4.7 entnommen werden.

Tabelle 4.7: Ermittelte Expressionshäufigkeiten ausgewählter Zellantigene/Koexpressionen in Abhängigkeit vom Alter der Patienten im Gesamtkollektiv mit/ohne  $t(8;21)$ +AMLs

Kollektiv	Gesamtkollektiv ( $n_{<60}=385$ bzw. $n_{>60}=483$ )			Gesamtkollektiv ohne $t(8;21)$ +AMLs ( $n_{<60}=341$ bzw. $n_{>60}=465$ )		
	CD19	CD19+ CD34	CD56+ CD34	CD19	CD19+ CD34	CD56+ CD34
< 60 Jahre	12,7%	6,5%	9,6%	5,9%	0,3%	4,4%
$\geq 60$ Jahre	6,6%	2,9%	5,4%	5,6%	1,7%	4,5%
Signifikanz p	<b>0,002</b>	<b>0,011</b>	<b>0,017</b>	0,869	0,057	0,937

fett = Signifikanz  $p < 0,05$

### *FAB-Subtyp:*

Viele der beobachteten signifikanten Zusammenhänge zwischen dem FAB-Subtyp und den exprimierten Zellantigenen beziehungsweise den nachgewiesenen Koexpressionen werden an dieser Stelle das erste Mal beschrieben und sind zum Teil mit Hilfe der Expressionsmuster einiger zytogenetischer Aberrationen zu verstehen, die den entsprechenden FAB-Subtyp definieren oder zumindest vermehrt mit diesem in Verbindung gebracht werden. Teilweise wurden diese Beobachtungen in Publikationen beschrieben [40], [42], [99], [100], [115].

Das beobachtete erhöhte Expressionsverhalten der Zellmarker CD7, CD19 und cyTdT sowie der Koexpression CD7+CD34 auf den Blasten von Patienten mit einer AML M0 kann beispielsweise aufgrund der Vielzahl der Anomalien, die mit dieser AML-Subgruppe in Verbindung gebracht werden, nur schwer nachvollzogen werden. Die inv(3), die t(9;22) und diverse unbalancierte zytogenetische Aberrationen gehören zu den Anomalien, die bei diesen Patienten am häufigsten nachzuweisen sind [116]–[118].

Eine seltene CD2-, CD4- und cyCD22-Expression bei AML M1-Patienten lässt sich ebenfalls aufgrund der Vielzahl der Anomalien, die mit diesem AML-Subtyp assoziiert sind, nur schwer durchschauen. Besonders oft sind die t(6;9), die t(9;22) und diverse unbalancierte zytogenetische Aberrationen bei diesem FAB-Subtyp anzutreffen [116]–[118].

Eine erhöhte CD7-, CD19-, CD7+CD34-, CD19+CD34- und CD56+CD34-Expression sowie der seltene Nachweis der Zellantigene CD4, cyTdT und CD4+CD13 bei AML-Patienten des FAB-Subtyps M2 ist teilweise durch das Expressionsmuster der t(8;21) zu begründen. Diese zytogenetische Aberration tritt gehäuft bei Patienten mit einem solchen FAB-Subtyp auf [116]–[118].

Das Expressionsverhalten der AML M3 und M3v war unter anderem durch eine seltene CD4- und CD7- oder eine starke cyCD3- und CD2+CD34-Expression gekennzeichnet und ist auf das Expressionsmuster der t(15;17) zurückzuführen. Diese zytogenetische Aberration ist ebenfalls unter anderem durch eine seltene CD4- und CD7- sowie eine starke cyCD3- und CD2+CD34-Expression charakterisiert (näheres hierzu: siehe Kapitel „3.4.1 Sozialdemographische sowie erkrankungsbezogene Patientendaten und ihr Zusammenhang mit immunphänotypischen Markern“). Die t(15;17) ist die zytogenetische Grundlage der beiden FAB-Subgruppen M3 und M3v [116]–[118]. Das könnte der Grund für ein ähnliches Expressionsverhalten bei den beiden AML-Subtypen mit der t(15;17) sein.

AML-Blasten von Patienten, die den monozytären FAB-Subgruppen M4 oder M4eo zugewiesen wurden, exprimierten neben wenigen anderen Antigenen besonders häufig den Zellmarker CD4 beziehungsweise die Koexpression CD4+CD13 auf ihrer Zelloberfläche.

Die erhöhte CD4- beziehungsweise CD4+CD13-Expression bei diesen beiden AML-Subgruppen erklärt sich durch die Besonderheit des Antigens CD4. CD4 ist nicht nur ein T-lymphatischer Marker, sondern physiologischer Weise auch ein monozytoider Marker [82].

Das Expressionsverhalten der AML M5a und M5b war ebenfalls unter anderem durch eine starke CD4-Expression und CD4+CD13-Koexpression gekennzeichnet und ist – wie bei der AML M4 und M4eo – auf die Besonderheit des Zellmarkers CD4 zurückzuführen. Dadurch ist bei der durchflusszytometrischen Analyse dieser AML-Subtypen auch eine vermehrte Expression des Monozytenmarkers CD4 auf den Blasten festzustellen (näheres hierzu: siehe Kapitel „3.4.1 Sozialdemographische sowie erkrankungsbezogene Patientendaten und ihr Zusammenhang mit immunphänotypischen Markern“). 11q23-Aberrationen sowie die inv(16) gehören zu den Anomalien, die vermehrt mit der AML M4 und M4eo sowie M5a und M5b assoziiert sind. Sie dürften zum Teil prägend für das Expressionsmuster dieser AML-Subtypen sein. Patienten mit einer 11q23-Aberration werden vermehrt den FAB-Subgruppen M5a, M5b und M4 zugeteilt [116]–[118]. Auch in unserer Arbeit war das der Fall. Aufgrund des niedrigen prozentualen Anteils innerhalb dieser drei FAB-Subgruppen konnte jedoch kein signifikanter Zusammenhang mit dem Expressionsmuster dieser AMLs demonstriert werden. Patienten mit einer inv(16) definieren die AML M4eo [116]–[118]. Wie zu erwarten wurden in unserer Arbeit alle AML-Patienten mit einer inv(16) diesem Subtyp zugeteilt.

Eine schwache CD4-, cyTdT- und CD4+CD13-Expression bei AML M6-Patienten steht hingegen in keinem Zusammenhang mit dem Expressionsverhalten zytogenetischer Aberrationen. Besonders oft sind Monosomien und Deletionen der Chromosomen 5 und 7 sowie komplexe Karyotypveränderungen bei diesem FAB-Subtyp anzutreffen [116]–[118].

Eine vermehrte cyCD3-Expression bei AML-Patienten des FAB-Subtyps M7 steht ebenfalls nicht im Zusammenhang mit dem Expressionsmuster zytogenetischer Aberrationen. Auch bei der AML M7 sind Monosomien und Deletionen der Chromosomen 5 und 7 sowie komplexe Karyotypveränderungen die Aberrationen mit der größten Verbreitung [116]–[118].

Das Expressionsmuster der einzelnen FAB-Subtypen wird somit teilweise durch das Expressionsverhalten einiger weniger zytogenetischer Aberrationen geprägt, die mit der jeweiligen AML-Subgruppe vermehrt in Verbindung gebracht werden. Vor allem die Anomalien, die häufig bei AMLs vorkommen beziehungsweise einen FAB-Subtyp definieren, haben einen großen Einfluss auf das Expressionsmuster der einzelnen FAB-Subtypen. Kreuztabellen-Analysen ohne die Berücksichtigung der jeweiligen zytogenetischen Aberrationen bestätigen diesen Zusammenhang (vgl. Tabelle 4.8).

Tabelle 4.8: Ausgewählte FAB-Subtypen mit und ohne prägende/definierende zytogenetische Aberrationen und ihr Zusammenhang mit immunphänotypischen Markern

Koexpression Zellantigen FAB-Subtyp	CD2	CD4	CD7	CD19	CD56	CyCD3	CyCD22	CyTdT	CD2 + CD34	CD4 + CD13	CD7 + CD34	CD19 + CD34	CD56 + CD34
FAB M2													
Negativ (n=513)	23,2%	63,9%	27,1%	6,4%	20,9%	16,4%	11,7%	25,1%	1,8%	36,1%	7,4%	1,9%	3,9%
Positiv (n=298)	25,2%	54,7%	36,6%	13,4%	24,8%	16,8%	12,1%	15,1%	2,0%	19,5%	13,1%	9,4%	13,8%
Signifikanz p	0,526	<b>0,009</b>	<b>0,005</b>	<b>0,001</b>	0,190	0,881	0,870	<b>0,001</b>	0,792	<b>0,000</b>	<b>0,008</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
FAB M2 ohne t(8;21)+ AMLs													
Negativ (n=503)	23,3%	64,4%	27,2%	5,4%	20,5%	16,5%	11,9%	25,4%	1,8%	36,6%	7,6%	1,0%	3,2%
Positiv (n=247)	26,7%	59,1%	39,3%	4,5%	17,8%	17,0%	13,4%	13,8%	2,4%	23,1%	15,0%	1,2%	7,3%
Signifikanz p	0,300	0,158	<b>0,001</b>	0,592	0,388	0,862	0,576	<b>0,000</b>	0,556	<b>0,000</b>	<b>0,001</b>	0,782	<b>0,011</b>
FAB M3													
Negativ (n=797)	24,1%	61,2%	31,1%	9,2%	22,7%	16,3%	12,0%	21,8%	1,9%	30,2%	9,7%	4,8%	7,7%
Positiv (n=14)	14,3%	21,4%	0,0%	0,0%	0,0%	28,6%	0,0%	0,0%	0,0%	14,3%	0,0%	0,0%	0,0%
Signifikanz p	0,394	<b>0,003</b>	<b>0,012</b>	0,235	<b>0,043</b>	0,221	0,167	<b>0,049</b>	0,604	0,196	0,222	0,403	0,282
FAB M3 ohne t(15;17)+ AMLs													
Negativ (n=787)	23,8%	62,0%	31,3%	9,3%	22,9%	15,9%	12,2%	22,0%	1,4%	30,6%	9,7%	4,8%	7,6%
Positiv (n=1)	0,0%	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%
Signifikanz p	0,577	0,434	0,500	0,749	0,586	0,664	0,709	0,596	0,905	0,133	0,744	0,822	0,774
FAB M4eo													
Negativ (n=740)	20,3%	59,6%	32,4%	9,6%	24,2%	16,5%	12,7%	20,7%	1,9%	27,3%	10,1%	5,0%	8,2%
Positiv (n=71)	62,0%	70,4%	11,3%	2,8%	2,8%	16,9%	2,8%	29,6%	1,4%	57,7%	2,8%	1,4%	0,0%
Signifikanz p	<b>0,000</b>	0,075	<b>0,000</b>	<b>0,034</b>	<b>0,000</b>	0,928	<b>0,014</b>	0,081	0,773	<b>0,000</b>	<b>0,044</b>	0,171	<b>0,012</b>
FAB M4eo ohne inv(16)+ AMLs													
Negativ (n=737)	20,4%	59,8%	32,3%	9,6%	24,3%	16,6%	12,8%	20,8%	1,9%	27,4%	10,0%	5,0%	8,3%
Positiv (n=1)	0,0%	100,0%	0,0%	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%
Signifikanz p	0,613	0,413	0,490	<b>0,002</b>	0,571	0,656	0,702	0,609	0,889	0,539	0,738	<b>0,000</b>	0,764

n = Fallzahl

**fett** = Signifikanz p < 0,05

Werden AML-Patienten mit den entsprechenden Anomalien in die Kreuztabellen-Analysen nicht einbezogen, so sind die zuvor beobachteten Zusammenhänge zwischen dem jeweiligen FAB-Subtyp und den exprimierten Zellantigenen beziehungsweise den nachgewiesenen Koexpressionen zum Teil nicht mehr zu beobachten oder zumindest nicht mehr so deutlich ausgeprägt.

#### *Balancierte zytogenetische Aberrationen:*

Die im vorliegenden Patientenkollektiv gefundenen signifikanten Zusammenhänge zwischen den balancierten zytogenetischen Aberrationen sowie den exprimierten Zellantigenen und den nachgewiesenen Koexpressionen wurden zum Teil schon in einigen wissenschaftlichen Publikationen erwähnt. Viele der hier festgestellten signifikanten Zusammenhänge werden jedoch in dieser Arbeit erstmalig aufgeführt. Studien, die dies bisher so untersuchten beziehungsweise feststellten, konnten nicht aufgefunden werden.

Über die in dieser Arbeit ermittelte vermehrte intrazytoplasmatische Expression des Zellmarkers cyCD22 bei AML-Patienten mit 11q23-Aberrationen berichteten beispielsweise bereits Thalhammer-Scherrer et al.. Sie konnten für diesen Zellmarker in einem Gesamtkollektiv von lediglich 152 AML-Patienten allerdings kein erhöhtes Expressionsverhalten bei den 11q23+ Patienten feststellen [40]. Über eine erhöhte CD4+CD13-Koexpression bei AML-Patienten mit 11q23-Aberrationen, wie sie in diesem Patientenkollektiv anzutreffen war, wurde hingegen bisher noch nicht berichtet. Da 11q23-Aberrationen allerdings mit den monozytären AML-Subtypen M5a (Acute monocytic leukemia) und M5b (Acute monoblastic leukemia) hoch assoziiert sind, ist eine vermehrte Expression des Monozytenmarkers CD4 auf den AML-Blasten dieser zytogenetisch definierten AML-Subgruppe nachzuvollziehen [119]. Die von Miwa et al. detektierte erhöhte CD4-Expression war bei den hier analysierten 11q23+ AML-Patienten mit  $p=0,132$  allerdings nicht mehr signifikant [42].

Das CD19-Expressionsverhalten bei AML-Patienten mit einer inv(3) wurde durch Raya et al. bereits untersucht. Sie konnten jedoch nur bei 10% der untersuchten inv(3)+ AML-Patienten eine CD19-Expression nachweisen. Im vorliegenden Kollektiv lag dieser Messwert bei 33%. Ein möglicher Grund für das Differieren der Daten könnte die vergleichsweise kleine Patientenzahl mit einer inv(3) im vorliegenden Patientenkollektiv sein ( $n=6$  versus  $n=35$ ) [120]. Der festgestellte Zusammenhang zwischen einer CD2+CD34-Koexpression und dem gleichzeitigen Nachweis einer inv(3) wird hingegen an dieser Stelle erstmalig beschrieben. Andere statistische Untersuchungen liegen hierzu in der Literatur noch nicht vor.

Zusammenhangsanalysen bezüglich der CD7+CD34-Expression auf AML-Blasten mit dem Vorliegen einer t(6;9) wurden bis zum heutigen Zeitpunkt ebenfalls noch nicht durchgeführt. Auch diese bestehende Verbindung konnte hier zum ersten Mal nachgewiesen werden.

Über das ermittelte starke Expressionsverhalten der Zellantigene CD19 und CD56 bei AML-Patienten mit einer t(8;21) wurde bereits mehrfach berichtet [37]–[39]. Die festgestellte erhöhte CD19+CD34- und CD56+CD34-Koexpression in dieser AML-Subgruppe wurde ebenfalls schon einige Male untersucht. Bisher konnte jedoch nur für die CD19+CD34-Koexpression ein Zusammenhang beobachtet werden [38], [97], [121]. Wissenschaftliche Arbeiten, die einen Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer t(8;21) und der gleichzeitigen Expression der Zellmarker CD56+CD34 bisher ermittelten, konnten nicht ausfindig gemacht werden. Auch das detektierte reduzierte Expressionsverhalten der lymphatischen Zellmarker CD4 und CD7 bei dieser AML-Subgruppe wurde schon des Öfteren untersucht. Auch hier konnte bisher nur für die CD7-Expression ein Zusammenhang festgestellt werden [38], [42], [100]. Eine fehlende CD7-Expression wird allerdings kontrovers diskutiert und war bei den hier untersuchten Patienten auch gerade nicht mehr signifikant ( $p=0,091$ ) [122]. Über die ebenfalls in dieser Arbeit gesichtete seltene CD4+CD13 und CD7+CD34-Koexpression bei AML-Patienten mit einer t(8;21) - im Vergleich zu AML-Patienten die diese Aberration nicht aufwiesen - konnten hingegen keine Publikationen gefunden werden, die diesen Sachverhalt bisher so untersuchten. Allerdings wurde bei diesen Patienten bereits eine reduzierte CD4+CD34-Koexpression nachgewiesen [42].

Das CD4-Expressionsverhalten bei AML-Patienten mit einer t(9;11) wurde hingegen bereits von Baer et al. genauer analysiert. Sie konnten ebenfalls bei allen t(9;11)+ AMLs eine CD4-Expression nachweisen [123]. Studien, die die cyCD22-Expression und die CD4+CD13-Koexpression bei dieser Patienten-Subpopulation näher betrachten, liegen allerdings bisher noch nicht vor. Die ausgemachte erhöhte cyCD22- und CD4+CD13-Koexpression bei t(9;11)+ AML-Patienten wird hier erstmalig genannt.

Zusammenhangsanalysen, welche die Expression B-Lymphatischer Zellmarker auf den Blasten von AML-Patienten mit einer t(9;22) näher betrachten, wurden schon in mehreren Arbeiten durchgeführt. Sie konnten eine vermehrte Expression dieser Zellantigene bei AML-Patienten mit dieser Anomalie beobachten und bekräftigen die hier analysierte vermehrte CD19-Expression [124], [125]. Auch die von Reading et al. schon beschriebene erhöhte CD19+CD34-Koexpression bei t(9;22)+ AMLs stimmt mit den Ergebnissen unserer Arbeit überein [100]. Ein Zusammenhang zwischen einer CD56+CD34-Koexpression auf den Blasten und dem gleichzeitigen Nachweis einer t(9;22) im Karyogramm von AML-Patienten wurde bisher noch nicht beobachtet, da Arbeiten zur Abklärung dieses Zusammenhangs bis zum heutigen Zeitpunkt noch nicht durchgeführt wurden.

Durchflusszytometrische Analysen, die das Expressionsverhalten des Zellmarkers cyCD3 in den Blasten von AML-Patienten mit einer t(15;17) untersuchen, wurden dagegen von Thalhammer-Scherrer et al. bereits vor mehreren Jahren durchgeführt. Den hier beobachteten Zusammenhang zwischen dem zeitgleichen Vorliegen einer t(15;17) und einer

cyCD3-Expression konnte jedoch von ihnen nicht nachgewiesen werden [40]. Dafür wurden von ihnen Zusammenhänge mit der Expression der Zellmarker CD2 und CD56 gesichtet [40]. Diese konnten im Gegenzug im vorliegenden Patientenkollektiv nicht eindeutig ermittelt werden (vgl. Tabelle 3.5). Über eine erhöhte CD2-Koexpression mit den myeloischen Zellantigenen CD11b, CD13, CD14, CD15 oder CD33 wurde von Reading et al. Bericht erstattet, die das Expressionsverhalten von 28 t(15;17)+ AML-Patienten in einem Kollektiv von 272 AML-Patienten untersuchten [97]. Die hier analysierte erhöhte CD2+CD34-Koexpression wurde in der Studie von Reading et al. allerdings nicht berücksichtigt. Auch eine häufige Abwesenheit der Zellantigene CD4 und CD7 bei Patienten mit einer t(15;17) konnte schon in mehreren Arbeiten festgestellt werden. Die erkennbaren Expressionsunterschiede waren in diesen Studien allerdings nicht signifikant [42], [56]. Die im vorliegenden Patientenkollektiv gesichtete reduzierte CD4+CD13-Koexpression bei t(15;17)+ AMLs wurde gleichermaßen schon von Miwa et al. in einem großen Patientenkollektiv für die CD4-CD34-Koexpression beobachtet. Sie bekräftigt damit die hier gemachten Erkenntnisse [42].

Die detektierte erhöhte CD2-Expression bei AML-Patienten mit einer inv(16) konnte bereits mehrfach in wissenschaftlichen Arbeiten nachgewiesen werden [40], [41], [124]. Für die ebenfalls in unserer Arbeit gesichtete erhöhte CD4+CD13-Koexpression bei inv(16)+ AML-Patienten - im Vergleich zu AML-Patienten die diese zytogenetische Aberration nicht aufwiesen - konnten hingegen keine Publikationen gefunden werden, die diesen Sachverhalt bisher so untersuchten. Allerdings beobachteten Miwa et al. auf den Blasten dieser AML-Patienten eine ausgeprägte CD4+CD34-Koexpression [42]. Die vermehrte Expression des Monozytenmarkers CD4 auf den Blasten dieser zytogenetisch definierten AML-Subgruppe ist – analog zu den 11q23-Aberrationen -auf eine enge Assoziation zwischen einer inv(16) und einer M4eo (Acute myelomonocytic leukemia with eosinophilia) zurückzuführen [126]. Die von Miwa et al. ebenfalls detektierte erhöhte CD4-Expression war bei den hier untersuchten AML-Patienten mit  $p=0,084$  allerdings gerade nicht mehr signifikant. Erkenntnisse, über die beobachtete seltene Expression der lymphatischen Zellantigene CD7, CD19 und CD56, wurden auch schon in anderen Publikationen gemacht und bekräftigen damit die Ergebnisse dieser Arbeit [127]. Die ermittelte niedrige cyCD22-Expression bei AML-Patienten mit einer inv(16) wird hingegen erstmalig in diesem Patientenkollektiv beschrieben. Zwar wurden Analysen diesbezüglich schon durchgeführt, signifikante Expressionsunterschiede zu AML-Patienten, die diese zytogenetische Aberration nicht aufweisen, konnten allerdings bisher nicht gemacht werden [40]. Auch die reduzierte CD56+CD34-Koexpression bei AML-Patienten mit einer inv(16) wird hier erstmalig genannt, da durchflusszytometrische Untersuchungen zur Abklärung dieses Zusammenhangs bis zum heutigen Zeitpunkt noch nicht in der Literatur zu finden sind.

### *Unbalancierte zytogenetische Aberrationen:*

Wie bei den balancierten zytogenetischen Aberrationen können auch bei den unbalancierten zytogenetischen Aberrationen einige ermittelte signifikante Zusammenhänge mit dem Immunphänotyp der AML-Blasten durch bereits publizierte Arbeiten untermauert werden. Für die meisten der hier beschriebenen signifikanten Zusammenhänge konnten jedoch keine Publikationen ausfindig gemacht werden, die diesen Sachverhalt bisher so untersuchten und ermittelten.

Beispielsweise wurde die im untersuchten Patientenkollektiv ermittelte seltene CD7-Expression auf den Blasten von AML-Patienten mit einer Trisomie 8 in keiner wissenschaftlichen Arbeit gefunden, da dieser Sachverhalt bisher so wahrscheinlich noch nicht untersucht wurde.

Auch eine ausgeprägte cyCD22-, CD7+CD34- und CD56+CD34-Expression sowie eine reduzierte CD4-Expression bei AML-Patienten mit einer Trisomie 11 wurden bis dato noch nicht gesichtet.

Über eine gehäufte cyTdT-Expression, wie sie hier bei AML-Patienten mit einer Trisomie 13 gefunden wurde, gab es bisher noch keine Erkenntnisse.

Besonderheiten im Expressionsverhalten der Zellantigene auf den Blasten von AML-Patienten mit einer Trisomie 21 konnten im vorliegenden Patientenkollektiv hingegen nicht beobachtet werden. Studien diesbezüglich waren nicht ausfindig zu machen.

Zusammenhangsanalysen zwischen einer CD2, CD4, CD7, CD19, CD56, cyCD3, cyCD22 und cyTdT-Expression oder einer CD2+CD34, CD4+CD13, CD7+CD34, CD19+CD34 und CD56+CD34-Koexpression sowie diverser balancierter und unbalancierter zytogenetischer Aberrationen wurden zum Teil von Casasnovas et al. durchgeführt. Sie konnten jedoch die hier beobachteten Zusammenhänge zwischen einer Monosomie beziehungsweise Deletion am langen Arm des Chromosoms 5 sowie einer vermehrten cyCD22-, CD7+CD34-, CD56+CD34-Expression und einer reduzierten cyTdT-Expression nicht nachweisen. Auch die festgestellten Zusammenhänge zwischen einer Monosomie beziehungsweise Deletion am langen Arm des Chromosoms 7 sowie einer verstärkten CD2, CD7 und CD2+CD34-Expression konnten nur teilweise von ihnen beobachtet werden [124].

### *Molekulargenetische Aberrationen:*

Die im vorliegenden Patientenkollektiv ausgemachten signifikanten Zusammenhänge zwischen den molekulargenetischen Aberrationen sowie den exprimierten Zellantigenen und den nachgewiesenen Koexpressionen sind nur teilweise in der Literatur zu finden. Viele der hier beobachteten signifikanten Zusammenhänge wurden bisher noch nicht untersucht und werden an dieser Stelle erstmalig beschrieben. Dies betrifft vor allem die seltene c-KIT-Mutation, FLT3-TKD, JAK2-Mutation, MLL-PTD und N-RAS-Mutation.

Über eine seltene CD4-Expression bei AML-Patienten mit einer CEBP $\alpha$ -Mutation und einem normalen Karyotyp berichteten zum Beispiel bereits Iriyama et al. [31]. Die ebenfalls von ihnen detektierte vermehrte CD7-Expression bei dieser AML-Subgruppe wurde schon mehrfach bestätigt [31], [46], [128], [129]. Auch im vorliegenden Kollektiv konnte sie beobachtet werden, statistisch signifikant war sie jedoch nicht. Eine schwache CD4+CD13-Koexpression bei diesen Patienten wird hingegen hier zum ersten Mal beschrieben, da durchflusszytometrische Untersuchungen diesbezüglich noch nicht durchgeführt wurden.

Korrelationsanalysen, die die CD2-Expression bei AML-Patienten mit einer FLT3-ITD betrachten, wurden in den Studien von Angelini et al. und Muñoz et al. bereits durchgeführt. Da die Patienten in diesen beiden Kollektiven allerdings nicht alle einen normalen Karyotyp aufwiesen, ist ein direkter Vergleich mit den Ergebnissen dieser Arbeiten nicht ohne Weiteres möglich. Dies kann auch der Grund dafür sein, weshalb Angelini et al. und Muñoz et al. den hier beobachteten Zusammenhang zwischen einer wenig ausgeprägten CD2-Expression und dem gleichzeitigen Vorliegen einer FLT3-ITD bei AML-Patienten ohne zytogenetische Veränderungen in ihren Patientenkollektiven nicht nachweisen konnten [130]–[132]. Studien, die die CD4+CD13-, CD7+CD34- und CD56+CD34-Koexpression bei dieser Patientensubpopulation näher betrachten, liegen bisher noch nicht vor. Die ausgemachte erhöhte CD4+CD13- und CD7+CD34-Koexpression sowie die reduzierte CD56+CD34-Koexpression bei AML-Patienten mit einer FLT3-ITD und einem normalen Karyotyp werden hier erstmalig erwähnt.

Über eine häufige Expression des Zellantigens CD4 sowie eine seltene CD2-, CD7- und cyTdT-Expression bei AML-Patienten mit einer NPM1-Mutation und einem normalen Karyotyp wurde hingegen schon mehrfach Bericht erstattet. Allerdings war der Expressionsunterschied für die cyTdT-Expression in der Arbeit von Chauhan et al. nicht signifikant ( $p > 0,05$ ) [43]–[45], [133]. Die ebenfalls in dieser Arbeit analysierte seltene CD7+CD34- und CD56+CD34-Koexpression wurde bisher noch nicht untersucht und wird an dieser Stelle zum ersten Mal aufgezeigt.

Fast alle beobachteten signifikanten Zusammenhänge zwischen dem Immunphänotyp der AML-Blasten sowie einer c-KIT-Mutation, FLT3-TKD, JAK2-Mutation, MLL-PTD oder N-RAS-Mutation werden an dieser Stelle erstmalig beschrieben, da Untersuchungen diesbezüglich bisher noch nicht in einem solchen Umfang durchgeführt wurden [43], [134]–[137]. Sie sind der Tabelle 3.5 zu entnehmen.

Auch fast alle beobachteten signifikanten Zusammenhänge zwischen dem Immunphänotyp der AML-Blasten sowie einer NPM1-Mutation und/oder einer FLT3-ITD bei Patienten mit einem normalen Karyotyp, die der Tabelle 3.5 entnommen werden können, werden hier erstmals erwähnt, da Zusammenhangsanalysen zur Abklärung dieser Sachverhalte bisher noch nicht in einem solchen Umfang durchgeführt wurden [43], [44], [133], [138].

### *ELN-Risiko-Score:*

Alle festgestellten signifikanten Zusammenhänge zwischen dem ELN-Risiko-Score und den exprimierten Zellantigenen beziehungsweise den nachgewiesenen Koexpressionen werden an dieser Stelle erstmals beschrieben und sind mit Hilfe der Expressionsmuster einiger zytogenetischer und molekulargenetischer Aberrationen nachzuvollziehen, die das jeweilige ELN-Risiko-Score definieren. Korrelationsanalysen zwischen dem vorliegenden Karyotyp (vgl. „Poor“, „Intermediate“ und „Good“) und den exprimierten Zellantigenen wurden hingegen bereits durchgeführt [98].

Das ausgeprägte Expressionsverhalten der Zellmarker CD19, CD19+CD34 und CD56+CD34 sowie die seltene Expression der Zellantigene CD7, cyCD22 und CD7+CD34 bei AML-Patienten mit einem günstigen ELN-Risiko-Score können zum Beispiel durch die Expressionsmuster der t(8;21), der inv(16), der NPM1-Mutation und der CEBP $\alpha$ -Mutation nachvollzogen werden, welche dieses ELN-Risiko-Score definieren [79].

Ein vermehrtes Auftreten des Zellmarkers CD7 sowie eine reduzierte Expression der Zellantigene CD56, CD19+CD34 und CD56+CD34 auf den Blasten von AML-Patienten der ELN-Risiko-Gruppe „Intermediate I“ ist durch das Expressionsverhalten der FLT3-ITD und der NPM1-Mutation zu erklären. Diese definieren in unterschiedlichen Kombinationsvarianten diese intermediäre ELN-Risiko-Score-Gruppe [79].

Hingegen ist eine erhöhte CD2+CD34-Koexpression sowie ein seltenes Vorfinden der Zellantigene CD4, CD7, CD19 und CD19+CD34 auf den Blasten von AML-Patienten der ELN-Risiko-Score-Gruppe „Intermediate II“ nur schwer nachzuvollziehen, da diese ELN-Risiko-Score-Gruppe durch mehrere seltene zytogenetische Aberrationen definiert ist, deren Expressionsverhalten noch nicht gut untersucht wurde. Zu diesen Anomalien gehören unter anderem die t(9;11), t(9;22) und diverse Trisomien [79].

Die gehäufte CD7-, cyCD22-, CD7+CD34- und CD56+CD34-Expression bei AML-Patienten mit einem ungünstigen ELN-Risiko-Score kann dagegen durch das Expressionsmuster der inv(3), der t(6;9), der 11q23-Aberrationen sowie der Monosomien 5/7 und Deletionen 5q/7q begründet werden. Sie definieren unter anderem diese ELN-Risiko-Score-Gruppe [79].

CD19- sowie CD19+CD34-Expressionen werden somit überwiegend bei Patienten mit einem günstigen ELN-Risiko-Score beobachtet, während cyCD22-Expressionen hauptsächlich bei Patienten mit einem ungünstigen ELN-Risiko-Score vorzufinden sind. Eine CD7- sowie CD7+CD34-Expression kann hingegen den Immunphänotyp von AML-Patienten der ELN-Risiko-Score-Gruppe „Intermediate I“ als auch „Adverse“ charakterisieren, wohingegen eine CD56+CD34-Koexpression die Blasten von AML-Patienten der Risiko-Score-Gruppen „Favorable“ und „Adverse“ prägen kann. Dieses Expressionsverhalten erklärt unter Umständen auch die kontroverse Diskussion bezüglich dem Zusammenhang zwischen einer CD56-Expression und dem Überleben von AML-Patienten [55].

#### 4.4.2 Immunphänotypische Marker und ihr Zusammenhang mit dem rezidivfreien Überleben und dem Gesamtüberleben der Patienten

Viele der hier untersuchten Zusammenhänge zwischen dem Immunphänotyp der AML-Blasten und dem rezidivfreien Überleben sowie dem Gesamtüberleben der Patienten wurden schon in anderen Arbeiten näher betrachtet. Für die meisten Erkenntnisse dieser Studie konnte auch eine Übereinstimmung mit bereits publizierten Daten festgestellt werden. Nur bei wenigen in unserer beziehungsweise in anderen wissenschaftlichen Arbeiten ermittelten signifikanten Zusammenhängen war das nicht der Fall. Beobachtete Divergenzen bei den ermittelten signifikanten Zusammenhängen sind im Allgemeinen auf Unterschiede in den Patientenpopulationen (vgl. Aberrationen, Altersverteilung, ...), den Diagnosemethoden (vgl. monoklonale Antikörper, Gating, Cut-Off-Level, ...) und den Behandlungsregimen (vgl. unterschiedliche Studien) zurückzuführen.

Die prognostische Bedeutung der CD2-Expression auf den Blasten von de-novo-AML-Patienten wurde beispielweise von Ball et al. untersucht. Die Autoren konnten bei dieser AML-Subgruppe ebenfalls ein höheres rezidivfreies Überleben und Gesamtüberleben beobachten [50]. Hingegen waren diese Patienten in den Arbeiten von Repp et al. und Jiang et al. mit keiner besonderen Prognose assoziiert [51], [52]. Auch in einem kleineren Kollektiv mit de-novo-AMLs bei Kindern konnte ein solcher Zusammenhang nicht festgestellt werden [53]. Das längere rezidivfreie Überleben und Gesamtüberleben bei AML-Patienten mit einer erhöhten CD2-Expression ist durch eine hohe Assoziation dieses Zellmarkers mit der prognostisch günstigen *inv(16)* zu erklären. Da AML-Patienten mit dieser zytogenetischen Aberration eine vermehrte CD2-Expression aufweisen, ist bei Patienten mit einer solchen Antigenexpression auch mit einem längeren rezidivfreien Überleben und Gesamtüberleben zu rechnen. Univariate und multivariate Überlebenszeitanalysen ohne die Berücksichtigung von Patienten mit einer *inv(16)* bestätigen diese Annahme. Im Gesamtkollektiv hatten AML-Patienten mit einer CD2-Expression sowohl in der univariaten als auch in der multivariaten Analyse ein signifikant längeres rezidivfreies Überleben und Gesamtüberleben (vgl. Tabelle 4.9 und 4.10,  $p > 0,1$  sind nicht aufgeführt). Ohne die Berücksichtigung der *inv(16)*+ AMLs konnte dieser Zusammenhang nur noch bei der univariaten Analyse für das Gesamtüberleben ermittelt werden (vgl. Tabelle 4.11 und 4.12,  $p > 0,1$  sind nicht aufgeführt). Studien, die den Zusammenhang einer CD4-Expression mit dem rezidivfreien Überleben und dem Gesamtüberleben von AML-Patienten betrachten, wurden schon von Repp et al. und Smith et al. durchgeführt. Sie konnten wie wir hierfür keine Zusammenhänge im Gesamtkollektiv nachweisen [51], [53]. Hingegen wurden Patienten mit einer ausgeprägten CD4-Expression auf ihren Blasten in der Arbeit von Miwa et al. mit einem kürzeren Gesamtüberleben in Verbindung gebracht [42]. In unserer Arbeit mit deutlich höherer

Fallzahl konnte dieser Zusammenhang nur in der univariaten rezidivfreien Überlebenszeitanalyse unter Ausschluss der inv(16)+ AMLs beobachtet werden (vgl. Tabelle 4.11). AML-Patienten mit einer solchen Anomalie exprimieren den Zellmarker CD4 vermehrt auf der Oberfläche ihrer Blasten [42].

Mehrfach wurde auch schon über eine Korrelation zwischen einer CD7-Expression auf den AML-Blasten und einer schlechten Prognose bezüglich dem rezidivfreien Überleben und dem Gesamtüberleben berichtet [56]–[59]. Diverse andere Studien konnte diese Korrelation hingegen nicht beobachten [60]–[63]. In unserem Patientenkollektiv war der Zusammenhang zwischen einer CD7-Expression auf den AML-Blasten und einem kürzeren rezidivfreien Überleben beziehungsweise Gesamtüberleben gerade nicht mehr beziehungsweise nicht signifikant ( $p=0,088$  und  $p=0,935$ ) (vgl. Tabelle 3.7 und 3.8). Da unser Kollektiv jedoch vergleichsweise sehr groß war ( $n_{\max}=846$  versus  $n_{\max}=331$ ), ist bei diesem auch von einer höheren Aussagekraft auszugehen.

Statistische Analysen, die die Bedeutung einer CD19-Expression auf das rezidivfreie Überleben und das Gesamtüberleben von AML-Patienten untersuchen, wurden bereits von Ball et al., Jiang et al., Repp et al. und Jeong et al. publiziert. Sie konnten wie wir dafür keine Zusammenhänge im Gesamtkollektiv beobachten [50]–[52], [139]. Dagegen waren Patienten, die den Zellmarker CD19 vermehrt auf ihren Blasten exprimierten, in den Arbeiten von El Shorbagy et al. und Solary et al. mit einem kürzeren Gesamtüberleben assoziiert [65], [140]. Die vorliegende Arbeit konnte nun diesen Widerspruch auflösen: Rechnet man die AML-Patienten mit der prognostisch günstigen t(8;21) heraus, so zeigt sich eine signifikante Assoziation einer CD19-Expression mit einem ungünstigen Gesamtüberleben in der multivariaten Analyse (vgl. Tabelle 4.14). Die t(8;21) ist mit einer starken CD19-Expression assoziiert [37].

Die prognostische Bedeutung der CD56-Expression auf den Blasten von de-novo-AML-Patienten wurde bereits von mehreren Arbeitsgruppen untersucht. Sie konnten bei dieser AML-Subgruppe auch keine Zusammenhänge mit dem rezidivfreien Überleben und dem Gesamtüberleben beobachten [51], [55], [66]. Im Vergleich dazu waren diese Patienten in den Arbeiten von Alegretti et al. und El Shorbagy et al. mit einem kürzeren Gesamtüberleben assoziiert [64], [65]. Dieser Zusammenhang wird allerdings kontrovers diskutiert [55]. Ein kürzeres Gesamtüberleben bei AML-Patienten mit einer erhöhten CD56-Expression wurde auch in unserem Patientenkollektiv sowohl in der univariaten als auch der multivariaten Analyse beobachtet, wenn die mit einer CD56-Expression assoziierten t(8;21)+ AMLs bei den Überlebenszeitanalyse nicht berücksichtigt wurden (vgl. Tabelle 4.14). Wurden die prognostisch günstigen t(8;21)+ AMLs in die Überlebenszeitanalysen hingegen mit einbezogen (vgl. Gesamtkollektiv), so fand sich sogar ein signifikant günstigeres rezidivfreies Überleben bei einer CD56+CD34-Koexpression (vgl. Tabelle 4.9).

Für die Zellmarker cyCD3, cyCD22 und cyTdT ist die Studienlage recht dünn. Nur wenige Arbeiten untersuchten bisher den Zusammenhang dieser Marker mit dem rezidivfreien Überleben und dem Gesamtüberleben bei AML-Patienten. Aus diesem Grund sind auch Vergleiche mit anderen bereits publizierten Arbeiten nur eingeschränkt möglich. Auffindbare Publikationen zu diesem Thema konnten – wie wir - keine Zusammenhänge ermitteln [60], [110], [141]. Nur für die cyTdT-Expression konnte zum Teil eine negative Korrelation mit der Prognose dieser Patienten nachgewiesen werden [142]–[144]. Im Vergleich zu den auffindbaren Publikationen wies unser Kollektiv eine größere Patientenfallzahl auf.

Untersuchungen, die die prognostische Bedeutung von Markerkombinationen auf AML-Blasten betrachten, wurden bisher nur von Slobinas et al. für die CD7+CD34-Koexpression an AML-Patienten ohne die Berücksichtigung von APLs durchgeführt [145]. Der negative Einfluss dieser Koexpression auf das rezidivfreie Überleben der Patienten, konnte im vorliegenden Gesamtkollektiv allerdings nicht beobachtet werden. Auch ohne die Berücksichtigung von APLs war dieser Zusammenhang gerade nicht mehr signifikant ( $p = 0,063$ ). Es zeigt sich aber – wie bei der CD7-Expression – ein Trend zu einem ungünstigen rezidivfreien Überleben.

Den hier ausgemachten positiven Einfluss einer CD56+CD34- und CD19+CD34-Koexpression auf das rezidivfreie Überleben beziehungsweise Gesamtüberleben der AML-Patienten wird hingegen in dieser Arbeit erstmalig erwähnt. Das längere rezidivfreie Überleben bei AML-Patienten mit einer starken CD56+CD34-Koexpression, aber auch das längere Gesamtüberleben bei AML-Patienten mit einer vermehrten CD19+CD34-Koexpression sind durch eine signifikant häufigere Detektion dieser Zellmarker bei AML-Patienten mit der prognostisch günstigen  $t(8;21)$  zu erklären (näheres hierzu: siehe Kapitel „3.4.1 Sozialdemographische sowie erkrankungsbezogene Patientendaten und ihr Zusammenhang mit immunphänotypischen Markern“). Da diese AML-Subgruppe signifikant häufiger eine CD56+CD34- und CD19+CD56-Koexpression aufweist, ist bei AML-Patienten mit diesen beiden Koexpressionen auch mit einer besseren Prognose zu rechnen. Univariate und multivariate Überlebenszeitanalysen ohne die Berücksichtigung von Patienten mit dieser prognostisch günstigen zytogenetischen Aberration bestätigen diese Annahme. Werden AML-Patienten mit einer  $t(8;21)$  bei den Überlebenszeitanalysen ausgeschlossen, so ist der zuvor beobachtete signifikante Zusammenhang zwischen einer CD56+CD34-Koexpression und einem längeren rezidivfreien Überleben sowie einer CD19+CD34-Koexpression und einem längeren Gesamtüberleben nicht mehr festzustellen (vgl. Tabelle 4.9 und 4.10 sowie 4.13 und 4.14,  $p > 0,1$  sind nicht aufgeführt).

Tabelle 4.9: Zusammenhang ausgewählter Zellantigene/Koexpressionen mit dem rezidivfreien Überleben im Gesamtkollektiv (n=357)

Zellantigen/ Koexpression	Univariate Analyse	Multivariate Analyse		
	p < 0,1	p	HR	95% KI
CD2	<b>0,010</b> (günstig)	<b>0,004</b>	0,604	0,429 – 0,851
CD7	0,088	<b>0,005</b>	1,536	1,141 – 2,067
CD2+CD34	0,062	0,229	0,295	0,041 – 2,151
CD56+CD34	<b>0,032</b> (günstig)	<b>0,033</b>	0,461	0,227 – 0,939

fett = Signifikanz p < 0,05

Tabelle 4.10: Zusammenhang ausgewählter Zellantigene/Koexpressionen mit dem Gesamtüberleben im Gesamtkollektiv (n=846)

Zellantigen/ Koexpression	Univariate Analyse	Multivariate Analyse		
	p < 0,1	p	HR	95% KI
CD2	<b>0,000</b> (günstig)	<b>0,001</b>	0,705	0,569 – 0,875
cyCD3	0,095	0,796	0,968	0,759 – 1,235
CD19+CD34	<b>0,010</b> (günstig)	<b>0,042</b>	0,598	0,365 – 0,981
CD56+CD34	0,054	0,301	0,826	0,576 – 1,186

fett = Signifikanz p < 0,05

Tabelle 4.11: Zusammenhang ausgewählter Zellantigene/Koexpressionen mit dem rezidivfreien Überleben im Gesamtkollektiv ohne inv(16)+ AMLs (n=312)

Zellantigen/ Koexpression	Univariate Analyse	Multivariate Analyse		
	p < 0,1	p	HR	95% KI
CD4	<b>0,024</b> (ungünstig)	0,100	1,288	0,952-1,741
CD19	0,069	0,317	0,745	0,418-1,326
CD2+CD34	0,090	0,203	0,277	0,039-1,994
CD56+CD34	<b>0,012</b> (günstig)	0,079	0,522	0,253-1,077

fett = Signifikanz p < 0,05

Tabelle 4.12: Zusammenhang ausgewählter Zellantigene/Koexpressionen mit dem Gesamtüberleben im Gesamtkollektiv ohne inv(16)+ AMLs (n=775)

Zellantigen/ Koexpression	Univariate Analyse	Multivariate Analyse		
	p < 0,1	p	HR	95% KI
CD2	<b>0,025</b> (günstig)	0,189	0,854	0,674-1,081
CD19	<b>0,049</b> (günstig)	0,656	1,090	0,747-1,589
cyCD3	<b>0,034</b> (günstig)	0,237	0,854	0,658-1,109
CD4+CD13	<b>0,040</b> (ungünstig)	0,117	1,163	0,963-1,405
CD19+CD34	<b>0,004</b> (günstig)	<b>0,045</b>	0,536	0,292-0,986
CD56+CD34	<b>0,017</b> (günstig)	0,230	0,801	0,558-1,150

fett = Signifikanz p < 0,05

Tabelle 4.13: Zusammenhang ausgewählter Zellantigene/Koexpressionen mit dem rezidivfreien Überleben im Gesamtkollektiv ohne t(8;21)+ AMLs (n=333)

Zellantigen/ Koexpression	Univariate Analyse	Multivariate Analyse		
	p < 0,1	p	HR	95% KI
CD2	<b>0,011</b> (günstig)	<b>0,004</b>	0,600	0,424-0,851
CD7	0,072	<b>0,003</b>	1,576	1,163-2,136
CD2+CD34	0,054	0,231	0,296	0,040-2,170
CD56+CD34	0,074	0,070	0,396	0,145-1,080

**fett** = Signifikanz p < 0,05

Tabelle 4.14: Zusammenhang ausgewählter Zellantigene/Koexpressionen mit dem Gesamtüberleben im Gesamtkollektiv ohne t(8;21)+ AMLs (n=785)

Zellantigen/ Koexpression	Univariate Analyse	Multivariate Analyse		
	p < 0,1	p	HR	95% KI
CD2	<b>0,001</b> (günstig)	<b>0,004</b>	0,723	0,581-0,901
CD19	0,097	<b>0,041</b>	1,431	1,014-2,020
CD56	<b>0,021</b> (ungünstig)	<b>0,017</b>	1,283	1,046-1,573
cyCD3	0,083	0,535	0,924	0,721-1,185

**fett** = Signifikanz p < 0,05

Zusammenfassend ist davon auszugehen, dass die exprimierten Zellantigene und Koexpressionen auf der Oberfläche der AML-Blasten nur indirekt für die Prognose der Patienten kodieren. Vielmehr besteht die Annahme, dass die vorliegenden zytogenetischen und molekulargenetischen Aberrationen ausschlaggebend für das Überleben der Patienten sind. Diese sind jedoch zum Teil hoch assoziiert mit der Expression bestimmter lymphatischer Zellmarker oder der Koexpressionen lymphatischer Zellantigene in Kombination mit hämatopoetischen Vorläuferzellmarkern auf den myeloischen Blasten der AML-Patienten.

## 5. Zusammenfassung

Ein großer Teil aller de-novo-AML-Patienten weist auf der Oberfläche beziehungsweise im Zytosol seiner Blasten qualitative und/oder quantitative Veränderungen im Expressionsmuster der Zellantigene auf [34].

Diese pathobiologischen Veränderungen entstehen durch eine unphysiologisch niedrige/hohe Expression eines oder mehrerer Zellmarker sowie eine aberrante Antigenexpression oder eine asynchrone Antigenexpression [35].

Trotz eingehender Untersuchungen ist die Bedeutung dieser pathobiologischen Antigenexpressionen jedoch noch nicht vollständig geklärt obwohl sie schon seit längerer Zeit bekannt sind [95], [96].

Ziel dieser Arbeit war es deshalb zu überprüfen, ob bei AML-Patienten:

1. Zusammenhänge zwischen soziodemographischen (z.B. Geschlecht und Alter bei Diagnosestellung) oder erkrankungsbezogenen Patientendaten (z.B. FAB-Subtyp, balancierte/unbalancierte zytogenetische Aberrationen, molekulargenetische Aberrationen und ELN-Risiko-Score) und der Expression einzelner lymphatischer Zellantigene auf myeloischen Blasten bestehen. Koexpressionen lymphatischer Zellantigene mit Vorläuferzellmarkern auf myeloischen Blasten sollten in den Zusammenhangsanalysen ebenfalls berücksichtigt werden.
2. Zusammenhänge zwischen der Expression einzelner lymphatischer Zellantigene auf myeloischen Blasten und dem rezidivfreien Überleben oder dem Gesamtüberleben der Patienten bestehen. Auch hier galt es Koexpressionen lymphatischer Zellantigene mit Vorläuferzellmarkern auf myeloischen Blasten in die statistische Auswertung einzubeziehen.

Folgende Zusammenhänge zwischen klinischen Merkmalen und der Expression lymphatischer Zellmarker auf AML-Blasten konnten in dieser Arbeit beobachtet werden:

- Bei Männern wurde im Vergleich zu Frauen eine signifikant höhere CD56-Expression und CD19+CD34-Koexpression sowie eine signifikant niedrigere CD4-Expression detektiert.

Die erhöhte CD56-Expression und CD19+CD34-Koexpression sowie die reduzierte CD4-Expression bei männlichen AML-Patienten sind assoziiert mit der bei Männern mit einer AML – im Vergleich zu weiblichen AML-Patienten – tendenziell häufiger auftretenden t(8;21) [38], [111], [112]. Da diese zytogenetische Aberration wiederum hoch assoziiert ist mit der Expression der Zellantigene CD56 und CD19+CD34 sowie

der Abwesenheit des Zellantigens CD4, sind bei männlichen AML-Patienten auch die Zellantigene CD56 und CD19+CD34 häufiger sowie der Zellmarker CD4 nur selten auf den AML-Blasten ausgebildet (vgl. hierzu: Seite 40ff „Balancierte zytogenetische Aberrationen“).

- Jüngere Patienten (< 60 Jahre) waren im Vergleich zu älteren Patienten (≥ 60 Jahre) mit einer signifikant stärkeren CD19-Expression sowie CD19+CD34- und CD56+CD34-Koexpression assoziiert.

Die vermehrte CD19-Expression sowie CD19+CD34- und CD56+CD34-Koexpression bei jüngeren AML-Patienten kann ebenfalls weitgehend mit der erhöhten Detektion dieser Zellantigene bei AML-Patienten mit einer t(8;21) begründet werden (vgl. Seite 40ff „Balancierte zytogenetische Aberrationen“). Da AML-Patienten jüngeren Alters (< 60 Jahre) - im Vergleich zu älteren AML-Patienten (≥ 60 Jahre) – signifikant häufiger diese prognostisch günstige zytogenetische Aberration aufweisen, sind in diesem Patientenkollektiv auch das Zellantigen CD19 und die Koexpressionen CD19+CD34 und CD56+CD34 öfter auf den AML-Blasten vorzufinden [38], [113], [114].

- Auch beim FAB-Subtyp konnten mehrere signifikante Zusammenhänge mit den exprimierten lymphatischen Zellantigenen und den ermittelten Koexpressionen nachgewiesen werden.

Sie sind zum Teil mit Hilfe der Expressionsmuster einiger zytogenetischer Aberrationen zu verstehen, die den entsprechenden FAB-Subtyp definieren oder zumindest vermehrt mit diesem in Verbindung gebracht werden. Sie sind in der Tabelle 3.5 aufgeführt. Teilweise wurden diese Beobachtungen auch schon in Publikationen beschrieben [40], [42], [99], [100], [115].

Den monozytären FAB-Subgruppen M4 (Acute myelomonocytic leukemia), M4eo (Acute myelomonocytic leukemia with eosinophilia), M5a (Acute monocytic leukemia) und M5b (Acute monoblastic leukemia) war gemeinsam, dass sie den Monozytenmarker CD4 beziehungsweise die Koexpression CD4+CD13 besonders häufig auf ihren myeloischen Blasten exprimierten.

- Für die meisten balancierten und unbalancierten zytogenetischen Aberrationen sowie für alle molekulargenetischen Aberrationen konnten mehrere signifikante Zusammenhänge mit den exprimierten lymphatischen Zellmarkern beziehungsweise den ermittelten Koexpressionen nachgewiesen werden. Diese können gesammelt den beiden Tabellen 3.5 und 3.6 entnommen werden. Auch diese Beobachtungen konnten teilweise schon in anderen Arbeiten nachgewiesen werden [95].
- Ähnlich viele signifikante Zusammenhänge zeigten sich zwischen dem ELN-Risiko-Score und den exprimierten lymphatischen Zellantigenen und den ermittelten Koexpressionen.

Sie sind mit Hilfe der Expressionsmuster einiger zytogenetischer und molekulargenetischer Aberrationen nachzuvollziehen, die das jeweilige ELN-Risiko-Score definieren und werden an dieser Stelle erstmals beschrieben. Sie sind in der Tabelle 3.5 aufgeführt. Korrelationsanalysen zwischen dem vorliegenden Karyotyp (vgl. „Poor“, „Intermediate“ und „Good“) und den exprimierten Zellantigenen wurden hingegen bereits durchgeführt [98].

CD19-Expressionen sowie CD19+CD34-Koexpressionen wurden überwiegend bei Patienten mit einem günstigen ELN-Risiko-Score beobachtet, während cyCD22-Expressionen hauptsächlich bei Patienten mit einem ungünstigen ELN-Risiko-Score vorzufinden waren. Eine CD7-Expression sowie CD7+CD34-Koexpression charakterisierten hingegen den Immunphänotyp von AML-Patienten der ELN-Risiko-Score-Gruppe „Intermediate I“ als auch „Adverse“, wohingegen eine CD56+CD34-Koexpression die Blasten von AML-Patienten der Risiko-Score-Gruppen „Favorable“ und „Adverse“ prägten.

- Die Expression der meisten lymphatischen Zellantigene und Koexpressionen zeigte keinen signifikanten Zusammenhang mit dem rezidivfreien Überleben oder dem Gesamtüberleben der Patienten. Lediglich für den lymphatischen Zellmarker CD2 und die Koexpressionen CD19+CD34 sowie CD56+CD34 konnten Zusammenhänge mit der Prognose der Patienten beobachtet werden.

Das längere rezidivfreie Überleben bei AML-Patienten mit einer erhöhten CD2-Expression oder CD56+CD34-Koexpression sowie das längere Gesamtüberleben bei AML-Patienten mit einer starken CD2-Expression oder CD19+CD34-Koexpression sind durch eine signifikant häufigere Detektion dieser Zellmarker bei AML-Patienten mit den prognostisch günstigen zytogenetischen Aberrationen inv(16) und t(8;21) zu erklären.

Die Ergebnisse der univariaten Analyse sind den Tabellen 3.7 und 3.8 zu entnehmen. Signifikante Zusammenhänge zwischen immunphänotypischen Markern sowie dem rezidivfreien Überleben und dem Gesamtüberleben der Patienten sind in Form von Kaplan-Meier-Kurven in den Abbildungen 3.7-3.10 dargestellt.

Alle signifikanten Zusammenhänge zwischen den lymphatischen Zellantigenen beziehungsweise den ermittelten Koexpressionen und dem rezidivfreien Überleben beziehungsweise dem Gesamtüberleben der AML-Patienten aus der univariaten Analyse konnten auch in der multivariaten Analyse beobachtet werden. Diese Ergebnisse sind den Tabellen 3.9 und 3.10 zu entnehmen.

## 6. Verzeichnisse

### 6.1 Abkürzungsverzeichnis

Aberr.	Aberration
ALL	Akute lymphatische Leukämie
AML	Akute myeloische Leukämie
AML-CG	Acute Myeloid Leukemia Cooperative Group
APL	Akute promyelozytäre Leukämie
ATO	Arsentrioxid
ATRA	All-trans retinoic acid
ca.	circa
CCD	Charge-coupled device
CD	Cluster of differentiation
CEBP $\alpha$	CCAAT/enhancer-binding-proteine $\alpha$
c-Kit	Tyrosinkinase KIT (auch c-Kit-D816 und CD117)
CML	Chronische myeloische Leukämie
CR	Complete remission
cy	„im Zytosol lokalisiert“ (z.B. cyCD)
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ELN	European Leukemia Net
EST	Esterase
FAB	French American British
FACS	Fluorescence-activated cell sorting
FISH	Fluoreszenz in situ hybridization
FITC	Fluorescein isothiocyanate
FLT3	FMS-like tyrosine kinase 3
FLT3-ITD	Interne Tandemduplikationen des FMS-like tyrosine kinase 3-Gens (auch FLT-LM)
FLT3-TKD	Mutation in der Tyrosinkinasedomäne des FMS-like tyrosine kinase 3-Gens (auch FLT-PM und FLT3-D835)
G-Bänderungstechnik	Giemsa-Bänderungstechnik
HLA-DR	Human leukocyte antigen of the MHC class II
HLDA	Human leukocyte differentiation antigens
HR	Hazard ratio
IgG	Immunglobulin G

ISCN	International System for Human Cytogenetic Nomenclature
JAK2	Januskinase 2
KI	Konfidenzintervall
LAIP	Leukemia-associated immunophenotype
LF	Lactoferrin
LfL	Labor für Leukämiediagnostik
LFU	Last follow-up
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
MLL	Mixed lineage leukemia
MLL-PTD	Partielle Tandemduplikationen im mixed lineage leukemia Gen
MPO	Myeloperoxidase
MRD	Minimal residual disease
mut	mutiert
n	Fallzahl
NMP1	Nukleophosmin 1
N-RAS	Neuroblastoma rat sarcoma viral oncogene homolog
p	Signifikanz
PBS	Phosphate-buffered saline
PC5	Cy5-PE-Tandem-Konjugat
PCR	Polymerase chain reaction
PE	Phycoerythrin
POX	Peroxidase
q-PCR	Real-time quantitative polymerase chain reaction
Rel.	Relativ(e)
RT-PCR	Reverse transcription polymerase chain reaction
s-AML	Sekundäre akute myeloische Leukämie
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
SZT	Stammzelltransplantation
t-AML	Therapieassoziierte akute myeloische Leukämie
TdT	Terminale Desoxyribonukleotidyltransferase
vgl.	vergleiche
WHO	World Health Organization
wt	wildtyp
z.B.	zum Beispiel

## 6.2 Literaturverzeichnis

- [1] E.-J. Speckmann: "*Physiologie, 5. aktualisierte Auflage*", Urban & Fischer Verlag - München, 2008.
- [2] D. U. Silverthorn: "*Physiologie, 4. aktualisierte Auflage*", Pearson Studium Verlag - München, 2009.
- [3] E. Passegué et al.: "*Normal and leukemic hematopoiesis: are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics?*", Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol. 100, no. 1, pp. 11842–11849, 2003.
- [4] E. Neumann: "*Über die Bedeutung des Knochenmarks für die Blutbildung. Vorläufige Mitteilung*", Zentralblatt für die medizinischen Wissenschaften, vol. 44, p. 122, 1868.
- [5] A. Maximow: "*Der Lymphozyt als gemeinsame Stammzelle der verschiedenen Blutelemente in der embryonalen Entwicklung und im postfetalen Leben der Säugetiere.*", Folia Haematologica, vol. 8, pp. 125–134, 1909.
- [6] J. E. Till et al.: "*A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells*", Radiation Research, vol. 14, no. 2, pp. 213–222, 1961.
- [7] O. Christ et al.: "*[Pathogenese und Biologie der akuten myeloischen Leukämie]*", Medizinische Klinik, vol. 102, no. 4, pp. 290–295, 2007.
- [8] C. M. Southam et al.: "*A study of the natural history of acute leukemia with special reference to the duration of the disease and the occurrence of remissions*", Cancer, vol. 4, no. 1, pp. 39–59, 1951.
- [9] H. Chang et al.: "*Causes of death in adults with acute leukemia*", Medicine (Baltimore), vol. 55, no. 3, pp. 259–268, 1976.
- [10] P. A. Cassileth et al.: "*Chemotherapy compared with autologous or allogeneic bone marrow transplantation in the management of acute myeloid leukemia in first remission*", The New England Journal of Medicine, vol. 339, no. 23, pp. 1649–1656, 1998.
- [11] N. Howlader: "*SEER cancer statistics review, 1975-2012*", National Cancer Institute - Bethesda MD, 2015.
- [12] R. Siegel et al.: "*Cancer treatment and survivorship statistics, 2012*", CA: a cancer journal for clinicians, vol. 62, no. 4, pp. 220–241, 2012.
- [13] B. Deschler et al.: "*Acute myeloid leukemia: epidemiology and etiology*", Cancer, vol. 107, no. 9, pp. 2099–2107, 2006.
- [14] S. N. Yin et al.: "*Leukaemia in benzene workers: a retrospective cohort study*", British Journal of Industrial Medicine, vol. 44, no. 2, pp. 124–128, 1987.

- [15] T. Ishimaru et al.: “Occupational factors in the epidemiology of leukemia in Hiroshima and Nagasaki”, *American Journal of Epidemiology*, vol. 93, no. 3, pp. 157–165, 1971.
- [16] E. V Kane et al.: “Tobacco and the risk of acute leukaemia in adults”, *British Journal of Cancer*, vol. 81, no. 7, pp. 1228–1233, 1999.
- [17] C. Sandoval et al.: “Secondary acute myeloid leukemia in children previously treated with alkylating agents, intercalating topoisomerase II inhibitors, and irradiation”, *Journal of Clinical Oncology*, vol. 11, no. 6, pp. 1039–1045, 1993.
- [18] M. M. Hawkins et al.: “Epidodophyllotoxins, alkylating agents, and radiation and risk of secondary leukaemia after childhood cancer”, *BMJ (Clinical research ed.)*, vol. 304, pp. 951–958, 1992.
- [19] B. Zeller et al.: “Acute leukaemia in children with Down syndrome: a population-based Nordic study”, *British Journal of Haematology*, vol. 128, no. 6, pp. 797–804, 2005.
- [20] A. Ohara et al.: “Myelodysplastic syndrome and acute myelogenous leukemia as a late clonal complication in children with acquired aplastic anemia”, *Blood*, vol. 90, no. 3, pp. 1009–1013, 1997.
- [21] D. Bonnet et al.: “Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell”, *Nature Medicine*, vol. 3, no. 7, pp. 730–737, 1997.
- [22] A. J. Deshpande et al.: “Lymphoid progenitors as candidate cancer stem cells in AML: new perspectives”, *Cell Cycle*, vol. 6, no. 5, pp. 543–545, 2007.
- [23] H. Becker et al.: “Two cell lines of *t(8;21)* acute myeloid leukemia with activating *KIT* exon 17 mutation: models for the ‘second hit’ hypothesis”, *Leukemia*, vol. 22, no. 9, pp. 1792–1794, 2008.
- [24] P. J. M. Valk et al.: “Second hit mutations in the *RTK-RAS* signaling pathway in acute myeloid leukemia with *inv(16)*”, *Haematologica*, vol. 89, no. 1, p. 106, 2004.
- [25] F. Schneider et al.: “*AML1-ETO* meets *JAK2*: clinical evidence for the two hit model of leukemogenesis from a myeloproliferative syndrome progressing to acute myeloid leukemia”, *Leukemia*, vol. 21, no. 10, pp. 2199–2201, 2007.
- [26] D. Grimwade et al.: “Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trials”, *Blood*, vol. 116, pp. 354–365, 2010.
- [27] E. Gillard et al.: “Acute promyelocytic leukaemia and the *t(15;17)* translocation”, *Seminars in Cancer Biology*, vol. 4, no. 6, pp. 359–368, 1993.
- [28] C. Schoch et al.: “Patients with *de novo* acute myeloid leukaemia and complex karyotype aberrations show a poor prognosis despite intensive treatment: a study of 90 patients”, *British Journal of Haematology*, vol. 112, no. 1, pp. 118–126, 2001.

- [29] C. Schoch et al.: “*Acute myeloid leukemia with a complex aberrant karyotype is a distinct biological entity characterized by genomic imbalances and a specific gene expression profile*”, *Genes Chromosomes and Cancer*, vol. 43, no. 3, pp. 227–238, 2005.
- [30] C. Thiede et al.: “*Prevalence and prognostic impact of NPM1 mutations in 1485 adult patients with acute myeloid leukemia (AML)*”, *Blood*, vol. 107, no. 10, pp. 4011–4020, 2006.
- [31] N. Iriyama et al.: “*Normal karyotype-acute myeloid leukemia with the CD4- CD7+ CD15+ CD34+ immunophenotype is a clinically distinct entity with a favorable outcome*”, *Blood*, vol. 122, p. 2608, 2013.
- [32] K. Döhner et al.: “*Molecular characterization of acute myeloid leukemia*”, *Haematologica*, vol. 93, no. 7, pp. 976–982, 2008.
- [33] D. Grimwade et al.: “*The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1,612 patients entered into the MRC AML 10 trial*”, *Blood*, vol. 92, no. 7, pp. 2322–2333, 1998.
- [34] D. M. Bahia et al.: “*Aberrant phenotypes in acute myeloid leukemia: a high frequency and clinical significance*”, *Haematologica*, vol. 86, no. 8, pp. 801–806, 2001.
- [35] D. Grimwade et al.: “*Defining minimal residual disease in acute myeloid leukemia: which platforms are ready for ‘prime time’?*”, *Blood*, vol. 124, no. 23, pp. 222–233, 2016.
- [36] A. Porwit-MacDonald et al.: “*Leukemia-associated changes identified by quantitative flow cytometry. IV. CD34 overexpression in acute myelogenous leukemia M2 with t(8;21)*”, *Blood*, vol. 87, no. 3, pp. 1162–1169, 1996.
- [37] H. Khoury et al.: “*Correlation between karyotype and quantitative immunophenotype in acute myelogenous leukemia with t(8;21)*”, *Modern Pathology*, vol. 17, no. 10, pp. 1211–1216, 2004.
- [38] H. Khoury et al.: “*Acute myelogenous leukemia with t(8;21) - identification of a specific immunophenotype*”, *Leukemia & Lymphoma*, vol. 44, no. 10, pp. 1713–1718, 2003.
- [39] F. Ferrara et al.: “*Immunophenotypic analysis enables the correct prediction of t(8;21) in acute myeloid leukaemia*”, *British Journal of Haematology*, vol. 102, no. 2, pp. 444–448, 1998.
- [40] R. Thalhammer-Scherrer et al.: “*The immunophenotype of 325 adult acute leukemias relationship to morphologic and molecular classification and proposal for a minimal screening program highly predictive for lineage discrimination*”, *American Journal of Clinical Pathology*, vol. 117, no. 3, pp. 380–389, 2002.
- [41] E. Paietta et al.: “*Acute myeloid leukemia M4 with inv(16) (p13q22) exhibits a specific immunophenotype with CD2 expression*”, *Blood*, vol. 82, no. 8, pp. 2595–2596, 1993.

- [42] H. Miwa et al.: “*Biphasic expression of CD4 in acute myelocytic leukemia (AML) cells: AML of monocyte origin and hematopoietic precursor cell origin*”, *Leukemia*, vol. 12, pp. 44–51, 1998.
- [43] B. I. Dalal et al.: “*CD34, CD56 and CD2 are predictive of NPM1 mutation, FLT3-ITD and their favorable prognosis combination in cytogenetically normal acute myeloid leukemia*”, *Blood*, vol. 114, no. 22, p. 1576, 2009.
- [44] B. I. Dalal et al.: “*Detection of CD34, TdT, CD56, CD2, CD4, and CD14 by flow cytometry is associated with NPM1 and FLT3 mutation status in cytogenetically normal acute myeloid leukemia*”, *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia*, vol. 12, no. 4, pp. 274–279, 2012.
- [45] D. Wang et al.: “*Study of immunophenotype of acute myeloid leukemia patients with NPM1 gene mutation*”, *Journal of Leukemia and Lymphoma*, vol. 21, no. 4, pp. 193–196, 2012.
- [46] L. Lin et al.: “*Characterization of CEBPA mutations in acute myeloid leukemia: most patients with CEBPA mutations have biallelic mutations and show a distinct immunophenotype of the leukemic cells*”, *Clinical Cancer Research*, vol. 11, pp. 1372–1379, 2005.
- [47] V. Rausei-Mills et al.: “*Aberrant expression of CD7 in myeloblasts is highly associated with de novo acute myeloid leukemias with FLT3/ITD mutation*”, *American Journal of Clinical Pathology*, vol. 129, no. 4, pp. 624–629, 2008.
- [48] A. R. Lucena-Araujo et al.: “*Results of FLT3 mutation screening and correlations with immunophenotyping in 169 Brazilian patients with acute myeloid leukemia*”, *Annals of Hematology*, vol. 89, no. 2, pp. 225–228, 2010.
- [49] A. R. Lucena-Araujo et al.: “*Erratum to: Results of FLT3 mutation screening and correlations with immunophenotyping in 169 Brazilian patients with acute myeloid leukemia*”, *Annals of Hematology*, vol. 89, no. 2, pp. 229–230, 2010.
- [50] E. D. Ball et al.: “*Prognostic value of lymphocyte surface markers in acute myeloid leukemia*”, *Blood*, vol. 77, no. 10, pp. 2242–2250, 1991.
- [51] R. Repp et al.: “*Immunophenotyping is an independent factor for risk stratification in AML*”, *Cytometry Part B*, vol. 53B, no. 1, pp. 11–19, 2003.
- [52] N. G. Jiang et al.: “*[Immunophenotype characteristics and prognosis of acute leukemia patients with cross expressing lymphoid and myeloid lineage associated antigens]*”, *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*, vol. 18, no. 6, pp. 1405–1409, 2010.
- [53] F. O. Smith et al.: “*Expression of lymphoid-associated cell surface antigens by childhood acute myeloid leukemia cells lacks prognostic significance*”, *Blood*, vol. 79, no. 9, pp. 2415–2422, 1992.

- [54] H. Chang et al.: “*CD7 expression predicts poor disease free survival and post-remission survival in patients with acute myeloid leukemia and normal karyotype*”, *Leukemia Research*, vol. 31, no. 2, pp. 157–162, 2007.
- [55] E. Di Bona et al.: “*Prognostic significance of CD56 antigen expression in acute myeloid leukemia*”, *Haematologica*, vol. 87, no. 3, pp. 250–256, 2002.
- [56] K. Kita et al.: “*Clinical importance of CD7 expression in acute myelocytic leukemia*”, *Blood*, vol. 81, no. 9, pp. 2399–2405, 1993.
- [57] G. Del Poeta et al.: “*CD7 expression in acute myeloid leukemia*”, *Leukemia & Lymphoma*, vol. 17, no. 1–2, pp. 111–119, 1995.
- [58] G. Del Poeta et al.: “*Prognostic value of cell marker analysis in de novo acute myeloid leukemia*”, *Leukemia*, vol. 8, no. 3, pp. 388–394, 1994.
- [59] A. Venditti et al.: “*Prognostic relevance of the expression of Tdt and CD7 in 335 cases of acute myeloid leukemia*”, *Leukemia*, vol. 12, no. 7, pp. 1056–1063, 1998.
- [60] P. De Nully Brown et al.: “*The prognostic significance of chromosomal analysis and immunophenotyping in 117 patients with de novo acute myeloid leukemia*”, *Leukemia Research*, vol. 21, no. 10, pp. 985–995, 1997.
- [61] T. Saito et al.: “*[Prognostic significance of CD7 expression in adult acute myeloid leukemia]*”, *Rinsho Ketsueki*, vol. 39, no. 7, pp. 481–486, 1998.
- [62] S. M. Kornblau et al.: “*Analysis of CD7 expression in acute myelogenous leukemia: martingale residual plots combined with ‘optimal’ cutpoint analysis reveals absence of prognostic significance*”, *Leukemia*, vol. 9, no. 10, pp. 1735–1741, 1995.
- [63] Y. Pillay et al.: “*CD7 expression does not predict for poor outcome in acute myeloblastic leukemia*”, *Blood*, vol. 85, no. 11, pp. 3357–3359, 1995.
- [64] A. P. Alegretti et al.: “*The expression of CD56 antigen is associated with poor prognosis in patients with acute myeloid leukemia*”, *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, vol. 33, no. 3, pp. 202–206, 2011.
- [65] S. El Shorbagy et al.: “*CD56 and CD19 antigens expression in acute myeloid leukemia identifies patients with adverse prognosis in Egypt*”, *International Journal of Science and Research*, vol. 5, no. 1, pp. 523–530, 2016.
- [66] M. Vidriales et al.: “*Expression of NK and lymphoid-associated antigens in blast cells of acute myeloblastic leukemia*”, *Leukemia*, vol. 12, no. 2026, p. 2029, 1993.
- [67] J. Bennett et al.: “*Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group*”, *British Journal of Haematology*, vol. 33, no. 4, pp. 451–458, 1976.
- [68] J. Bennett et al.: “*Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French-American-British Cooperative Group*”, *Annals of Internal Medicine*, vol. 103, no. 4, pp. 620–625, 1985.

- [69] J. W. Vardiman et al.: “*The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms*”, *Blood*, vol. 100, no. 7, pp. 2292–2302, 2002.
- [70] A. Da Vardiman JW, Thiele J: “*The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes*”, *Blood*, vol. 114, no. 5, pp. 937–952, 2009.
- [71] D. A. Arber et al.: “*The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia*”, *Blood*, vol. 127, no. 20, pp. 2391–2406, 2016.
- [72] B. Heilmeyer et al.: “[*Diagnostik, Klassifikation und Prognosefaktoren der akuten myeloischen Leukämie*]”, *Medizinische Klinik*, vol. 102, no. 4, pp. 296–308, 2007.
- [73] H. Döhner et al.: “*Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel*”, *Blood*, vol. 129, no. 4, pp. 424–448, 2017.
- [74] J. M. Foran: “*New prognostic markers in acute myeloid leukemia: perspective from the clinic*”, *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology*. American Society of Hematology. Education Program, vol. 2010, pp. 47–55, 2010.
- [75] J. T. Sorensen et al.: “*Effect of age on survival in acute leukemia*”, *Cancer*, vol. 72, no. 5, pp. 1602–1606, 1993.
- [76] W. Kern et al.: “*Early blast clearance by remission induction therapy is a major independent prognostic factor for both achievement of complete remission and long-term outcome in acute myeloid leukemia: data from the German AMLCooperative Group (AMLCOG) 1992 Trial*”, *Blood*, vol. 101, no. 1, pp. 64–70, 2003.
- [77] L. S. G. Østgård et al.: “*Comorbidity and performance status in acute myeloid leukemia patients: a nation-wide population-based cohort study*”, *Leukemia*, vol. 29, no. 3, pp. 548–555, 2015.
- [78] G. J. Ventura et al.: “*Acute myeloblastic leukemia with hyperleukocytosis: risk factors for early mortality in induction*”, *American Journal of Hematology*, vol. 27, no. 1, pp. 34–37, 1988.
- [79] H. Döhner et al.: “*Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet.*”, *Blood*, vol. 115, no. 3, pp. 453–474, 2010.
- [80] M. Tallman et al.: “*All-trans-retinoic acid in acute promyelocytic leukemia*”, *The New England Journal of Medicine*, vol. 337, no. 15, pp. 1021–1028, 1997.
- [81] M. Schaich et al.: “[*Diagnostik und Therapie der akuten myeloischen Leukämie des Erwachsenen*]”, *Onkologie*, vol. 12, pp. 1003–1011, 2006.

- [82] Becton-Dickinson: “*Human and mouse CD marker handbook*”, URL: [www.bdbiosciences.com/documents/cd\\_marker\\_handbook.pdf](http://www.bdbiosciences.com/documents/cd_marker_handbook.pdf), Accessed: 2017.02.01.
- [83] U. Creutzig et al.: “*Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in children and adolescents: recommendations from an international expert panel*”, *Blood*, vol. 120, pp. 3187–3205, 2012.
- [84] T. Haferlach: “*Labordiagnostik in der Hämatologie: Vom Symptom zur Diagnose, 1. Auflage*”, Deutscher Ärzte-Verlag - Köln, 2011.
- [85] T. Haferlach: “*Labordiagnostik bei Leukämien und Lymphomen, 3. Auflage*”, Uni-Med Verlag - Bremen, 2011.
- [86] M. Zeilinger et al.: “*Durchflusszytometrie - eine Einführung*”, [http://www.med4you.at/laborbefunde/techniken/durchflusszytometrie/lbef\\_durchflusszytometrie.htm](http://www.med4you.at/laborbefunde/techniken/durchflusszytometrie/lbef_durchflusszytometrie.htm), Accessed: 2017.02.01.
- [87] B. Löwenberg et al.: “*Acute myeloid leukemia*”, *The New England Journal of Medicine*, vol. 341, no. 14, pp. 1051–1062, 1999.
- [88] F. Lo-Coco et al.: “*Retinoic Acid and Arsenic Trioxide for Acute Promyelocytic Leukemia*”, *The New England Journal of Medicine*, vol. 369, no. 2, pp. 111–121, 2013.
- [89] F. Lo-Coco et al.: “*Retinoic Acid and Arsenic Trioxide for Acute Promyelocytic Leukemia - Supplementary Appendix*”, *The New England Journal of Medicine*, vol. 369, no. 2, pp. 111–121, 2013.
- [90] M. A. Sekeres et al.: “*Time from diagnosis to treatment initiation predicts survival in younger, but not older, acute myeloid leukemia patients*”, *Blood*, vol. 113, no. 1, pp. 28–36, 2009.
- [91] M. Yanada et al.: “*Efficacy of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation depends on cytogenetic risk for acute myeloid leukemia in first disease remission: A metaanalysis*”, *Cancer*, vol. 103, no. 8, pp. 1652–1658, 2005.
- [92] E. Estey et al.: “*Routine bone marrow exam during first remission of acute myeloid leukemia*”, *Blood*, vol. 87, pp. 3899–3902, 1996.
- [93] T. Büchner et al.: “*6-Thioguanine, cytarabine, and daunorubicin (TAD) and high-dose cytarabine and mitoxantrone (HAM) for induction, TAD for consolidation, and either prolonged maintenance by reduced monthly TAD or TAD-HAM-TAD and one course of intensive consolidation by seq*”, *Journal of Clinical Oncology*, vol. 21, no. 24, pp. 4496–4504, 2003.
- [94] L. Adès et al.: “*Very long-term outcome of acute promyelocytic leukemia after treatment with all-trans retinoic acid and chemotherapy: the European APL Group experience*”, *Blood*, vol. 115, no. 9, pp. 1690–1696, 2010.

- [95] G. J. Ossenkoppele et al.: “*Review of the relevance of aberrant antigen expression by flow cytometry in myeloid neoplasms*”, *British Journal of Haematology*, vol. 153, no. 4, pp. 421–436, 2011.
- [96] K. D. Mason et al.: “*The immunophenotype of acute myeloid leukemia: is there a relationship with prognosis?*”, *Blood Reviews*, vol. 20, no. 2, pp. 71–82, 2006.
- [97] B. C. L. Reading et al.: “*Expression of unusual immunophenotype combinations in acute myelogenous leukemia*”, *Blood*, vol. 81, pp. 3083–3090, 1993.
- [98] O. Legrand et al.: “*The immunophenotype of 177 adults with acute myeloid leukemia: proposal of a prognostic score*”, *Blood*, vol. 96, no. 3, pp. 870–877, 2000.
- [99] H. Khalidi et al.: “*The immunophenotype of adult acute myeloid leukemia: high frequency of lymphoid antigen expression and comparison of immunophenotype, French-American-British classification, and karyotypic abnormalities*”, *American Journal of Clinical Pathology*, vol. 109, no. 2, pp. 211–220, 1998.
- [100] J. Zheng et al.: “*A correlation study of immunophenotypic, cytogenetic, and clinical features of 180 AML patients in China*”, *Cytometry Part B*, vol. 74B, pp. 25–29, 2008.
- [101] M. L. Slovak et al.: “*Karyotypic analysis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group study*”, *Blood*, vol. 96, no. 13, pp. 4075–4083, 2000.
- [102] S. Yohe: “*Molecular genetic markers in acute myeloid leukemia*”, *Journal of Clinical Medicine*, vol. 4, no. 3, pp. 460–478, 2015.
- [103] C. Vicente et al.: “*JAK2-V617F activating mutation in acute myeloid leukemia: prognostic impact and association with other molecular markers*”, *Leukemia*, vol. 21, no. 11, pp. 2386–2390, 2007.
- [104] G. Marcucci et al.: “*Molecular genetics of adult acute myeloid leukemia: prognostic and therapeutic implications*”, *Journal of Clinical Oncology*, vol. 29, no. 5, pp. 475–486, 2011.
- [105] K. Döhner et al.: “*Mutant nucleophosmin (NPM1) predicts favorable prognosis in younger adults with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: interaction with other gene mutations*”, *Blood*, vol. 106, no. 12, pp. 3740–3746, 2005.
- [106] F. Pastore et al.: “*The NPM1 mutation type has no impact on survival in cytogenetically normal AML*”, *PLoS ONE*, vol. 9, no. 10, pp. 1–13, 2014.
- [107] P. Chevallier et al.: “*A new leukemia prognostic scoring system for refractory/relapsed adult acute myelogenous leukaemia patients: a GOELAMS study*”, *Leukemia*, vol. 25, no. 6, pp. 939–944, 2011.

- [108] B. Oran et al.: “Age and modified European LeukemiaNet classification to predict transplant outcomes: an integrated approach for acute myelogenous leukemia patients undergoing allogeneic stem cell transplantation.”, *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, vol. 21, no. 8, pp. 1405–1412, 2015.
- [109] K. Mrożek et al.: “Prognostic significance of the European LeukemiaNet standardized system for reporting cytogenetic and molecular alterations in adults with acute myeloid leukemia”, *Journal of Clinical Oncology*, vol. 30, no. 36, pp. 4515–4523, 2012.
- [110] H. G. Drexler et al.: “Terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) expression in acute myeloid leukemia”, *Leukemia*, vol. 7, no. 8, pp. 1142–1150, 1993.
- [111] A. Numata et al.: “[Retrospective analysis of treatment outcomes in 70 patients with t(8;21) acute myeloid leukemia]”, *Rinsho Ketsueki*, vol. 53, no. 7, pp. 698–704, 2012.
- [112] P. Lin et al.: “Acute myeloid leukemia harboring t(8;21)(q22;q22): a heterogeneous disease with poor outcome in a subset of patients unrelated to secondary cytogenetic aberrations”, *Modern Pathology*, vol. 21, pp. 1029–1036, 2008.
- [113] U. Bacher et al.: “Population-based age-specific incidences of cytogenetic subgroups of acute myeloid leukemia”, *Haematologica*, vol. 90, no. 11, pp. 1502–1510, 2005.
- [114] C. Y. Meng et al.: “Cytogenetic profile of de novo acute myeloid leukemia patients in Malaysia”, *International Journal of Biomedical Science*, vol. 9, no. 1, pp. 26–32, 2013.
- [115] X. B. Wang et al.: “[Correlation of immunophenotype to cytogenetics and clinical features of adult acute myeloid leukemia],” *Ai Zheng*, , vol. 24, no. 6. , pp. 667–671, 2005.
- [116] Y. Cheng et al.: “Cytogenetic profile of de novo acute myeloid leukemia: a study based on 1432 patients in a single institution of China.”, *Leukemia*, vol. 23, no. 10, pp. 1801–1806, 2009.
- [117] A. K. Enjeti et al.: “Cytogenetic abnormalities in de novo acute myeloid leukemia in adults: relation to morphology, age, sex and ethnicity – a single center study from Singapore”, *The Hematology Journal*, vol. 5, no. 5, pp. 419–425, 2004.
- [118] A. M. Udayakumar et al.: “Cytogenetic, morphological, and immunophenotypic patterns in Omani patients with de novo acute myeloid leukemia”, *Cancer Genetics and Cytogenetics*, vol. 177, no. 2, pp. 89–94, 2007.
- [119] C. Schoch et al.: “AML with 11q23/MLL abnormalities as defined by the WHO classification: incidence, partner chromosomes, FAB subtype, age distribution, and prognostic impact in an unselected series of 1897 cytogenetically analyzed AML cases”, *Blood*, vol. 102, no. 7, pp. 2395–2402, 2003.

- [120] J. M. Raya et al.: “*Acute myeloid leukemia with inv(3)(q21q26.2) or t(3;3)(q21;q26.2); Clinical and biological features and comparison with other acute myeloid leukemias with cytogenetic aberrations involving long arm of chromosome 3*”, *Hematology*, vol. 20, no. 8, pp. 435–441, 2015.
- [121] L. Fan et al.: “[*Immunophenotypic analysis of acute myeloid leukemia with t(8;21)*]”, *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*, vol. 18, no. 6, pp. 1410–1413, 2010.
- [122] E. Paietta et al.: “*Immunophenotypic features of t(8;21) (q22;q22) acute myeloid leukemia in adults*”, *Blood*, vol. 81, p. 1975, 1993.
- [123] M. R. Baer et al.: “*Acute myeloid leukemia with 11q23 translocations: myelomonocytic immunophenotype by multiparameter flow cytometry*”, *Leukemia*, vol. 12, no. 3, pp. 317–325, 1998.
- [124] R. O. Casasnovas et al.: “*Immunophenotypic patterns and cytogenetic anomalies in acute non-lymphoblastic leukemia subtypes: a prospective study of 432 patients*”, *Leukemia*, vol. 12, no. 1, pp. 34–43, 1998.
- [125] A. Cuneo et al.: “*Correlation of cytogenetic patterns and clinicobiological features in adult acute myeloid leukemia expressing lymphoid markers*”, *Blood*, vol. 79, no. 3, pp. 720–727, 1992.
- [126] M. M. Le Beau et al.: “*Association of an inversion of chromosome 16 with abnormal marrow eosinophils in acute myelomonocytic leukemia - a unique cytogenetic–clinicopathological association*”, *The New England Journal of Medicine*, vol. 309, no. 11, pp. 630–636, 1983.
- [127] O. Hrusák et al.: “*Antigen expression patterns reflecting genotype of acute leukemias*”, *Leukemia*, vol. 16, no. 7, pp. 1233–1258, 2002.
- [128] M. Bienz et al.: “*Risk assessment in patients with acute myeloid leukemia and a normal karyotype*”, *Clinical Cancer Research*, vol. 11, pp. 1416–1424, 2005.
- [129] L. Su et al.: “*CEBPA mutations in patients with de novo acute myeloid leukemia: data analysis in a Chinese population*”, *OncoTargets and Therapy*, vol. 9, pp. 3399–3403, 2016.
- [130] D. F. Angelini et al.: “*A leukemia-associated CD34-CD123-CD25-CD99+ immunophenotype identifies FLT3-mutated clones in acute myeloid leukemia (2)*”, *Clinical Cancer Research*, vol. 21, no. 17, pp. 3977–3985, 2015.
- [131] D. F. Angelini et al.: “*A leukemia-associated CD34-CD123-CD25-CD99+ immunophenotype identifies FLT3-mutated clones in acute myeloid leukemia (1)*”, *Clinical Cancer Research*, vol. 21, no. 17, pp. 3977–3985, 2015.
- [132] L. Muñoz et al.: “*Immunophenotypic findings in acute myeloid leukemia with FLT3 internal tandem duplication*”, *Haematologica*, vol. 88, no. 6, pp. 637–645, 2003.

- [133] P. S. Chauhan et al.: “*Mutation of NPM1 and FLT3 genes in acute myeloid leukemia and their association with clinical and immunophenotypic features*”, *Disease Markers*, vol. 35, no. 5, pp. 581–588, 2013.
- [134] S. J. Wells et al.: “*CD117/CD34 expression in leukemic blasts*”, *American Journal of Clinical Pathology*, vol. 106, no. 2, pp. 192–195, 1996.
- [135] S. Swaminathan et al.: “*Novel immunophenotypic and morphologic presentation in acute myeloid leukemia (AML) with JAK2 V617F mutation*”, *European Journal of Haematology*, vol. 84, no. 2, pp. 180–182, 2010.
- [136] H. S. Shiah et al.: “*Clinical and biological implications of partial tandem duplication of the MLL gene in acute myeloid leukemia without chromosomal abnormalities at 11q23*”, *Leukemia*, vol. 16, no. 2, pp. 196–202, 2002.
- [137] K. P. Patel et al.: “*TdT expression in acute myeloid leukemia with minimal differentiation is associated with distinctive clinicopathological features and better overall survival following stem cell transplantation*”, *Modern Pathology*, vol. 26, no. 2, pp. 195–203, 2013.
- [138] A. Jiang et al.: “*Prognostic factors in normal karyotype acute myeloid leukemia in the absence of the FLT3-ITD mutation*”, *Leukemia Research*, vol. 35, no. 4, pp. 492–498, 2011.
- [139] S. H. Jeong et al.: “*Clinical significance of co-expression of aberrant antigens in acute leukemia*”, *Korean Journal of Hematology*, vol. 44, no. 2, pp. 67–73, 2009.
- [140] E. Solary et al.: “*Surface markers in adult acute myeloblastic leukemia: correlation of CD19+, CD34+ and CD14+DR--phenotypes with shorter survival. Groupe d'Etude Immunologique des Leucémies (GEIL)*”, *Leukemia*, vol. 6, no. 5, pp. 393–399, 1992.
- [141] E. J. Lee et al.: “*The significance of CD34 and TdT determinations in patients with untreated de novo acute myeloid leukemia*”, *Leukemia*, vol. 6, no. 11, pp. 1203–1209, 1992.
- [142] I. Schwarzingler et al.: “*Prognostic significance of surface marker expression on blasts of patients with de novo acute myeloblastic leukemia*”, *Journal of Clinical Oncology*, vol. 8, no. 3, pp. 423–430, 1990.
- [143] P. Jani et al.: “*Terminal deoxynucleotidyl transferase in acute myeloid leukaemia*”, *Leukemia Research*, vol. 7, no. 1, pp. 17–29, 1983.
- [144] P. Benedetto et al.: “*Prognostic significance of Terminal Deoxynucleotidyl Transferase activity in acute nonlymphoblastic leukemia*”, *Journal of Clinical Oncology*, vol. 4, no. 4, pp. 489–495, 1986.
- [145] A. Slobinas et al.: “*The immunophenotype of adults with acute myeloid leukemia: proposal of prognostic value*”, *Acta Medica Lituanica*, vol. 12, no. 3, pp. 54–59, 2005.

### 6.3 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1: Hämatopoese .....	2
Abbildung 1.2: Streulicht-Dot-Plot (A) und Fluoreszenzlicht-Dot-Plot (B) .....	15
Abbildung 2.1: Anschreiben Einwohnermeldeämter .....	23
Abbildung 2.2: Anschreiben Kliniken/niedergelassene Ärzte .....	24
Abbildung 2.3: Dot-Plots .....	26
Abbildung 3.1: Studienstatus und Geschlechterverteilung im Patientenkollektiv .....	31
Abbildung 3.2: Altersklassenverteilung im Patientenkollektiv .....	31
Abbildung 3.3: ELN-Risiko-Score-Zuordnung im Patientenkollektiv .....	36
Abbildung 3.4: Rezidivfreies Überleben im Patientenkollektiv (nur AML-Patienten mit dokumentierter CR) .....	37
Abbildung 3.5: Gesamtüberleben im Patientenkollektiv (nur AML-Patienten mit dokumentiertem Follow-Up) .....	38
Abbildung 3.6: Gesamtüberleben im Patientenkollektiv (nur AML-Patienten mit dokumentierter CR) .....	38
Abbildung 3.7: Zusammenhang zwischen einer CD2-Expression und dem rezidivfreien Überleben .....	54
Abbildung 3.8: Zusammenhang zwischen einer CD56+CD34-Koexpression und dem rezidivfreien Überleben .....	54
Abbildung 3.9: Zusammenhang zwischen einer CD2-Expression und dem Gesamtüberleben .....	55
Abbildung 3.10: Zusammenhang zwischen einer CD19+CD34-Koexpression und dem Gesamtüberleben .....	55

## 6.4 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1: FAB-Klassifikation .....	7
Tabelle 1.2: WHO-Klassifikation (2008).....	8
Tabelle 1.3: Risikogruppeneinteilung nach dem ELN-Risiko-Score (2010) .....	9
Tabelle 1.4: Expressionsverhalten ausgewählter extrazellulärer und intrazellulärer CDs verschiedener Blutzellen .....	13
Tabelle 2.1: Erhobene soziodemographische Patientendaten .....	20
Tabelle 2.2: Erhobene erkrankungsbezogene Patientendaten.....	21
Tabelle 2.3: AML-Panel .....	28
Tabelle 3.1: Relative Häufigkeiten der FAB-Subtypen im Patientenkollektiv .....	32
Tabelle 3.2: Relative Häufigkeiten der Zellantigenexpressionen im Patientenkollektiv.....	33
Tabelle 3.3: Relative Häufigkeiten der zytogenetischen Aberrationen im Patientenkollektiv ..	34
Tabelle 3.4: Relative Häufigkeiten der molekulargenetischen Aberrationen im Patientenkollektiv .....	35
Tabelle 3.5: Soziodemographische sowie erkrankungsbezogene Patientendaten und ihr Zusammenhang mit immunphänotypischen Markern .....	45
Tabelle 3.6: Expressionsmuster ausgewählter zytogenetischer und molekulargenetischer Aberrationen.....	52
Tabelle 3.7: Immunphänotypische Marker und ihr Zusammenhang mit dem rezidivfreien Überleben der Patienten (Kaplan-Meier, Patientenzahl n = 357) .....	54
Tabelle 3.8: Immunphänotypische Marker und ihr Zusammenhang mit dem Gesamtüberleben der Patienten (Kaplan-Meier, Patientenzahl n = 846) .....	55
Tabelle 3.9: Immunphänotypische Marker und ihr Zusammenhang mit dem rezidivfreien Überleben der Patienten (Cox-Regression, Patientenzahl n = 357).....	56
Tabelle 3.10: Immunphänotypische Marker und ihr Zusammenhang mit dem Gesamtüberleben der Patienten (Cox-Regression, Patientenzahl n = 846) .....	56
Tabelle 4.1: Relative Häufigkeiten der FAB-Subtypen im Patientenkollektiv im Vergleich zu anderen Studien.....	58
Tabelle 4.2: Relative Häufigkeiten der Zellantigenexpressionen im Patientenkollektiv im Vergleich zu anderen Studien.....	59
Tabelle 4.3: Relative Häufigkeiten der zytogenetischen Aberrationen im Patientenkollektiv im Vergleich zu anderen Studien.....	60
Tabelle 4.4: Relative Häufigkeiten der molekulargenetischen Aberrationen im Patientenkollektiv im Vergleich zu anderen Studien .....	61
Tabelle 4.5: Relative Häufigkeiten der ELN-Risiko-Gruppen im Patientenkollektiv im Vergleich zu anderen Studien.....	62

Tabelle 4.6: Ermittelte Expressionshäufigkeiten ausgewählter Zellantigene/Koexpressionen in Abhängigkeit vom Geschlecht der Patienten im Gesamtkollektiv mit/ohne t(8;21)+ AMLs.....	63
Tabelle 4.7: Ermittelte Expressionshäufigkeiten ausgewählter Zellantigene/Koexpressionen in Abhängigkeit vom Alter der Patienten im Gesamtkollektiv mit/ohne t(8;21)+ AMLs.....	64
Tabelle 4.8: Ausgewählte FAB-Subtypen mit und ohne prägende/definierende zytogenetische Aberrationen und ihr Zusammenhang mit immunphänotypischen Markern.....	67
Tabelle 4.9: Zusammenhang ausgewählter Zellantigene/Koexpressionen mit dem rezidivfreien Überleben im Gesamtkollektiv (n=357).....	77
Tabelle 4.10: Zusammenhang ausgewählter Zellantigene/Koexpressionen mit dem Gesamtüberleben im Gesamtkollektiv (n=846).....	77
Tabelle 4.11: Zusammenhang ausgewählter Zellantigene/Koexpressionen mit dem rezidivfreien Überleben im Gesamtkollektiv ohne inv(16)+ AMLs (n=312).....	77
Tabelle 4.12: Zusammenhang ausgewählter Zellantigene/Koexpressionen mit dem Gesamtüberleben im Gesamtkollektiv ohne inv(16)+ AMLs (n=775).....	77
Tabelle 4.13: Zusammenhang ausgewählter Zellantigene/Koexpressionen mit dem rezidivfreien Überleben im Gesamtkollektiv ohne t(8;21)+ AMLs (n=333).....	78
Tabelle 4.14: Zusammenhang ausgewählter Zellantigene/Koexpressionen mit dem Gesamtüberleben im Gesamtkollektiv ohne t(8;21)+ AMLs (n=785).....	78

## **7. Eidesstattliche Versicherung**

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

# **Klinische Bedeutung der Expression lymphatischer Marker bei akuter myeloischer Leukämie**

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 02.10.2018

---

Ort, Datum

---

Stefan Thudium

## 8. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Wolfgang Hiddemann, ehemaliger Direktor der Medizinischen Klinik und Poliklinik III des Klinikum der Universität München/Großhadern, für die Ermöglichung dieser Arbeit in seiner Klinik bedanken.

Meinem Doktorvater, Herrn Professor Dr. Jan Braess, danke ich recht herzlich für die Überlassung des Themas dieser Dissertationsarbeit, seine fachliche Unterstützung sowie seinen kompetenten Anregungen und Ratschlägen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Bernhard Heilmeyer für die intensive und engagierte wissenschaftliche Betreuung. Er stand während der Datenerhebung, Auswertung und Abfassung der Arbeit mit großem zeitlichen Einsatz und fachlicher Kompetenz jederzeit mit Rat und Tat zur Seite!

Herrn Prof. Dr. Karsten Spiekermann danke ich für die Einarbeitung in die Leukämiediagnostik, die fachkundige Unterstützung sowie die Überlassung der klinischen Patientendaten und der Bereitstellung eines Arbeitsplatzes in seinem Labor.

Weiterer Dank gilt hier auch allen Mitarbeitern des Labors für die gute Zusammenarbeit, insbesondere Frau Dr. Stephanie Schneider.

Für die Bereitstellung der Verlaufsdaten der Studienpatienten möchte ich mich herzlich bei der AML-CG-Studienzentrale in Münster, vor allem Frau Dipl.-Math. Cristina Sauerland, bedanken.

Großer Dank gilt auch Prof. Dr. Rudolf Gruber des Krankenhauses der Barmherzigen Brüder in Regensburg und Prof. Dr. Daniel Wolff des Universitätsklinikums Regensburg, die sich als Nebenprüfer bei der Promotionsvorprüfung zur Verfügung gestellt haben.