Der Beitrag von Serumparametern zur Prognoseprädiktion bei chronischer lymphatischer Leukämie

Susanne Jung-Munkwitz

Aus
der Medizinischen Klinik und Poliklinik III
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Prof. Dr. med. W. Hiddemann

Der Beitrag von Serumparametern zur Prognoseprädiktion bei chronischer lymphatischer Leukämie

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

vorgelegt von
Susanne Jung-Munkwitz
aus Leonberg
2004

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. med. M. Hallek
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. med. B. Emmerich Prof. Dr. med. C. Nerl
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	Dr. med. I. Kuhn-Hallek
Dekan:	Prof. Dr. med. Dr. h.c. K. Peter
Tag der mündlichen Prüfung:	11.11.2004

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung 1
1.1 Grundzüge der chronischen lymphatischen Leukämie 2
1.1.1 Inzidenz und Epidemiologie 2
1.1.2 Ätiologie 2
1.1.3 Pathogenese 3
1.1.4 Zytogenetik 3
1.1.5 Immunologie 4
1.1.6 Diagnose 5
1.1.7 Stadieneinteilung 6
1.1.8 Klinische Symptome und Krankheitsverlauf 7
1.2 Therapie 8
1.2.1 Therapieindikationen 8
1.3 Prognosefaktoren 13
1.3.1 Lymphozytenverdoppelungszeit 13
1.3.2 Knochenmarkuntersuchung 13
1.3.3 Hämatologische Parameter 14
1.3.4 Klinische Parameter 15
1.3.5 Zytogenetik 16
1.3.6 Serumparameter 17
1.4 Fragestellung und Zielsetzung der Studie 18
2 Material und Methode 19
2.1 Studiendesign 19
2.2 Studienpopulation 19
2.2.1 Einschlusskriterien der Patienten 19
2.2.2 Patientendaten 20
2.3 Laborchemische Bestimmung der Parameter 21
2.3.1 Probengewinnung 21
2.3.2 Probenlagerung 22
2.3.3 Soluble Interleukin-2-Rezeptor (sIL-2R) 22
2.3.4 Soluble CD 23 24
2.4 Erfassung klinischer und klinisch-technischer Daten 26
2.4.1 Erhebung der Basisdaten 28

2.4.2 Diagnosesicherung 31
2.4.3 Erhebung der Progressionsdaten 36
2.4.4 Erhebung der Daten bei Tod des Patienten 36
2.4.5 Statistik 36
3 Ergebnisse 38
3.1 Deskriptive Statistik 38
3.1.1 Verteilung nach Alter, Geschlecht, Vortherapie und Binet-Stadium 38
3.1.2 Beobachtungszeitraum und Krankheitsverlauf 39
3.1.3 Beschreibung der untersuchten Parameter und die Beziehung zur Stadieneinteilung nach Binet 39
3.1.4 Korrelation der Parameter (sIL-2R, sCD 23, s-TK, s-β_2-m, s-LDH) untereinander 45
3.2 Verläufe einiger ausgewählter Patienten 52
3.3 Ergebnisse der CART-Analyse 61
3.4 Univariate Analyse 61
3.5 Multivariate Analyse 68
4 Diskussion 70
4.1 Kritische Bewertung der eigenen Ergebnisse hinsichtlich Methodik und Aussagekraft 70
4.2 Diskussion im Kontext der Literatur 73
4.2.1 Soluble Interleukin-2-Rezeptor (sIL-2R) 73
4.2.2 Soluble CD 23 (sCD 23) 75
4.2.3 Serumthymidinkinase (s-TK) 78
4.2.4 Beta$_2$-Mikroglobulin (ß$_2$m) 80
4.2.5 Serum-Lactatdehydrogenase (s-LDH) 82
5 Zusammenfassung 83
6 Anhang 84
Abkürzungen 85
7 Literaturverzeichnis 86
Danksagung 103
Curriculum vitae 105

1 Einleitung

Die chronische lymphatische Leukämie ist ein leukämisch verlaufendes lymphozytisches Non-Hodgkin-Lymphom von niedrigem Malignitätsgrad. Die kleinen reif aussehenden Lymphozyten gehören in 90 % der Fälle zur B-Zell-Reihe. Seltenere Formen umfassen die Prolymphozytenleukämie, die Haarzell-Leukämie und die von der T-Zellreihe abgeleitete T-CLL und das Sezary-Syndrom [150].

Die Ätiologie der CLL ist unklar, wobei es immer mehr Hinweise für den Einfluss vererbter Faktoren gibt. Ihre jährliche Inzidenz beträgt 3 Erkrankungen pro 100000 Einwohnern, womit die CLL die häufigste Leukämie der westlichen Hemisphäre darstellt. Die CLL gilt als Leukämie des höheren Lebensalters, da das Durchschnittsalter bei Diagnose 60 Jahre und mehr beträgt. Männer erkranken häufiger als Frauen (1,7:1). Das klinische Bild ist geprägt durch die Akkumulation immuninkompetenter B-Lymphozyten im peripheren Blut, im Knochenmark, im lymphatischen Gewebe und in Leber und Milz, sowie durch die zunehmende Insuffizienz der normalen Hämatopoese bei fortschreitender Erkrankung.

Die Erkrankung verläuft sehr unterschiedlich; sehr langsam verlaufende Formen mit guter Prognose und annähernd normaler Lebenserwartung bis hin zu rasch progredienten Verlaufsformen mit schlechter Prognose sind zu beobachten [132]. So dass sich die Überlebenszeit nach Diagnosestellung von ein paar Monaten bis zu über 20 Jahren erstrecken kann.

Die bisherige Einteilung anhand klinischer und laborchemischer Parameter nach Binet und Rai wurde in den letzten Jahren durch zusätzliche Parameter (Knochenmarkshistologie, Lymphozytenverdoppelungszeit, bestimmte zytogenetische Aberrationen und Serumparameter) ergänzt, wodurch die individuelle Prognose bezüglich Krankheitsprogression beziehungsweise Therapienotwendigkeit, insbesondere in frühen Stadien der Erkrankung, besser vorhergesagt und eingeschätzt werden kann.

1.1 Grundzüge der chronischen lymphatischen Leukämie

1.1.1 Inzidenz und Epidemiologie

Die chronische lymphatische Leukämie vom B-Zelltyp ist mit einer Inzidenz von ca. 3 Fällen pro 100000 Einwohnern pro Jahr das häufigste Non-Hodgkin-Lymphom in der westlichen Welt. Sie stellt mit einem Anteil von 30% die häufigste Leukämieform des Erwachsenenalters in den USA und in Europa dar [44].
Die Erkrankungshäufigkeit steigt mit höherem Alter rasch an. Das mediane Alter bei Erstdiagnose liegt über 60 Jahren [59]. Eine Erkrankungsmanifestation vor dem 40. Lebensjahr ist selten, auch wenn in den letzten Jahren der Anteil an jüngeren Patienten mit CLL gestiegen ist [48]. Dies wird am wahr-scheinlichsten auf häufigere routinemäßige Blutbilduntersuchungen bei jüngeren Patienten zurückgeführt. Männer erkranken häufiger als Frauen (Verhältnis 1,2-2 : 1) [65]. Die Inzidenz weist geographische Unterschiede auf und zeigt eine Erkrankungshäufigkeit in China und Japan von nur 10 % der westlichen Inzidenzrate [138].

1.1.2 Ätiologie

Die Ätiologie der CLL ist unklar. Bisher konnte noch kein Virus oder Onkogen nachgewiesen werden, das für die Entstehung der chronischen lymphatischen Leukämie verantwortlich gemacht werden könnte [104]. Laut einigen Studien wurde bei in der Landwirtschaft tätigen Personen, bei Arbeitern in der gummiverarbeitenden Industrie sowie bei Personen mit hoher Exposition gegenüber Benzenen und Pestiziden eine erhöhte Inzidenz beobachtet; es konnte jedoch kein kausaler Zusammenhang gefunden werden [126]. Ionisierende Strahlen scheinen keine Rolle bei der Entstehung der CLL zu spielen [12]. Die niedrige Inzidenz in Asien und bei Nachkommen von japanischen US-Emigranten weist auf genetische Faktoren hin [59]. Das Erkrankungsrisiko ist innerhalb einer Familie um das 2-7- fache erhöht, wenn

ein Verwandter ersten Grades an einer CLL erkrankt ist [30]. Die DNA Analyse bei an CLL erkrankten Zwillingen ergab, dass die B-CLL-Zellen genetisch verschieden waren, d.h. die Erkrankung von beiden Zwillingen jeweils erworben war [14].

1.1.3 Pathogenese

Bei den CLL-Lymphozyten handelt es sich um eine monoklonale Expansion funktionell minderwertiger Zellen, die in 95 % der Fälle der B-Zellreihe angehören [49]. Die Zellen sind charakterisiert durch eine verlängerte Überlebenszeit und eine niedrige Proliferationsrate [138]. Die meisten CLL-Zellen können der G_0- oder der G_1- Phase zugeordnet werden [17]. Ihrem Reifungsgrad entsprechend werden sie zwischen den Prä-B-Zellen und den reifen B-Zellen angesiedelt. Im peripheren Blutausstrich sehen die CLL-Zellen wie reife Lymphozyten aus [126], aufgrund ihrer verlängerten Überlebenszeit kommt es zu einer Akkumulation im Knochenmark, im peripheren Blut und in lymphatischen Organen (Lymphknoten, Milz). Diese Akkumulation führt einerseits zur Organvergrößerung (Lymphknotenschwellung, Splenomegalie), andererseits zur Verdrängung der normalen Hämatopoese, so dass es im Verlauf der Erkrankung zu Anämie, Thrombozytopenie und Neutropenie als Ausdruck der Knochenmarksinsuffizienz kommt [44]. Ein weiteres Merkmal der CLL-Lymphozyten ist ihre erheblich eingeschränkte Immunglobulinproduktion, weswegen tödlich verlaufende Infektionen aufgrund des Antikörpermangel-syndroms und der Neutropenie keine Seltenheit sind [65]. Hierbei konnte eine Korrelation zwischen der Ausprägung der Hypogammaglobulinämie und dem Krankheitsstadium festgestellt werden [138].

1.1.4 Zytogenetik

Mit neu entwickelten Untersuchungsmethoden wie der Fluoreszenz in Situ Hybridisation konnten in den letzten Jahren vermehrt numerische und strukturelle chromosomale Aberrationen nachgewiesen werden, so dass bei Patienten mit CLL in bis zu 80 % der Fälle zytogenetische Aberrationen gefunden wurden [41]. Mit konventionellen zytogenetischen Nachweis-

methoden wie der klassischen morphologischen Chromosomenanalyse (G-Banding) wurden hingegen nur in etwa 50 % chromosomale Aberrationen gefunden [70]. Es wurde jedoch bisher kein zytogenetischer Befund identifiziert, der für die CLL spezifisch ist [132].

Patienten mit einem normalen Karyotyp haben eine bessere Überlebens-wahrscheinlichkeit (15 Jahre) als CLL-Patienten mit einer klonalen Chromosomenaberrration (7,7 Jahre) [70].

Frühere Studien ergaben, dass die Trisomie 12 (19 % der untersuchten Fälle) die häufigste chromosomale Aberration darstellt, gefolgt von strukturellen Aberrationen am Chromosom 13 (10%) und Chromosom 14 (8%) [46,148]. Neuere Studien, wie zum Beispiel die Heidelberger „Interphase cytogenetic" Studie, zeigen, dass strukturelle Anomalien im Bereich des Chromosoms 13 mit 53 % die häufigsten chromosomalen Aberrationen waren. Bei etwa 19 % wurde eine Deletion am Chromosom 11q 22.3-q23.1 nachgewiesen, bei nur 15 % eine Trisomie 12, bei 9 % eine Deletion an 6q 21 und in 8 % der Fälle eine Deletion des p53-Genes (del(17p13)) [41]. Döhner et al. führen die unterschiedlichen Häufigkeiten in den einzelnen Studien nicht auf eine unterschiedliche Patientenauswahl zurück, sondern sehen die Ursache wesentlich im Methoden-Ansatz („metaphase versus interphase cytogenetic analysis"). Sie sind der Meinung, dass mit der zytogenetischen Interphasenanalyse die wahre Inzidenz von chromosomalen Aberrationen erkannt wird. Der Mechanismus, durch den die maligne Transformation herbeigeführt wird, ist noch unentdeckt [88].

1.1.5 Immunologie

Im Unterschied zu normalen peripheren Lymphozyten exprimieren B-CLL-Zellen nur sehr geringe Mengen an Oberflächenmembranimmunglobulinen (SmIg), meistens IgM mit oder ohne IgD, und wegen ihrer Monoklonalität nur einen Leichtkettentyp, entweder Kappa oder Lamda. Da die B-CLL einen charakteristischen Immunphänotyp hat, kann sie von anderen hämatologischen Erkrankungen unterschieden werden. Folgende Pan-B-Antigene und Aktivierungsantigene können nachgewiesen werden: HLA-Klasse-II-Antigene, CD 19, CD 20, CD 21, CD 24 und CD 5, CD 23, CD 25, CD 71, B 5 und B 7.

Das CD 5 Antigen bzw. die CD 5-positiven B-Zellen sind charakteristisch für B-CLL-Zellen. Ursprünglich wurde das CD 5-Antigen als Pan-T-Zellmarker eingestuft, es kommt jedoch physiologischerweise auch bei fetalen B-Zellen und bei Erwachsenen-Lymphozyten aus der Milz und aus der Mantelzone des Lymphknotens vor [16,44,104,126]. Ein weitere Eigenschaft der CD 5-positiven CLL-Zelle ist ihre Fähigkeit, Zytokine (TNF-α, IL-1, TGF-β und IL-6) zu produzieren und zu sezernieren [142].

1.1.6 Diagnose

Folgende minimale Diagnosekriterien sollen nach Empfehlungen der „National Cancer Institute-Sponsored Working Group“ (NCI/ WG) [19] und der „German CLL Cooperative Group“ vorliegen, um die Diagnose einer CLL zu sichern.

- Lymphozytose im peripheren Blut mit > 5000 Zellen/ µl

- Nachweis des charakteristischen Immunphänotyps einer B-CLL-Zelle:

    - schwache Ausprägung membranständiger Immunglobuline (meist IgM mit oder ohne IgD)
    - Leichtkettenrestriktion (λ oder κ), vorzugsweise mittels Doppelmarkierung von CD 19/ Kappa oder CD 19/ Lambda
    - Koexpression typischer B-Zellmarker (CD 19, CD 20 und CD 23) und des T-Zellmarkers (CD 5)
    - fehlende Expression des Oberflächenantigens FMC7

- Im Blutausstrich sollte das Bild von kleinen, morphologisch reif wirkenden Lymphozyten bestimmt sein.

Damit kann die Diagnose an Hand des Blutbildes, des Differentialblutbildes und der durchflusszytometrischen Immunphänotypisierung der peripheren Lymphozyten gestellt werden.
Neben der minimalen Diagnosesicherung werden noch weitere Untersuchungen zur genaueren Einschätzung der Prognose und des Krankheits-

stadiums sowie der Erfassung von Begleiterkrankungen und Komplikationen empfohlen:

a.) Anamnese und körperliche Untersuchung mit Erhebung des Lymphknotenstatus
b.) Knochenmarkbiopsie
    Die histologische Knochenmarkuntersuchung mit Gewinnung der Knochenmarkzytologie und -histologie wird für die Diagnosesicherung der CLL im allgemeinen nicht mehr gefordert. Sie liefert aber wertvolle Anhaltspunkte bezüglich des zu erwartenden Krankheitsverlaufes und des Therapieeffektes. Eine rein noduläre/ nicht diffuse Infiltration des Knochenmarkes durch die CLL ist mit einer günstigeren Prognose verbunden als ein diffuses/ nicht noduläres Infiltrationsmuster.
c.) Röntgen-Thorax in zwei Ebenen und Sonographie des Abdomens
d.) Laborparameterbestimmung: Kreatinin, Harnsäure, Transaminasen, Bilirubin, Albumin, Gesamteiweiß, Serum-Thymidinkinase, β_2-Mikroglobulin und LDH
e.) quantitative Bestimmung der Immunglobuline und Serum-Elektrophorese
f.) Immunelektrophorese, Coombs-Test
g.) zytogenetische Untersuchung der Tumorzellen
h.) histologische Untersuchung eines befallenen Lymphknotens

1.1.7 Stadieneinteilung

Die Stadieneinteilung nach Binet bzw. Rai ermöglicht es, den sehr heterogenen Krankheitsverlauf der chronischen lymphatischen Leukämie in prognostische Subgruppen zu gliedern. Die Subgruppen mit unterschiedlicher Prognose werden anhand folgender Kriterien eingeteilt: Hämoglobinwert, Thrombozyten-wert, Lymphknotenstatus, Hepato-und Splenomegalie. Die übersichtlichere Einteilung nach Binet unterscheidet drei Gruppen und ist in Europa am gebräuchlichsten [10]. Die Klassifikation nach Rai [127], die vorwiegend in Nordamerika verwendet wird, war ursprünglich in fünf verschiedene

Prognosegruppen gegliedert und wurde später von Rai modifiziert. Sie besteht nun aus drei Gruppen mit unterschiedlicher Prognose.
Die mittlere Lebenserwartung von Patienten im Binet-Stadium A beträgt über 10 Jahre, im Binet-Stadium B ca. 5-7 Jahre und im Binet-Stadium C ungefähr 2 Jahre.

Einen besonderen Stellenwert hat die sogenannte „Smoldering-CLL“, eine Sonderform des Stadiums A nach Binet. Sie stellt eine prognostisch besonders günstige Verlaufsform dar, mit nahezu gleicher Lebenserwartung wie die altersadaptierter Kontrollgruppen.
Die sogenannte „Smoldering-CLL“ kann mittels folgender Kriterien (von Montserrat et al. aus dem Jahre 1988 und von der French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukaemia aus dem Jahre 1990) abgegrenzt werden:

Montserrat et al. [107]:

- Binet Stadium A
- nicht-diffuse Knochenmarkinfiltration
- Hb $\geq$ 13 g/ dl
- periphere Blutlymphozyten < 30000/ µl
- Lymphozytenverdopplungszeit > 12 Monate

French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukaemia [50]:

- Hb $\geq$ 12g/ dl
- periphere Blutlymphozyten < 30000/ µl
- lymphatische Zellen im Knochenmark < 80%
- beteiligte Lymphknoten < 2

Etwa ein Drittel der Patienten in Stadium A nach Binet können der „Smoldering CLL“ zugeordnet werden.

1.1.8 Klinische Symptome und Krankheitsverlauf

Entsprechend dem sehr unterschiedlichen Krankheitsverlauf findet man bei den klinischen Symptomen ein weit gefächertes Spektrum. 40-60 % der CLL-

Patienten sind initial asymptomatisch. Als einzige Auffälligkeit wurde während einer Routineblutuntersuchung eine Lymphozytose festgestellt. Andere Patienten suchen einen Arzt wegen einer schmerzlosen Lymphknoten-schwellung oder wegen eines ungeklärten Gewichtsverlustes, unklarem Fieber oder Nachtschweiß auf. Die klinischen Symptome weisen eine Stadien-abhängigkeit auf. Da mit fortschreitender Erkrankung die Tumorzellmasse steigt, wird die normale Hämatopoese immer mehr verdrängt. Dadurch kommt es zur hämatopoetischen und immunologischen Insuffizienz, die sich klinisch in der Neigung zu bakteriellen und/ oder viralen Infektionen, sowie in Autoimmunphänomenen wie der AIHA manifestiert. Infektionen, Blutungen und Tumorkachexie stellen die häufigste Todesursache bei CLL-Patienten dar [126]. Die Transformation der CLL in eine aggressivere Form ereignet sich selten, dann meistens in ein Richter-Syndrom oder eine Prolymphozyten-leukämie, zu einem noch geringeren Anteil in eine akute lymphoblastische Leukämie oder ein multiples Myelom [46]. Travis et al. zeigten in einer Studie mit 9456 Patienten, dass CLL-Patienten im Vergleich zur Normalbevölkerung ein 28% höheres Risiko haben, an einer Zweitneoplasie zu erkranken. Am häufigsten wurden maligne Melanome, Bronchialkarzinome und cerebrale Tumore gefunden [151]. Im Rahmen der B-CLL werden häufig Autoimmunphänomene beobachtet. Sie werden auf eine gestörte T-Zell-Regulation zurückgeführt, sowie auf die, die Hämolyse auslösenden, polyklonalen IgG-Autoantikörper, die von normalen B-Zellen mit gestörter Funktion produziert werden. Man beobachtet autoimmunhämolytische Anämien in 20% der Fälle, Immunthrombozytopenien in 2% der Fälle und seltener die Pure-red cell-Aplasie oder Granulozytopenien [80].

1.2 Therapie

1.2.1 Therapieindikationen

Da sich die Therapiemöglichkeiten in den letzten Jahren vervielfältigt haben, können momentan keine verbindlichen Therapieempfehlungen gegeben

werden. Deshalb sollte jede Therapieentscheidung möglichst im Rahmen von klinischen Studien getroffen werden, damit die effektivste Therapie der CLL in absehbarer Zeit evaluiert werden kann. Man hofft den bisher palliativen Charakter der CLL-Therapie, die eine Verbesserung der Lebensqualität und eine Verlängerung des Lebens als oberstes Ziel hatte, in Richtung Heilung durch neue Therapieansätze (Hochdosischemotherapie mit Stammzell- oder Knochenmarktransplantation) zu verändern.

Nach der Diagnosestellung steht der behandelnde Arzt vor mehreren Entscheidungen. Er muss nicht nur entscheiden, ob eine Indikation zur Behandlung besteht, sondern auch, zu welchem Zeitpunkt gegebenenfalls therapiert werden muss und welche Therapiemöglichkeit individuell die beste ist.

Zur Auswahl stehen im Moment drei wesentliche Möglichkeiten: watch and wait (d.h. keine medikamentöse Therapie, sondern reine Beobachtung), konventionelle Chemotherapie oder Hochdosischemotherapie mit Stammzell- oder Knochenmarkstransplantation in kurativer Absicht.

Eine Indikation zur Einleitung einer Therapie besteht bei einer aktiven Erkrankung, wenn meist mehrere oder auch nur einer der folgenden Krankheitsparameter zu finden sind [104]:

- krankheitsspezifische Symptome (z.B. Fieber unklarer Ursache, unbegründeter Gewichtsverlust, Nachtschweiß, starker Leistungsabfall)
- umfangreiche oder progrediente Lymphadenopathie oder Splenomegalie (eventuell mit lokalen Kompressionssyndromen, Schmerzen oder Hypersplenismus)
- zunehmende Knochenmarkinsuffizienz und dadurch Zunahme der Anämie oder der Thrombozytopenie
- Autoimmunhämolytische Anämie oder Immunthrombozytopenie (ohne Ansprechen auf Cortikosteroide)
- Hyperleukozytose mit Gefahr eines Hyperviskositätssyndroms
- kurze Lymphozytenverdoppelungszeit

Des weiteren spielen bei der Therapieentscheidung Kriterien wie Alter und Begleiterkrankungen, Krankheitsstadium oder Krankheitsaktivität (ungünstige Prognosefaktoren, Progression) eine Rolle.
Außerhalb von klinischen Studien gelten folgende Empfehlungen zur Therapie der CLL:
Patienten im Stadium A nach Binet brauchen in der Regel keine Therapie, sondern sollten in regelmäßigen Abständen beobachtet werden. Ebenso Patienten im Stadium B nach Binet ohne Krankheitssymptome. Eine Therapie sollte bei Patienten im Stadium C nach Binet und Patienten im Stadium B, sofern sie behandlungsbedürftige Symptome oder eine rasche Progression aufweisen, eingeleitet werden [44].

Chemotherapie

Chlorambucil:
Chlorambucil ist eine alkylierende Substanz, die oral verabreicht und in der Regel gut vertragen wird. Sie galt bisher für CLL-Patienten in fortgeschrittenen Krankheitsstadien als primäre Standardtherapie [157]. Die gängige Kombination von Chlorambucil mit Prednison zeigte gegenüber der Monotherapie keinen Vorteil, einzige Ausnahme: beim Auftreten autoimmunhämolytische Komplikationen [23]. Unter Chlorambucil werden bei nicht vorbehandelten Patienten Remissionsraten zwischen 30% und 70% beobachtet. Die Remissionen sind in der Mehrzahl der Fälle per definitionem partiell (komplette Remissionen ≈3%) und meistens von kurzer Dauer [141] (Definition der kompletten bzw. partiellen Remission siehe Anhang).

Fludarabin:
Fludarabin gehört in die Gruppe der Purinanaloga und ist deren bekanntester Vertreter. Zwar können noch keine sicheren Aussagen bezüglich des Gesamtüberlebens unter Fludarabin-Therapie gemacht werden, als Monotherapie erzielt Fludarabin jedoch im Vergleich zur Einzeltherapie mit Alkylanzien öfters komplette Remissionen, die noch dazu von längerer Dauer sind [123,125]. Bei nicht vorbehandelten Patienten wurden unter Fludarabin Ansprechraten von etwa 80 % beobachtet, wobei die kompletten Remissionen cirka ein Drittel

ausmachten [76,78]. Die gravierendste Nebenwirkung von Fludarabin ist die Knochenmarktoxizität mit Neutropenie und Lympho-zytopenien, welche besonders die CD4 positiven T-Helferzellen betreffen, und das dadurch erhöhte Risiko von Infektionen. Extrem selten trat ein Tumor-Lyse-Syndrom unter der Therapie mit Fludarabin auf [20]. Eine weitere, allerdings seltene Nebenwirkung scheint die therapie-assoziierte Autoimmunzytopenie zu sein [67].

Strahlentherapie

Die Bestrahlung wird zur palliativen Therapie bei sehr großer und/ oder symptomatischer Lymphadenopathie oder bei Splenomegalie eingesetzt. Als experimentellen Ansatz versteht man den Einsatz der Ganzkörperbestrahlung, die im Rahmen von klinischen Studien als myeloablative Radiochemotherapie mit Stammzelltransplantation durchgeführt wird. Hierbei gilt ein kurativer Therapieansatz, der aber noch in weiteren Studien geklärt werden muss.

Splenektomie

Bei massiver Splenomegalie mit assoziierter Thrombozytopenie und Neutropenie und bei autoimmmunhämolytischer Anämie oder Thrombozytopenie nach Versagen medikamentöser Therapien ist als einzige chirurgische Maßnahme die Splenektomie indiziert. Eine 3-Jahresüberlebensrate von 31% bei den splenektomierten Patienten gegenüber einer 3-Jahresüberlebensrate von 12% bei einem Fallkontroll-Kollektiv weist auf eine längere Überlebenstendenz bei den operierten Patienten hin [145].

Supportive Maßnahmen

Infektprophylaxe

Eine der Hauptkomplikationen der CLL sind Infektionen. Für das Infektionsrisiko spielt der Grad der Hypogammaglobulinämie neben T-Zelldefekten eine entscheidende Rolle [93]. Man beobachtet ein unterschiedliches Erregerspektrum, wenn mit Alkylanzien oder mit Purinanaloga therapiert wird [3,109]. In einer placebokontrollierten Studie konnte bei CLL-Patienten mit

Hypogammaglobulinämie gezeigt werden, dass durch die Gabe von Immunglobulinen zwar nicht das Gesamtüberleben, wohl aber die Häufigkeit von bakteriellen Infekten positiv beeinflusst wurde [25].

Erythropoetin

Ob tumorbedingte Anämien in Zukunft mit Erythropoetin behandelt werden sollen, muss in weiteren klinischen Studien überprüft werden. Neuere Ergebnisse zeigen, dass Erythropoetin den Hämatokrit erhöht und die Patienten dadurch eine bessere Lebensqualität haben [124].

Neue Therapieansätze

Hochdosistherapie mit Stammzellentransplantation

Mit der myoablativen Hochdosis-(Chemo)-Therapie und anschließender autologer oder allogener Stammzellentransplantation ist eventuell ein kurativer Behandlungsansatz gefunden worden. Da es sich um ein Therapieverfahren handelt, welches teilweise noch experimentellen Charakter hat, sollte es ausschließlich im Rahmen von klinischen Studien angewandt werden [43,92,155].

Monoklonale Antikörper

Eine weitere Möglichkeit zur remissionserhaltenden Therapie der CLL scheint der Antikörper Rituximab zu sein, der gegen einen typischen B-Zellmarker (CD 20) gerichtet ist. Seither wird er in der Therapie bei rezidivierenden niedrigmalignen Non-Hodgkin-Lymphomen mit guten Ansprechraten eingesetzt. Er zeigt aber auch Wirksamkeit als Monotherapie bei der CLL. Aufgrund seiner Nebenwirkungen, die von unspezifischen Reaktionen (Schüttelfrost, Fieber, Übelkeit und Erbrechen) bis hin zu lebensbedrohlichen Zuständen reichen, sollte die Anwendung von Rituximab nur im Rahmen von klinischen Studien erfolgen, um eine möglichst genaue Überwachung und Dokumentation der Patienten zu haben bzw. um an möglichst viele Informationen bezüglich Verträglichkeit und optimaler Verabreichung zu kommen [66,158].
Ein weiterer Antikörper, der erste Therapieerfolge bei der CLL zeigte [116] und derzeit ebenfalls in klinischen Studien geprüft wird (im CLL4B-Protokoll der DCLLSG), ist der Antikörper CAMPATH-1H. Er ist gegen Antigen CD 52

gerichtet, das von fast allen CLL-Zellen sowie von normalen B-und T-Zellen exprimiert wird. Da bei der Behandlung somit B-und T-Zellen zerstört werden, hat der Patient hauptsächlich mit folgenden Nebenwirkungen zu kämpfen: starke Lymphopenie mit erhöhtem Infektionsrisiko, Neutropenie und Thrombozytopenie [149].

1.3 Prognosefaktoren

Krankheitsverlauf und Prognose können durch die Einteilung nach Binet [10] und Rai [127], vor allem bei jüngeren Patienten in frühen Krankheitsstadien (Binet-Stadium A, Rai-Stadium 0-II) nur grob abgeschätzt werden. Deshalb wurde nach zusätzlichen prognostischen Faktoren gesucht, die unabhängig vom Krankheitsstadium den Krankheitsverlauf vorher sagen können.

1.3.1 Lymphozytenverdoppelungszeit

Unter der Lymphozytenverdoppelungszeit versteht man die Zeitdauer, in der sich die absolute Lymphozytenzahl im Blut verdoppelt. In einigen Studien wurde gezeigt, dass Patienten mit einer Lymphozytenverdoppelungszeit von weniger als 12 Monaten einen aggressiveren Krankheitsverlauf und eine schlechtere Überlebenschance hatten, als Patienten mit einer längeren LVZ [94,98,101,105]. Obwohl die LVZ nicht gleich zum Zeitpunkt der Diagnosestellung vorliegt, stellt sie einen einfach zu bestimmenden und verlässlichen Parameter dar, der innerhalb kurzer Zeit ermittelt werden kann.

1.3.2 Knochenmarkuntersuchung

Bei der Knochenmarksuntersuchung können vier verschiedene Infiltrations-muster unterschieden werden: nodulär, interstitiell, gemischt (nodulär und interstitiell) und diffus [64]. Diese vier verschiedenen Infiltrationsmuster wurden bezüglich ihrer Prognoseprädiktion in zwei große Gruppen unterteilt: diffuses und nicht-diffuses Infiltrationsmuster [86,89,102,131]. Rozman und Montserrat [132] zeigten, dass Patienten, die ein diffuses Infiltrationsmuster aufzeigten,

eine mittlere Überlebenszeit von 4 Jahren hatten, wohingegen Patienten mit einem nicht-diffusen Infiltrationsmuster eine mittlere Überlebenszeit von 14 Jahren aufwiesen. Das Infiltrationsmuster bei der Knochenmarkbiopsie korreliert gewöhnlich mit dem Krankheitsstadium. Das heißt ein diffuses Infiltrationsmuster wird meistens bei fortgeschrittener Krankheit gefunden, wohingegen eine nicht-diffuse Infiltration des Knochenmarkes in frühen Krankheitsstadien die Regel ist [62]. In diesem Zusammenhang sollte man berücksichtigen, dass Patienten, die in frühen Krankheitsstadien ein diffuses Infiltrationsmuster besitzen, schneller progredient werden [118]. Vergleicht man die prognostische Aussagekraft des Infiltrationsmusters der Knochenmarkbiopsie mit dem Ausmaß der lymphozytären Infiltration eines Knochenmarkaspirates, so weisen beide Verfahren prognostische Prädiktionen auf. Die Knochenmarkhistologie scheint jedoch der verlässlichere Parameter zu sein [106].
Die Knochenmarkuntersuchung spielt nicht nur bei der Risikoabschätzung bei Diagnosestellung eine Rolle, sondern auch bei der Beurteilung des Ansprechens auf eine Chemotherapie. Sie wurde deshalb als ein Kriterium in die Richtlinien für eine komplette Remission der NCI-Sponsored Working Group aufgenommen [19].

1.3.3 Hämatologische Parameter

Während des natürlichen Verlaufs der CLL kommt es zu einem Rückgang der korpuskulären, nicht lymphoiden Blutbestandteile. Dies führt zur Anämie und zur Thrombozytopenie, deren prognostische Bedeutung in den gängigen Stadieneinteilungen nach Binet oder Rai eingeschlossen sind.
Die **Lymphozytenzahl** im peripheren Blut spiegelt die Tumormasse wieder und ist dadurch ein guter Indikator, um den Krankheitsverlauf abzuschätzen. Sehr früh schon wurde eine große Lymphozytenanzahl mit einer schlechten Prognose assoziiert [31,51,63]. Besonders in sehr frühen Krankheitsstadien können Patienten anhand der Lymphozytenzahl in zwei Subgruppen, solche mit guter Prognose (Lymphozyten < 40000-50000/µl) und welche mit schlechter Prognose (Lymphozyten > 40000-50000/µl) unterteilt werden [4,133].

Da die **Morphologie der Lymphozyten** bei der CLL sehr vielfältig ist, wurde versucht, einzelne morphologische Subgruppen mit unterschiedlicher Prognose zu bilden [53,113]. Da es Untersucher- und Methoden- bedingte Unstimmigkeiten zwischen den einzelnen Studien gab, einigte man sich darauf, dass eine zunehmende Zahl großer, unreif erscheinender Lymphozyten (Prolymphozyten) mit einem fortgeschrittenen Krankheitsstadium und einer geringeren Lebenserwartung assoziiert ist [103].
Ein weiterer unabhängiger Parameter für eine schlechte Prognose stellt der Anstieg der relativen (>5-15%) bzw. der absoluten (5-15x10^9/l) **Prolymphozyten** dar [91,153].

1.3.4 Klinische Parameter

Eine sorgfältig erhobene Anamnese sowie eine ausführliche körperliche Untersuchung geben wichtige Informationen über den Krankheitszustand und weisen den Weg zu einer individuellen Therapieentscheidung. In allen gängigen Klassifikationsschemata sind deshalb klinische Parameter wie Anzahl der Lymphknotenvergrößerungen, Hepatomegalie und Splenomegalie vertreten. Es wurde nachgewiesen, dass Männer ein höheres Risiko für einen aggressiveren Krankheitsverlauf haben als Frauen. Es konnten bisher jedoch dafür keine Gründe gefunden werden [18,87,101]. In einigen Studien konnte gezeigt werden, dass ein höheres Lebensalter mit einer schlechten Prognose assoziiert ist [18,85,87]. Die French Cooperative Group on CLL maß den Faktoren Alter und Geschlecht keine prognostische Aussagekraft zu, da diese ihrer Meinung nach keinen CLL-spezifischen Einfluss auf das Gesamtüberleben hätten [50]. Mauro et al. zeigten, dass jüngere CLL-Patienten keinen allgemeinen Überlebensvorteil gegenüber älteren Patienten aufweisen, sondern eine ähnliche Überlebenswahrscheinlichkeit haben. Die Diagnose CLL stellt für jüngere Patienten sogar einen belastenderen Faktor für ihre Lebenserwartung dar. Denn Todesursachen, die direkt auf eine Progression der CLL zurückzuführen sind, tauchen signifikant öfters in der Gruppe der jüngeren CLL-Patienten auf. Überprüft man die relative Überlebens-wahrscheinlichkeit zwischen den beiden Gruppen, wirkt sich die Krankheit bei den jüngeren Patienten stärker auf das Überleben aus, als dies bei den älteren Patienten der

Fall ist [90]. Jedoch können die etablierten Prognosefaktoren ohne Beachtung des Parameters Alter angewendet werden, was in einigen Studien belegt wurde [36,95,117]. Ein weiterer Parameter, der Einfluss auf die Prognose nimmt, scheint der körperliche Allgemeinzustand zu sein [50,85]. Das initiale Ansprechen auf die Chemotherapie scheint ein positives Zeichen für die Überlebenswahrscheinlichkeit darzustellen wie Catovsky et al. in ihrer Studie zeigten [18].

1.3.5 Zytogenetik

Juliusson et al. zeigten, dass CLL-Patienten mit einem normalen Karyotyp eine bessere Überlebenswahrscheinlichkeit (Median 15 Jahre) haben als CLL-Patienten mit einer klonalen Chromosomenaberrration (Median 7,7 Jahre) [70]. Oscier et al. hingegen konnten nur bezüglich des therapiefreien Intervalls einen Unterschied zwischen Patienten mit chromosomalen Aberrationen versus normalem Karyotyp aufweisen. Ein abnormer Karyotyp beeinflusste das Gesamtüberleben in ihrer Studie nicht [114].
Mit der klassischen morphologischen Chromosomenanalyse wurde die Trisomie 12 als die häufigste Abnormalität identifiziert [68]. Ihre prognostische Aussagekraft wurde jedoch unterschiedlich bewertet [11,70,115,121]. Strukturelle Veränderungen des Chromosoms 13 können als prognostisch günstig gewertet werden. Patienten mit diesem zytogenetischen Befund zeigten für gewöhnlich einen stabilen Krankheitsverlauf und ein annähernd gleiches Gesamtüberleben wie Patienten mit einem normalen Karyotyp [69,70]. Mit einer schlechteren Überlebenswahrscheinlichkeit verknüpft scheinen folgende chromosomale Veränderungen zu sein: Deletionen am langen Arm des Chromosoms 11 und Abnormalitäten des Chromosoms 17.
Neilson et al. zeigten, dass eine chromosomale Veränderungen am Chromosom 11 mit einem raschen Krankheitsfortschritt und einem kürzeren Gesamtüberleben vergesellschaftet ist [111]. Auch Döhner et al. bestätigten in ihrer Studie mit 214 CLL-Patienten, dass eine Deletion am langen Arm des Chromosoms 11 einen unabhängiger Prognosefaktor darstellt, der mit einem schellen Fortschreiten der Krankheit und einem kürzeren Gesamtüberleben assoziiert ist. Charakteristisch für Patienten mit 11q Deletion scheint zu sein,

dass sie jünger sind als andere CLL-Patienten, sich meist in einem fortgeschrittenen Krankheitsstadium mit ausgeprägter Lymphadenopathie befinden und ein kürzeres therapiefreies Intervall aufweisen (9 Monate versus 43 Monate; $p<0.001$). Der prognostische Effekt dieser chromosomalen Aberration scheint jedoch sehr stark vom Alter abzuhängen und zeigte signifikante Unterschiede bezüglich des medianen Überlebens nur in der Altersgruppe der unter 55 Jährigen [42]. In der Interphasen-Zytogenetik (FISH) wurde bei jungen CLL-Patienten eine 11q22.3-q23.1 Deletion als ein aussagekräftiger und wichtiger Parameter für das Überleben angesehen [41].
Abnormalitäten des Chromosoms 17 sind verbunden mit einem kürzeren Gesamtüberleben, wie in einer Studie mit 480 unbehandelten Patienten von Geisler et al. analysiert wurde [52]. In einer weiteren Studie konnte bestätigt werden, dass eine Deletion von 17q einen signifikanten unabhängigen Prognosefaktor darstellt [40].
Unter den CLL-Patienten kommt es zu einer Expression des p53 Gens in 15% der Fälle. Dies gilt als Marker für eine schlecht Prognose und ein ungenügendes Ansprechen auf Therapie [26]. Döhner et al. zeigten in einer Studie, in der sie die Häufigkeit und die prognostische Relevanz einer Deletion des p53 Gens untersuchten, dass das Vorhandensein der Deletion einen starken Einfluss auf den klinischen Verlauf der Krankheit hat. Patienten mit einer p53 Deletion hatten ein signifikant kürzeres Überleben und zeigten ein schlechteres Ansprechen auf die Therapie mit Purinanaloga. Eine Deletion des p53 Gens war (in ihrer multivariaten Analyse) der stärkste unabhängige prognostische Faktor für das Gesamtüberleben, gefolgt von etablierten Faktoren wie Alter, Rai-Klassifikation und Hämoglobinlevel [39].

1.3.6 Serumparameter

Auf der Suche nach weiteren Möglichkeiten, die individuelle Prognose der CLL zusätzlich zu den beiden etablierten Stagingsystemen abzuschätzen, wurden einige Serumparameter hinsichtlich ihres prognostischen Wertes untersucht und bei manchen eine prognostische Aussagekraft nachgewiesen.
In einigen Studien wurde gezeigt, dass eine erhöhte Serumthymidinkinase ein hohes Risiko für eine Progression darstellt [54,57,58]. Ein weiterer

Serumparameter, dessen Wertigkeit für die Prognose bzw. das Überleben nachgewiesen wurde, ist das Serum-β_2-Mikroglobulin [77]. Des weiteren wurde gezeigt, dass eine positive Korrelation zwischen dem Serum-β_2-Mikroglobulin und beiden Stagingsystemen besteht [37].
In einer Studie unserer Arbeitsgruppe von 1996 wurden das Serum-β_2-Mikroglobulin und die Serumthymidinkinase als unabhängige prognostische Faktoren in bezug auf das progressionsfreie Überleben identifiziert [60].
Sarfati et al. berichteten 1988, dass das CLL-Serum bis zu 500 mal mehr sCD23 enthält als Kontrollseren [139]. Reinisch et al. wiesen darauf hin, dass ein erhöhter sCD 23-Level nicht nur charakteristisch für die B-CLL ist, sondern vermutlich auch einen Parameter für die Krankheitsaktivität darstellt [129]. Seitdem ist die prognostische Aussagekraft von sCD 23 in einigen multizentrischen Studien bestätigt worden [83,140].
Ebenfalls wurde ein erhöhter Wert für sIL-2R im Serum von CLL-Patienten nachgewiesen, dessen genaue Informationskraft für das Krankheitsbild CLL noch erörtert werden muss [32,144].
Weitere Serumparameter, die wenigstens in einer Studie ihre unabhängige prognostische Aussagekraft gezeigt haben, sind: LDH, alkalische Phosphatase Harnsäure und IgA [85,134].

1.4 Fragestellung und Zielsetzung der Studie

In der vorliegenden Studie sollte untersucht werden, in wie weit die Serumfaktoren sIL-2R, sCD 23, s-TK, s-β_2-Mikroglobulin und s-LDH zur Prognosebestimmung bei Patienten mit CLL zusätzlich zum Stadium nach Binet beitragen können. Des weiteren sollte die Korrelation der fünf Serumparameter untereinander geprüft werden. An Hand einzelner ausgewählter Patienten wird das Verhalten der Marker im Verlauf dargestellt.

2 Material und Methode

2.1 Studiendesign

In unsere prospektive Studie wurden insgesamt 79 Patienten (29 weibliche, 50 männliche, Altersmittelwert +/- SD 61,9 +/-10,76 Jahre) mit chronischer lymphatischer Leukämie vom B-Zelltyp aufgenommen und ihr Krankheitsverlauf in bezug auf das Gesamtüberleben und das progressionsfreie Überleben dokumentiert. Die mediane Beobachtungszeit lag bei 22,4 Monaten (mit einem Mittelwert von 25,6 Monaten und einer Standardabweichung von +/- 16 Monaten). Alle Patienten wurden in der Medizinischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität, Klinikum Innenstadt, Abteilung für Hämatologie, München behandelt.

2.2 Studienpopulation

2.2.1 Einschlusskriterien der Patienten

Die Studiengruppe setzte sich aus Patienten zusammen, die alle in der Medizinischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität, Klinikum Innenstadt, Abt. für Hämatologie, München behandelt wurden und folgende Kriterien erfüllten:

- histologisch, zytologisch oder immunphänotypisch gesicherte chronische lymphatische Leukämie vom B-Zelltyp (eine gesicherte T-CLL ist ein Ausschlusskriterium)
- falls eine Vortherapie (Chemotherapie, Radiatio oder Stammzell-transplantation) durchgeführt wurde, musste diese mindestens 2 Monate vor Studieneintritt abgeschlossen sein (Patienten, die mit Interferon behandelt wurden, gelten als nicht vorbehandelt).

2.2.2 Patientendaten

Altersverteilung

Das Studienkollektiv hatte einen Median von 61,0 Jahren mit einer Spannbreite von minimal 38 Jahren und maximal 87 Jahren.

Geschlechtsverteilung

In der Studiengruppe befanden sich 29 Frauen und 50 Männer.

Stadieneinteilung bei Studieneintritt

Binet-Klassifikation

Von den insgesamt 79 Patienten befanden sich 58 Patienten im Stadium A nach Binet (73,4%), 15 Patienten im Stadium B nach Binet (19 %) und 6 Patienten im Stadium C nach Binet (7,6 %).

Rai-Klassifikation

24 Patienten wurden dem Stadium 0 nach Rai (30,4%) zugeordnet, 17 Patienten dem Stadium I nach Rai (21,5 %), 29 Patienten dem Stadium II nach Rai (36,7 %), 4 Patienten dem Stadium III nach Rai (5,1 %), 5 Patienten dem Stadium IV nach Rai (6,3 %).

Modifizierte Rai-Klassifikation

Entsprechend der modifizierten Rai-Klassifikation wurden 24 Patienten (30,4%) dem Stadium „Niedriges Risiko“ zu geteilt, 46 Patienten (58,2%) dem Stadium „Intermediäres Risiko“ und 9 Patienten (11,4%) dem Stadium „Hochrisiko“.

Vortherapie

Falls eine Vortherapie (Chemotherapie, Radiatio oder Stammzelltrans-plantation) durchgeführt wurde, musste diese mindestens 2 Monate vor Studieneintritt abgeschlossen sein (Patienten, die mit Interferon behandelt wurden, gelten als nicht vorbehandelt).

Allgemeinbefinden

Um den Allgemeinzustand der Studienteilnehmer einzuteilen, wurde die WHO Skala für den Allgemeinzustand angewandt.

0= keine Symptome
I= hat Symptome, kann aber vollständig ambulant behandelt werden
II= benötigt Pflegehilfe, bettlägerig weniger als 50 % der Zeit
III= bettlägerig mehr als 50 % der Zeit
IV= vollständig bettlägerig

2.3 Laborchemische Bestimmung der Parameter

2.3.1 Probengewinnung

Die Probengewinnung in der gesamten Studienpopulation erfolgte im Rahmen der allgemeinen Laboruntersuchung während der jeweiligen routinemäßigen klinischen Kontrollen beim Besuch unserer hämatologischen Ambulanz

2.3.2 Probenlagerung

Die Weiterverarbeitung sämtlicher Proben erfolgte sofort nach ihrer Abnahme. Die Serumröhrchen zur Bestimmung von sIL-2R und sCD 23 wurden zentrifugiert, die Überstände abgenommen und in Reagenzgläser gegeben. Die Proben wurden anschließend bei -80°C eingefroren und dort bis zur Vermessung gelagert.

2.3.3 Soluble Interleukin-2-Rezeptor (sIL-2R)

Zur Messung der Proben verwendeten wir einen handelsüblichen Testkit (EIA sIL-2R) der Firma Immunotech/ Marseille/ Frankreich.

Testprinzip

Der verwendete Assay ist ein Sandwich-Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von löslichen Interleukin-2-Rezeptoren in humanem Plasma, Serum und Kulturüberstand. Die im Kit enthaltene Mikrotiterplatte ist mit monoklonalen Antikörpern gegen humanes sIL-2R beschichtet. Patienten-proben, Kontrollen und Standards werden zusammen mit im Überschuss befindlichen sIL-2R-Konjugat (alkalische Phosphatase-gekoppelte anti-sIL-2R-Antikörper) in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte pipettiert. Während der ersten Inkubation erkennen diese spezifischen Antikörper unterschiedliche Epitope der in den Proben vorliegenden sIL-2R-Molekülen und bilden einen sogenannten Sandwich-Komplex aus, der aus den beiden Antikörpern und dem eingeschlossenen sIL-2R besteht. Ungebundene Reaktionspartner werden in einem anschließenden Waschschritt entfernt. Zugegebenes Substrat, pNPP, wird anschließend vom gebundenen Enzym zu einem farbigen Endprodukt umgesetzt. Hierbei ist die Farbintensität zur Menge des sIL-2R in den Standards bzw. Proben proportional. Die Reaktion wird durch Zugabe der Stoplösung beendet. Anschließend wird die Absorption des farbigen Endprodukts bei 405 nm gemessen. Anhand der erstellten Standardkurve kann die sIl-2R-Konzentration der Patientenprobe ermittelt werden.

Methode

Vor Testbeginn werden alle Testkomponenten und eingefrorenen Proben auf Zimmertemperatur (24 +/-2 °C) gebracht und sorgfältig durchmischt. Die Erstellung der Standardreihe erfolgte gemäß den Herstellerangaben. Sie setzte sich somit aus den hergestellten Verdünnungen und dem sogenannten Masterstandard als höchstem Standard (G 400 pM) und dem Standard-/Proben- Verdünnungspuffer als 0-Standard (A 0 pM) zusammen. Im nächsten Schritt werden 50 µl der Standards, Kontrollen und Patientenproben in die entsprechenden Vertiefungen der Mikrotiterplatte pipettiert. Für jeden Standard, Kontrolle und Probe werden Doppelmessungen angelegt. Zur Vermeidung von Kontamination erfolgt dies unter Verwendung von Einweg-Pipettierspitzen. Nach Zugabe von 100 µl sIL-2R-Konjugat (alkalische Phosphatase-gekoppelte anti-sIL-2R-Antikörper) wird die gesamte Platte mit einer Klebefolie verschlossen und bei Raumtemperatur (24 +/-2°C) 120 Minuten auf einem Mikrotiterplattenschüttler bei 350 rpm inkubiert. Nach Ablauf der Inkubationszeit wird die Platte dekantiert und dreimal automatisch mit Waschlösung gewaschen. Durch Zugabe von 200 µl Substrat erfolgt der Start der Enzymreaktion nun wird die Platte erneut mit einer Klebefolie und zusätzlich mit einer lichtundurchlässigen Folie verschlossen und bei Raumtemperatur (24 +/- 2°C) 30 Minuten auf einem Mikrotiterplattenschüttler bei 350 rpm inkubiert. Durch Ansäuern mit 50 µl Stoplösung (1N NaOH Lösung) je Vertiefung wird diese Reaktion gestoppt. Bei konstanter Reaktionszeit ist die Farbintensität (gemessen in optischer Dichte OD) der Menge des sIL-2R in den Standards und Proben proportional. Die optische Dichte wird in einem Plattenphotometer bei einer Absorptions-wellenlänge von 405 nm innerhalb von 15 Minuten nach Zugabe der Stoplösung gemessen. Um die Auswertung der Ergebnisse durchzuführen, wird aus den Absorptionswerten der Standards eine Eichkurve erstellt. Diese wird benötigt, um die sIL-2R-Konzentrationen in den Patientenproben zu ermitteln. Dazu werden die Mittelwerte der Doppelbestimmung gegen die bekannten Konzentrationen der Standards aufgetragen. Die Erstellung der Standardkurve erfolgt durch die Auftragung der Werte der optischen Dichte auf der vertikalen (Y-) Achse gegen die entsprechenden sIL-2R-Konzentrationen auf der horizontalen (X-) Achse. Aus den Schnittpunkten der Absorptionswerte der unbekannten Patientenproben mit der Standardkurve können auf der

Abszisse die entsprechenden sIL-2R-Konzentrationen abgelesen werden. Die Ergebnisse werden in pMol/l angegeben.

Normwerte: 70 pM +/-45 (Aus: Testanleitung EIA sIL-2R, Firma Immunotech/ Marseille/ Frankreich)

2.3.4 Soluble CD 23

Zur Bestimmung der Serumkonzentration von sCD 23 verwendeten wir einen handelsüblichen Testkit (sCD 23 ELISA) der Firma Bender MedSystems/ Boehringer Ingelheim/ Heidelberg.

Reagenzien

- sCD 23-Mikrotiterplatte beschichtet mit monoklonalen Antikörpern gegen humanes sCD 23
- Enzym-markierte monoklonale Antikörper gegen sCD 23 (HRP-Konjugat)
- sCD 23 Standard, lyophilisiert
- Waschpuffer, 20-fach konzentriert
- Probenverdünnungspuffer
- TMB-Substratlösung enthält Tetramethylbenzidin mit Wasserstoffperoxid
- Stoplösung (0,18 M Schwefelsäure)

Testprinzip

Es handelt sich um einen Enzymimmunoassay zur quantitativen Messung von humanem sCD 23 in Kulturüberständen, Serum, Plasma oder anderen Körperflüssigkeiten.

Methodik

Vor Beginn der Messung werden alle Komponenten und Proben auf Raumtemperatur (24 +/- 2°C) gebracht und sorgfältig durchmischt. Im nächsten Schritt werden nun 25µl der Standards und der zu messenden Proben in die entsprechenden Vertiefungen der Mikrotiterplatte pipettiert. Für jeden Standard als auch Probe werden Doppelmessungen angelegt. Zur Vermeidung von Kontamination erfolgt dies, wie auch die anderen Pipettiervorgänge mit Einweg-Pipettierspitzen. Nach Zugabe von 50 µl HRP-Konjugat (enzym-markierte monoklonale Antikörper gegen sCD 23) wird die gesamte Platte mit einer Klebefolie verschlossen und bei Raumtemperatur (24 +/- 2°C) 150 Minuten auf einem Mikrotiterplattenschüttler bei 100 rpm inkubiert. Nach Ablauf der Inkubation wird die Platte dekantiert und dreimal mit jeweils 300 µl Waschlösung gewaschen. Im Anschluss wird nun in jede Vertiefung 100 µl vorbereitete TMB Substratlösung gegeben und somit die Enzymreaktion gestartet. Die Platte wird erneut mit einer Klebefolie verschlossen und 20 Minuten bei Raumtemperatur (24 +/-2°C) auf einem Mikrotiterplattenschüttler bei 100 rpm inkubiert. Durch Zugabe von jeweils 100 µl Stoplösung (0,18 M Schwefelsäure) pro Vertiefung wird die farbliche Umwandlung durch Ansäuern gestoppt. Die optische Dichte wird in einem Plattenphotometer bei einem Absorptionsmaximum von 450 nm sofort nach Zugabe der Stoplösung gemessen. Aus den Absorptionswerten der Standards wird eine Eichkurve erstellt. Dazu werden die Mittelwerte der durchgeführten Doppelbestimmungen gegen die bekannten Konzentrationen der Standards aufgetragen. Die Erstellung der Standardkurve erfolgte durch die Auftragung der Werte der optischen Dichte auf der vertikalen (Y-) Achse gegen die entsprechenden sCD 23 Konzentrationen auf der horizontalen (X-) Achse. Aus den Schnittpunkten der Absorptionswerte der unbekannten Patientenseren und der Kontrollen mit der Standardkurve können auf der Abszisse die entsprechenden sCD 23 Konzentrationen abgelesen werden. Die Ergebnisse werden in Units pro Milliliter (U/ml) angegeben.

Normwerte: Eine vom Hersteller durchgeführte Normalwertstudie mit 45 gesunden Blutspendern (Männer und Frauen) ergab einen Mittelwert von 37

U/ml mit einer Spannbreite von 2-91 U/ml. (Aus: Testanleitung sCD 23 ELISA, Bender MedSystems, Boehringer Ingelheim, Heidelberg)

2.4 Erfassung klinischer und klinisch-technischer Daten

Um die Daten der Studienteilnehmer zu erfassen und zu dokumentieren wurden drei Dokumentationsbögen entworfen, die im Folgenden noch genauer beschrieben werden.

Mittels des ersten Dokumentationsbogens, der sogenannten „Ersterhebung“, wurden alle Daten bei Studieneintritt dokumentiert. Dieser Bogen wurde für alle Patienten ausgefüllt.

Die Dokumentation endete hier, wenn der Patient nicht progredient war und noch lebte.

Lag eine Progression entsprechend den Kriterien der „Deutschen CLL Studiengruppe“ vor, wurde der Dokumentationsbogen „Progression“ ausgefüllt.

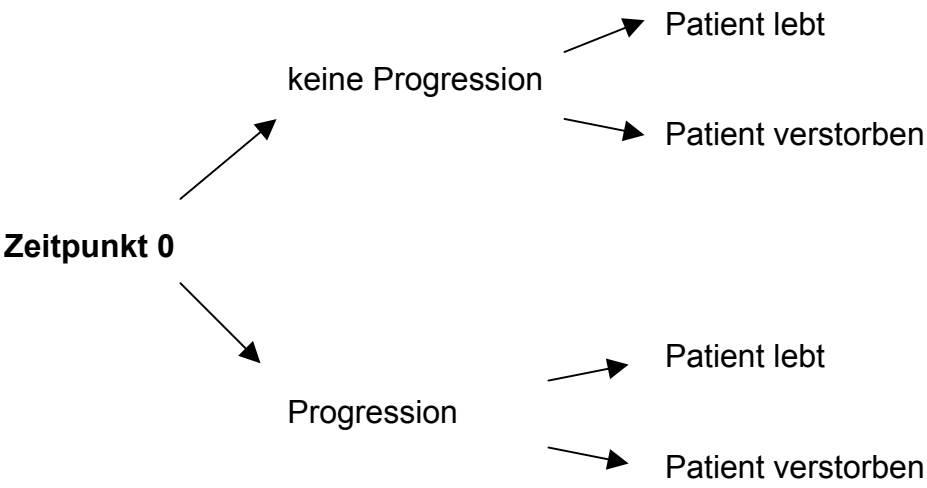
Eine Progression liegt vor, wenn mindestens eines der folgenden Kriterien erfüllt ist:

1. Zunahme des Durchmessers zweier vergrößerter Lymphknoten um ≥100% an zwei aufeinanderfolgenden Untersuchungen im Abstand von mindestens zwei Wochen. Einer der Lymphknoten sollte dabei einen Durchmesser von mindestens 2 cm aufweisen.
2. Auftreten neuer pathologischer Lymphknotenvergrößerungen (mindestens 2 cm im Durchmesser) an zwei aufeinanderfolgenden Untersuchungen im Abstand von mindestens zwei Wochen.
3. Größenzunahme von Leber und/ oder Milz von ≥ 50%, bezogen auf cm unterhalb des jeweiligen Rippenbogens.
4. Auftreten einer eindeutigen, vorher nicht nachweisbaren Hepato- oder Splenomegalie (Befund sonographisch gesichert)
5. Dauerhafter Anstieg der absoluten Lymphozytenzahlen um mehr als 100%, wobei mindestens 40.000/µl Lymphozyten erreicht sein müssen.
6. Transformation in ein hochmalignes Non-Hodgkin-Lymphom (Richter-Syndrom) oder in eine Prolymphozytenleukämie (> 55% Prolymphozyten)
7. Übergang von Binet-Stadium A nach B oder C oder von Stadium B nach C

Lebt der Patient, endet die Dokumentation hier.

Ist der Patient im Laufe unserer Studie verstorben, wurden die Daten auf einem weiteren Dokumentationsbogen festgehalten.

Dokumentationsverlauf:



2.4.1 Erhebung der Basisdaten

Mittels des Erhebungsbogens „Ersterhebung“ wurden die Basisdaten der Patienten zum Zeitpunkt 0 dokumentiert. Der Zeitpunkt 0 ist als Zeitpunkt des Eintritts in die Studie definiert. Unter Basisdaten fallen Geschlecht, Geburtsdatum, Alter, Datum der Ersteinweisung in die Klinik und Datum der Erstdiagnose.
Für die anderen zu erfassenden Parameter wurden diejenigen Bestimmungen dokumentiert, die zeitlich am nächsten zum Zeitpunkt 0 lagen (+/- 3 Monate). Eine Ausnahme machten hierbei die Ergebnisse von Knochenmark-untersuchungen und Immunphänotypisierung. Sie konnten auch als Basisdaten gewertet werden, wenn sie nicht bei Studieneintritt, sondern zu einem anderen Zeitpunkt, gewonnen wurden. Allerdings musste das Untersuchungsdatum gesondert dokumentiert werden.

Stadieneinteilung

Die Patienten wurden entsprechend der Binet- und der modifizierten Rai-Klassifikation eingeteilt:

Binet-Klassifikation

Stadium	Definition
A	Hb ≥ 10,0 g/dl Thrombozyten ≥ 100000×10^9/ l < 3 vergrößerte Lymphknotenregionen
B	Hb ≥ 10,0 g/dl Thrombozyten ≥ 100000×10^9/ l ≥ 3 vergrößerte Lymphknotenregionen
C	Hb < 10,0 g/dl oder Thrombozyten < 100000×10^9/ l unabhängig von der Zahl der befallenen Lymphknotenregionen
Cervicale, axilläre und inguinale Lymphknotenvergrößerungen unilateral oder bilateral sowie Leber- und Milzvergrößerungen gelten als je eine Lymphknotenregion.	

Modifizierte Rai-Klassifikation

Risiko	Stadium	Definition
Niedrig	**0**	Lymphozytose > 15.000/µl Knochenmarksinfiltration > 40%
Intermediär	**I**	Lymphozytose und Lymphadenopathie
	II	Lymphozytose und Hepato- und/ oder Splenomegalie (mit oder ohne Lymphadenopathie)
Hoch	**III**	Lymphozytose und Anämie (Hb <11g/dl) mit oder ohne Lymphadenopathie und/ oder Organomegalie
	IV	Lymphozytose und Thrombozytopenie (<100.000/ µl) mit oder ohne Anämie, Lymphadenopathie, Organomegalie

Allgemeinzustand

Um den Allgemeinzustand zu kategorisieren, wurde die WHO Scala für den Allgemeinzustand verwendet.

0 = keine Symptome
I = hat Symptome, kann aber vollständig ambulant behandelt werden
II = benötigt Pflegehilfe, bettlägerig weniger als 50 % der Zeit
III = bettlägerig mehr als 50 % der Zeit
IV = vollständig bettlägerig

B-Symptomatik

Man sprach von positiver B-Symptomatik, wenn eines oder mehrere der folgenden Merkmale zutrafen.

- Gewichtsverlust von mehr als 10% in 6 Monaten, der diätetisch nicht erklärbar war
- Fieber von mehr als 38,5 °C ohne allgemeine Infektzeichen
- Nachtschweiß

Lymphknoten- und Organvergrößerungen

Es wurde festgehalten, ob bei der klinischen Untersuchung vergrößerte Lymphknoten bzw. Organvergrößerungen gefunden wurden. Des weiteren wurden Untersuchungsbefunde wie z.B. Sonographie, Röntgen oder CT dokumentiert.

2.4.2 Diagnosesicherung

Es wurde dokumentiert mit welchem der folgenden Verfahren die Diagnose gesichert wurde:

- Knochenmark-Biopsie
- Milz-Biopsie
- Laparotomie
- Laparoskopie
- Hautbefall (Biopsie)
- Immunphänotypisierung

Laborparameter

Blutbild:
Hämoglobin (g/dl), Erythrozyten (10^6/µl), Retikulozyten ($^0/_{00}$), Leukozyten (10^3/µl), Thrombozyten (10^3/µl)

Differenzialblutbild:
Lymphozyten %, Neutrophile %, Monozyten %, atypische Zellen % und Prolymphozyten %. Die absolute Lymphozytenzahl in 10^3/µl wurde errechnet.

Serumparameter:
BKS, Serum-Thymidinkinase (U/l), ß$_2$-Mikroglobulin (mg/l), s-LDH (U/l) und Kreatinin (mg/dl)

Knochenmarkuntersuchung

Knochenmarkuntersuchungen sind für die Diagnosesicherung nicht mehr obligat, liefern jedoch wertvolle Informationen über z. B. das Ausmaß der Knochenmarkbeteiligung.

Die Ergebnisse der **Knochenmarkaspiration** wurden unterteilt in:

- normales Knochenmark
- Lymphom, wenn mehr als 30 % der kernhaltigen Zellen im Knochenmark-ausstrich Lymphozyten waren
- Lymphomverdacht bei 10-30 % Lymphozyten im Aspirat
- andere abnorme Zellen in der KM-Aspiration

Der quantitative Zytologie-Befund wurde in % Lymphomzellen angegeben.

Bei der **histologischen Untersuchung des Knochenmarkes** wurde das Infiltrationsmuster der Leukämiezellen unterschieden in:

- normal
- nodulär
- nicht nodulär

Immunphänotypisierung

Bei der Immunphänotypisierung wurden die mononukleären Zellen in Prozent angegeben, die für den jeweils untersuchten Marker positiv waren.

Lymphozytenverdopplungszeit

Die Lymphozytenverdopplungszeit wurde mit Hilfe aller Leukozyten- bzw. absoluten Lymphozytenwerte, die während der ersten 18 Monate nach dem Zeitpunkt 0 erhoben wurden, ermittelt.

Grund- bzw. Begleiterkrankungen

Das Vorliegen anderer maligner oder benigner Erkrankungen wurde festgehalten; ebenso, ob eine Therapie mit α_1-Interferon stattgefunden hat.
Falls eine Therapie durchgeführt wurde zwischen Ersterhebung und Progression bzw. im Beobachtungszeitraum, wo keine Progression vorlag, wurden Art, Dauer und Ansprechen der Therapie dokumentiert.

Dokumentationsbogen „Ersterhebung“

Patientennummer	_____
Geschlecht	männlich / weiblich
Geburtsdatum	_____
Datum der Ersteinweisung	_____
Datum des Zeitpunktes 0	_____
Vortherapie	ja / nein
Datum der Erstdiagnose	_____
Binet-Klassifikation	Stadium A/B/C
Rai-Klassifikation	Stadium 0 / I / II / III / IV
Allgemeinzustand	WHO 0 / I / II / III / IV
B- Symptomatik	
Gewichtsverlust (> 10% in 6 Monaten)	ja / nein
Fieber (> 38,5 °C ohne Infektzeichen)	ja / nein
Nachtschweiß	ja / nein
B- Symptomatik positiv	ja / nein
Lymphknotenvergrößerung (klinisch)	
Waldeyer`scher Rachenring	ja / nein
prä-, retroaurikulär, occipital	ja / nein
zervikal	ja / nein
supraklavikulär	ja / nein
infraklaikulär	ja / nein
axillär	ja / nein
inguinal	ja / nein
abdominal	ja / nein

Organvergrößerungen	
Milz	CT / Sono / Tastbefund
Leber	CT / Sono / Tastbefund

Diagnosesicherung durch

Knochenmarksbiopsie	ja / nein / nicht gemacht
Milz-Biopsie	ja / nein / nicht gemacht
Laparotomie	ja / nein / nicht gemacht
Laparoskopie	ja / nein / nicht gemacht
Hautbefall (Biopsie)	ja / nein / nicht gemacht
Immunphänotypisierung	ja / nein / nicht gemacht
Andere	welches Verfahren

Labor

Blutbild:

Hämoglobin (g/dl)	_____
Erythrozyten (10^6/ µl)	_____
Retikulozyten ($^0/_{00}$)	_____
Leukozyten (10^3/ µl)	_____
Thrombozyten (10^3/ µl)	_____

Differenzialblutbild:

Lymphozyten %	_____
Neutrophile %	_____
Monozyten %	_____
atypische Zellen %	_____
Prolymphozyten %	_____

absolute Lymphozytenzahl (10^3/µl) _____

Serumparameter

BKS	1.Std. / 2.Std.
Serum-Thymidinkinase (U/l)	_____
ß$_2$-Mikroglobulin (mg/l)	_____
LDH(U/ l)	_____
Kreatinin (mg/dl)	_____

Knochenmark Untersuchungsdatum _____

Knochenmarkaspiration normal/ Lymphom (>30% Lymphozyten) / Lymphomverdacht (10-30% Lymphozyten) / andere abnorme Zellen / nicht durchgeführt

quantitativer Zytologiebefund (Lymphomzellen %) _____

Knochenmarkhistologie normal / nodulär / nicht Nodulär / nicht durchgeführt

Immunphänotypisierung Untersuchungsdatum _____

% mononukleäre Zellen positiv für:
(alle angegebenen Marker notieren)

Lymphozytenverdoppelungszeit

Datum	Leukozyten 10^3/µl	Lymphozyten %	abs. Lymphozytenzahl 10^3/µl

Lymphozytenverdoppelungszeit <12 Monate/ >12 Monate

Vorliegen anderer Tumorerkrankungen ja / nein
wenn ja, welche _____

Vorliegen anderer Erkrankungen ja / nein
wenn ja, welche _____

Therapie mit α_1-Interferon ja / nein

Anhang zur Ersterhebung
(bei sofortiger Therapie)
Datum der Ersttherapie _____
Art der Ersttherapie
_____
Therapiedosis _____
Therapiedauer von _____ bis _____
Response _____

2.4.3 Erhebung der Progressionsdaten

Der Aufbau des Dokumentationsbogens „Progression“ entspricht weitestgehend dem der „Ersterhebung“. Ergebnisse von Untersuchungen wie Knochenmarkbiopsie und Immunphänotypisierung wurden noch verwendet, wenn sie nicht später als 4 Wochen nach Feststellung der Progression bestimmt worden waren und zwischenzeitlich keine Therapie stattgefunden hatte. Dieser Toleranzbereich gilt nicht für „Blutwerte“. Zusätzlich zu den Parametern, die schon bei der Ersterhebung dokumentiert wurden, werden jetzt auch Daten zur „Response“ auf die erste Therapie (falls erfolgt) erhoben.

2.4.4 Erhebung der Daten bei Tod des Patienten

Ist der Patient im Beobachtungszeitraum unserer Studie verstorben, wurden der Todeszeitpunkt, die Todesursache (CLL-abhängig/CLL-unabhängig/ unbekannt) und gegebenenfalls das Obduktionsergebnis dokumentiert.

2.4.5 Statistik

Die Aufbereitung der Daten und die statistischen Berechnungen wurden mit Hilfe des statistischen Programmpaketes SPSS, 9,5 für Windows durchgeführt. Die Lymphozytenverdoppelungszeit wurde an Hand einer linearen Regressionskurve berechnet.
Um die jeweilige Korrelation der Parameter in bezug auf das Binet-Stadium zu ermitteln, wurde zum einen der Kruskal-Wallis-Test angewandt, zum anderen wurde bivariat an Hand des Mann-Whitney U-Tests getestet.
Die Korrelation der Parameter untereinander wurde mit Hilfe des Korrelationskoeffizienten nach Spearman veranschaulicht, welcher ein Maß für die Stärke eines monotonen Zusammenhanges ist.
Mit Hilfe der CART-Analyse wurden bei kontinuierlichen Parametern jeweils optimale Grenzwerte bestimmt. Die so ermittelten Grenzwerte teilen die

Patienten hinsichtlich des progressionsfreien Überlebens jeweils in zwei signifikant unterschiedliche Gruppen [13].

An Hand der Kaplan-Meier-Analyse wurde nun für jede dieser Gruppen die Wahrscheinlichkeit des progressionsfreien Überlebens ermittelt [73]. Die Unterschiede in der progressionsfreien Überlebenswahrscheinlichkeit der einzelnen Gruppen wurden dann jeweils mit Hilfe des Logrank-Testes auf ihre Signifikanz hin überprüft.

Die multivariate Analyse der Variablen, die sich in der univariaten Analyse als signifikant darstellten, wurde entsprechend dem Cox-Regressionsmodell durchgeführt [28]. Dieses Regressionsmodell erlaubt es, sogenannte unvollständige Überlebensdaten zu verwenden. Unter unvollständigen Überlebensdaten versteht man solche, bei denen die Patienten bei Abschluss der Studie noch leben und nicht progredient geworden sind.

3 Ergebnisse

3.1 Deskriptive Statistik

3.1.1 Verteilung nach Alter, Geschlecht, Vortherapie und Binet-Stadium

Folgende Verteilung der Basisdaten konnte zum Zeitpunkt des Studieneintritts erhoben werden. Der Altersmedian lag bei 61 Jahren, der Altersmittelwert ± Standardabweichung bei 61,9 ± 10,76 Jahren. 50 Patienten waren Männer und 29 Patienten waren Frauen. Dies entspricht einem Verhältnis von 1,7: 1.Nur 17,7% der Patienten (14 Patienten) waren zum Zeitpunkt der Aufnahme in die Studie bereits vortherapiert. Die Vortherapie bestand bei allen 14 Patienten in einer oder mehrerer Chemotherapien, wobei ein Patient sowohl eine Chemotherapie als auch eine therapeutische Bestrahlung erhielt. Die Mehrzahl der Patienten befand sich zum Zeitpunkt 0 in einem frühen Krankheitsstadium, Stadium A nach Binet (58 Patienten entsprechend 73,4%). Die Verteilung in den übrigen Stadien war: 15 Patienten (19%) im Stadium B nach Binet und 6 Patienten (7,6%) im Stadium C nach Binet. Bei 34% aller Studienpatienten (27 Patienten) fiel der Zeitpunkt der Diagnose mit dem Zeitpunkt des Studieneintritts zusammen. Bei der Mehrzahl der Patienten (66%) war die Diagnose jedoch schon vor Aufnahme in die Studie gestellt worden. Im Mittel waren 2,76 Jahre (Mittelwert ± Standardabweichung: 33,09 Monate ± 47,245 Monate) zwischen Diagnosestellung und Studieneintritt verstrichen. Der längste Zeitraum zwischen Diagnosestellung und Zeitpunkt 0 betrug 18 Jahre.

3.1.2 Beobachtungszeitraum und Krankheitsverlauf

Die mediane Beobachtungszeit betrug 22,4 Monate mit einer maximalen Beobachtungszeit von 57,1 Wochen (4 Jahre 9 Monate) und einer minimalen Beobachtungszeit von 0,2 Monaten.
Das progressionsfreie Überleben wurde bei allen 79 Patienten bestimmt. Während der gesamten Studiendauer wurden 42 Patienten (53,2%) progredient, 37 Patienten (46,8%) wurden nicht progredient. Die mediane progressionsfreie Zeit betrug 14,1 Monate mit einem Mittelwert (± Standardabweichung) von 25,4 Monaten (± 3 Monate). Die längste progressionsfreie Zeit betrug 57,1 Monate (4 Jahre 9 Monate), wobei es sich um einen Patienten handelt, der am Ende der Beobachtungszeit weiterhin progressionsfrei war. Die kürzeste Zeit bis zum Eintritt einer Progression betrug 1,3 Monate (5 Wochen 4 Tage). Von 58 Patienten im Stadium A nach Binet wurden 26 Patienten (44,8%) progredient, 32 Patienten (55,2%) bekamen keine Progression. Im Stadium B nach Binet wurden 11 (73,3%) der insgesamt 15 Patienten progredient, 4 Patienten (26,7%) blieben progressionsfrei. Im Stadium C nach Binet erlitten 5 (83,3%) der 6 Patienten eine Progression und ein Patient (16,4%) erlitt keine Progression. Es verstarben während der gesamten Beobachtungszeit 5 Patienten (6,3% aller Studienpatienten). Bei 3 der Patienten wurde die Todesursache in Zusammenhang mit ihrer Lymphomkrankheit gebracht, bei den anderen beiden ist die Todesursache fraglich CLL-abhängig.

3.1.3 Beschreibung der untersuchten Parameter und die Beziehung zur Stadieneinteilung nach Binet

sIL-2R:

Zum Zeitpunkt des Studieneintrittes (Zeitpunkt 0) lag der Mittelwert ± Standardabweichung für sIL-2R von allen Studienpatienten bei 154,1 ± 178,2 pMol/l bei einem Median von 98,5 pMol/l, einem Maximum von 1267,2 pMol/l und einem Minimum von 33,3 pMol/l. Nach Binet-Stadien aufgeteilt, findet sich im Stadium A nach Binet ein Mittelwert von 125,8 pMol/l und ein Median von

79,7 pMol/l, im Stadium B ein Mittelwert von 208,5 pMol/l und ein Median von 187,1 pMol/l und im Stadium C ein Mittelwert von 290,9 pMol/l und ein Median von 200 pMol/l. Der Parameter wurde in seiner Beziehung zu den Binet-Stadien untersucht. Einmal mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Testes, hierbei unterschieden sich die Binet-Stadien signifikant (p=0,001) voneinander. Ein anderes Mal wurde bivariat auf Unterschiede in den Binetgruppen an Hand des Mann-Whitney U-Tests getestet. Hierbei zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen Binet-Stadium A und B (p=0,003) und zwischen Stadium A und C (p=0,011). Stadium B und C unterschieden sich nicht signifikant (p=0,677) voneinander, siehe **Abb. 1**.

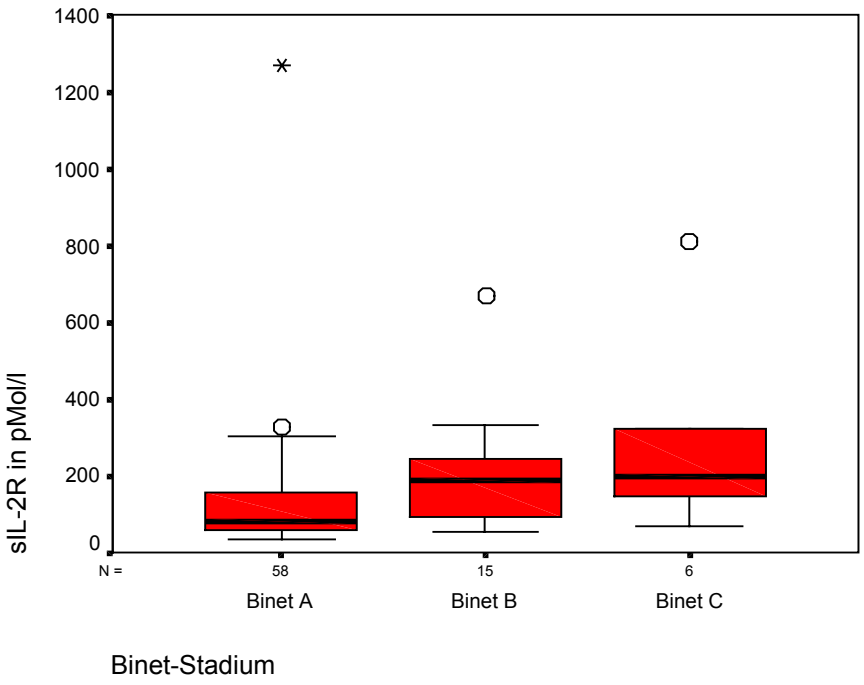


Abb. 1: Boxplotdarstellung: Stadienabhängige Verteilung des sIL-2R

sCD 23:

Der Mittelwert (± Standardabweichung) für sCD 23 lag bei 2120,5 U/ml (± 2351,4 U/ml) bei einem Median von 1244 U/ml, einem Maximum von 10680 U/ml und einem Minimum von 28 U/ml. Der Mittelwert im Stadium A nach Binet betrug 1368,1 U/ml bei einem Median von 920 U/ml, im Stadium B 4240,7 U/ml bei einem Median von 3560 U/ml und im Stadium C 4093,3 U/ml bei einem Median von 2600 U/ml. SCD23 wurde in seiner Beziehung zu den Binet-Stadien untersucht. Einmal mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Testes, hierbei unterschieden sich die Binet-Stadien signifikant (p=0,00002) voneinander. Ein weiteres Mal wurde bivariat auf Unterschiede in den Binetgruppen an Hand des Mann-Whitney U-Tests getestet. Hierbei zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen Binet-Stadium A und B (p=0,000009) und zwischen Stadium A und C (p=0,027). Stadium B und C unterschieden sich nicht signifikant (p=0,677) voneinander, siehe **Abb. 2**.

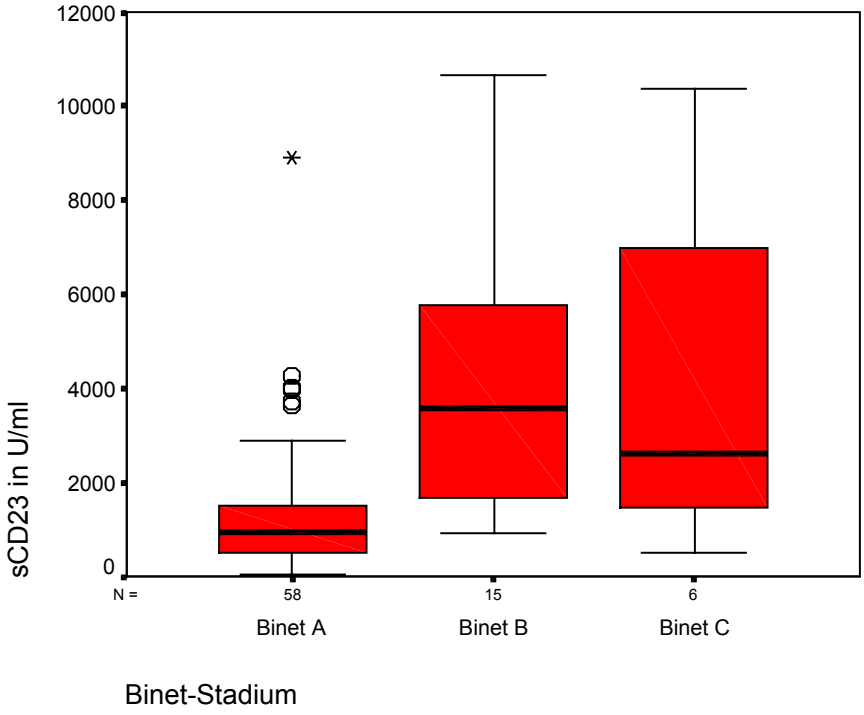


Abb. 2: Boxplotdarstellung: Stadienabhängige Verteilung des sCD 23

s-TK:

Der Mittelwert der Serum-Thymidinkinase (s-TK) lag bei 9,36 U/l mit einer Standardabweichung von 10,15 U/l, einem Median von 6,4 U/l, einem Maximum von 71,1 U/l und einem Minimum von 2,1 U/l, wobei der Mittelwert im Stadium A bei 8,44 U/l lag, im Stadium B bei 13,53 U/l und in Stadium C bei 7,87 U/l lag. Der Median lag im Stadium A bei 5,6 U/l, im Stadium B bei 11,5 U/l und im Stadium C bei 6,5 U/l. Die Serum-Thymidinkinase wurde in Beziehung zu den Binet-Stadien getestet. Es zeigte sich, dass sich die Binet-Stadien anhand des Kruskal-Wallis-Testes signifikant unterschieden (p= 0,023). Des weiteren wurde mit Hilfe des Mann-Whitney U-Testes bivariat auf Unterschiede zwischen den Binet-Stadien getestet. Hierbei ergaben sich nur zwischen den Stadien A und B signifikante Unterschiede (p=0,007). Stadium A versus C (p=0,478) und Stadium B versus C (p=0,235) unterschieden sich nicht signifikant, siehe **Abb. 3**.

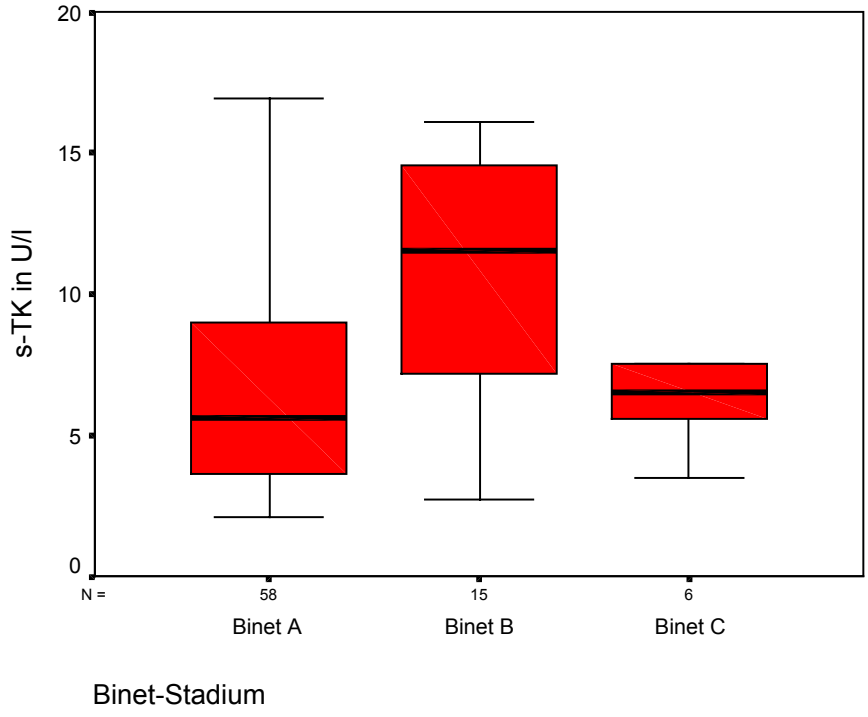


Abb. 3: Boxplotdarstellung: Stadienabhängige Verteilung der s-TK

s-β_2-m:

Der Mittelwert des β_2-Mikroglobulin (s-β_2-m) lag bei 2,44 mg/l mit einer Standardabweichung von 0,94 mg/l, einem Median von 2,4 mg/l, einem Maximum von 6,6 mg/l und einem Minimum von 0 mg/l, wobei der Mittelwert im Stadium A bei 2,23 mg/l, im Stadium B bei 2,69 mg/l und in Stadium C bei 3,88 mg/l lag. Der Median lag im Stadium A bei 2,3 mg/l, im Stadium B bei 2,8 mg/l und im Stadium C bei 3,5 mg/l. Der Parameter wurde in seiner Beziehung zu den Binet-Stadien untersucht. Einmal mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Testes, hierbei unterschieden sich die Binet-Stadien signifikant (p=0,004) voneinander. Ein anderes Mal wurde bivariat auf Unterschiede in den Binetgruppen an Hand des Mann-Whitney U-Tests getestet. Hierbei zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen Binet-Stadium A und B (p=0,019)und zwischen Stadium A und C (p=0,008). Stadium B und C unterschieden sich nicht signifikant (p=0,112) voneinander, siehe **Abb. 4**.

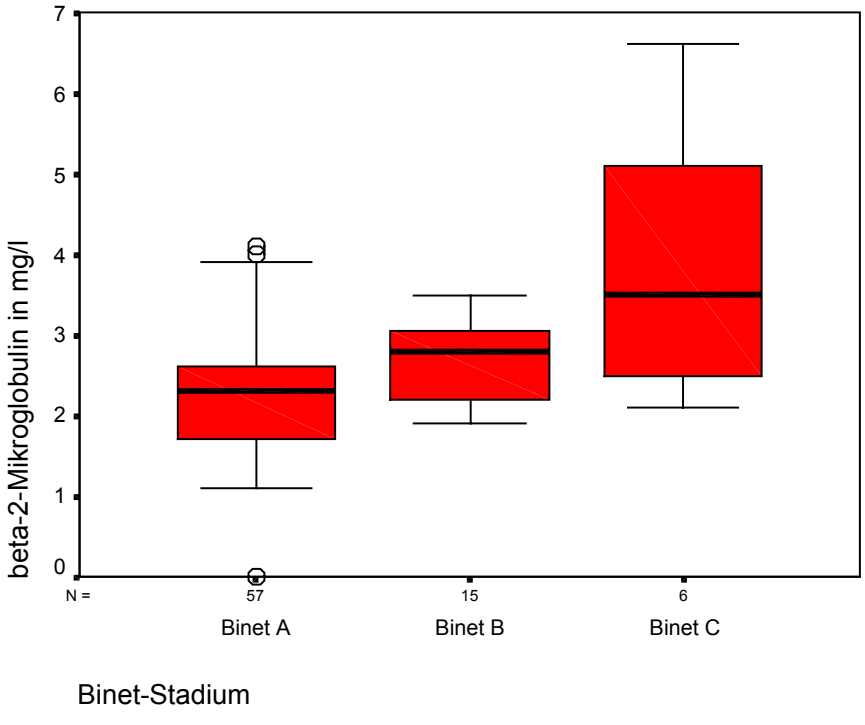


Abb. 4: Boxplotdarstellung: Stadienabhängige Verteilung des β_2-Mikroglobulins

s-LDH:

Der Mittelwert ± Standardabweichung für die Lactatdehydrogenase (LDH) lag bei 166,16 ± 39 U/l bei einem Median von 161,5 U/l, einem Maximum von 317 U/l und einem Minimum von 56 U/l. Der Mittelwert im Stadium A nach Binet betrug 164,5 U/l und der Median 158 U/l, im Stadium B 169,5 U/l und der Median 172 U/l und im Stadium C 173 U/l und der Median159 U/l, siehe **Abb. 5**. Die Lactatdehydrogenase zeigte anhand des Kruskal-Wallis-Testes keine signifikanten Unterschiede (p=0,8339) bezüglich der Binet-Stadien und wurde deshalb nicht in die weitere Auswertung einbezogen.

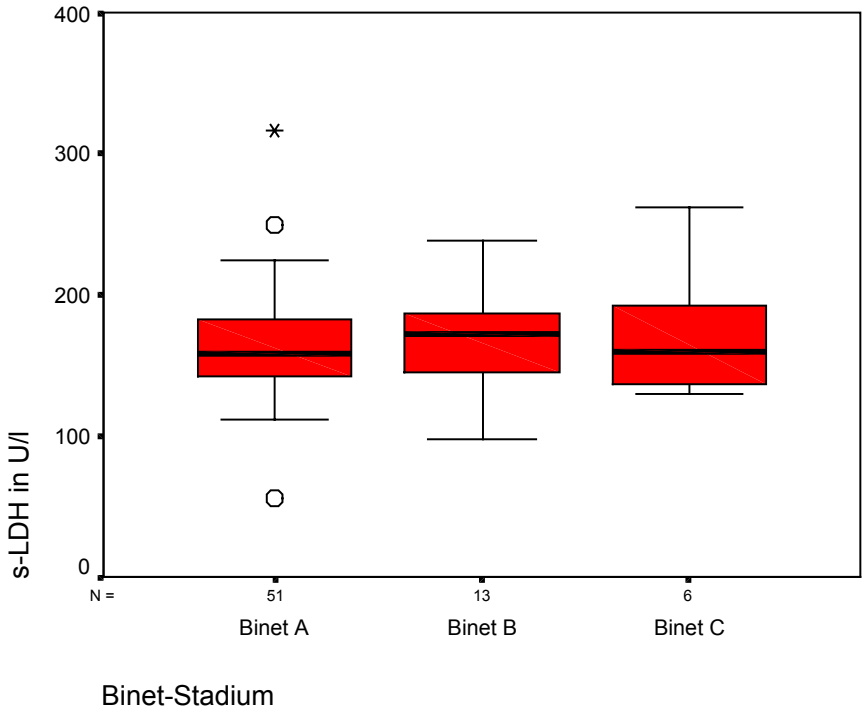


Abb. 5: Boxplotdarstellung: Stadienabhängige Verteilung der s-LDH

In **Tabelle 1** wird die Verteilung der Parameter zum Zeitpunkt 0 gezeigt, bei allen Patienten und in einer Aufteilung nach den Binet-Stadien.

Parameter		**alle Patienten**	**Binet A**	**Binet B**	**Binet C**
sIL-2R (pMol/l)	Mittelwert ± SA Median Maximum Minimum n=	154,1 ± 178,2 98,5 1267,2 33,3 79	125,8 ± 166,8 79,7 1267,2 33,3 58	208,5 ± 153,5 187,1 669,6 54,7 15	290,9 ± 266,9 200 808,4 68,7 6
sCD 23 (U/ml)	Mittelwert ± SA Median Minimum Maximum n=	2120,5 ± 2351,4 1244 10680 28 79	1368,1 ± 1487,8 920 8900 28 58	4240,7 ± 2797,5 3560 10680 936 15	4093,3 ± 3793,5 2600 10380 520 6
s-TK (U/l)	Mittelwert ± SA Median Minimum Maximum n=	9,36 ± 10,15 6,4 71,1 2,1 79	8,44 ± 10,12 5,6 71,1 2,1 58	13,53 ± 11,18 11,5 48,1 2,7 15	7,87 ± 4,97 6,5 17,6 3,5 6
s-β_2-m (mg/l)	Mittelwert ± SA Median Minimum Maximum n=	2,44 ± 0.94 2,4 6,6 0 78	2,23 ± 0,77 2,3 4,1 0 57	2,69 ± 0,56 2,8 3,5 1,9 15	3,88 ± 1,72 3,5 6,6 2,1 6
s-LDH (U/l)	Mittelwert ± SA Median Minimum Maximum n=	166,2 ± 39 161,5 317 56 70	164,5 ± 38,9 158 317 56 51	169,5 ± 36,3 172 239 98 13	173 ± 50,7 159 262 129 6

Tab. 1: Verteilung der Serumparameter zum Zeitpunkt 0

3.1.4 Korrelation der Parameter (sIL-2R, sCD 23, s-TK, s-β_2-m, s-LDH) untereinander

Die Korrelation der Parameter untereinander wurde mit Hilfe des Korrelationskoeffizienten nach Spearman veranschaulicht, welcher ein Maß für die Stärke eines monotonen Zusammenhanges darstellt.

Das untersuchte sIL-2R korreliert signifikant mit sCD 23 (r_s= 0,715, p<0,001, n=79), s-TK (r_s=0,518, p<0,001, n=79), s-β_2-m (r_s=0,652, p<0,001, n=78) und weniger ausgeprägt mit der s-LDH (r_s=0,271, p=0,023, n=70).

SCD 23 korreliert signifikant mit s-TK (r_s= 0,571, p<0,001, n=79), s-β_2-m (r_s=0,545, p<0,001, n=78) und weniger signifikant mit der s-LDH (r_s=0,254, p=0,034, n=70).

Die s-TK korreliert signifikant mit dem s-β_2-m (r_s=0,417, p<0,001, n=78) und weniger ausgeprägt mit der s-LDH (r_s=0,364, p=0,002, n=70).

Das s-β_2-m korreliert nicht mit s-LDH (r_s=0,086, p=0,479, n=70), siehe **Abb. 6-15.**

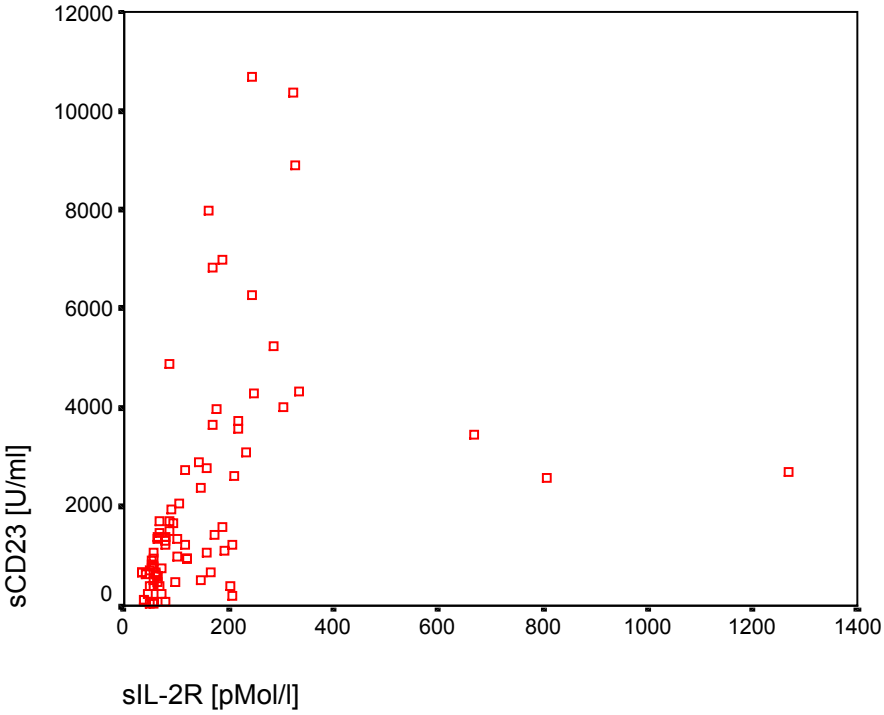


Abb. 6: Korrelation des sIL-2R mit dem sCD 23 (r_s= 0,715, p<0,001, n=79)

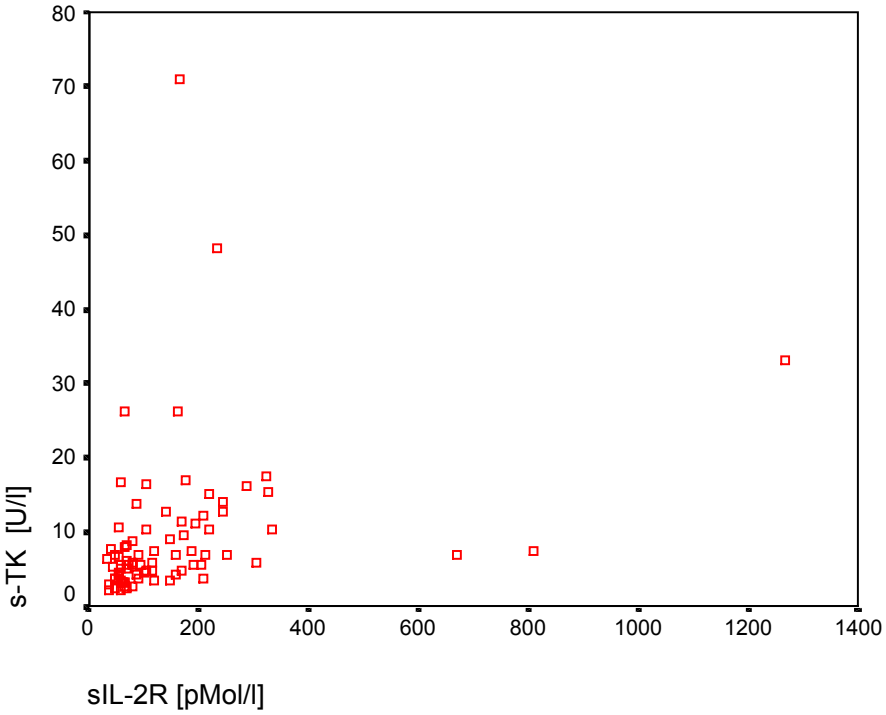


Abb. 7: Korrelation des sIL-2R mit der s-TK (r_s=0,518, p<0,001, n=79)

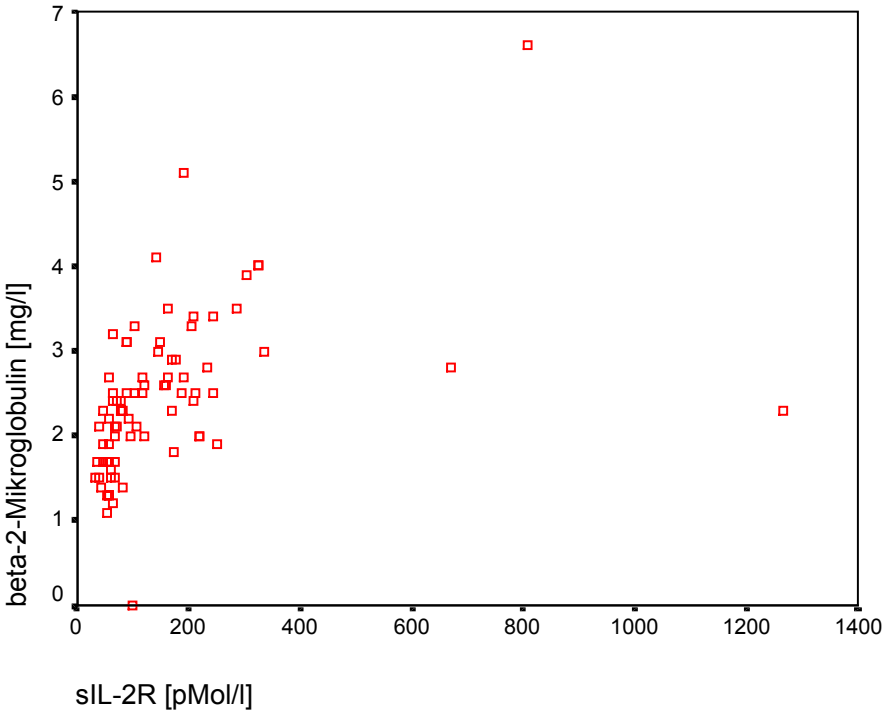


Abb. 8: Korrelation des sIL-2R mit dem s-β_2-m (r_s=0,652, p<0,001, n=78)

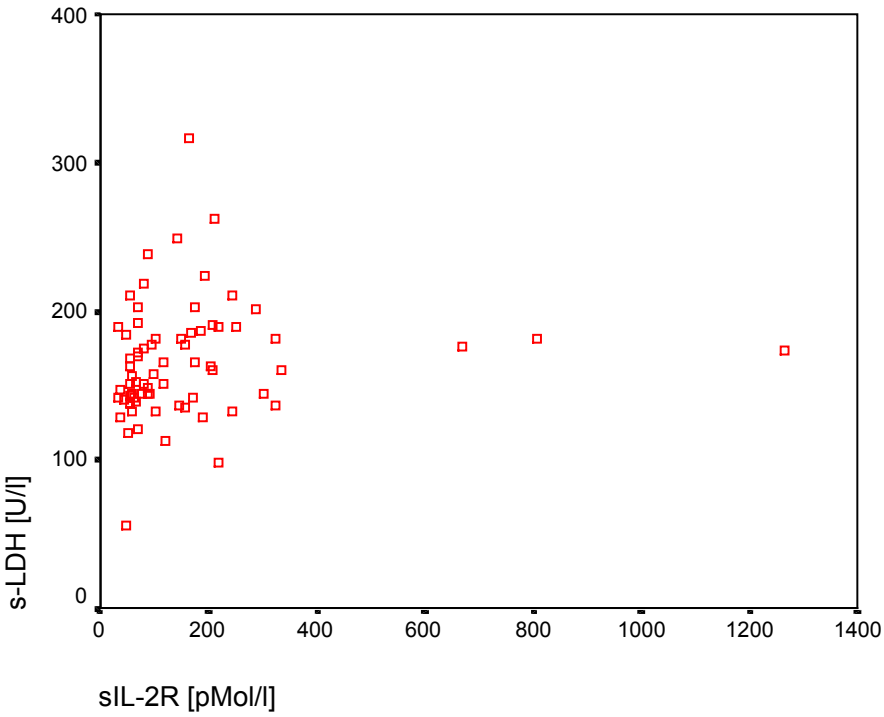


Abb. 9: Korrelation des sIL-2R mit der s-LDH (r_s=0,271, p=0,023, n=70)

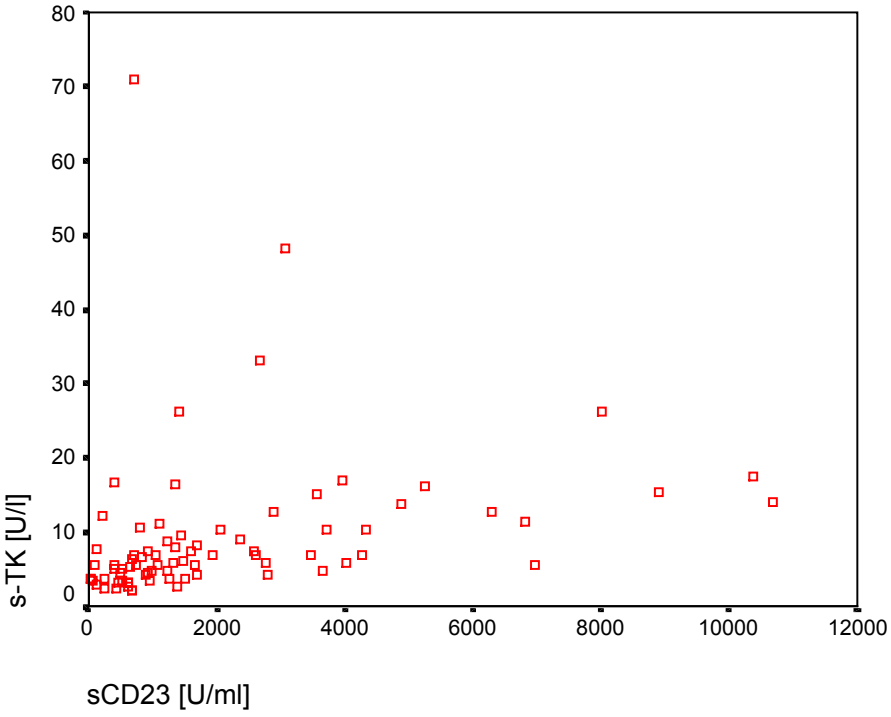


Abb.10: Korrelation des sCD 23 mit der s-TK (r_s= 0,571, p<0,001, n=79)

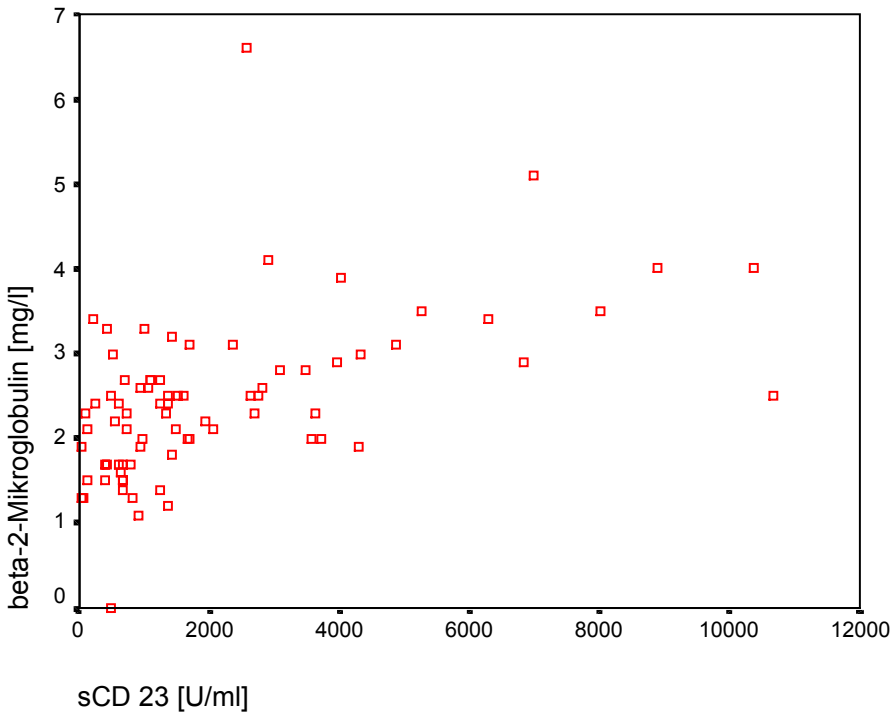


Abb. 11: Korrelation des sCD 23 mit dem s-β_2-m (r_s=0,545, p<0,001, n=78)

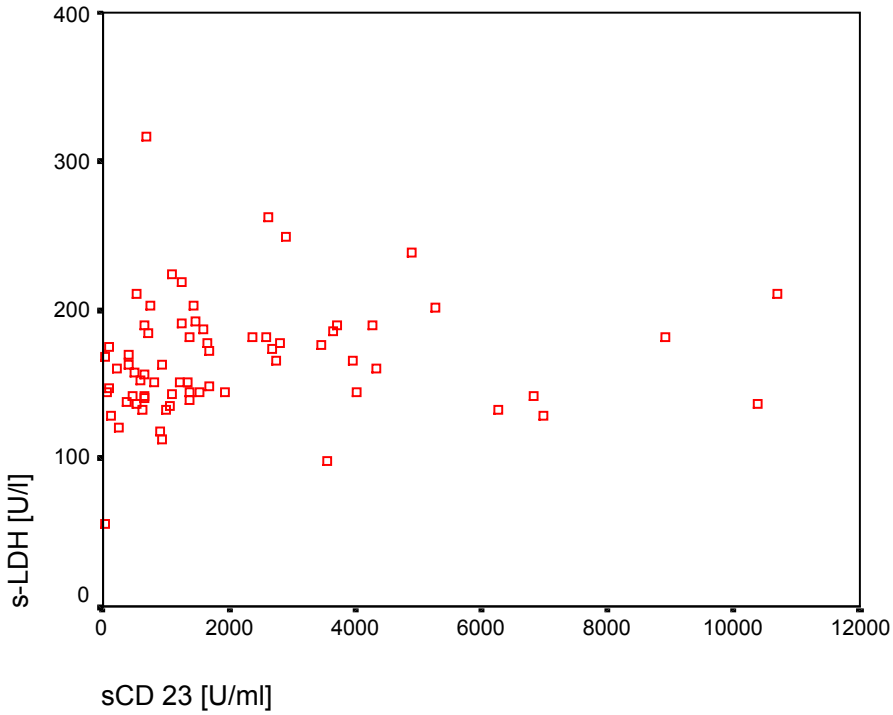


Abb.12: Korrelation des sCD 23 mit der s-LDH (r_s=0,254, p=0,034, n=70)

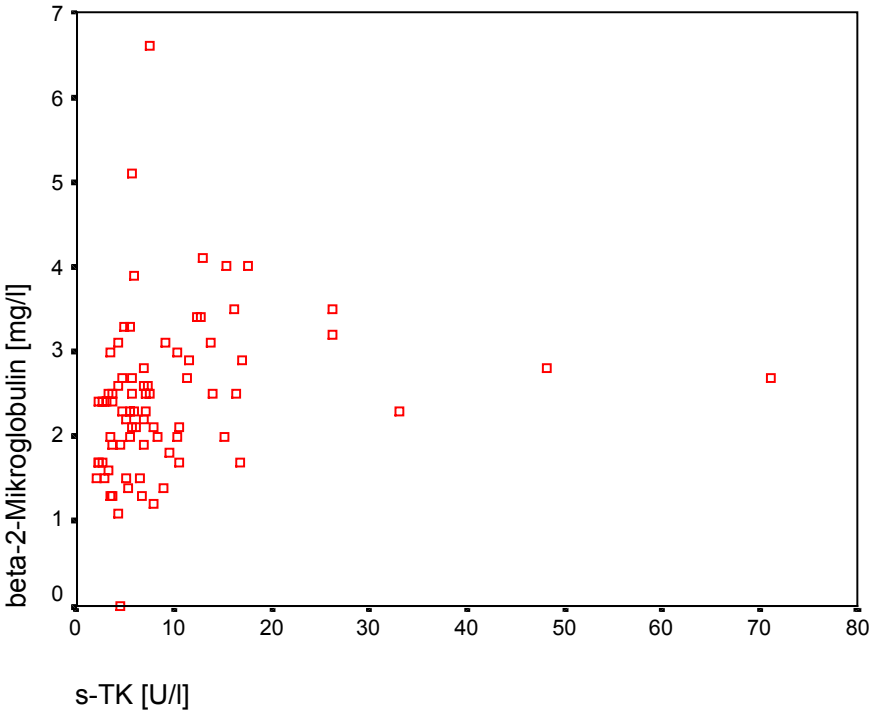


Abb.13: Korrelation der s-TK mit dem s-β_2-m (r_s=0,417, p<0,001, n=78)

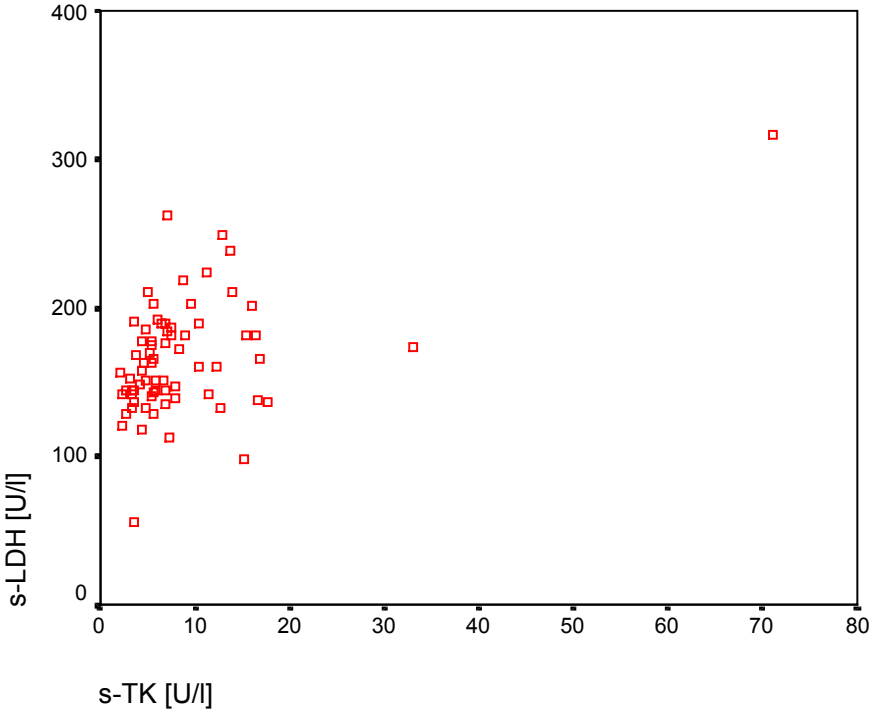


Abb.14: Korrelation der s-TK mit der s-LDH (r_s=0,364, p=0,002, n=70)

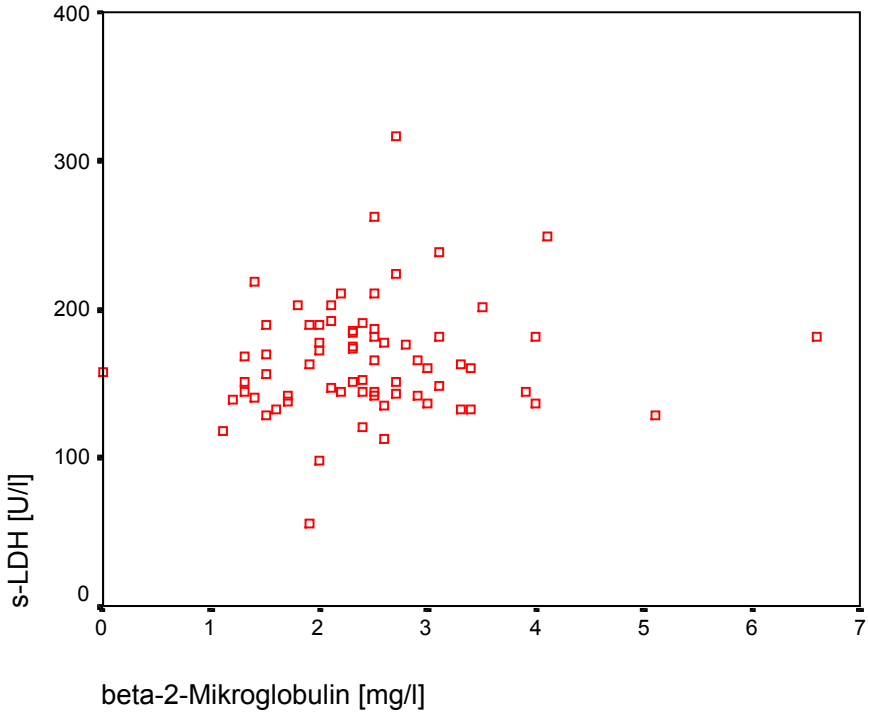


Abb.15: Korrelation des s-β_2-m mit der s-LDH (r_s=0,086, p=0,479, n=70)

3.2 Verläufe einiger ausgewählter Patienten

Die Parameter – sIL-2R, sCD 23, s-TK, s-β_2-m und s-LDH – wurden bei einigen Patienten über mehrere Monate hin beobachtet. Hierbei zeigten sich Änderungen in der Konzentration der Serumparameter, die mit den Krankheitsverläufen korreliert werden konnten.

Abb. 16 zeigt den Krankheits- bzw. Serumparameterverlauf eines nicht vor-therapierten Patienten (Patient 1), der bei Diagnosestellung (Sep. 93) im Stadium B nach Binet war. Nach knapp anderthalb Jahren stellte man eine Progression fest, die sich auch in den untersuchten Parametern als Anstieg derselben (um den Progressionszeitpunkt) darstellte.

Bei dem nächsten Patienten (Patient 2), dessen Serumparameter in **Abb. 17** dargestellt sind, verhalten sich die Parameter nicht eindeutig. Der Patient befand sich zum Zeitpunkt der Diagnose (Mai 93) im Stadium A nach Binet und wurde schon nach einem halben Jahr progredient Es lag allerdings im weiteren Beobachtungszeitraum keine Indikation für eine Therapie vor und die Krankheit schien auch nicht weiter fortzuschreiten. Diese Tatsache spiegelt sich im flachen Kurvenverlauf wieder.

Bei Patient 3 (**Abb. 18**) zeigen alle Parameter, bis auf das sCD 23, einen deutlichen Anstieg vor dem Progressionsdatum und einen Abfall nach Einleitung einer Therapie nach den Knospe-Schema.

In **Abb. 19** wird der Parameterverlauf eines Patienten (Patient 4) im Stadium B nach Binet dargestellt, der im Verlauf progredient wurde und unter der Therapie nach dem Knospe-Schema eine partielle Remission erreichte. Zu einem späteren Zeitpunkt wurde eine Therapie mit Idarubicin eingeleitet, hierbei wurde eine weitere Progression beobachtet, so dass die Therapie nach zwei Zyklen auf Fludarabin umgestellt wurde. Unter der Therapie mit Fludarabin wurde sehr schnell eine partielle Remission erreicht. Hier sieht man das rasche Ansprechen der Therapie mit Fludarabin durch den deutlichen Abfall aller untersuchten Parameter.

Beim nächsten Patienten (Patient 5 in **Abb. 20**) wurde die Diagnose CLL schon über 10 Jahre vor Beginn unserer Beobachtung gestellt. Er befandet sich 11/93 im Stadium C nach Binet und wurde ab Juni 94 mit insgesamt 12 Zyklen nach dem Knospe-Schema therapiert. Unter dieser Therapie zeigten unsere

Parameter, bis auf das sCD 23, eine abfallende Tendenz. Bei Fortschreiten der Erkrankung wurde 3/95 eine Therapie mit Fludarabin (6 Zyklen) eingeleitet unter der die Parameter (Ausnahme: s-β_2-m) fielen. Im März 1997 wurde der Patient wieder progredient, was auch der Anstieg der Parameter veranschaulicht.

Abb. 21 zeigt den Parameterverlauf eines mehrfach therapierten Patienten (Patient 6). Hierbei kann nur zum Zeitpunkt der Progression ein einheitlicher Kurvenverlauf (Anstieg) aller Parameter beobachtet werden.

Bei Patient 7 (**Abb. 22**) wurde im Beobachtungszeitraum eine Stammzelltransplantation durchgeführt. Zum Zeitpunkt der Ganzkörperbestrahlung und der Hochdosischemotherapie befanden sich alle untersuchten Parameter an einem Tiefpunkt.

Abb. 16: Patient 1

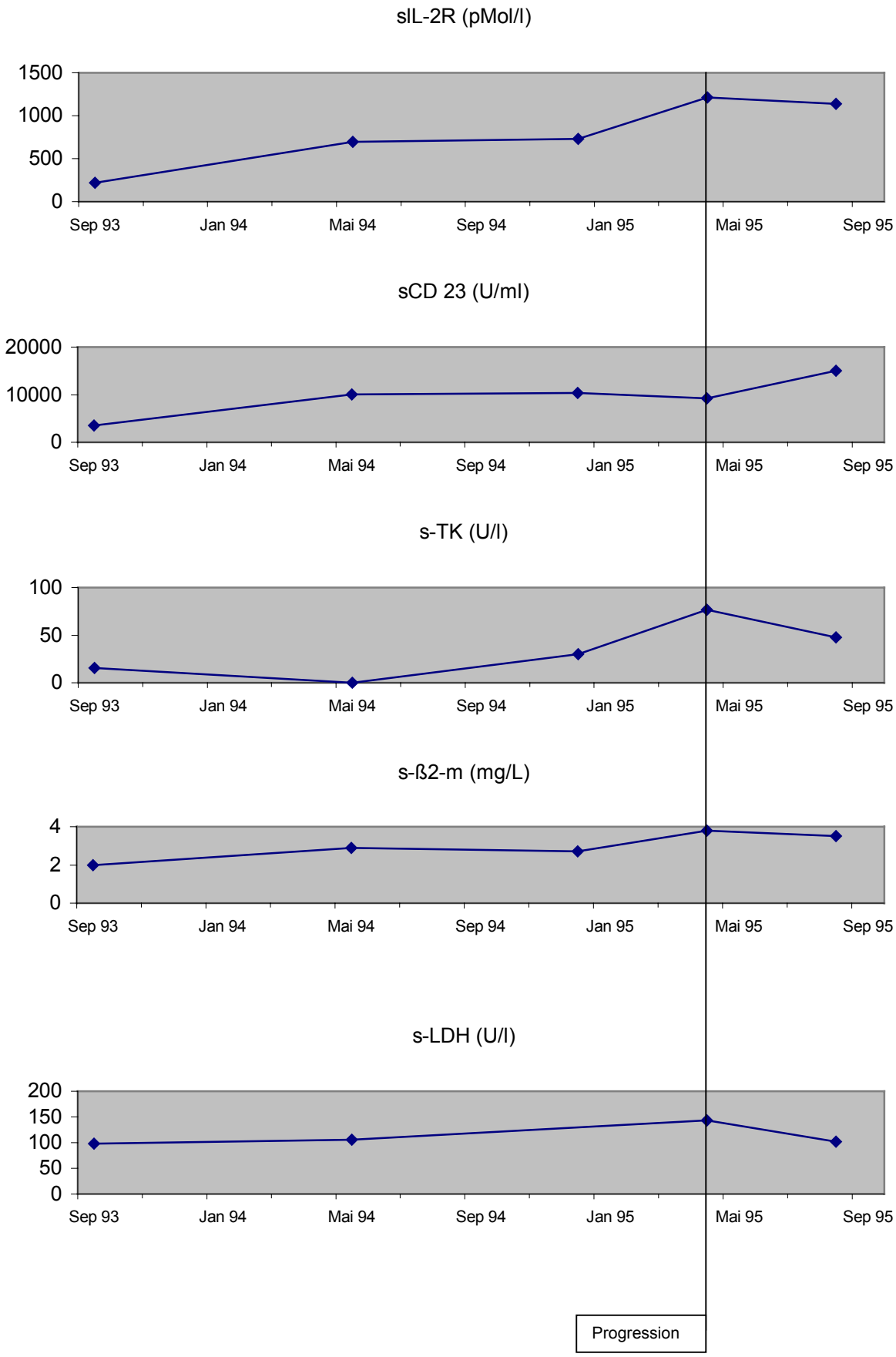


Abb. 17: Patient 2

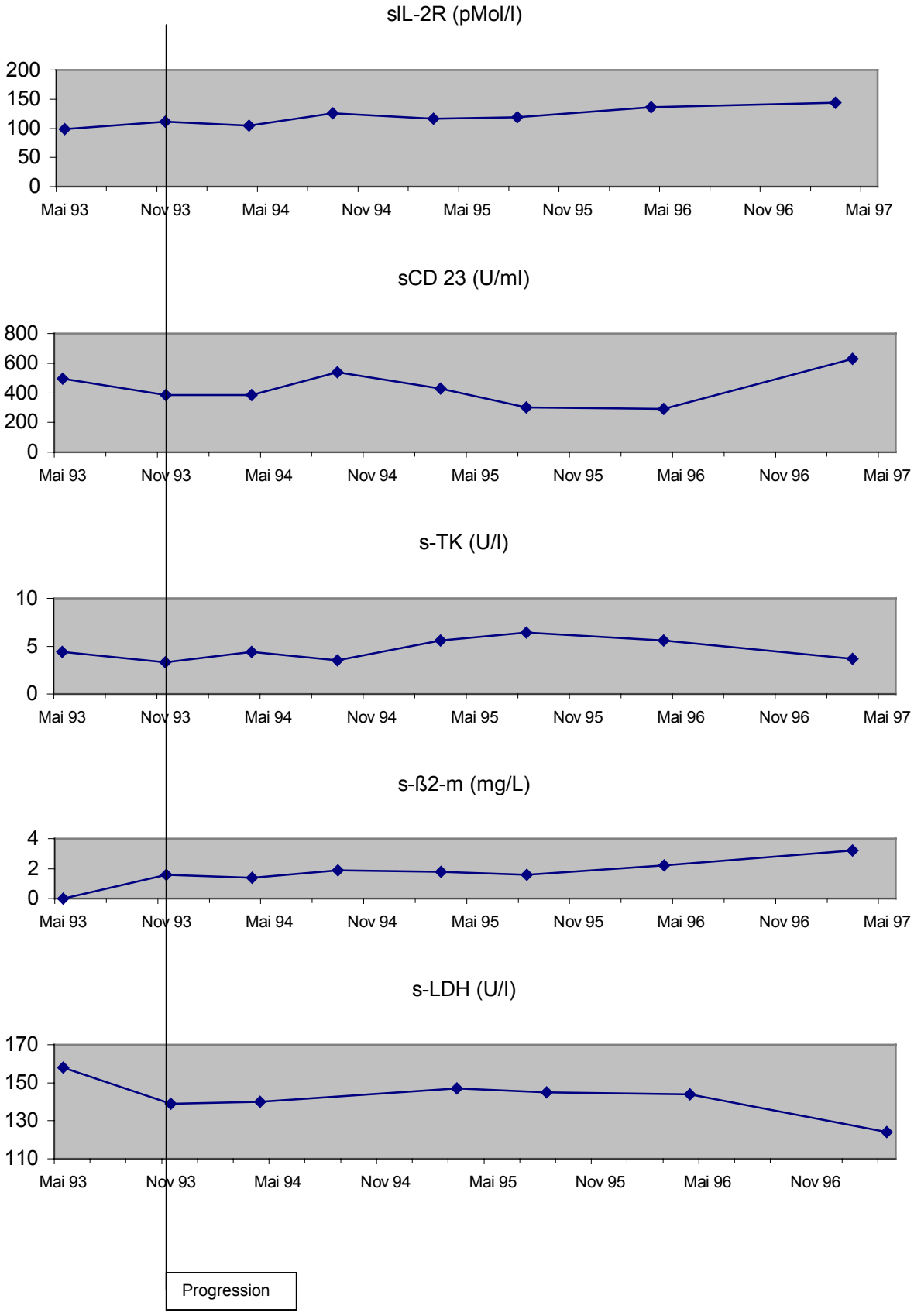


Abb. 18: Patient 3

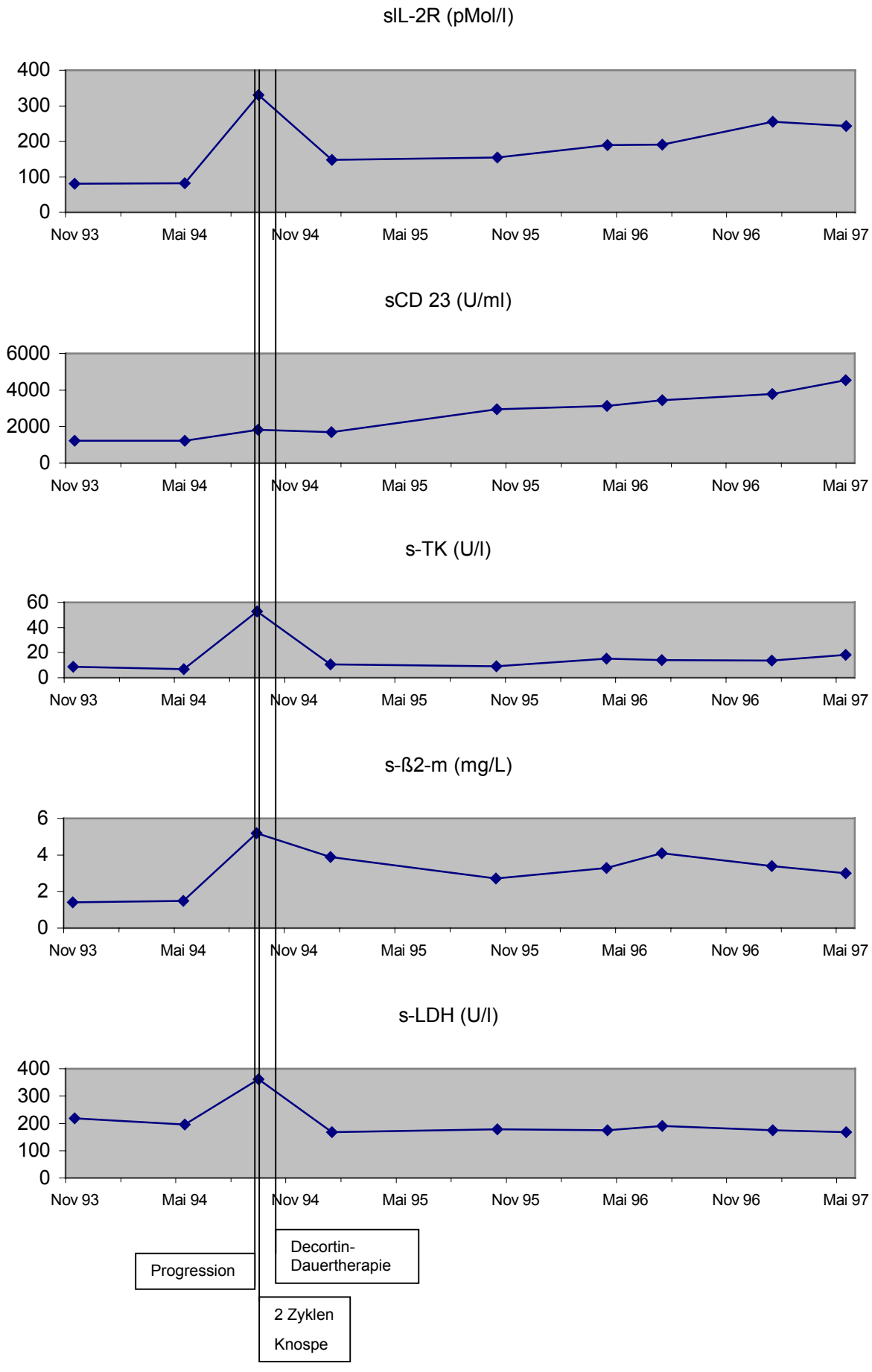


Abb. 19: Patient 4

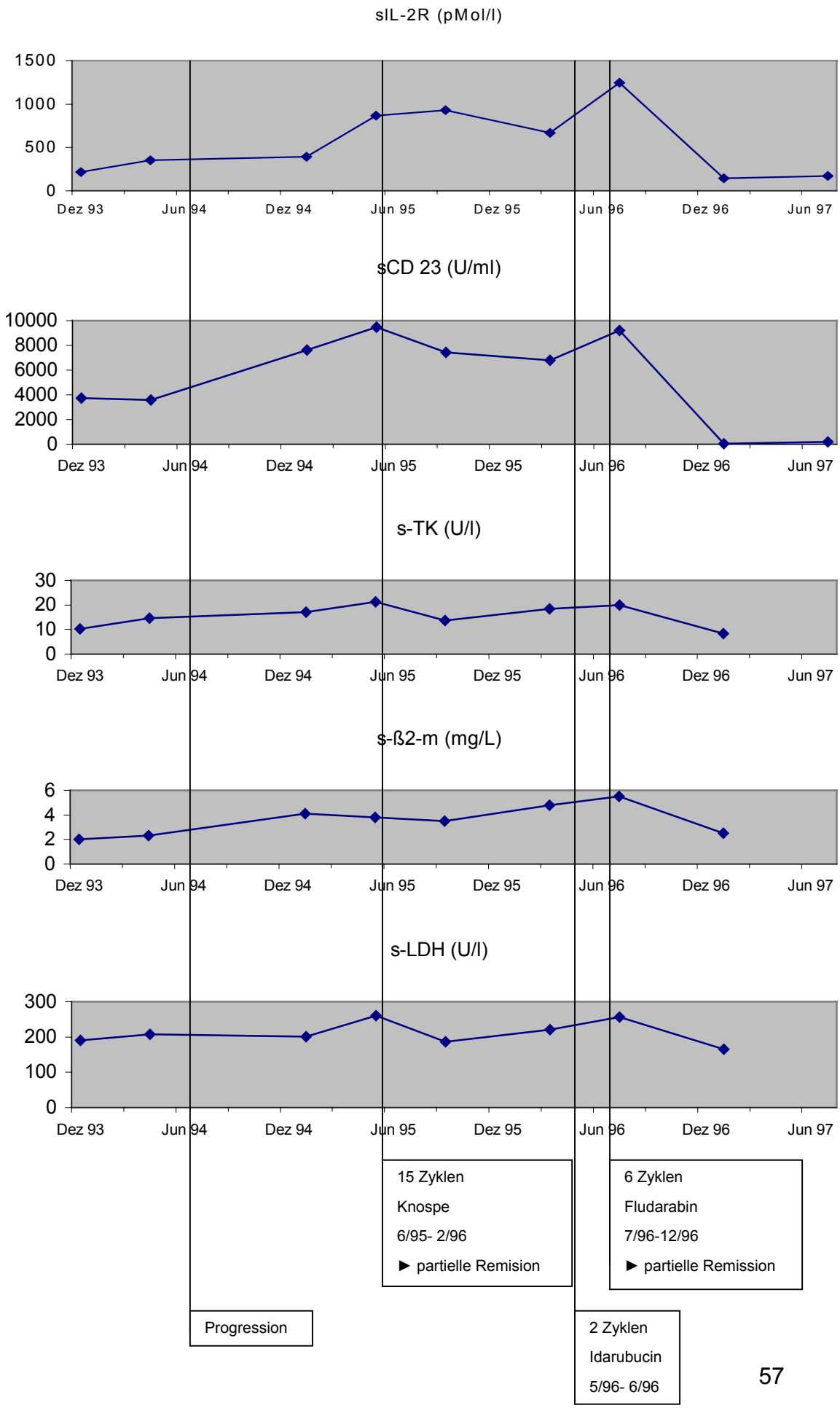


Abb. 20: Patient 5

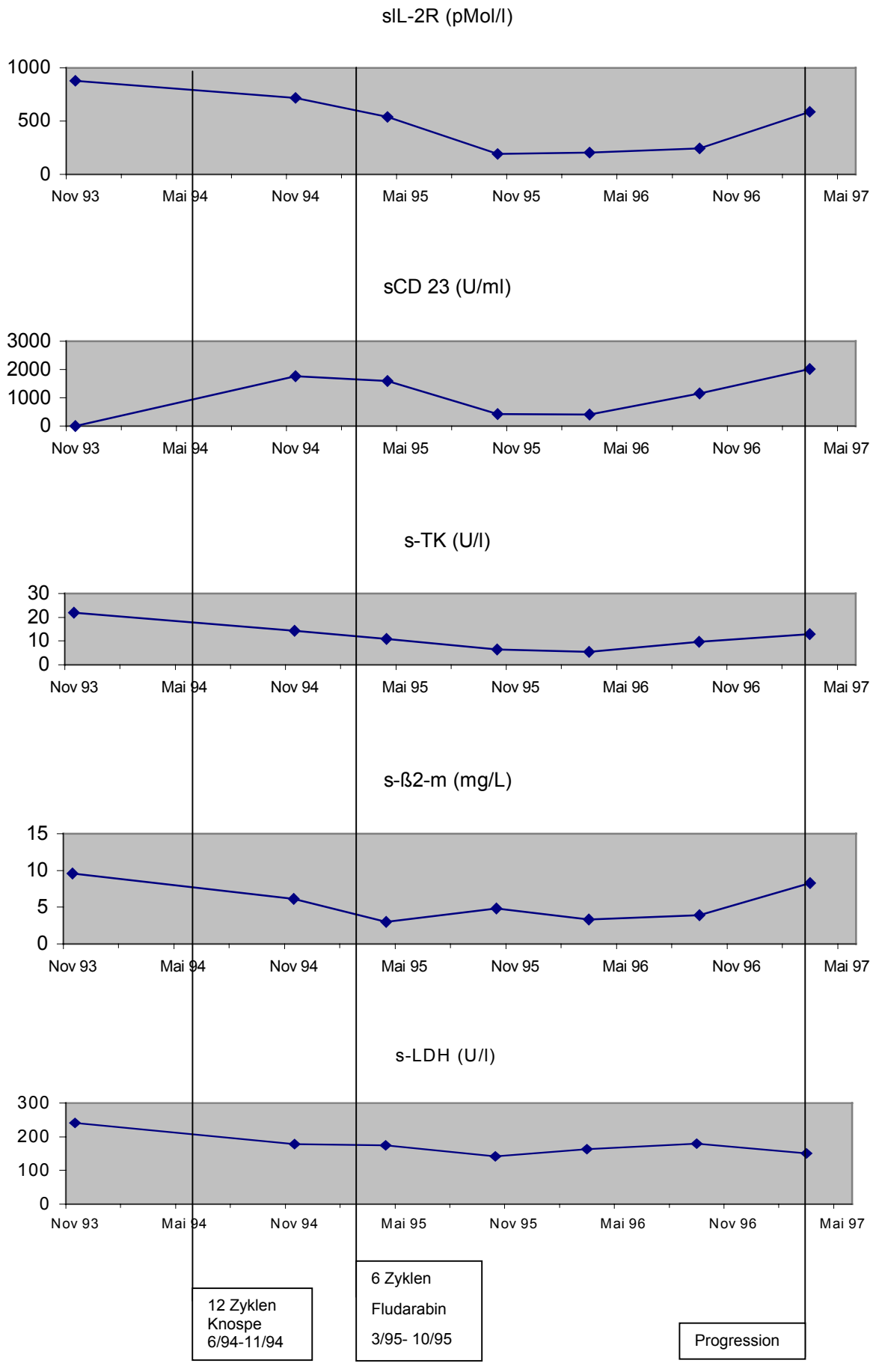


Abb. 21: Patient 6

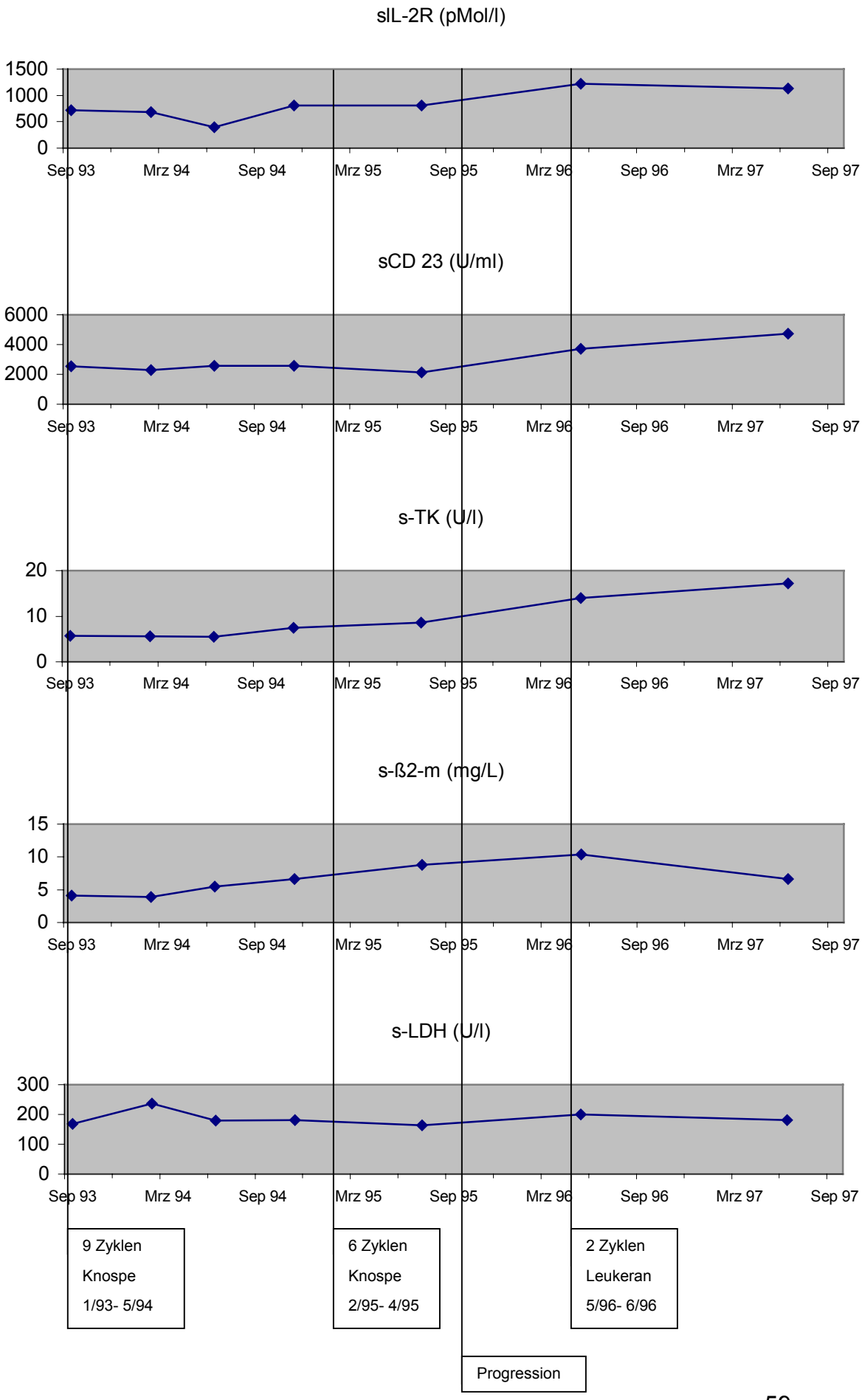
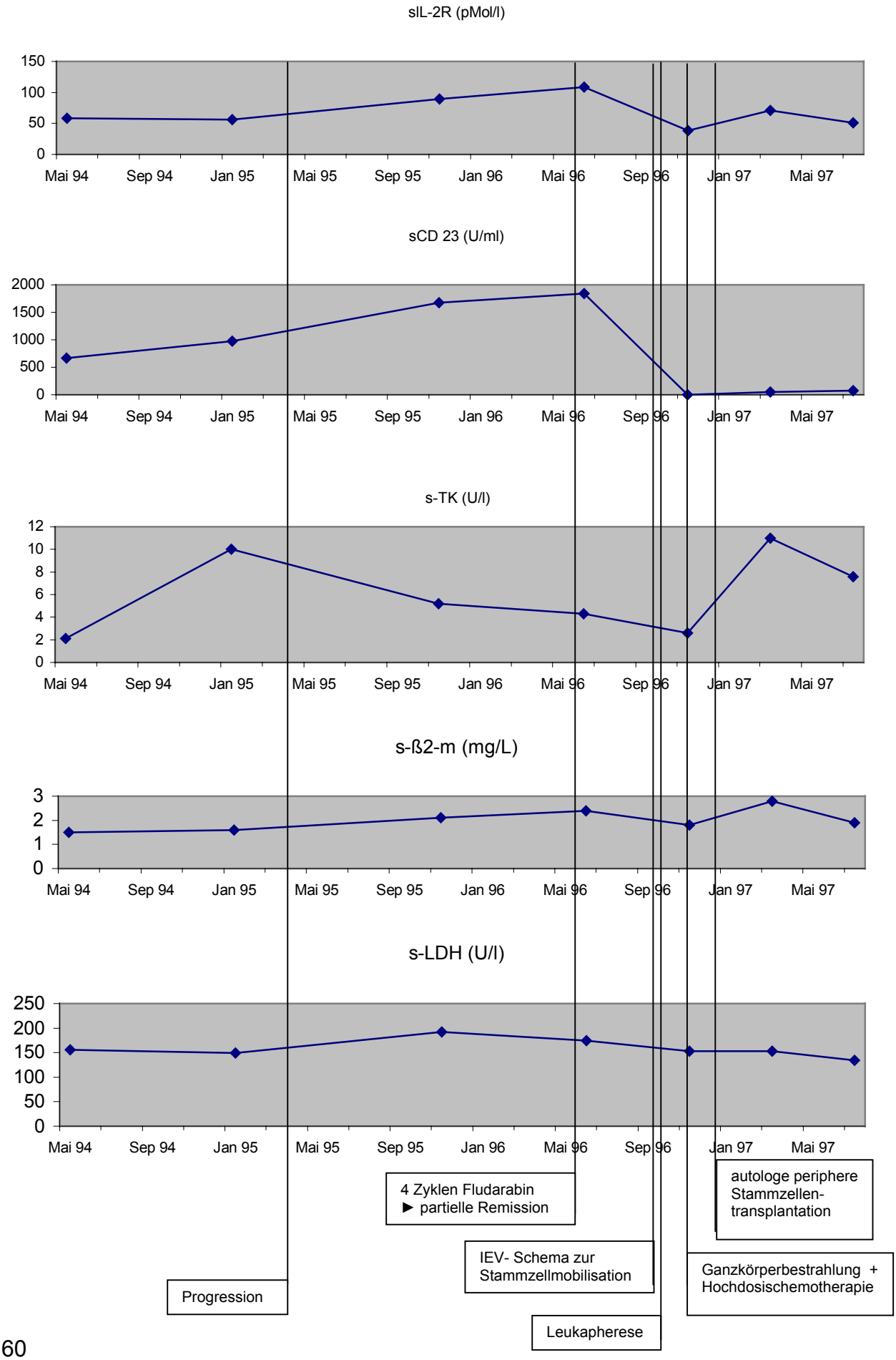


Abb. 22: Patient 7



3.3 Ergebnisse der CART-Analyse

Für die untersuchten kontinuierlichen Variablen, die sich anhand des Kruskal-Wallis-Testes als signifikant in Bezug zur Binet-Stadienaufteilung zeigten (sIL-2R, sCD 23, s-TK, s-β_2-m), wurden mit Hilfe der CART-Analyse jeweils optimale Grenzwerte bestimmt. Die ermittelten Grenzwerte teilen die Patienten hinsichtlich des progressionsfreien Überlebens jeweils in zwei signifikant unterschiedliche Gruppen, siehe **Tab. 2**.

Parameter	Cut-off-Punkt	Einheit
sIL-2R	173,0	pMol/l
sCD 23	2616	U/ml
s-TK	10,5	U/l
s-β_2-m	2,7	mg/l

Tab. 2: Übersicht über die Parameter und die Höhe der Cut-off-Punkte

3.4 Univariate Analyse

Mit Hilfe der univariaten Analyse nach Kaplan-Meier wurden die Parameter - Binet-Stadium, sIL-2R, sCD 23, s-TK, s-β_2-m - auf ihren möglichen prädiktiven Wert bezüglich des progressionsfreien Überlebens der Studienteilnehmer untersucht. Hierbei wurden jeweils zwei bzw. drei verschiedene Gruppen gebildet, welche bei den kontinuierlichen Variabeln an Hand der durch die CART-Analyse gefundenen Grenzwerte formiert wurden. An Hand der Kaplan-Meier-Analyse wurde nun für jede dieser Gruppen die Wahrscheinlichkeit des progressionsfreien Überlebens ermittelt. Die Unterschiede in der progressionsfreien Überlebenswahrscheinlichkeit der einzelnen Gruppen wurden dann jeweils mit Hilfe des Logrank-Testes auf ihre Signifikanz hin überprüft.

Signifikante Unterschiede ($p< 0,05$) wurden für die Variablen Binet-Stadium, sIL-2R, sCD 23, s-TK und s-β_2-m nachgewiesen. Die Ergebnisse der Kaplan-

Meier-Analyse (Signifikanzniveau, Grenzwerte, Gruppenaufteilung und Fallzahlen) - bezogen auf das progressionsfreie Überleben - sind in **Tab. 3** aufgeführt.

Parameter	**Kaplan-Meier Logrank**	**Grenzwert**	**Gruppe 1**	**Gruppe 2**	**Anzahl n**
Binet-Stadium	0,0021	A B C	58 15 6		79
sIL-2R	0,0000	173,0 pMol/l	57 (<)	22 (≥)	79
SCD 23	0,0020	2616 U/ml	57 (<)	22 (≥)	79
S-TK	0,0007	10,5 U/l	60 (<)	19 (≥)	79
s-β_2-m	0,0001	2,7 mg/l	56 (<)	22 (≥)	78

Tab. 3: Ergebnisse der Kaplan-Meier-Analyse

Für die Binet-Stadien ergab sich erwartungsgemäß ein signifikant (p=0,0021) unterschiedliches progressionsfreies Überleben. Patienten im Stadium B nach Binet wurden deutlich schneller progredient als Patienten im Stadium A nach Binet. So lag im Stadium A nach Binet die mediane progressionsfreie Überlebenszeit bei 22,3 Monaten bei einer Fallzahl von 58 Studienpatienten. Im Stadium B nach Binet lag hingegen die mediane PFÜ bei 8,06 Monaten bei einer Patientenzahl von 15. Im Stadium C nach Binet lag das mediane PFÜ bei 3,95 Monaten (Fallzahl 6), siehe **Abb. 23**.

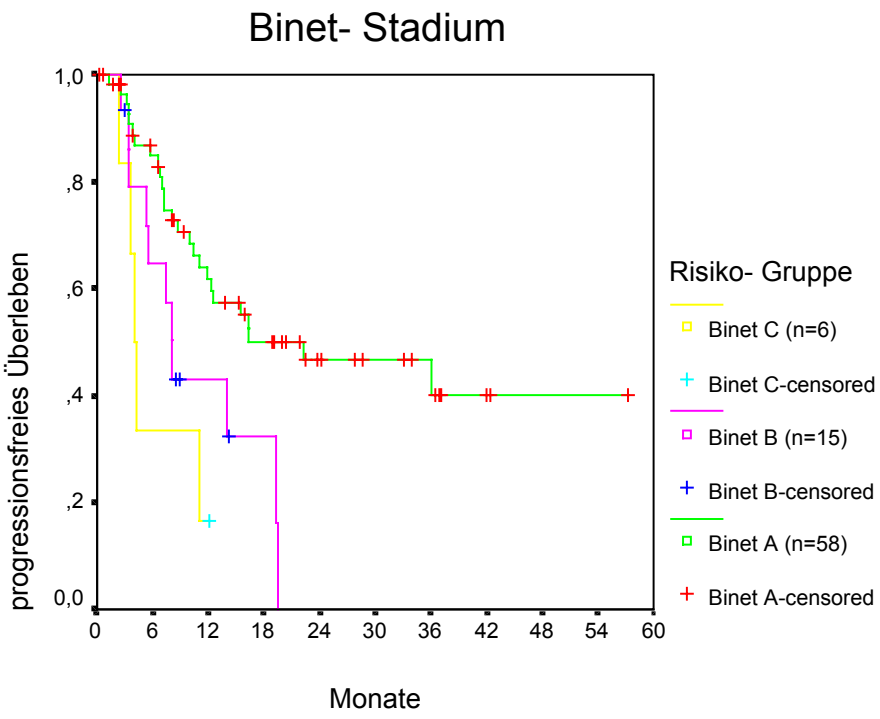


Abb.23: Kaplan-Meier-Kurve für progressionsfreies Überleben der Studienpatienten (n=79) mit Aufteilung anhand der Variablen Binet-Stadium: Binet-Stadium A (n= 56; med. PFÜ: 22,3 Monate); Binet-Stadium B (n=15; med. PFÜ: 8,06 Monate); Binet-Stadium C (n=6; med. PFÜ: 3,95 Monate); Kaplan-Meier: Logrank p=0,0021.

Wurden die Binet-Stadien jedoch einzeln mit einander bezüglich des progressionsfreien Überlebens verglichen, ergaben sich nur bei Stadium A versus Stadium B (Logrank p= 0,0110) und Stadium A versus Stadium C (Logrank p= 0,0051) signifikante Unterschiede. Stadium B versus Stadium C zeigte im Logrank-Test keine statistische Signifikanz (p= 0,2299).

Die Prognose für das PFÜ der Gruppe (n=57) mit einem sIL-2R-Wert < 173,0 pMol/l war signifikant (p= 0,0000) besser als bei der Gruppe (n=22) mit einem sIL-2R-Wert ≥ 173,0 pMol/l. Bei der ersten Gruppe (sIL-2R-Wert < 173,0 pMol/l) lag die mediane progressionsfreie Überlebenszeit bei 22,3 Monaten; bei der zweiten Gruppe (sIL-2R-Wert ≥ 173,0 pMol/l) lag das mediane PFÜ bei 6,55 Monaten, siehe **Abb.24.**

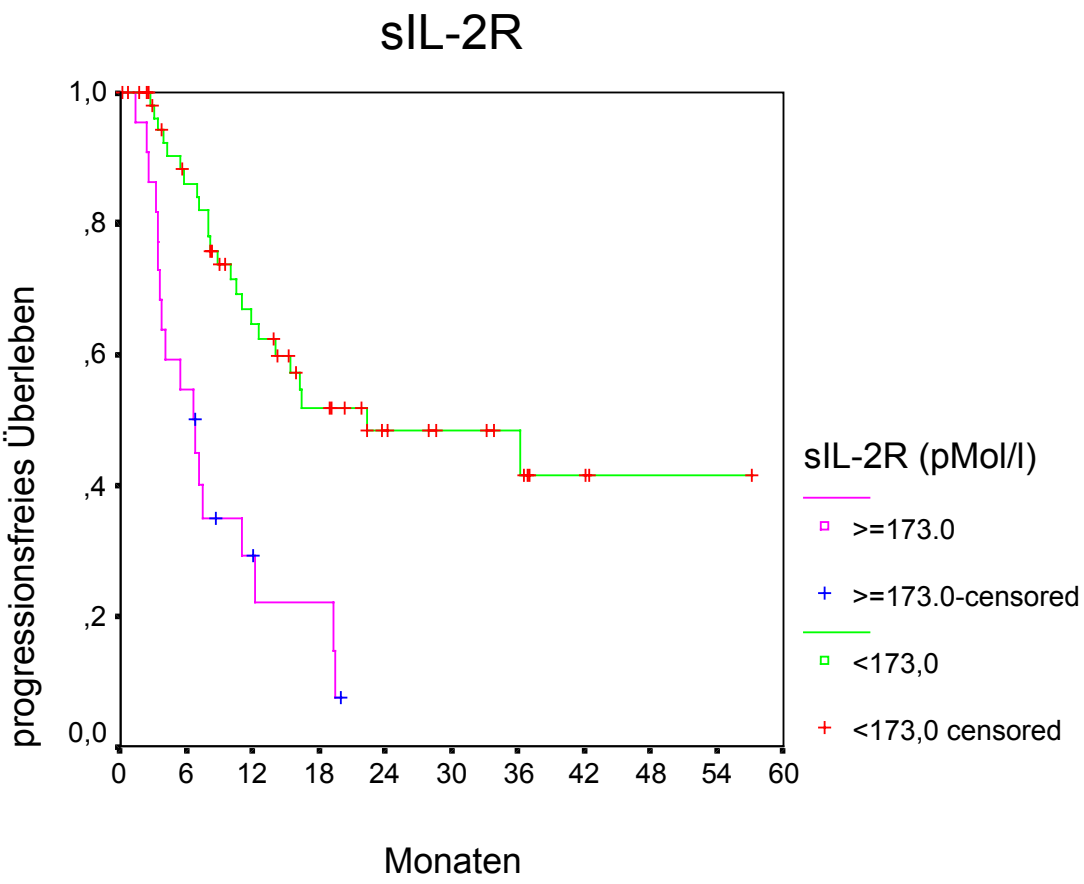


Abb.24: Kaplan- Meier- Kurve für progressionsfreies Überleben der Studienpatienten (n=79) mit Aufteilung anhand der Variablen sIL-2R: Gruppe 1: sIL-2R <173,0 pMol/l (n=57; med. PFÜ: 22,3 Monate); Gruppe 2: sIL-2R ≥173,9´0 pMol/l (n=22; med. PFÜ: 6,55 Monate); Kaplan- Meier: Logrank p= 0,0000.

Das mediane progressionsfreie Überleben der Gruppe von Patienten (n= 57) mit einem sCD 23- Wert von weniger als 2616 U/ml lag bei 22,3 Monaten und war signifikant (p=0,0020) länger als das progressionsfreie Überleben der Gruppe (n=22) mit einem sCD 23-Wert von mehr bzw. gleich 2616 U/ml. Das mediane progressionsfreie Überleben von letzterer Gruppe lag bei 7,37 Monaten, siehe **Abb. 25**.

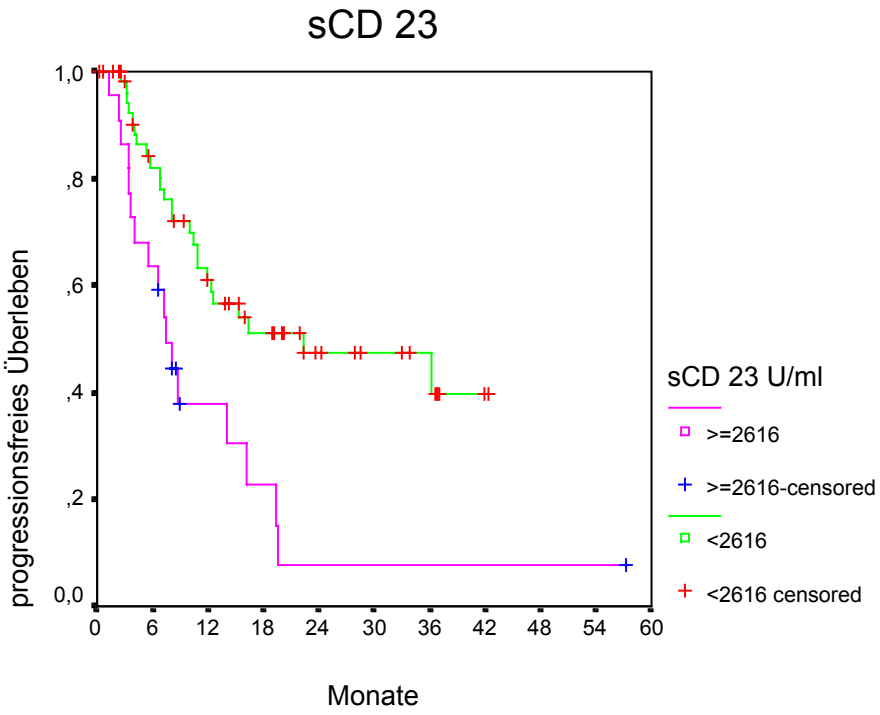


Abb.25: Kaplan-Meier-Kurve für progressionsfreies Überleben der Studienpatienten (n=79) mit Aufteilung anhand der Variablen sCD 23: Gruppe 1: sCD 23 < 2616 U/ml (n=57; med. PFÜ: 22,3 Monate); Gruppe 2: sCD 23 ≥2616 U/ml (n=22; med. PFÜ: 7,37 Monate); Kaplan-Meier: Logrank p= 0,0020.

Bei dem Parameter s-TK lag das mediane progressionsfreie Überleben in der Gruppe (n= 60) mit einem s-TK-Wert von < 10,5 U/l bei 16,41 Monaten und war signifikant (p= 0,0007) länger als in der Gruppe (n= 19) mit einem s-TK-Wert von ≥ 10,5 U/l, deren mediane progressionsfreie Überlebenszeit bei 8,06 Monaten lag, siehe **Abb. 26**.

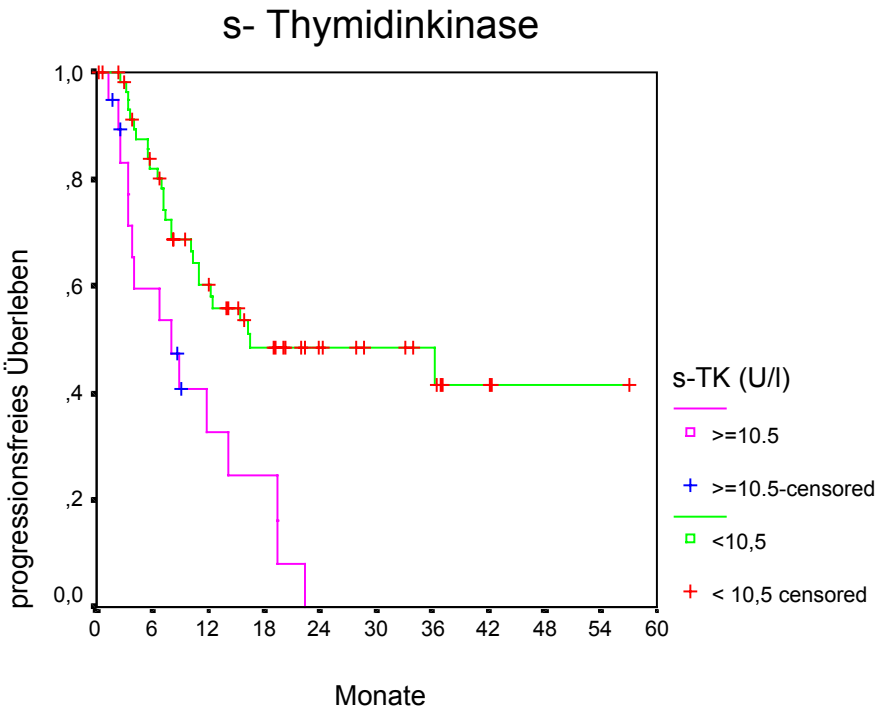


Abb.26: Kaplan-Meier-Kurve für progressionsfreies Überleben der Studienpatienten (n=79) mit Aufteilung anhand der Variablen s-TK: Gruppe 1: s-TK < 10,5 U/l (n=60; med. PFÜ: 16,41 Monate); Gruppe 2: s-TK ≥10,5 U/l (n=19; med. PFÜ: 8,06 Monate); Kaplan-Meier: Logrank p= 0,0007.

Die Gruppe (n= 56) mit einem s-β_2-m-Wert von < 2,7 mg/l zeigte ein medianes progressionsfreies Überleben von 22,3 Monaten. Die Gruppe (n=22) mit einem s-β_2-m-Wert von ≥ 2,7 mg/l erreichte ein medianes progressionsfreies Überleben von 7,17 Monaten. Der Unterschied in bezug auf das progressionsfreie Überleben war im Logrank-Test mit p= 0,0001 signifikant, siehe **Abb. 27**.

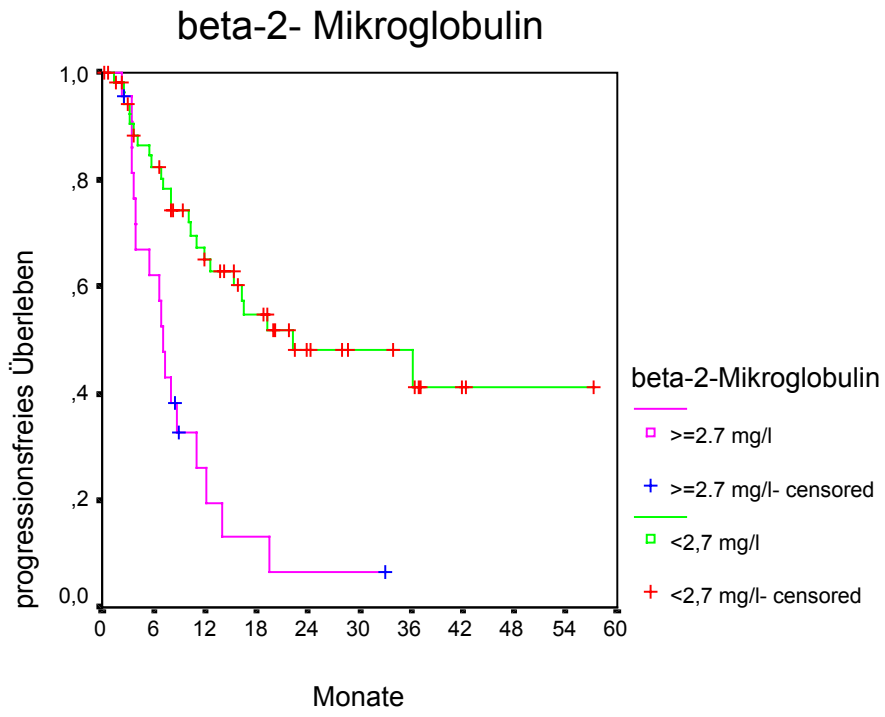


Abb.27: Kaplan-Meier-Kurve für progressionsfreies Überleben der Studienpatienten (n=78) mit Aufteilung anhand der Variablen s-β_2-m: Gruppe 1: s-β_2-m < 2,7 mg/l (n=56; med. PFÜ: 22,3 Monate); Gruppe 2: s-β_2-m ≥2,7 mg/l (n=22; med. PFÜ: 7,17 Monate); Kaplan-Meier: Logrank p= 0,0001.

3.5 Multivariate Analyse

In der multivariaten Analyse entsprechend dem Cox-Regressionsmodell wurden die Variablen (Binet, sIL-2R, sCD 23, s-TK und s-β_2-m), die sich in der univariaten Analyse als signifikant darstellten, auf ihre unabhängige prognostische Wertigkeit bezüglich des progressionsfreien Überlebens überprüft.

In der multivariaten Cox-Analyse führte jedoch keine Kombination der Variablen (Binet, sIL-2R, sCD 23, s-TK und s-β_2-m) zu einer unabhängigen prognostischen Wertigkeit bezüglich des PFÜ.

In der Cox-Analyse zeigte sich, dass von den vier schon in der univariaten Analyse nach Kaplan-Meier signifikanten Variablen der Parameter sIL-2R am signifikantesten zu sein scheint. Die größte Aussagekraft in der Cox-Analyse ($p= 8x\ 10^{-5}$) scheint sIL-2R zu besitzen, wenn man folgende drei Gruppen (anhand der CART-Analyse ermittelten Grenzwerten) bildet: Gruppe 1: sIL-2R <68,4 pMol/l, Gruppe 2: sIL-2R ≥68,4 pMol/l und <173,0 pMol/l und Gruppe 3: sIL-2R ≥173,0 pMol/l. Vergleicht man nun die Gruppe 1 (sIL-2R <68,4 pMol/l) mit der Gruppe 2 (sIL-2R ≥68,4 pMol/l und <173,0 pMol/l), beträgt die Signifikanz bezüglich des PFÜ p=0,006. Wenn man die Gruppe 3 (sIL-2R ≥173,0 pMol/l) mit der Gruppe 1 (sIL-2R <68,4 pMol/l) vergleicht, beträgt die Signifikanz bezüglich des PFÜ $p=2x\ 10^{-5}$.

Als Annäherung an das relative Risiko, progredient zu werden, wurden die Hazard-Ratio und deren Konfidenzintervall bestimmt. Ein Patient mit einem sIL-2R-Wert ≥68,4 pMol/l und <173,0 pMol/l hat ein 3,746-fach erhöhtes relatives Risiko, progredient zu werden, als ein Patient mit einem sIL-2R-Wert < 68,4 pMol/l bei einem Konfidenzintervall von 1,465 bis 9,575-fach. Das relative Risiko progredient zu werden, lag bei einem Patienten mit einem sIL-2R-Wert von >173,0 pMol/l um 8,128-fach höher als bei einem Patienten mit einem sIL-2R-Wert < 68,4 pMol/l (95%-Konfidenzintervall: 3,112-21,226), siehe **Tab. 4** und **Abb. 28**.

Parameter	p	Hazard-Ratio	95%-Konfidenzintervall
sIL-2R (<68,4 versus ≥68,4 und <173,0l versus ≥173,0 pMol/l	8x 10^{-5}		
sIL-2R (<68,4 versus ≥68,4 und <173,0 pMol/l)	0,006	3,746	1,465-9,575
sIL-2R (<68,4 versus ≥173,0 pMol/l)	2x 10^{-5}	8,128	3,112-21,226

Tab. 4: Hazard-Ratio und zugehöriges Konfidenzintervall für sIL-2R-Wertegruppen

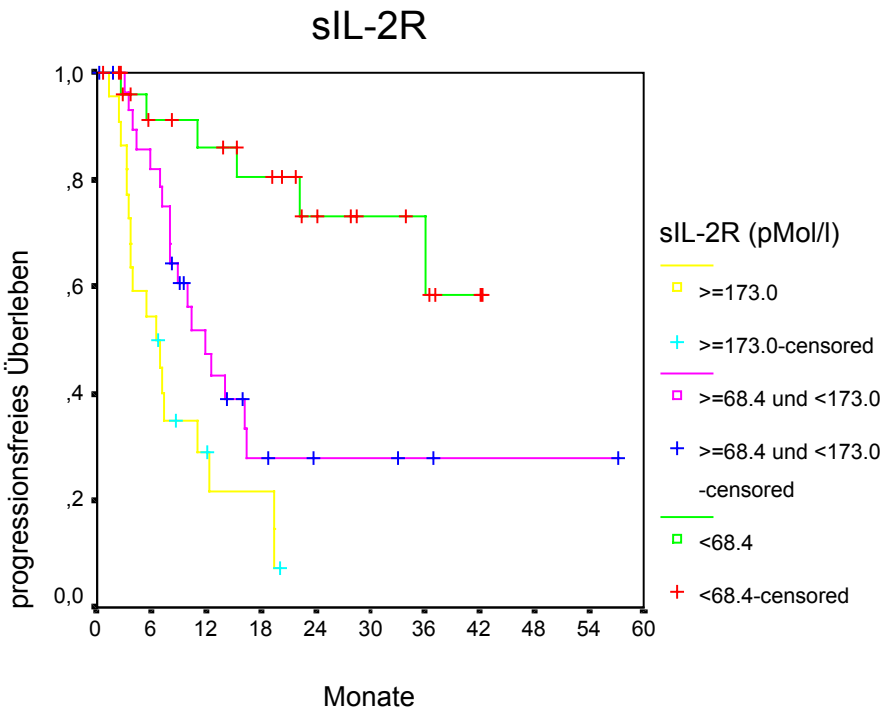


Abb.28: Kaplan-Meier-Kurve für progressionsfreies Überleben der Studienpatienten (n=79) mit Aufteilung anhand der Variablen sIL-2R: Gruppe 1: sIL-2R <68,4 pMol/l (n=27; med. PFÜ: 33,5 Monate); Gruppe 2: sIL-2R ≥68,4 pMol/l und <173,0 pMol/l (n=30; med. PFÜ: 22,66 Monate); Gruppe 3: sIL-2R ≥173,0 pMol/l (n=22 ;med. PFÜ: 8,68 Monate) Kaplan-Meier: Logrank p=0,0000.

4 Diskussion

Die chronische lymphatische Leukämie ist eine Krankheit mit sehr unterschiedlichem klinischen Verlauf und variabler Prognose. Die Überlebenswahrscheinlichkeit der Patienten reicht von einigen Monaten bis hin zu einer altersentsprechenden Lebenserwartung. Es ist deshalb wichtig, die Patienten mit einem progredienten Krankheitsverlauf von den Patienten mit einem lange Zeit stabilen Verlauf zu unterscheiden, um ihnen eine möglichst effiziente und zeitlich optimale Therapie zukommen zu lassen.
Aus diesem Grund wurden verschiedene Stadieneinteilungen entwickelt und verschiedene Variablen hinsichtlich ihrer prognostischen Aussagekraft überprüft. Die Stadieneinteilungen nach Binet und Rai sind sowohl im klinischen Alltag - bei Diagnosestellung und Therapieplanung - als auch in klinischen Studien allgemein gebräuchlich. In den letzten Jahren wurde eine Vielzahl von verschiedenen Prognoseparametern (wie z. B. s-TK, sCD 23, $ß_2$-m u.a.) untersucht, um ergänzend zu den gängigen Stadieneinteilungen und zur histopathologischen Charakterisierung eine verbesserte Einschätzung des Malignitätsgrades und des Krankheitsverlaufes zu erreichen. Bei den Parametern handelt es sich um keine tumorspezifischen Marker, sondern um biochemische Substanzen, die in jedem Organismus nachweisbar sind. Es werden noch weitere Faktoren benötigt, um vor allem in der Niedrigrisikogruppe vorhersagen zu können, welche Patienten von einer frühen und intensiven Chemotherapie profitieren können.

4.1 Kritische Bewertung der eigenen Ergebnisse hinsichtlich Methodik und Aussagekraft

Bei der Bewertung unserer Studie muss berücksichtigt werden, dass es sich um ein recht kleines Patientenkollektiv (79 Patienten) handelt und die Ergebnisse bezüglich der prognostischen Aussagekraft der untersuchten Parameter somit als Trend verstanden werden müssen. Ein weiterer Kritikpunkt, der sich vermutlich aus der kleinen Studienteilnehmerzahl ergibt, ist der Umstand, dass

unsere Patienten vor allem in den fortgeschritteneren Binet-Stadien eher unterrepräsentiert sind (6 Patienten (7,6%) im Stadium C nach Binet). Dies wird deutlich, wenn man unsere Zahlen mit der Verteilung der Patienten bei Binet zum Zeitpunkt der Diagnosestallung vergleicht; ungefähr 60% der Neuerkrankten befinden sich im Stadium A, 30% im Stadium B und 10% im Stadium C nach Binet [10]. Auch ist im Zusammenhang mit der Stadieneinteilung zu fragen, ob der individuelle Krankheitsverlauf in frühen Krankheitsstadien vergleichsweise lückenhafter dokumentiert ist, da Kontrolluntersuchungen dort in größeren Abständen durchgeführt werden als in fortgeschrittenen Stadien.

Die Studie war ursprünglich so angelegt, dass auch eine prognostische Bewertung der Parameter bezüglich des Gesamtüberlebens gemacht werden sollte. Bei Abschluss der Studie war jedoch nur bei 5 Patienten von insgesamt 79 Patienten das „Zielereignis“ Tod eingetreten, so dass hier keine sinnvolle statistische Auswertung der Daten möglich war. Sicherlich wäre es interessant gewesen, die prognostische Aussagekraft für das PFÜ mit der Aussagekraft für das Gesamtüberleben zu korrelieren.

Unsere Studie schließt auch Patienten mit vorausgegangener Chemotherapie ein. Dies kann insofern problematisch sein, da sowohl die von uns untersuchten Parameter als auch die Einstufung der Patienten in Prognosegruppen durch eine Chemotherapie beeinflusst werden können; d.h. Patienten gelangen durch den Effekt einer Chemotherapie in eine prognostisch günstigere Gruppe als sie in Wirklichkeit angehören. Es wurde versucht, diesen Störfaktor möglichst gering zu halten, indem nur Patienten in die Studie aufgenommen wurden, deren Chemotherapie mindestens 2 Monate vor Studieneintritt abgeschlossen war. Da in einer früheren Studie unserer Arbeitsgruppe gezeigt wurde, dass eine α-Interferontherapie keinen Einfluss auf das PFÜ und das GÜ hat [84], wurden die 6 Patienten, die vor Studieneintritt im Rahmen einer randomisierten Therapiestudie eine α-Interferontherapie erhalten hatten nicht gesondert aufgeführt oder in der Bewertung gesondert berücksichtigt. Bevor diese Patienten jedoch in unsere Studie aufgenommen wurden, haben wir überprüft, ob ein Therapieeffekt im Krankheitsverlauf zu beobachtet war. Bei keinem der Patienten war dies der Fall.

Ein weiterer Punkt ist die Frage, inwieweit der Abstand zwischen dem Zeitpunkt der Diagnose und dem Zeitpunkt des Studieneintritts eine Einflussgröße bzw. inwieweit der Diagnosezeitpunkt als solcher einen sehr variablen Faktor darstellt, denn der Zeitpunkt der Diagnose findet an sehr unterschiedlichen Stadien des Krankheitsverlaufes statt. Bei manchen Patienten wird die Diagnose CLL ohne Vorliegen von Krankheitssymptome im Rahmen einer Routine-Blutbilduntersuchung gestellt, andere Patienten suchen aufgrund von krankheitsspezifischen Symptomen oder Komplikationen ihren Arzt auf und die CLL wird somit erst in einem fortgeschrittenen Krankheitsstadium diagnostiziert. Molica et al. zeigten in einer Studie, in der sie die klinische Signifikanz des Diagnosezeitpunktes anhand der Auswirkung der diagnostischen Latenz auf das Gesamtüberleben untersuchten, dass die diagnostische Latenz auch in der multivariaten Analyse keine prognostisch signifikante Aussagekraft zu haben scheint [98]. Wir haben unsere Studiendaten ebenfalls auf diese Fragestellung hin untersucht. Die Länge des Abstandes zwischen dem Zeitpunkt der Diagnosestellung und dem Eintritt in die Studie hatte bei unseren Studienpatienten keine signifikante Auswirkung auf das PFÜ. Im Hinblick auf die Reproduzierbarkeit ist jedoch anzumerken, dass es besser gewesen wäre, den Zeitpunkt der Diagnosestellung als Eintritt in die Studie festzulegen.

Zudem kann kritisch bemerkt werden, dass konventionelle und etablierte Prognosefaktoren nicht ausreichend berücksichtigt wurden. Primär aber ging es uns darum, die Konkurrenz der fünf Parameter untereinander und in Bezug zum Binet-Stadium darzustellen, um dann in einer größeren Studie die aussagekräftigsten Parameter mit den konventionellen und etablierten Prognosefaktoren zu vergleichen.

Auch wenn die Ergebnisse unserer Studie hinsichtlich ihrer Aussagekraft eher als Trend gewertet werden müssen, können sie dennoch als Grundlage für spätere Studien dienen.

4.2 Diskussion im Kontext der Literatur

4.2.1 Soluble Interleukin-2-Rezeptor (sIL-2R)

In unserer Studie erwies sich der sIL-2R als aussagekräftigster Parameter der untersuchten Faktoren. Hierbei handelt es sich um eine im Plasma vorkommende lösliche Form des IL-2 Rezeptors, der durch eine Protease vom IL-2 Rezeptors abgetrennt wird [137]. Die Entwicklung eines ELISA`s, der mit zwei monoklonalen Antikörpern arbeitet, die unterschiedliche Epitope des menschlichen IL-2-Rezeptors erkennen, machte es möglich, den sIL-2R zu identifizieren und quantitativ zu bestimmen [136,152]. Eine mögliche Quelle für die erhöhten sIL-2R-Werte scheinen aktivierte T-Zellen zu sein, womit der Serumspiegel des sIL-2R ein Indikator für die Lymphozytenaktivität wäre [137]. Eine weitere wahrscheinliche Quelle für die erhöhten sIL-2R-Werte insbesondere bei der CLL scheinen neoplastischen B-Zellen zu sein [75]. Da ein erhöhter sIL-2R-Wert bei verschiedenen Krankheiten nachgewiesen werden konnte, scheint dieser kein krankheitsspezifischer Parameter zu sein. Einige Studien zeigten, dass Patienten mit malignen lymphoproliferativen Erkrankungen erhöhte sIL-2R-Werte aufweisen [2,6,122,144]. Auch wenn die genaue Funktion des sIL2-Rezeptors noch nicht vollständig geklärt ist und ebenso inwieweit dieser regulierend auf das Immunsystem einwirkt [154], erscheint seine Fähigkeit, IL-2 zu binden, zwingend zur Dysfunktion von IL-2-abhängigen Zellfunktionen zu führen [135].

In unserer Studie zeigten sich im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöhte sIL-2R-Werte (Mittelwert Kontrollgruppe: 34,4 pMol/l; Mittelwert CLL-Patienten: 154,1 pMol/l). Dies stimmt mit Untersuchungen anderer Arbeitsgruppen überein [7,15,75,83,108,110,112,144]. Vergleicht man die sIL-2R-Spiegel mit den klinisch-prognostischen Stadien nach Binet, zeigte sich, dass der sIL-2R-Spiegel mit fortschreitender Erkrankung ansteigt, d.h. der sIL-2R-Spiegel scheint mit der Krankheitsausbreitung zu korrelieren. Diesen Zusammenhang zeigten auch andere Arbeitsgruppen, teilweise jedoch basierend auf der Stadieneinteilung nach Rai [6,75,110,119]. Im Gegensatz dazu konnten Semenzato et al. keinen direkten Zusammenhang zwischen dem sIL-2R-

Spiegel und den verschiedenen Krankheitsstadien (nach Rai) nachweisen. Sie geben als Erklärung an, dass die vermutete unvollständige Verfügbarkeit des IL-2 möglicherweise eine große Anzahl an immunologischen Funktionen beeinträchtigt [144]. Ebenso fanden Beguin et al. keinen Anstieg des sIL-2R im fortgeschrittenen Krankheitsstadium, sondern die höchsten Werte im Stadium 2 nach Rai. Dies kann man eventuell auf die geringe Patientenzahl zurückführen [7].

Des weiteren untersuchten wir die Korrelation zwischen sIL-2R und den folgenden Parametern: sCD 23, s-TK, $ß_2$m, LDH. Dabei korrelierte der sIL-2R am besten mit dem sCD 23, gefolgt von $ß_2$m und s-TK und weniger ausgeprägt mit der LDH. Auch Beguin et al. konnten eine Korrelation zwischen sIL-2R und sCD 23 aufzeigen [7], ebenso Aguilar-Santelises et al. zwischen sIL-2R und $ß_2$m [1]. Ebenfalls eine Korrelation zwischen erhöhten sIL-2R-Werten und einer TK > 5 U/l wurde von Knauf et al. nachgewiesen [83].

Mit Hilfe der CART-Analyse wurde ein Cut-off-Punkt (Grenzwert) für den sIL-2R von 173 pMol/l gefunden, der die Studienpatienten bezüglich des PFÜ in zwei Kategorien teilt. Ein sIL-2R-Wert $\geq$ 173pMol/l erwies sich in der univariaten Analyse nach Kaplan-Meier als signifikanter negativer Prognosefaktor bezüglich des PFÜ. In der multivariaten Cox-Analyse schien dieser Parameter am aussagekräftigsten bezüglich des PFÜ im Vergleich zu den anderen untersuchten Parametern zu sein, wobei allerdings drei Wertegruppen gebildet wurden (sIL-2R < 68,4 pMol/l; sIL-2R $\geq$68,4 pMol/l und <173 pMol/l; sIL-2R $\geq$ 173 pMol/l). Unsere Ergebnisse stehen im Kontrast zu den Untersuchungen von Knauf et al., die in einer Studie zeigten, dass hohe sCD 23-Werte, jedoch nicht hohe sIL-2R-Werte zum Diagnosezeitpunkt mit einem raschen Krankheitsfortschritt assoziiert sind. An Hand ihrer Cox-Regressionsanalyse zeigten sich hohe sCD 23-Werte und eine kurze LVZ als stärkste Risikofaktoren in den ersten Krankheitsjahren [83]. Der Unterschied der Wertigkeit des sIL-2R lässt sich eventuell auf die unterschiedlichen Patientenkollektive (Knauf et al.: 105 neu diagnostizierte und unbehandelte Patienten im Stadium A nach Binet; in unserer Studie: Patienten in allen Krankheitsstadien, die zum Teil auch vorbehandelt waren) zurückführen.

4.2.2 Soluble CD 23 (sCD 23)

Ein weiterer Faktor, der in den letzten Jahren als unabhängiger Prognoseparameter entdeckt wurde, ist das sCD 23 (auch IgE bindender Faktor genannt). Es entsteht, indem das membrangebundene CD 23-Antigen durch selbstkatalysierende Vorgänge in lösliche Fragmente gespalten wird [34]. Bei dem CD 23-Antigen, das dem low-affinity-Rezeptor für IgE entspricht, handelt es sich um ein 45-kD Glykoprotein, welches hauptsächlich auf der Zelloberfläche von IgM und IgD positiven B-Zellen vorkommt [79]. Es konnte auch auf Monozyten, T-Zellen, Thrombozyten, Eosinophilen, Langerhanszellen und follikulär dentritischen Zellen nachgewiesen werden [33]. Sowohl CD 23 als auch sCD 23 scheinen das B-Zellwachstum zu fördern [35]. Sarfati et al. berichteten 1988, dass sie im Serum von B-CLL-Patienten bis zu 500-fach höhere sCD 23-Werte nachweisen konnten als im Serum von gesunden Probanden oder Patienten mit anderen lymphoproliferativen Erkrankungen [139]. Seitdem wurde die prognostische Bedeutung des sCD 23 in einigen multizentrischen Studien weiter erforscht und bestätigt [83,97,129,140].
Unsere Analysen ergaben erhöhte sCD 23-Werte bei Patienten mit B-CLL (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung 2120 $\pm$ 2351 U/ml, Median 1244 U/ml) im Vergleich zu gesunden Probanden. Diese Aussage deckt sich mit frühren Studien [5,7,83,97,129,143]. Untersucht man die Entwicklung des sCD 23 bezüglich der Krankheitsstadien (nach Binet), so zeigten sich in unserer Untersuchung die höchsten Werte im Stadium B nach Binet, sowohl Mittelwert als auch Median. Untersucht man die einzeln Binet-Stadien mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Testes bivariat gegeneinander, zeigten sich statistisch signifikante Unterschiede zwischen Binetstadium A und B bzw. zwischen A und C, nicht jedoch zwischen B und C. Die Ergebnisse anderer Studien sind hierzu uneinheitlich. Reinisch et al. zeigten in ihren Untersuchungen ebenso wie andere Autoren, dass statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Stadien (Binet-/Rai-Stadium) bezüglich der sCD 23-Werte bestehen; bzw. mit dem Fortschreiten der Krankheit anstiegen [97,129], [7,7,139,143]. Christiansen et al. konnten keinen Unterschied zwischen den sCD 23-Werten der Patienten im Stadium A und B nach Binet feststellen; die Stadien A und B zusammengefasst wiesen dort jedoch einen Unterschied zum Stadium C auf.

Dies ließ sich auch in den Rai-Stadien nachweisen: so unterschied sich die „niedrig Risikogruppe“ kombiniert mit der „intermediären Risikogruppe“ signifikant von der “Hochrisikogruppe“ [22].

Die Korrelation zwischen sCD 23 und sIL-2R war mit r_s= 0,715 und p<0,001 am größten, gefolgt von sCD 23 zu s-TK (r_s= 0,571, p< 0,001) und sCD 23 zu ß$_2$m (r_s= 0,545, p< 0,001). Eine weniger ausgeprägte Korrelation ergab sich zu s-LDH, die statistisch mit p= 0,034 aber auch signifikant war. Christiansen et al. konnten keine signifikante Korrelation zwischen sCD 23 und der LDH nachweisen, wohl aber zwischen sCD 23 und ß$_2$m [22]. Letztere Korrelation fanden auch Molica et al. [96]. Eine positive Korrelation zwischen der s-TK und sCD 23 wurde auch von anderen Arbeitsgruppen nachgewiesen [22,83,129]. Keine signifikante Korrelation zwischen sCD 23 und ß$_2$m bestand bei Schwarzmeier et al. [143]. So dass sich bei Zusammenschau der verschiedenen Studien sagen lässt, dass in mehreren Studien eine Korrelation zwischen sCD 23 und s-TK gefunden wurde. Eine Korrelation zwischen sCD 23 und ß$_2$m wurde zusätzlich zu unserem Ergebnis von zwei weiteren Studien nachgewiesen, wobei Schwarzmeier et al. keine solche Korrelation nachweisen konnten. Die bei uns nur gering ausgeprägte Korrelation des sCD 23 zur LDH wurde von Christiansen et al. überhaupt nicht festgestellt.

Als geeigneten Grenzwert für das sCD 23, der die CLL-Patienten in zwei Gruppen teilt, die sich hinsichtlich ihrer Prognose signifikant unterscheiden, ermittelten wir in der CART-Analyse den Wert 2616 U/ml. Dieser stimmt weitgehend mit den Ergebnissen anderer Studien überein. So liegt der Grenzwert bei Molica et al. einmal bei 2700 U/ml [97], in einer anderen Studie derselben Arbeitsgruppe bei 2300 U/ml [96]. Sarfati et al. legten ihren Berechnungen als Grenzwert den Median (574 U/ml) zu Grunde [140], der sehr viel niedriger liegt als unser Grenzwert und die Grenzwerte von Molica et al. Auf die Ergebnisse in der univariaten Analyse nach Kaplan-Meier schien dieser Unterschied keine Auswirkung zu haben. Ob dies ein Grund dafür ist, dass die Ergebnisse der multivariaten Analyse differieren, sollte in einer weiteren Studie geklärt werden.

Die univariate Analyse nach Kaplan-Meier zeigte ein signifikant besseres **progressionsfreies Überleben** für Patienten mit sCD 23-Werten < 2616 U/ml (logrank p= 0,002). In der multivariaten Cox-Analyse zeigte das sCD 23 jedoch

keine unabhängige signifikante prognostische Aussagekraft innerhalb der untersuchten Parameter (sIL-2R, s-TK, ß$_2$m, LDH, Binet-Stadium).

Unsere Ergebnisse stimmen in Teilen mit denen von Sarfati et al. überein, wobei in deren Studie nur Patienten im Stadium A nach Binet berücksichtigt wurden. Sie zeigten, dass das sCD 23 univariat bezüglich des progressionsfreien Überlebens signifikant ist. Sie konnten jedoch auch in der multivariaten Cox-Analyse (sCD 23, Rai, Lymphknotenbefall) eine signifikante prognostische Aussagekraft nachweisen [140]. Die Ergebnisse (multivariate Analyse von sCD 23, sCD25, KM, LVZ, s-TK) von Knauf et al., die ebenfalls nicht vorbehandelte Stadium A-Patienten untersuchten, decken sich mit den Ergebnissen von Sarfati et al. [83]. Nun bleibt in einer neuen Studie zu klären, ob die Unterschiede in der Patientenauswahl oder die Auswahl der Untersuchungsparameter bzw. die unterschiedlichen Grenzwerte zu diesen Ergebnisunterschieden geführt haben.

Univariat zeigte sich bezüglich des **Gesamtüberlebens** bei mehreren Autoren eine signifikante Korrelation für das sCD 23 [22,96,97,140]. Multivariat konnte sowohl nachgewiesen werden, dass sCD 23 unabhängige prognostische Informationen zusätzlich zum Binet-Stadium und zur LVZ liefert [22], als auch, dass der sCD 23-Spiegel und die Stadieneinteilung nach Binet unabhängige prognostische Faktoren bezüglich des Gesamtüberlebens darstellen [140]. Somit liefert, nach Meinung von Sarfati, die sCD23-Bestimmung zusätzliche Informationen über die Prognose ergänzend zum klinischen Einteilungssystem und dies nicht nur zum Diagnosezeitpunkt, sondern auch während des Krankheitsverlaufes [140]. Allerdings wurden in diese multivariate Analyse (Rai, Binet, LK, Milz, Leber, Hb, Thrombozyten, sCD 23) keine weiteren etablierten Prognoseparameter, wie z. B. Knochenmark oder LVZ, integriert. Molica et al. veröffentlichten hierzu konträre Untersuchungsergebnisse. Sie konnten für das sCD 23 in der multivariaten Überlebensanalyse (sCD 23, ß$_2$m, KM, LVZ, Binet) keine signifikante Aussagekraft feststellen, nur in der Kombination sCD 23/ ß$_2$m. Ihrer Meinung nach sollte man die beiden Serumparameter sCD 23 und ß$_2$m, die zusätzliche unabhängige Informationen liefern, in die Stadieneinteilung nach Binet in der Weise integrieren, dass man eine klinisch-biologische Stadieneinteilung schafft [96]. Einen weiteren interessanten Gesichtspunkt zu sCD 23 erörterten Schwarzmeier et al. in einem kürzlich erschienenen Artikel.

Sie untersuchten die prognostische Aussagekraft des sCD 23 dadurch, dass dieses nicht nur zum Diagnosezeitpunkt bestimmt, sondern auch die sogenannte sCD 23-Verdoppelungszeit (d.h. die Zeitspanne, in der sich die (bei Diagnose) vorgefundenen sCD 23-Werte verdoppelt haben) ermittelt wurde. Sie kamen zu dem Schluss, dass die Aussagekraft der sCD 23-Verdoppelungszeit den Krankheitsverlauf besser wiederspiegelt als die alleinige sCD 23-Bestimmung [143].

4.2.3 Serumthymidinkinase (s-TK)

Ein weiterer etablierter Faktor für die Prognoseabschätzung ist die s-TK. Die Thymidinkinase, ein intrazelluläres Enzym, ist am Wiederverwertungsweg (salvage pathway) bei der DNA-Synthese beteiligt. In eukaryonten Zellen werden drei Isoenzyme der TK unterschieden, die aufgrund biochemischer und/ oder elektrophoretischer Eigenschaften identifiziert werden [81]. Eine hohe Konzentration an zytoplasmatischer TK (ebenfalls bekannt als TK1 oder fetale TK) wird vor allem in Zellen, die sich in der G1/ S Phase des Zellzyklus befinden, gefunden. Ruhende Zellen weisen nur eine sehr geringe Enzymaktivität auf [8]. In Gegensatz dazu zeigt die TK2 eine relative konstante Aktivität über alle Zellzyklusphasen hinweg. Mindestens 95% der im Serum messbaren TK-Aktivität verhält sich wie die TK1 [56,81]. Ein weiteres Isoenzym, TK-B oder TK3, ist wahrscheinlich auch in den Mitrochondrien zu finden. Seine biologische Aussagekraft ist noch nicht geklärt und es besitzt nur eine sehr geringe Aktivität [82]. Die s-TK Aktivität scheint ein guter Indikator für die Anzahl der sich teilenden Tumorzellen bei CLL-Patienten zu sein, da die s-TK Konzentration mit der Proliferationsaktivität der CLL-Zellen korreliert [71]. Seit der Einführung einer zuverlässigen und einfach zu handhabenden Nachweismethode wurde die s-TK bei einer Vielzahl von Erkrankungen untersucht [55]. Es wurden erhöhte s-TK Spiegel bei Patienten mit Hodgkin-Lymphomen, NHL, multiplem Myelom, akuter lymphatischer und myeloischer Leukämie, Brustkrebs, Prostatakrebs und nicht-kleinzelligem Bronchialkarzinom gefunden [61].

In unserem Patientenkollektiv konnten wir zwar einen erhöhten Mittelwert (> 5U/l) für die s-TK (9,38 $\pm$ 10,15 U/l) nachweisen. Der s-TK Spiegel war aber

nicht mit dem Krankheitsstadium assoziiert, sondern im Stadium B nach Binet am höchsten. Andere Autoren konnten jedoch einen signifikanten Zusammenhang mit dem Anstieg des TK-Spiegels und den Binet bzw. Rai-Stadien nachweisen [38,57,72]. Unser Ergebnis lässt sich am plausibelsten dadurch erklären, dass sich in der Stadium C-Gruppe nach Binet nur 6 Patienten (7,6 %) befanden. Der s-TK Spiegel korrelierte in unseren Untersuchungen (sIL-2R, sCD 23, $ß_2$m, LDH) mit allen vier Parametern, wobei die Korrelation zwischen s-TK und LDH am geringsten ausfiel. Di Raimondo et al. fanden ebenfalls eine Korrelation zwischen dem s-TK Spiegel und den Parametern $ß_2$m und LDH [38]. Auch in einer früheren Untersuchung unserer Arbeitsgruppe fand sich eine signifikante Korrelation zwischen der s-TK und der LDH [57]. Ebenfalls eine signifikante Korrelation zwischen der s-TK und den Parametern sCD 23, $ß_2$m, LDH wurde in zwei verschiedenen Arbeiten von Christiansen et al. nachgewiesen [21,22]. Um die prognostische Aussagekraft der s-TK statistisch auszuwerten, benutzten wir einen Grenzwert von 10,5 U/l, der an Hand der CART-Analyse ermittelt wurde. Ein annähernd identischer Grenzwert (10 U/l) wurde in anderen Studien, die die prognostische Wertigkeit der s-TK bei NHL bzw. bei der CLL untersucht haben, verwendet [38,54,128]. Källander et al. setzten den Grenzwert mit 8,4 Units pro µl Serum allerdings niedriger an, um zwischen einem progressiven und einem unauffälligen Krankheitsverlauf zu unterscheiden. Sie zeigten, dass die s-TK einen geeigneten Marker für die Prognose, den Krankheitsverlauf und den Therapieeffekt darstellt [72]. Ebenfalls niedrigere Grenzwerte (5 U/l und 7,1 U/l) wurden in früheren Studien unserer Studiengruppe ermittelt. Dort wurden für die s-TK sowohl univariat, als auch multivariat signifikante Ergebnisse bezüglich des PFÜ nachgewiesen. Diese Ergebnisse unterstützen die Annahme, dass der s-TK Spiegel die individuelle Prognose besser einzuschätzen erlaubt [58,60]. Die Patienten in unserer Studie zeigten ein signifikant besseres progressionsfreies Überleben, wenn ihre s-TK Werte kleiner als 10,5 U/l waren. In der multivariaten Analyse konnte die s-TK jedoch nicht als unabhängiger prognostischer Faktor identifiziert werden. Hierin stimmen unsere Ergebnisse mit denen von Di Raimondo et al. überein [38], die in ihrer Studie nachgewiesen haben, dass der s-TK Spiegel wertvolle prognostische Informationen (Ansprechen auf Therapie, GÜ) bei der Behandlung von CLL-Patienten liefert.

Univariat zeigte sich bezüglich des **Gesamtüberlebens** bei mehreren Untersuchungen eine signifikante Korrelation für die s-TK [21,22,96,140]. Multivariat konnte nachgewiesen werden, dass die s-TK unabhängige prognostische Informationen zusätzlich zum Binet-Stadium und zur LVZ liefert [22].

4.2.4 Beta$_2$-Mikroglobulin (ß$_2$m)

Das beta$_2$-Mikroglobulin ist ein niedermolekulares Protein; es wurde als erstes im Urin von Patienten mit Nierenerkrankungen nachgewiesen [9], später dann in allen Körperflüssigkeiten. Es handelt sich um ein membranständiges Protein, welches auf fast allen kernhaltigen Zellen vorkommt und als ein Teil des HLA-I-Komplexes identifiziert wurde [29]. Im Serum findet man zwei Formen: eine freie und eine membrangebundene Form [120]. Einen erhöhten beta$_2$-Mikroglobulin-Spiegel im Serum findet man sowohl bei malignen Erkrankungen und im Rahmen von Entzündungen [74,146] als auch bei Nierenerkrankungen, bei denen die glomeruläre Filtrationsrate erniedrigt ist [156]. Auch bei verschiedenen hämatologischen Erkrankungen scheint der beta$_2$-Mikroglobulin-Spiegel den Krankheitsverlauf wiederzuspiegeln. Bisher konnte jedoch nicht eindeutig geklärt werden, welche Ursachen zu einem Anstieg des beta$_2$-Mikroglobulins bei malignen Krankheiten führen. Es existieren verschiedene Theorien; wobei eine davon ausgeht, dass es sich um eine Umgebungsreaktion der peripheren Zellen auf den Tumor handelt [147].

Die ß$_2$m-Konzentration im Serum unserer CLL-Patienten betrug im Durchschnitt 2,44 $\pm$ 0,94 mg/l. Dies liegt über den in der Literatur angegebenen Werten, die bei gesunden Probanden gefunden wurden [1,24,45]. Das ß$_2$m stieg mit zunehmender Erkrankung (höheres Binet-Stadium) an. Statistisch zeigten sich signifikante Unterschiede in der bivariaten Analyse nach Mann-Whitney-U zwischen Stadium A und B und zwischen A und C, nicht jedoch zwischen B und C. Der Kruskal-Wallis-Test war signifikant. Christiansen et al. konnten keine signifikanten Unterschiede des ß$_2$m sowohl zu den Binet-Stadien als auch zu den Rai-Stadien finden [21,22]. Die Auswertung der Korrelation des ß$_2$m mit den Parametern sIL-2R, sCD 23, s-TK und LDH ergab folgende Ergebnisse.

Eine signifikante Korrelation besteht zu sIL-2R (r_s = 0,652), sCD 23 (r_s= 0,545) und s-TK (r_s= 0,417). Das $ß_2$m korreliert nicht mit der LDH. Zu ähnlich signifikanten Korrelationen kamen Christiansen et al.. Sie wiesen Korrelationen zwischen $ß_2$m und s CD 23, sowie zwischen $ß_2$m und s-TK nach und konnten keine Korrelation zwischen $ß_2$m und der LDH feststellen [21,22]. Ebenfalls eine signifikante Korrelation zwischen dem $ß_2$m und der s-TK wurden von Di Raimondo et al. nachgewiesen [38]. In der CART-Analyse ermittelten wir für das $ß_2$m als geeigneten Grenzwert 2,7 mg/l. Dazu gibt es unterschiedliche Grenzwerte in der Literatur (2,05 mg/l [58], 2,73 mg/l [100], 3,05 mg/l [99], 3,5 mg/l [60], 3 mg/l [96]), womit sich unser Grenzwert im Mittelfeld befindet. Die univariate Überlebensanalyse nach Kaplan-Meier ergab anhand dieses Grenzwertes signifikante Unterschiede bezüglich des **progressionsfreien Überlebens**. In der multivariaten Cox-Analyse zeigte das $ß_2$m jedoch keine unabhängige signifikante prognostische Aussagekraft innerhalb der untersuchten Parameter (sIL-2R, sCD 23, s-TK, LDH, Binet-Stadium). Mit diesem Ergebnis stimmen wir sowohl mit einer früheren Studie unserer Arbeitsgruppe [58] als auch mit zwei Arbeiten von Molica et al. überein [99,100]. Eine weitere Studie unserer Arbeitsgruppe konnte dem $ß_2$m nicht nur univariat eine prognostische Aussagekraft bezüglich des PFÜ nachweisen, sondern es auch multivariat als den besten Prognoseparameter bezüglich des PFÜ identifizieren, gefolgt von Karnofsky Index, Thrombozyten und s-TK [60]. Die prognostische Wertigkeit des $ß_2$m bezüglich des **Gesamtüberlebens** wurde von Christiansen et al. untersucht; es erwies sich in der univariaten Analyse als signifikant, nicht jedoch multivariat (zusätzlich zum Binet-Stadium und zur LVZ) [21,22]. Damit übereinstimmende Ergebnisse lieferten Molica et al.; erst die Kombination von $ß_2$m und sCD 23 liefert multivariat signifikante Ergebnisse [96]. Fayad et al. hingegen konnten das $ß_2$m nicht nur univariat als signifikant, sondern auch in ihrer multivariaten Analyse als den wichtigsten Prognosefaktor identifizieren [47]. Fasst man die Ergebnisse der genannten Studien zusammen - mit der Annahme, dass die Zeit des progressionsfreien Überlebens einen großen Einfluss auf das Gesamtüberleben hat – so kann man dem $ß_2$m eine relevante prognostische Aussagekraft zusprechen, die in kontrollierten Studien weiter verifiziert werden sollte.

4.2.5 Serum-Lactatdehydrogenase (s-LDH)

Ein weiterer weniger spezifischer Parameter ist die Serum-Lactat-dehydrogenase (5 verschiedene Isoenzyme). Diese ist am Glukosestoffwechsel beteiligt und kann in allen Zellarten nachgewiesen werden. Findet ein erhöhter Glukosemetabolismus statt, wie dies bei einer erhöhten Zellzahl und Zellaktivität der Fall ist, kann ein entsprechend erhöhter LDH-Spiegel im Serum nachgewiesen werden. Bei einigen Lymphomen konnten sehr hohe LDH-Werte gemessen bzw. ein Zusammenhang zwischen dem Gesamtüberleben und der Höhe der LDH gefunden werden [27,85,130].
Die Lactatdehydrogenase wurde deshalb auch in unserem Kollektiv bestimmt. Hierbei konnten jedoch bereits bezüglich des Binet-Stadiums keine signifikanten Unterschiede der LDH nachgewiesen werden. Weshalb diese auch nicht in die weitere Auswertung einbezogen wurde. Die fehlende Signifikanz ist wohl am wahrscheinlichsten auf die geringe Patientenanzahl im Stadium C nach Binet zurückzuführen. Andere Studien belegen durchaus in der univariaten Analyse, dass die LDH eine statistisch signifikante Beziehung zum **progressionsfreien Überleben** besitzt. In diesen Studien lieferte die LDH jedoch keine zusätzliche prognostische Information in der multivariaten Analyse [58,60,99,100]. Christiansen et al. zeigten, dass die LDH zwar eine signifikante Korrelation bezüglich des Überlebens in der univariaten Analyse hat, jedoch keine zusätzlichen prognostischen Informationen zum Binet-Stadium und zur LVZ liefert [22]. Allerdings zeigte die LDH in einer anderen Studie derselben Arbeitsgruppe weder univariat noch multivariat eine signifikante Korrelation bezüglich des Überlebens [21]. In einer Studie von Lee et al. konnte der LDH in der univariaten Analyse eine Bedeutung bezüglich des Überlebens nachgewiesen werden. In der multivariaten Regressionsanalyse zeigte die LDH in Kombination mit der Harnsäure, der alkalischen Phosphatase, äußerlicher Lymphadenopathie und dem Alter die stärkste Aussagekraft zum Gesamtüberleben [85]. Insgesamt scheint die Aussagekraft der LDH widersprüchlicher zu sein als allgemein angenommen, da nur eine der oben aufgeführten Studien eine unabhängige prognostische Aussagekraft dieses Enzyms nachweisen konnte.

5 Zusammenfassung

In der hier vorliegenden Studie wurde bei 79 Patienten mit CLL die prognostische Aussagekraft von fünf Serumparametern (sIL-2R, sCD 23, s-TK, s-ß$_2$m, s-LDH) hinsichtlich des progressionsfreien Überlebens untersucht.
Die statistische Auswertung ergab, dass die Parameter - sIL-2R, sCD 23, s-TK und s-ß$_2$m - mit der Stadieneinteilung nach Binet gut korrelieren. Für die s-LDH wurde keine Korrelation zu den Binet-Stadien gefunden, so dass diese in der Auswertung nicht weiter berücksichtigt wurde. Die verbleibenden Serumparameter zeigten auch eine statistisch signifikante Korrelation untereinander.
In der univariaten Analyse zeigten sIL-2R, sCD 23, s-TK, s-ß$_2$m sowie die Stadieneinteilung nach Binet eine signifikante prognostische Aussagekraft bezüglich des progressionsfreien Überlebens. Anhand der multivariaten Analyse, die alle Parameter gemeinsam und gegeneinander analysiert, wurde bei keinem dieser Parameter eine signifikante unabhängige prognostische Wertigkeit bezüglich des progressionsfreien Überlebens gefunden. Es ergab sich aber, dass der Parameter sIL-2R, aufgeteilt in drei Gruppen, am aussagekräftigsten erscheint.
Den Serumparametern - sIL-2R, sCD 23, s-TK und s-ß$_2$m - kann, trotz der negativ ausgefallenen multivariaten Analyse, eine prognostische Aussagekraft zugesprochen werden. Um die Bedeutung der Parameter weiter zu bestätigen, sind Untersuchungen mit größerer Fallzahl und längerer Beobachtungszeit notwendig. Auch die Einbeziehung weiterer Parameter wie z.B. Knochenmarkhistologie, Lymphozytenverdoppelungszeit oder Zytologie wäre dabei wünschenswert. Das somit gewonnene Wissen würde es eventuell erlauben, die klassischen Stadieneinteilungen durch aussagekräftige Prognoseparameter zu ergänzen, um den individuellen Krankheitsverlauf genauer vorherzusagen und gegebenenfalls therapeutische Strategien danach auszurichten.

6 Anhang

Definition einer kompletten und einer partiellen Remission gemäß der Richtlinien der NCI Working Group [19]:

Komplette Remission:

- Körperlicher Untersuchungsbefund: normal
- keine krankheitsspezifischen Symptome
- Blutlymphozyten $\leq 4x\ 10^9/l$
- Neutrophile $\geq 1{,}5x10^9/l$
- Thrombozyten $>100x10^9/l$
- Hämoglobin >11 g/dl
- < 30% Lymphozyten im Knochenmark

Partielle Remission:

- Abnahme der Lymphknotenvergrößerung, der Spleno- oder Hepatomegalie um mindestens 50 %

und zusätzlich eines der folgenden Kriterien erfüllt ist

- Neutrophile $\geq 1{,}5x10^9/l$
- Thrombozyten $>100x10^9/l$
- Hämoglobin >11 g/dl oder Anstieg eines erniedrigten Hämoglobins um mindestens 50 %

Abkürzungen

(s-)ß$_2$m	(Serum-)ß$_2$-Mikroglobulin
BKS	Blutkörperchensenkung(sgeschwindigkeit)
CLL	Chronische Lymphatische Leukämie
GÜ	Gesamtüberleben
(s-)IL-2R	(soluble) Interleukin-2-Rezeptor
KM	Knochenmark
(s-)LDH	(Serum-) Lactatdehydrogenase
LVZ	Lymphozytenverdoppelungszeit
NCI/ WG	National Cancer Institute-Sponsored Working Group
OD	optische Dichte
PFÜ	progressionsfreies Überleben
sCD 23	soluble CD 23
(s-)TK	(Serum-)Thymidinkinase

7 Literaturverzeichnis

1. Aguilar-Santelises M, Loftenius A, Ljungh C, Svenson SB, Andersson B et al. (1992)
   Serum levels of helper factors (IL-1 alpha, IL-1 beta and IL-6), T-cell products (sCD4 and sCD8), sIL-2R and beta 2-microglobulin in patients with B-CLL and benign B lymphocytosis.
   Leuk.Res. 16: 607-613

2. Ambrosetti A, Semenzato G, Prior M, Chilosi M, Vinante F et al. (1989)
   Serum levels of soluble interleukin-2 receptor in hairy cell leukaemia: a reliable marker of neoplastic bulk.
   Br.J.Haematol. 73: 181-186

3. Anaissie EJ, Kontoyiannis DP, O'Brien S, Kantarjian H, Robertson L et al. (1998)
   Infections in patients with chronic lymphocytic leukemia treated with fludarabine.
   Ann.Intern.Med. 129: 559-566

4. Baccarani M, Cavo M, Gobbi M, Lauria F, and Tura S. (1982)
   Staging of chronic lymphocytic leukemia.
   Blood 59: 1191-1196

5. Bansal AS, Haeney MR, Cochrane S, Pumphrey RS, Green LM et al. (1994)
   Serum soluble CD23 in patients with hypogammaglobulinaemia.
   Clin.Exp.Immunol. 97: 239-241

6. Barak V, Ginzburg M, Kalickman I, and Polliack A. (1992)
   Serum soluble interleukin-2 receptor levels are associated with clinical disease status and histopathological grade in non-Hodgkin's lymphoma and chronic lymphocytic leukemia.
   Leuk.Lymphoma 7: 431-438

7. Beguin Y, Lampertz S, De Groote D, Igot D, Malaise M, and Fillet G. (1993)
   Soluble CD23 and other receptors (CD4, CD8, CD25, CD71) in serum of patients with chronic lymphocytic leukemia.
   Leukemia 7: 2019-2025

8. Bello LJ. (1974)
   Regulation of thymidine kinase synthesis in human cells.
   Exp.Cell Res. 89: 263-274

9. Berggard I and Bearn AG. (1968)
   Isolation and properties of a low molecular weight beta-2-globulin occurring in

human biological fluids.
J.Biol.Chem. 243: 4095-4103

10. Binet JL, Auquier A, Dighiero G, Chastang C, Piguet H et al. (1981)
A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis.
Cancer 48: 198-206

11. Bird ML, Ueshima Y, Rowley JD, Haren JM, and Vardiman JW. (1989)
Chromosome abnormalities in B cell chronic lymphocytic leukemia and their clinical correlations.
Leukemia 3: 182-191

12. Bizzozero OJ, Jr., Johnson KG, Ciocco A, Kawasaki S, and Toyoda S. (1967)
Radiation-related leukemia in Hiroshima and Nagasaki 1946--1964. II.
Ann.Intern.Med. 66: 522-530

13. Breimann L, Friedmann J, Olshen R, and Stone C. 1984. *Classification and Regression Trees (CART)*. New York

14. Brok-Simoni F, Rechavi G, Katzir N, and Ben Bassat I. (1987)
Chronic lymphocytic leukaemia in twin sisters: monozygous but not identical.
Lancet 1: 329-330

15. Cacciola E, Calogero D, Marra G, and Guglielmo P. (1992)
Serum levels of soluble interleukin-2 receptor (sIL-2R) in B-chronic lymphocytic leukemia.
Boll.Soc.Ital.Biol.Sper. 68: 259-262

16. Caligaris-Cappio F, Gottardi D, Alfarano A, Stacchini A, Gregoretti MG et al. (1993)
The nature of the B lymphocyte in B-chronic lymphocytic leukemia.
Blood Cells 19: 601-613

17. Caligaris-Cappio F and Hamblin TJ. (1999)
B-cell chronic lymphocytic leukemia: a bird of a different feather.
J.Clin.Oncol. 17: 399-408

18. Catovsky D, Fooks J, and Richards S. (1989)
Prognostic factors in chronic lymphocytic leukaemia: the importance of age, sex and response to treatment in survival. A report from the MRC CLL 1 trial. MRC Working Party on Leukaemia in Adults.
Br.J.Haematol. 72: 141-149

19. Cheson BD, Bennett JM, Grever M, Kay N, Keating MJ et al. (1996)
National Cancer Institute-sponsored Working Group guidelines for chronic lymphocytic leukemia: revised guidelines for diagnosis and treatment.
Blood 87: 4990-4997

20. Cheson BD, Frame JN, Vena D, Quashu N, and Sorensen JM. (1998)
Tumor lysis syndrome: an uncommon complication of fludarabine therapy of chronic lymphocytic leukemia.
J.Clin.Oncol. 16: 2313-2320

21. Christiansen I, Gidlof C, Wallgren AC, Simonsson B, and Totterman TH. (1994)
Serum levels of soluble intercellular adhesion molecule 1 are increased in chronic B-lymphocytic leukemia and correlate with clinical stage and prognostic markers.
Blood 84: 3010-3016

22. Christiansen I, Sundstrom C, and Totterman TH. (1998)
Elevated serum levels of soluble vascular cell adhesion molecule-1 (sVCAM-1) closely reflect tumour burden in chronic B-lymphocytic leukaemia.
Br.J.Haematol. 103: 1129-1137

23. CLL Trialists' Collaborative Group. (1999)
Chemotherapeutic options in chronic lymphocytic leukemia: a meta-analysis of the randomized trials. CLL Trialists' Collaborative Group.
J.Natl.Cancer Inst. 91: 861-868

24. Constantinides IP, Pathouli C, Karvountzis G, Papadopoulos P, Varvoutsi-Constantinides M et al. (1985)
Serum beta 2 microglobulin in malignant lymphoproliferative disorders.
Cancer 55: 2384-2389

25. Cooperative Group for the Study of Immunoglobulin in Chronic Lymphocytic Leukemia. (1988)
Intravenous immunoglobulin for the prevention of infection in chronic lymphocytic leukemia. A randomized, controlled clinical trial. Cooperative Group for the Study of Immunoglobulin in Chronic Lymphocytic Leukemia.
N.Engl.J.Med. 319: 902-907

26. Cordone I, Masi S, Mauro FR, Soddu S, Morsilli O et al. (1998)
p53 expression in B-cell chronic lymphocytic leukemia: a marker of disease progression and poor prognosis.
Blood 91: 4342-4349

27. Cowan RA, Jones M, Harris M, Steward WP, Radford JA et al. (1989)
Prognostic factors in high and intermediate grade non-Hodgkin's lymphoma.
Br.J.Cancer 59: 276-282

28. Cox D. (1972)
Regression models and life-tables.
Stat Soc Br: 187-220

29. Cunningham BA and Berggard I. (1974)
Structure, evolution and significance of beta2-microglobulin.
Transplant.Rev. 21: 3-14

30. Cuttner J. (1992)
Increased incidence of hematologic malignancies in first-degree relatives of patients with chronic lymphocytic leukemia.
Cancer Invest 10: 103-109

31. Dameshek W. (1967)
Chronic lymphocytic leukemia--an accumulative disease of immunolgically incompetent lymphocytes.
Blood 29: Suppl-84

32. de Totero D, Carbone A, Tazzari PL, Raspadori D, Ventura A et al. (1994)
Expression of the IL2 receptor alpha, beta and gamma chains in hairy cell leukemia.
Leuk.Lymphoma 14 Suppl 1: 27-32

33. Delespesse G, Sarfati M, and Hofstetter H. (1989)
Human IgE-binding factors.
Immunol.Today 10: 159-164

34. Delespesse G, Sarfati M, Wu CY, Fournier S, and Letellier M. (1992)
The low-affinity receptor for IgE.
Immunol.Rev. 125: 77-97

35. Delespesse G, Suter U, Mossalayi D, Bettler B, Sarfati M et al. (1991)
Expression, structure, and function of the CD23 antigen.
Adv.Immunol. 49: 149-191

36. Dhodapkar M, Tefferi A, Su J, and Phyliky RL. (1993)
Prognostic features and survival in young adults with early/intermediate chronic lymphocytic leukemia (B-CLL): a single institution study.
Leukemia 7: 1232-1235

37. Di Giovanni S, Valentini G, Carducci P, and Giallonardo P. (1989)
Beta-2-microglobulin is a reliable tumor marker in chronic lymphocytic leukemia.
Acta Haematol. 81: 181-185

38. Di Raimondo F, Giustolisi R, Lerner S, Cacciola E, O'Brien S et al. (2001)
Retrospective study of the prognostic role of serum thymidine kinase level in CLL patients with active disease treated with fludarabine.
Ann.Oncol. 12: 621-625

39. Döhner H, Fischer K, Bentz M, Hansen K, Benner A et al. (1995)
p53 gene deletion predicts for poor survival and non-response to therapy with purine analogs in chronic B-cell leukemias.
Blood 85: 1580-1589

40. Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A, Leupolt E, Krober A et al. (2000)
Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia.
N.Engl.J.Med. 343: 1910-1916

41. Döhner H, Stilgenbauer S, Dohner K, Bentz M, and Lichter P. (1999)
Chromosome aberrations in B-cell chronic lymphocytic leukemia: reassessment based on molecular cytogenetic analysis.
J.Mol.Med. 77: 266-281

42. Döhner H, Stilgenbauer S, James MR, Benner A, Weilguni T et al. (1997)
11q deletions identify a new subset of B-cell chronic lymphocytic leukemia characterized by extensive nodal involvement and inferior prognosis.
Blood 89: 2516-2522

43. Dreger P, Michallet M, and Schmitz N. (2000)
Stem-cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia: the 1999 perspective.
Ann.Oncol. 11 Suppl 1: 49-53

44. Emmerich B and Hallek M. 1999. Chronische lymphatische Leukämie. In *Kompendium Internistische Onkologie, II*, ed. Schmoll, H. J., Höffken, K., and Possinger, K.,3. Auflage: 208-42. Berlin: Springer Verlag. 3. Auflage ed.

45. Everaus H, Luik E, and Lehtmaa J. (1997)
Active and indolent chronic lymphocytic leukaemia--immune and hormonal peculiarities.
Cancer Immunol.Immunother. 45: 109-114

46. Faguet GB. (1994)
Chronic lymphocytic leukemia: an updated review.
J.Clin.Oncol. 12: 1974-1990

47. Fayad L, Keating MJ, Reuben JM, O'Brien S, Lee BN et al. (2001)
Interleukin-6 and interleukin-10 levels in chronic lymphocytic leukemia: correlation with phenotypic characteristics and outcome.
Blood 97: 256-263

48. Finch SC and Linet MS. (1992)
Chronic leukaemias.
Baillieres Clin.Haematol. 5: 27-56

49. Freedman AS. (1990)
Immunobiology of chronic lymphocytic leukemia.
Hematol.Oncol.Clin.North Am. 4: 405-429

50. French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukaemia. (1990)
Natural history of stage A chronic lymphocytic leukaemia untreated patients. French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukaemia.
Br.J.Haematol. 76: 45-57

51. Galton DA. (1966)
The pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia.
Can.Med.Assoc.J. 94: 1005-1010

52. Geisler CH, Philip P, Christensen BE, Hou-Jensen K, Pedersen NT et al. (1997)
In B-cell chronic lymphocytic leukaemia chromosome 17 abnormalities and not trisomy 12 are the single most important cytogenetic abnormalities for the prognosis: a cytogenetic and immunophenotypic study of 480 unselected newly diagnosed patients.
Leuk.Res. 21: 1011-1023

53. Ghani AM and Krause JR. (1986)
Investigation of cell size and nuclear clefts as prognostic parameters in chronic lymphocytic leukemia.
Cancer 58: 2233-2238

54. Gronowitz JS, Hagberg H, Kallander CF, and Simonsson B. (1983)
The use of serum deoxythymidine kinase as a prognostic marker and in the monitoring of patients with non-Hodgkin´s Lymphoma.
Br.J.Cancer 47: 487-495

55. Gronowitz JS and Kallander CF. (1980)
Optimized assay for thymidine kinase and its application to the detection of antibodies against herpes simplex virus type 1- and 2-induced thymidine kinase.
Infect.Immun. 29: 425-434

56. Gronowitz JS, Kallander FR, Diderholm H, Hagberg H, and Pettersson U. (1984)
Application of an in vitro assay for serum thymidine kinase: results on viral disease and malignancies in humans.
Int.J.Cancer 33: 5-12

57. Hallek M, Emmerich B, Strohmeyer S, Busch R, Reichle A, and Senekowitsch R. (1988)

Activity of serum thymidine kinase in non-Hodgkin lymphoma: relationship to other prognostic factors.
Klin.Wochenschr. 66: 718-723

58. Hallek M, Langenmayer I, Nerl C, Knauf W, Dietzfelbinger H et al. (1999)
Elevated serum thymidine kinase levels identify a subgroup at high risk of disease progression in early, nonsmoldering chronic lymphocytic leukemia.
Blood 93: 1732-1737

59. Hallek M, Schmitt B, Emmerich B, and Stein H. (2001)
[Chronic lymphocytic leukemia. 2. Therapy.].
Dtsch.Med.Wochenschr. 126: 690-695

60. Hallek M, Wanders L, Ostwald M, Busch R, Senekowitsch R et al. (1996)
Serum beta(2)-microglobulin and serum thymidine kinase are independent predictors of progression-free survival in chronic lymphocytic leukemia and immunocytoma.
Leuk.Lymphoma 22: 439-447

61. Hallek M, Wanders L, Strohmeyer S, and Emmerich B. (1992)
Thymidine kinase: a tumor marker with prognostic value for non-Hodgkin's lymphoma and a broad range of potential clinical applications.
Ann.Hematol. 65: 1-5

62. Han T, Barcos M, Emrich L, Ozer H, Gajera R et al. (1984)
Bone marrow infiltration patterns and their prognostic significance in chronic lymphocytic leukemia: correlations with clinical, immunologic, phenotypic, and cytogenetic data.
J.Clin.Oncol. 2: 562-570

63. Hansen MM. (1973)
Chronic lymphocytic leukemia. Clinical studies based on 189 cases followed for a long time.
Scand.J.Haematol. (Suppl. 18): 1-286

64. Hernandez-Nieto L, Montserrat E, Muncunill J, and et al. (1977)
Leucemia linfatica cronica. Tipos de patron histopatologico medular y su relacion con los estadios clinicos.
Sangre (Barc.) 22: 882-889

65. Hiddemann W. (1993)
[Chronic lymphatic leukemia. Current status and perspectives].
Internist (Berl) 34: 534-541

66. Huhn D, von Schilling C, Wilhelm M, Ho AD, Hallek M et al. (2001)
Rituximab therapy of patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia.
Blood 98: 1326-1331

67. Juliusson G. (1997)
Complications in the treatment of CLL with purine analogues.
Hematol.Cell Ther. 39 Suppl 1: S41-S44

68. Juliusson G and Gahrton G. (1993)
Cytogenetics in CLL and related disorders.
Baillieres Clin.Haematol. 6: 821-848

69. Juliusson G, Oscier D, Gahrton G, and for the International Working Party on Chromosomes in CLL(IWCCLL). (1991)
Cytogenetic findings and survival in B-cell chronic lymphocytic leukemia. IWCCLL compilation of the data on 662 patients.
Leuk.Lymphoma 5: 21-25

70. Juliusson G, Oscier DG, Fitchett M, Ross FM, Stockdill G et al. (1990)
Prognostic subgroups in B-cell chronic lymphocytic leukemia defined by specific chromosomal abnormalities.
N.Engl.J.Med. 323: 720-724

71. Kallander CF, Simonsson B, Gronowitz JS, and Nilsson K. (1987)
Serum deoxythymidine kinase correlates with peripheral lymphocyte thymidine uptake in chronic lymphocytic leukemia.
Eur.J.Haematol. 38: 331-337

72. Kallander CF, Simonsson B, Hagberg H, and Gronowitz JS. (1984)
Serum deoxythymidine kinase gives prognostic information in chronic lymphocytic leukemia.
Cancer 54: 2450-2455

73. Kaplan EL and Meier P. (1958)
Nonparametric estimation form incomplete observations.
J Am Stat Assos : 157-181

74. Karlsson FA, Wibell L, and Evrin PE. (1980)
beta 2-Microglobulin in clinical medicine.
Scand.J.Clin.Lab Invest Suppl 154: 27-37

75. Kay NE, Burton J, Wagner D, and Nelson DL. (1988)
The malignant B cells from B-chronic lymphocytic leukemia patients release TAC-soluble interleukin-2 receptors.
Blood 72: 447-450

76. Keating MJ, Kantarjian H, O'Brien S, Koller C, Talpaz M et al. (1991)
Fludarabine: a new agent with marked cytoreductive activity in untreated chronic lymphocytic leukemia.
J.Clin.Oncol. 9: 44-49

77. Keating MJ, Lerner S, Kantarjian H, Freireich EJ, and O'Brien S. (1995)
The serum ß$_2$-microglobulin (ß$_2$m) level is more powerful than stage in predicting response and survival in chronic lymphocytic leukemia (CLL).
Blood 86: 606a

78. Keating MJ, O'Brien S, Lerner S, Koller C, Beran M et al. (1998)
Long-term follow-up of patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL) receiving fludarabine regimens as initial therapy.
Blood 92: 1165-1171

79. Kikutani H, Suemura M, Owaki H, Nakamura H, Sato R et al. (1986)
Fc epsilon receptor, a specific differentiation marker transiently expressed on mature B cells before isotype switching.
J.Exp.Med. 164: 1455-1469

80. Kipps TJ and Carson DA. (1993)
Autoantibodies in chronic lymphocytic leukemia and related systemic autoimmune diseases.
Blood 81: 2475-2487

81. Kit S. (1979)
Viral-associated and induced enzymes.
Pharmacol.Ther.[B] 4: 501-585

82. Kit S, Leung WC, Jorgensen GN, and Dubbs DR. (1974)
Distinctive properties of thymidine kinase isozymes induced by human and avian hepresviruses.
Int.J.Cancer 14: 598-610

83. Knauf WU, Langenmayer I, Ehlers B, Mohr B, Adorf D et al. (1997)
Serum levels of soluble CD23, but not soluble CD25, predict disease progression in early stage B-cell chronic lymphocytic leukemia.
Leuk.Lymphoma 27: 523-532

84. Langenmayer I, Nerl C, Knauf W, Dempster S, Hallek M et al. (1996)
Interferon-alpha 2b (IFN alpha) for early-phase chronic lymphocytic leukaemia with high risk for disease progression: results of a randomized multicentre study.
Br.J.Haematol. 94: 362-369

85. Lee JS, Dixon DO, Kantarjian HM, Keating MJ, and Talpaz M. (1987)
Prognosis of chronic lymphocytic leukemia: a multivariate regression analysis of 325 untreated patients.
Blood 69: 929-936

86. Lipshutz MD, Mir R, Rai KR, and Sawitsky A. (1980)
Bone marrow biopsy and clinical staging in chronic lymphocytic leukemia.
Cancer 46: 1422-1427

87. Mandelli F, De Rossi G, Mancini P, Alberti A, Cajozzo A et al. (1987)
Prognosis in chronic lymphocytic leukemia: a retrospective multicentric study from the GIMEMA group.
J.Clin.Oncol. 5: 398-406

88. Matutes E and Polliack A. (2000)
Morphological and immunophenotypic features of chronic lymphocytic leukemia.
Rev.Clin.Exp.Hematol. 4: 22-47

89. Mauro FR, De Rossi G, Burgio VL, Caruso R, Giannarelli D et al. (1994)
Prognostic value of bone marrow histology in chronic lymphocytic leukemia. A study of 335 untreated cases from a single institution.
Haematologica 79: 334-341

90. Mauro FR, Foa R, Giannarelli D, Cordone I, Crescenzi S et al. (1999)
Clinical characteristics and outcome of young chronic lymphocytic leukemia patients: a single institution study of 204 cases.
Blood 94: 448-454

91. Melo JV, Catovsky D, Gregory WM, and Galton DA. (1987)
The relationship between chronic lymphocytic leukaemia and prolymphocytic leukaemia. IV. Analysis of survival and prognostic features.
Br.J.Haematol. 65: 23-29

92. Meloni G, Proia A, Mauro F, Amaranto P, Capria S et al. (2000)
Unmanipulated peripheral blood stem cell autograft in chronic lymphocytic leukemia: clinical findings and biological monitoring.
Haematologica 85: 952-960

93. Molica S. (1994)
Infections in chronic lymphocytic leukemia: risk factors, and impact on survival, and treatment.
Leuk.Lymphoma 13: 203-214

94. Molica S and Alberti A. (1987)
Prognostic value of the lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukemia.
Cancer 60: 2712-2716

95. Molica S, Brugiatelli M, Callea V, Morabito F, Levato D et al. (1994)
Comparison of younger versus older B-cell chronic lymphocytic leukemia patients for clinical presentation and prognosis. A retrospective study of 53 cases.
Eur.J.Haematol. 52: 216-221

96. Molica S, Levato D, Cascavilla N, Levato L, and Musto P. (1999)
Clinico-prognostic implications of simultaneous increased serum levels of soluble CD23 and beta2-microglobulin in B-cell chronic lymphocytic

leukemia.
Eur.J.Haematol. 62: 117-122

97. Molica S, Levato D, Dell'Olio M, Matera R, Minervini M et al. (1996)
Cellular expression and serum circulating levels of CD23 in B-cell chronic lymphocytic leukemia. Implications for prognosis.
Haematologica 81: 428-433

98. Molica S, Reverter JC, Alberti A, and Montserrat E. (1990)
Timing of diagnosis and lymphocyte accumulation patterns in chronic lymphocytic leukemia: analysis of their clinical significance.
Eur.J.Haematol. 44: 277-281

99. Molica S, Vitelli G, Levato D, Giannarelli D, and Gandolfo GM. (2001)
Elevated serum levels of soluble CD44 can identify a subgroup of patients with early B-cell chronic lymphocytic leukemia who are at high risk of disease progression.
Cancer 92: 713-719

100. Molica S, Vitelli G, Levato D, Ricciotti A, and Digiesi G. (2002)
Clinicoprognostic implications of increased serum levels of vascular endothelial growth factor and basic fibroblastic growth factor in early B-cell chronic lymphocytic leukaemia.
Br.J.Cancer 86: 31-35

101. Montserrat E, Gomis F, Vallespi T, Rios A, Romero A et al. (1991)
Presenting features and prognosis of chronic lymphocytic leukemia in younger adults.
Blood 78: 1545-1551

102. Montserrat E and Rozman C. (1987)
Bone marrow biopsy in chronic lymphocytic leukemia: a review of its prognostic importance.
Blood Cells 12: 315-326

103. Montserrat E and Rozman C. (1993)
Chronic lymphocytic leukaemia: prognostic factors and natural history.
Baillieres Clin.Haematol. 6: 849-866

104. Montserrat E and Rozman C. (1995)
Chronic lymphocytic leukemia: present status.
Ann.Oncol. 6: 219-235

105. Montserrat E, Sanchez-Bisono J, Vinolas N, and Rozman C. (1986)
Lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukaemia: analysis of its prognostic significance.
Br.J.Haematol. 62: 567-575

106. Montserrat E, Villamor N, Reverter JC, Brugues RM, Tassies D et al. (1996)
Bone marrow assessment in B-cell chronic lymphocytic leukaemia: aspirate or biopsy? A comparative study in 258 patients.
Br.J.Haematol. 93: 111-116

107. Montserrat E, Vinolas N, Reverter JC, and Rozman C. (1988)
Natural history of chronic lymphocytic leukemia: On the progression and prognosis of early clinical stages.
Nouv.Rev.Fr.Hematol. 30: 359-361

108. Morabito F, Callea V, Oliva B, Stelitano C, Vincelli I et al. (1993)
Alpha 2-interferon in B-cell chronic lymphocytic leukemia: clinical response, serum cytokine levels, and immunophenotype modulation.
Leukemia 7: 366-371

109. Morrison VA. (1998)
The infectious complications of chronic lymphocytic leukemia.
Semin.Oncol. 25: 98-106

110. Musolino C, Di Cesare E, Alonci A, Allegra A, Orlando A et al. (1991)
Serum levels of CD8 antigen and soluble interleukin 2 receptors in patients with B cell chronic lymphocytic leukemia.
Acta Haematol. 85: 57-61

111. Neilson JR, Auer R, White D, Bienz N, Waters JJ et al. (1997)
Deletions at 11q identify a subset of patients with typical CLL who show consistent disease progression and reduced survival.
Leukemia 11: 1929-1932

112. Niitsu N, Iijima K, and Chizuka A. (2001)
A high serum-soluble interleukin-2 receptor level is associated with a poor outcome of aggressive non-Hodgkin's lymphoma.
Eur.J.Haematol. 66: 24-30

113. Orfao A, Gonzalez M, San Miguel JF, Canizo MC, Galindo P et al. (1988)
Clinical and immunological findings in large B-cell chronic lymphocytic leukemia.
Clin.Immunol.Immunopathol. 46: 177-185

114. Oscier DG, Stevens J, Hamblin TJ, Pickering RM, and Fitchett M. (1990)
Prognostic factors in stage AO B-cell chronic lymphocytic leukaemia.
Br.J.Haematol. 76: 348-351

115. Oscier DG, Stevens J, Hamblin TJ, Pickering RM, Lambert R, and Fitchett M. (1990)
Correlation of chromosome abnormalities with laboratory features and clinical course in B-cell chronic lymphocytic leukaemia.
Br.J.Haematol. 76: 352-358

116. Osterborg A, Dyer MJ, Bunjes D, Pangalis GA, Bastion Y et al. (1997)
Phase II multicenter study of human CD52 antibody in previously treated chronic lymphocytic leukemia. European Study Group of CAMPATH-1H Treatment in Chronic Lymphocytic Leukemia.
J.Clin.Oncol. 15: 1567-1574

117. Pangalis G, Reverter JC, Boussiotis VA, and Montserrat E. (1991)
Chronic lymphocytic leukemia in younger adults in preliminary results of a study based on 454 patients- IWCLL Working Group.
Leuk.Lymphoma 5: 175-178

118. Pangalis GA, Boussiotis VA, and Kittas C. (1988)
B-chronic lymphocytic leukemia. Disease progression in 150 untreated stage A and B patients as predicted by bone marrow pattern.
Nouv.Rev.Fr.Hematol. 30: 373-375

119. Pavlidis NA, Manoussakis MN, Germanidis GS, and Moutsopoulos HM. (1992)
Serum-soluble interleukin-2 receptors in B-cell lymphoproliferative malignancies.
Med.Pediatr.Oncol. 20: 26-31

120. Peterson PA, Cunningham BA, Berggard I, and Edelman GM. (1972)
2 -Microglobulin--a free immunoglobulin domain.
Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 69: 1697-1701

121. Pittman S and Catovsky D. (1984)
Prognostic significance of chromosome abnormalities in chronic lymphocytic leukaemia.
Br.J.Haematol. 58: 649-660

122. Pizzolo G, Chilosi M, and Semenzato G. (1987)
The soluble interleukin-2 receptor in haematological disorders.
Br.J.Haematol. 67: 377-380

123. Rai KR. (1999)
Chronic lymphocytic leukaemia. Current strategy and new perspectives of treatment.
Haematologica 84 Suppl EHA-4: 94-95

124. Rai KR, Case D, Revicki D, and et al. (1997)
Erythropoietin (EPO) for the treatment of anaemia of chronic lymphocytic leukemia; results of a randomised, placebo-controlled clinical trial.
Hematol.Cell Ther. 39 (suppl 1): S95

125. Rai KR, Peterson BL, Appelbaum FR, Kolitz J, Elias L et al. (2000)
Fludarabine compared with chlorambucil as primary therapy for chronic lymphocytic leukemia.
N.Engl.J.Med. 343: 1750-1757

126. Rai KR and Rabinowe SN. 1993. Chronic Lymphocytic Leukemia. In *Cancer Medicine; Volume 2*, ed. Holland, J. F., Frei III, E., Bast, R. C., Jr., Kufe, D. W., Morton, D. L., and Weichselbaum, R. R.,3. Edition: 1971-88: Lea & Febinger. 3. Edition ed.

127. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, Chanana AD, Levy RN, and Pasternack BS. (1975)
Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia.
Blood 46: 219-234

128. Rehn S, Glimelius B, and Sundstrom C. (1991)
A comparative study of proliferation-associated parameters in B-cell non-Hodgkin lymphoma.
Hematol.Oncol. 9: 287-298

129. Reinisch W, Willheim M, Hilgarth M, Gasche C, Mader R et al. (1994)
Soluble CD23 reliably reflects disease activity in B-cell chronic lymphocytic leukemia.
J.Clin.Oncol. 12: 2146-2152

130. Rotenberg Z, Weinberger I, Fuchs Y, Erdberg A, Davidson E, and Agmon J. (1984)
Elevation of serum lactic dehydrogenase levels as an early marker of occult malignant lymphoma.
Cancer 54: 1379-1381

131. Rozman C, Hernandez N, Montserrat E, and Brugues R. (1981)
Prognostic significance of bone-marrow patterns in chronic lymphocytic leukaemia.
Br.J.Haematol. 47: 529-537

132. Rozman C and Montserrat E. (1995)
Chronic lymphocytic leukemia.
N.Engl.J.Med. 333: 1052-1057

133. Rozman C, Montserrat E, Feliu E, Granena A, Marin P et al. (1982)
Prognosis of chronic lymphocytic leukemia: a multivariate survival analysis of 150 cases.
Blood 59: 1001-1005

134. Rozman C, Montserrat E, and Vinolas N. (1988)
Serum immunoglobulins in B-chronic lymphocytic leukemia. Natural history and prognostic significance.
Cancer 61: 279-283

135. Rubin LA, Jay G, and Nelson DL. (1986)
The released interleukin 2 receptor binds interleukin 2 efficiently.
J.Immunol. 137: 3841-3844

136. Rubin LA, Kurman CC, Biddison WE, Goldman ND, and Nelson DL. (1985)
A monoclonal antibody 7G7/B6, binds to an epitope on the human interleukin-2 (IL-2) receptor that is distinct from that recognized by IL-2 or anti-Tac.
Hybridoma 4: 91-102

137. Rubin LA, Kurman CC, Fritz ME, Biddison WE, Boutin B et al. (1985)
Soluble interleukin 2 receptors are released from activated human lymphoid cells in vitro.
J.Immunol. 135: 3172-3177

138. Rummel MJ. (1998)
Diagnostik und Therapie der chronischen lymphatischen Leukämie (CLL).
Der Onkologe 4: 808-819

139. Sarfati M, Bron D, Lagneaux L, Fonteyn C, Frost H, and Delespesse G. (1988)
Elevation of IgE-binding factors in serum of patients with B cell-derived chronic lymphocytic leukemia.
Blood 71: 94-98

140. Sarfati M, Chevret S, Chastang C, Biron G, Stryckmans P et al. (1996)
Prognostic importance of serum soluble CD23 level in chronic lymphocytic leukemia.
Blood 88: 4259-4264

141. Sawitsky A, Rai KR, Glidewell O, and Silver RT. (1977)
Comparison of daily versus intermittent chlorambucil and prednisone therapy in the treatment of patients with chronic lymphocytic leukemia.
Blood 50: 1049-1059

142. Schena M, Gaidano G, Gottardi D, Malavasi F, Larsson LG et al. (1992)
Molecular investigation of the cytokines produced by normal and malignant B lymphocytes.
Leukemia 6: 120-125

143. Schwarzmeier JD, Shehata M, Hilgarth M, Marschitz I, Louda N et al. (2002)
The role of soluble CD23 in distinguishing stable and progressive forms of B-chronic lymphocytic leukemia.
Leuk.Lymphoma 43: 549-554

144. Semenzato G, Foa R, Agostini C, Zambello R, Trentin L et al. (1987)
High serum levels of soluble interleukin 2 receptor in patients with B chronic lymphocytic leukemia.
Blood 70: 396-400

145. Seymour JF, Cusack JD, Lerner SA, Pollock RE, and Keating MJ. (1997)
Case/control study of the role of splenectomy in chronic lymphocytic leukemia.
J.Clin.Oncol. 15: 52-60

146. Shuster J, Gold P, and Poulik MD. (1976)
beta 2-microglogulin levels in cancerous and other disease states.
Clin.Chim.Acta 67: 307-313

147. Spati B, Child JA, Kerruish SM, and Cooper EH. (1980)
Behaviour of serum beta 2-microglobulin and acute phase reactant proteins in chronic lymphocytic leukaemia. A multicentre study.
Acta Haematol. 64: 79-86

148. Stilgenbauer S, Lichter P, and Dohner H. (2000)
Genetic features of B-cell chronic lymphocytic leukemia.
Rev.Clin.Exp.Hematol. 4: 48-72

149. Tang SC, Hewitt K, Reis MD, and Berinstein NL. (1996)
Immunosuppressive toxicity of CAMPATH1H monoclonal antibody in the treatment of patients with recurrent low grade lymphoma.
Leuk.Lymphoma 24: 93-101

150. Tefferi A and Phyliky RL. (1992)
A clinical update on chronic lymphocytic leukemia. I. Diagnosis and prognosis.
Mayo Clin.Proc. 67: 349-353

151. Travis LB, Curtis RE, Hankey BF, and Fraumeni JF, Jr. (1992)
Second cancers in patients with chronic lymphocytic leukemia.
J.Natl.Cancer Inst. 84: 1422-1427

152. Uchiyama T, Broder S, and Waldmann TA. (1981)
A monoclonal antibody (anti-Tac) reactive with activated and functionally mature human T cells. I. Production of anti-Tac monoclonal antibody and distribution of Tac (+) cells.
J.Immunol. 126: 1393-1397

153. Vallespi T, Montserrat E, and Sanz MA. (1991)
Chronic lymphocytic leukaemia: prognostic value of lymphocyte morphological subtypes. A multivariate survival analysis in 146 patients.
Br.J.Haematol. 77: 478-485

154. Waldmann TA. (1989)
The multi-subunit interleukin-2 receptor.
Annu.Rev.Biochem. 58: 875-911

155. Waselenko JK, Flynn JM, and Byrd JC. (1999)
Stem-cell transplantation in chronic lymphocytic leukemia: the time for designing randomized studies has arrived.
Semin.Oncol. 26: 48-61

156. Wibell L, Evrin PE, and Berggard I. (1973)
Serum 2 -microglobulin in renal disease.
Nephron 10: 320-331

157. Wilhelm M, Tony HP, Rueckle-Lanz H, and Wilms K. (1997)
First-line therapy of advanced chronic lymphocytic leukemia.
Leukemia 11 Suppl 2: S14-S18

158. Winkler U, Jensen M, Manzke O, Schulz H, Diehl V, and Engert A. (1999)
Cytokine-release syndrome in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia and high lymphocyte counts after treatment with an anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab, IDEC-C2B8).
Blood 94: 2217-2224

Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. M Hallek und Frau Dr. med. I. Kuhn-Hallek für die Überlassung des Themas und die hervorragende wissenschaftliche und menschliche Betreuung.

Zudem danke ich Frau R. Busch für die statistische Beratung und Unterstützung bei der Auswertung sowie Frau Kubizek für die Einarbeitung in die Laborarbeit.

Herzlich danke ich auch meinem Mann für seine Unterstützung.

Curriculum vitae

	Persönliche Daten:
Name:	Susanne Jung-Munkwitz
Geburtsdatum:	10.11.1972 in Leonberg
Ehemann:	Dr. med. Martin Jung
Kind:	Johanna Luise Jung
	Schule:
1979-1983:	Grundschule, Teichwiesenschule Korntal
1983-1992:	Gymnasium Korntal
Mai 1992:	Hochschulreife
	Medizinstudium:
1992-1994:	J.W. Goethe-Universität Frankfurt a.M.
1994-1998:	Ludwig-Maximilians-Universität München
1998-1999:	Ruprecht-Karl-Universität Heidelberg
10.11.1999:	3. Staatsexamen
	Arzt im Praktikum:
03/00-02/01:	Augenklinik Prof. Dr. med. J.B. Jonas Klinikum Mannheim
03/01-10/02:	Erziehungsurlaub
11/02-06/03:	Gemeinschaftspraxis Dres. Stahlknecht Ludwigsburg
11.07.03:	Approbation als Ärztin