

5 Diskussion

5.1 Methodische Aspekte

5.1.1 Problem der Übertragbarkeit der *in vitro* gewonnenen Ergebnisse auf die Situation *in vivo*

Hautfibroblasten müssen über einen Zeitraum von mehreren Wochen kultiviert werden, bevor genügend Zellen zur Auswertung gewachsen sind. Eine direktere Untersuchung der Fibroblasten *in vivo* ist nicht möglich. Die Zellen, die zur Auswertung kommen, haben sich also in der Kultur schon vielfach vermehrt. *In vivo* dagegen würden sich die Fibroblasten innerhalb von drei Wochen längst nicht so oft teilen. Das macht es prinzipiell schwierig, die durch Zellkulturen von Fibroblasten gewonnenen Ergebnisse uneingeschränkt auf die tatsächlich *in vivo* vorliegende Situation zu übertragen, denn es stellt sich die Frage, ob die innerhalb der drei Wochen *in vitro* vorherrschende Wachstumsdynamik nicht zu einem unrepräsentativen Bestand an Zellen führt, der die tatsächlich *in vivo* vorliegende Zellpopulation nur bedingt widerspiegelt.

So ist es zum Beispiel vorstellbar, dass während der Kulturzeit bestimmte Zellen aus verschiedenen Gründen einen Wachstumsvorteil gegenüber anderen Zellen erlangen. So konnte beobachtet werden, dass sich bei längerer Kultivierung von *in vivo* bestrahlten Fibroblasten mit zunehmender Zellkulturzeit bestimmte Klone immer stärker durchsetzen und am Ende in einigen Fällen sogar die komplette Zellkultur „übersäten“ (Mouthuy und Dutrillaux, 1982; Honda et al., 1993). Wie es zu solch einer Überrepräsentation einzelner Klone in den Kulturen kommt, ist nicht ganz klar. Ein möglicher Erklärungsansatz wäre, dass bei diesen Zellen aufgrund ihrer spezifischen Chromosomenaberrationen Gene betroffen sind, welche wichtige Funktionen bei der Regulation des Zellwachstums bzw. der Onkogenese übernehmen. Solch ein Zusammenhang zwischen verlängerter Lebensdauer *in vitro* und Chromosomenaberrationen im Bereich von Protoonkogenen konnte bei einem besonders langlebigen Klon einer *in vitro* bestrahlten Fibroblastenkultur hergestellt werden (Kano und Little, 1985).

Man könnte natürlich vermuten, dass sich die Zellen, welche sich in der Kultur durchsetzen, sich langfristig auch *in vivo* durchsetzen. Da sich die Zellen *in vitro* jedoch in einem fremden und nicht mit der Situation *in vivo* vergleichbaren Milieu befinden, kann diese Frage nicht eindeutig beantwortet werden.

Ein weiterer Faktor, welcher eventuell die Ergebnisse verfälschen könnte, ist das Entstehen von spontanen *de novo* Chromosomenaberrationen innerhalb der Zellkultur (Littlefield und Mailhes, 1975). Diese Gefahr ist jedoch als relativ gering einzuschätzen (vgl. 5.2.1).

Um die durch die Kulturbedingungen entstehenden Einflüsse zu minimieren und somit die *in vitro* gewonnenen Ergebnisse möglichst auf die Situation *in vivo* übertragbar zu machen, haben wir die Kulturdauer der Fibroblasten so niedrig wie möglich gehalten und die Hautstückchen in möglichst kleine Stücke zerschnitten (um mehr Zellen den Kontakt zum Nährmedium und somit die Möglichkeit zum Aussprossen zu geben).

5.1.2 Untersuchte Zellart

Die in der vorliegenden Studie untersuchten Fibroblasten stehen beispielhaft für ein Gewebe mit relativ niedrigem *in vivo* Zellumsatz. Interessant wäre es, im Vergleich hierzu Keratinozyten zu untersuchen, um zu prüfen, welchen Einfluss die höhere *in vivo* Zellproliferationsrate auf das Ausmaß der chromosomalen Aberrationen hat. Allerdings sind Keratinozyten deutlich schlechter zu kultivieren (vgl. 1.4).

5.1.3 Unterschiedliche Entnahmestellen der Hautbiopsien

Die meisten Hautbiopsien wurden im Bereich des oberen Rückens entnommen, in wenigen Fällen jedoch stammen die Proben von anderen Körperstellen wie dem Nabelbereich, der ventralen Thoraxwand oder dem vorderen Oberschenkel. Da bei der Ganzkörperbestrahlung (Gesamtdosis $6 \times 2 = 12$ Gray) eine Abschirmung der Lungen durchgeführt wird, beträgt die Strahlendosis im Bereich der Lungen um die 10 Gray, während sie an den übrigen Körperstellen homogen 12 Gray beträgt. Der obere Rücken als Entnahmeort für die Hautbiopsien muss somit als Übergangszone betrachtet werden, in der Schwankungen bezüglich der Strahlendosis zwischen 10 und 12 Gray nicht ausgeschlossen werden können. Bei zukünftigen Untersuchungen sollten deshalb alle Biopsien an der gleichen Stelle entnommen werden.

5.1.4 Grenzen der G-Bandentechnik

Die in den 70er Jahren eingeführte G-Bandentechnik ist bis heute eine Standardmethode bei zytogenetischen Fragestellungen. Sowohl numerische als auch strukturelle Chromosomenaberrationen können bei ausreichender Bandenauflösung gut beurteilt werden. Ein Problem dieser Methode stellt jedoch dar, dass subtile Veränderungen, wie zum Beispiel kleine Deletionen oder kryptische („verborgene“) Translokationen (Austausch von lichtmikroskopisch gleich aussehenden Banden) leicht der zytogenetischen Detektion entgehen. Ebenso sind derivative oder Markerchromosomen sowie sehr komplexe Chromosomenaberrationen schwer beurteilbar. Hierdurch besteht die Gefahr, dass einige dieser Veränderungen fehlinterpretiert werden. Da es sich in der vorliegenden Studie zum Teil um sehr komplexe Veränderungen

handelte, wurden diese Grenzen der G-Bandentechnik an einigen Stellen deutlich. Um die Nachteile der klassischen Bänderungstechniken zu umgehen, sind in den letzten Jahren verschiedene molekularzytogenetische Methoden entwickelt worden. In diesem Zusammenhang sind vor allem das Spectral Karyotyping (SKY) (Schröck et al., 1996) sowie das Verfahren der multicolor Fluoreszenz in situ Hybridisierung (mFISH) zu erwähnen (Speicher et al., 1996). Bei beiden Methoden kann durch chromosomenspezifische Anfärbung schwer identifizierbares Material in vielen Fällen eindeutig dem richtigen Chromosom zugeordnet werden. Für die zuverlässige Beurteilung komplexer strahleninduzierter Chromosomenaberrationen sind beide Verfahren geeignet (Greulich et al., 2000; Braselmann et al., 2005). Für zukünftige Untersuchungen ist daher in Betracht zu ziehen, die nach G-Bänderung offen gebliebenen Fragen mittels zusätzlicher SKY- oder mFISH-Untersuchungen zu klären.

5.2 Nachweis zytogenetischer Aberrationen in Hautfibroblasten bei Patienten vor und nach Ganzkörperbestrahlung

5.2.1 Zytogenetische Aberrationen in Hautfibroblasten bei unbestrahlten Patienten

Durch die vorliegende Studie konnte gezeigt werden, dass bei einigen Patienten schon vor Durchführung der Ganzkörperbestrahlung Chromosomenaberrationen in den Fibroblastenkulturen auftreten können. Dies war bei einer Patientin mit ALL und einem Patienten mit CML der Fall. Auch bei gesunden, nicht strahlenbelasteten Personen ist das Auftreten von zytogenetischen Aberrationen in Zellkulturen von Hautfibroblasten mehrfach beschrieben worden (Littlefield und Mailhes, 1975; Harnden et al., 1976; Benn, 1977). Ebenso wie in der vorliegenden Studie handelte es sich dabei um stabile, strukturelle Chromosomenaberrationen und üblicherweise um einen einzigen Klon. Der Prozentsatz aberranter Zellen kann dabei je nach untersuchter Person großen Schwankungen unterliegen (Littlefield und Mailhes, 1975).

Einerseits ist denkbar, dass es sich bei diesen Befunden um in der Kultur entstandene Veränderungen handelt (Littlefield und Mailhes, 1975), andererseits gibt es jedoch auch starke Hinweise auf das Vorhandensein solcher Veränderungen *in vivo* (Harnden et al., 1976; Benn, 1977). Geht man davon aus, dass die Veränderungen schon *in vivo* bestanden haben, stellt sich die Frage nach ihrer Ursache. Erklärt werden könnten solche vereinzelt auftretenden Aberrationen mit diversen schädigenden Einflüssen, denen die betreffende Person im Laufe des Lebens ausgesetzt war, wie zum Beispiel umweltbedingte oder diagnostische Strahlenbelastungen. In der vorliegenden Studie könnte man jedoch auch vermuten – da es sich hier nicht um gesunde Personen, sondern um Patienten mit einer malignen Grunderkrankung handelt – dass

die vor Bestrahlung auftretenden Aberrationen bei diesen Patienten Ausdruck einer allgemein erhöhten Bruchneigung der Chromosomen oder unzureichend funktionierender DNA-Reparaturmechanismen sind. Schlüssig wäre diese Überlegung, wenn diese Patienten auch zu den späteren Untersuchungszeitpunkten nach Bestrahlung erhöhte Prozentzahlen aberranter Zellen im Vergleich zu den anderen Patienten aufwiesen. Dies ist der Fall für die Patientin mit ALL, nicht jedoch für den Patienten mit CML. Der Einfluss der Diagnosegruppen auf das Ausmaß des zytogenetischen Schadens wird unter 5.6 diskutiert. Denkbar wäre auch, dass die vor Bestrahlung aufgetretenen Aberrationen auf die chemotherapeutische Vorbehandlung der Patienten zurückzuführen sind. Dies ist jedoch unwahrscheinlich, da Chemotherapeutika meist Chromatidtypaberrationen induzieren (Miller und Therman, 2001). Bei den gefundenen Aberrationen handelte es sich jedoch um Chromosomentypaberrationen. Des Weiteren gibt es bisher keine überzeugenden Studien, die einen Zusammenhang zwischen Chromosomenaberrationen in Hautfibroblasten und vorheriger Chemotherapie darstellen konnten.

5.2.2 Zytogenetische Aberrationen in Hautfibroblasten nach Bestrahlung

Der Prozentsatz aberranter Zellen war zu allen drei Untersuchungszeitpunkten nach Bestrahlung signifikant höher als der Prozentsatz aberranter Zellen vor Bestrahlung. Hierdurch konnte gezeigt werden, dass die intensiven Therapiemaßnahmen im Rahmen einer Knochenmark- bzw. Stammzelltransplantation zytogenetische Aberrationen hohen Ausmaßes in Fibroblasten der Haut induzieren. Aus mehreren Studien ist bekannt, dass Exposition gegenüber ionisierender Strahlung *in vivo* bei den betroffenen Personen zu Chromosomenaberrationen der Hautfibroblasten führt (siehe Tabelle 16, S. 75). Auch bei Patienten nach Ganzkörperbestrahlung bzw. TLI im Rahmen einer Knochenmarktransplantation konnten solche Veränderungen nachgewiesen werden, bisher allerdings nur an drei kindlichen und einem jugendlichen Patienten und nur bis zu einem Zeitraum von 13 Monaten nach Bestrahlung (Rubin et al., 1992). Durch die vorliegende Arbeit konnten die Ergebnisse dieser ersten Studie von Rubin et al. (1992) in größerem Umfang untermauert werden und es konnte zusätzlich gezeigt werden, dass die Chromosomenaberrationen bis hin zu einem Zeitraum von 18 Jahren nach Knochenmarktransplantation persistieren können.

Es stellt sich die Frage, ob die beobachteten zytogenetischen Aberrationen durch die Ganzkörperbestrahlung allein verursacht wurden, oder ob auch die im Rahmen der Konditionierung verabreichte hochdosierte Chemotherapie eine Rolle spielt. Wie bereits erwähnt, induzieren Chemotherapeutika meist (die in der vorliegenden Arbeit nicht beobachteten) Chromatidtypaberrationen (Miller und Therman, 2001). Es ist somit

unwahrscheinlich, dass die hier beobachteten Aberrationen eine direkte Folge der verabreichten Chemotherapie sind. Es ist jedoch bekannt, dass einige chemotherapeutische Substanzen eine strahlenverstärkende Wirkung besitzen (Schilsky, 1992; Lawrence et al., 2003). Somit ist nicht auszuschließen, dass das Ausmaß der in der vorliegenden Studie beobachteten Aberrationen durch eine strahlenverstärkende Wirkung der Chemotherapie mit beeinflusst wurde.

Auffällig ist, dass sowohl der Anteil aberranter Zellen als auch die durchschnittliche Anzahl der Bruchpunkte pro aberranter Zelle in der vorliegenden Arbeit zwischen einzelnen Patienten desselben Kollektivs großen Schwankungen unterlag. Während bei manchen Patienten alle untersuchten Fibroblasten Aberrationen aufwiesen, war bei anderen Patienten nur ein Drittel der Zellen aberrant. Besonders interessant ist die extreme Ausnahme eines Patienten, bei dem zum Zeitpunkt drei bis sechs Monate nach Bestrahlung keinerlei aberrante Zellen gefunden wurden.

Auch in der Studie von Rubin et al. (1992) zeigten sich Unterschiede bezüglich des Anteils aberranter Zellen bei den untersuchten Patienten (Range von 49 bis 88 Prozent). Dabei ist es jedoch aufgrund der geringen Fallzahl sowie aufgrund jeweils unterschiedlicher Strahlenanwendungen und Zeitintervalle zwischen Bestrahlung und Hautprobenentnahme schwieriger, interindividuelle Vergleiche aufzustellen. Starke interindividuelle Schwankungen bezüglich des Anteils aberranter Zellen fanden sich auch in Blutlymphozyten von Patienten, die nach Ganzkörperbestrahlung im Rahmen einer KMT untersucht wurden (Heinze et al., 1995).

Diese unterschiedlichen Ergebnisse sind möglicherweise Ausdruck einer individuell unterschiedlichen Strahlenempfindlichkeit. So konnten, gemessen an den jeweils überlebenden Zellfraktionen nach Bestrahlung *in vitro*, zwischen Fibroblasten verschiedener Patienten signifikant unterschiedliche Strahlenempfindlichkeiten festgestellt werden (Burnet et al., 1994; Alsbeih et al., 2000). Es ist denkbar, dass unsere unterschiedlichen Ergebnisse diese in experimentellen Untersuchungen beobachtete Variabilität auf chromosomaler Ebene widerspiegeln.

Die Hauptursachen für Unterschiede bezüglich der Strahlenempfindlichkeit werden in genetischen Faktoren gesehen (Turesson et al., 1996; Rosen et al., 1999; Andreassen et al., 2002). So kann man sich vorstellen, dass die in der vorliegenden Studie beobachteten interindividuellen Unterschiede Ausdruck einer genetisch determinierten Bruchneigung der Chromosomen beziehungsweise von anlagebedingt eingeschränkten DNA-Reparaturmechanismen sind.

5.3 Art der nachgewiesenen zytogenetischen Aberrationen

5.3.1 Stabile versus instabile Chromosomenaberrationen

Insgesamt konnten in der vorliegenden Studie zu allen drei Untersuchungszeitpunkten nach Bestrahlung nur stabile Chromosomenaberrationen beobachtet werden, instabile Aberrationen kamen nicht vor. Diese Ergebnisse decken sich mit Beobachtungen anderer Autoren, welche Fibroblasten von *in vivo* bestrahlter Haut nach einer Kulturzeit von mindestens zwei bis drei Wochen untersucht haben (Engel et al., 1964; Visfeldt, 1966; Savage und Bigger, 1978; Mouthuy und Dutrillaux, 1982; Zaslav et al., 1988; Rubin et al., 1992; Honda et al., 1993). Zwar berichten einige Autoren auch vom vereinzelt Auftreten instabiler Aberrationen, der Anteil im Verhältnis zu den stabilen Aberrationen ist dabei jedoch verschwindend gering (Engel et al., 1964; Visfeldt, 1966; Mouthuy und Dutrillaux, 1982; Honda et al., 1993). Dass ionisierende Strahlung prinzipiell auch größere Mengen instabiler Aberrationen in Fibroblasten induzieren kann, konnte einerseits durch Untersuchungen gezeigt werden, bei denen Fibroblasten *in vitro* bestrahlt worden waren und während der ersten Zellteilungen nach Bestrahlung untersucht wurden (Nagasawa und Little, 1983; Kano und Little, 1984). Andererseits konnten Savage und Bigger (1978) zeigen, indem sie die Kulturzeit der Fibroblasten auf wenige Tage verkürzten, dass auch bis zu 19 Jahre nach *in vivo* Bestrahlung noch größere Mengen instabiler Aberrationen in der Haut persistieren können. Daraus schlussfolgerten sie, dass zumindest einige der Fibroblasten sich *in vivo* über lange Zeiträume hinweg nicht teilen und somit instabile Aberrationen in einigen Fibroblasten über Jahre hinweg erhalten bleiben können. Anhand dieser Beobachtungen könnte man vermuten, dass auch in der vorliegenden Studie größere Mengen instabiler Aberrationen *in vivo* in den Fibroblasten vorliegen, die jedoch im Laufe der mehrwöchigen Kulturdauer verloren gegangen sind.

Für die Eliminierung instabiler Chromosomenaberrationen scheinen jedoch nicht allein mitotische Probleme, sondern auch intrazelluläre Reparaturprozesse verantwortlich zu sein. So konnte interessanterweise durch *in vitro* Untersuchungen gezeigt werden, dass die Menge instabiler Aberrationen auch dann abnahm (bis auf 30%), wenn die Zellen nach Bestrahlung an weiteren Zellteilungen gehindert wurden (Kano und Little, 1984). Durch die Immunsuppression bei knochenmarktransplantierten Patienten ist es denkbar, dass es zu einer eingeschränkten Effizienz dieser intrazellulären Reparaturmechanismen kommt, wodurch auch die Eliminierung der instabilen Aberrationen verlangsamt würde. In der Tat konnte dies an Blutlymphozyten knochenmarktransplantierten Patienten beobachtet werden, hier nahm die Häufigkeit instabiler Chromosomenaberrationen mit der Zeit nach Bestrahlung nicht signifikant ab (Carbonell et al.,

1983; Heinze et al., 1995). Es ist vorstellbar, dass ein ähnlicher Zustand *in vivo* auch für die Hautfibroblasten dieser Patienten gilt, was ein weiterer Hinweis dafür wäre, dass *in vivo* noch instabile Aberrationen vorhanden sind.

Tabelle 16: Bisherige Studien zu zytogenetischen Aberrationen in *in vivo* bestrahlter Haut

Referenz	n	Art d. Strahlenbelast.	Strahlendosis	Entnahmeort	Zeit n.B.	% aberr.	Kulturzeit	Klonbildung	Zellen d. gl. Klons in unabh. ZK
Engel et al., 1964	1	lokale Strahlenther.	52,8 Gy	Rücken	3 J.	100%	4-5 Wo.	ja	ja
Visfeldt, 1966	3	Probedosis	1 Gy	Unterarm	3,24,72 h	8,3%	3 Wo.	ja	nein
	1	Probedosis	5 Gy	Unterarm	24 h	n.gewachsen	-	-	-
Savage und Bigger, 1978	6								
Patient 1		lokale Strahlenther.	20 Gy	Handrücken	1 h	mind. 66,7%	2-3 Wo.	ja	nein
Patient 1		lokale Strahlenther.	20 Gy	Handrücken	1 Wo.	mind. 60%	2-3 Wo.	ja	nein
Patient 2		lokale Strahlenther.	44,8 Gy	Wange	7 Mo.	mind. 91,5%	2-3 Wo.	ja	ja
Patient 3		lokale Strahlenther.	10 Gy	Hals	14 Mo.	mind. 71,6%	2-3 Wo.	ja	ja
Patient 4		lokale Strahlenther.	20 Gy	Wange	8,5 J.	100%	2-3 Wo.	ja	nein
Patient 5		lokale Strahlenther.	34 Gy	Wange	13,7 J.	100%	2-3 Wo.	ja	nein
Patient 6		lokale Strahlenther.	? (hoch)	Wange	60 J.	~100%	2-3 Wo.	ja	ja
Mouthuy und Dutrillaux, 1982	1	Unfall: Ir.-192-Quelle	25 Ci	Handinnenfl.	25 / 35 Mo.	36,6-100%	u.A.	ja	ja*
Zaslav et al., 1988	1	lokale Strahlenther.	20 Gy frakt.	Lymphkn.	9 Mo.	100%	3 Wo.	ja	nein
Rubin et al., 1992	6								
Patient 1		ther.GKB	7,5 Gy unfrakt.	Gesäß li.	4 Mo.	88%	3-9 Wo.	ja	nein
Patient 1		ther.GKB	7,5 Gy unfrakt.	Arm	13 Mo.	57%	3-9 Wo.	ja	nein
Patient 2		ther.GKB	13,2 Gy frakt.	Rücken u.	3 Mo.	85%	3-9 Wo.	ja	ja***
Patient 3		ther.GKB	13,2 Gy frakt.	Rücken u.	3 Mo.	85%	3-9 Wo.	ja	nein
Patient 4		ther.TLI	7,5 Gy unfrakt.	Rücken m.	6 Mo.	49%	3-9 Wo.	ja	nein
Patient 4		ther.TLI	7,5 Gy unfrakt.	Arm (a.d.S.f.)	6 Mo.	7%	3-9 Wo.	ja	nein
Patient 5		nur Chemo	nur Chemo	Rücken u.	1 Mo.	0%	3-9 Wo.	-	-
Kontrollperson		-	-	Arm	-	0%	3-9 Wo.	-	-
Honda et al., 1993	1	Atombombe	5,14 Gy**	Unterarm	ca. 45 J.	30-36%	5 Wo.	ja	nein

Legende: % aberr.: Prozentzahl aberranter Zellen; a.d.S.f.: außerhalb des Strahlenfeldes; Ci: Curie; d.: des; frakt.: fraktioniert; GKB: Ganzkörperbestrahlung; gl.: gleichen; Gy: Gray; h: Stunden; Handinnenfl.: Handinnenfläche; Ir.: Iridium; J.: Jahre; li.: links; Lymphkn.: Lymphknoten; m.: mittig; mind.: mindestens; Mo.: Monate; n: Anzahl untersuchter Personen; n.: nicht; n.B.: nach Bestrahlung; Strahlenbelast.: Strahlenbelastung; Strahlenther.: Strahlentherapie; ther.: therapeutische; TLI: „total lymphoid irradiation“; u.: unten; u.A.: ungenaue Angaben; unabh.: unabhängigen; unfrakt.: unfraktioniert; Wo.: Wochen; ZK: Zellkulturen; * sogar zu zwei Biopsiezeitpunkten; ** geschätzte Strahlendosis; *** Karyotypevolution in zwei unterschiedlichen Flaschen

5.3.2 Typen stabiler struktureller Chromosomenaberrationen

Der weitaus häufigste Typ struktureller Chromosomenaberrationen in der vorliegenden Arbeit war die reziproke Translokation. Diese Beobachtung deckt sich mit den Ergebnissen aller anderen Studien zu *in vivo* bestrahlter Haut (Engel et al., 1964; Visfeldt, 1966; Savage und Bigger, 1978; Mouthuy und Dutrillaux, 1982; Rubin et al., 1992; Honda et al., 1993). Der prozentuale Anteil reziproker Translokationen, soweit exakt angegeben, lag in diesen Arbeiten jedoch zwischen 73 (Rubin et al., 1992) und 90 Prozent (Honda et al., 1993), während er hier, je nach Untersuchungszeitpunkt nach Bestrahlung, zwischen 46 und 54 Prozent lag. Am zweithäufigsten waren in der vorliegenden Arbeit Deletionen, dicht gefolgt von Additionen. In den anderen Studien wird nicht vom Auftreten von Additionen berichtet, und auch der prozentuale Anteil von Deletionen (soweit exakt angegeben) ist mit unter 10 Prozent im Vergleich zur vorliegenden Studie (je nach Untersuchungszeitpunkt nach Bestrahlung 14 bis 24 Prozent) deutlich geringer. Eine Erklärung für diese Unterschiede könnte sein, dass es sich bei einem Großteil der in der vorliegenden Studie als Deletionen und Additionen klassifizierten Aberrationen in Wirklichkeit um „versteckte“ reziproke Translokationen handelt, die jedoch als solche nicht identifiziert werden konnten. Würde man pro Untersuchungszeitpunkt jeweils eine Addition und eine Deletion als reziproke Translokation werten, so ergäbe sich folgende prozentuale Verteilung: der Anteil an Translokationen läge, je nach Untersuchungszeitpunkt nach Bestrahlung, zwischen 71 und 80 Prozent, der an Deletionen zwischen 2 und 11 Prozent, Additionen kämen nicht vor. Diese Ergebnisse sind gut vergleichbar mit denen von Rubin et al. (1992).

Der Anteil von Inversionen wurde in den bisherigen Studien zwischen 0 (Honda et al., 1993) und 17,6 Prozent (Savage und Bigger, 1978) angegeben, bei Rubin et al. (1992) liegt er bei 13,6 Prozent und in der vorliegenden Arbeit zwischen 6 und 11 Prozent. Schwankungen bezüglich der Menge von Inversionen könnten dadurch erklärt werden, dass paracentrische Inversionen zytogenetisch leicht übersehen werden können. Des Weiteren konnten in dieser Arbeit, ebenso wie in der Studie von Rubin et al. (1992), zwei Insertionen beobachtet werden.

Eine weitere Beobachtung in der vorliegenden Arbeit war das Auftreten komplexer Translokationen. Mehrere andere Autoren berichteten bereits vom Auftreten komplexer Translokationen in Hautfibroblasten nach Bestrahlung *in vivo* (Savage und Bigger, 1978; Mouthuy und Dutrillaux, 1982; Rubin et al., 1992). In Hautfibroblasten ganzkörperbestrahlter Leukämiepatienten wurde jedoch bisher nur von einer einzigen 3-Bruch-Translokation berichtet

(Rubin et al., 1992), während in der vorliegenden Arbeit neben mehreren 3-Bruch-Translokationen auch eine 4- und eine 5-Bruch-Translokation beobachtet wurden (vgl. 5.5).

5.3.3 Klonale Veränderungen

In allen Studien, die Fibroblasten von Personen untersucht haben, welche vor einem längeren Zeitraum bestrahlt worden waren, sind in den Zellkulturen klonale Veränderungen beschrieben worden (siehe Tabelle 16). Auch in der vorliegenden Studie war der Anteil klonaler Veränderungen an der Gesamtmenge aberranter Zellen sehr hoch (er betrug insgesamt zwischen 43,5 und 100%). Es stellt sich nun die Frage, ob diese *in vitro* beobachteten Klone auch schon *in vivo* klonal waren oder ob sie lediglich durch eine einzige strahlengeschädigte Zelle entstanden sind, welche sich *in vitro* klonal vermehrt hat. Klonbildung in der Zellkultur ist nämlich auch dann beschrieben worden, wenn die Haut erst kurz zuvor bestrahlt worden war und somit *in vivo* nicht genügend Zeit für eine klonale Expansion bestanden hatte (Visfeldt, 1966; Martins, 1994). Man kann also nicht davon ausgehen, dass alle *in vitro* beobachteten Klone auch *in vivo* klonal sind. Ein starker Hinweis auf einen schon *in vivo* vorhandenen Klon ist das Auftreten von Zellen mit der gleichen zytogenetischen Veränderung in Zellkulturen von unabhängig voneinander angesetzten Anteilen derselben Hautprobe bzw. in zwei unterschiedlichen Hautproben. Dies setzt nämlich voraus, dass auch schon *in vivo* mindestens zwei Zellen mit der gleichen Veränderung vorgelegen haben. Solch ein Hinweis auf eine *in vivo* Klonbildung nach Bestrahlung konnte bereits in einigen Studien erbracht werden (siehe Tabelle 16, letzte Spalte), an ganzkörperbestrahlten Leukämiepatienten konnte dies jedoch bisher erst in einem Fall vermutet werden (Rubin et al., 1992). Dieser erste Hinweis wurde durch die in der vorliegenden Studie gemachten Beobachtungen bekräftigt. So konnten in unserer Studie bei vier der untersuchten Patienten Zellen mit identischen Veränderungen in Kulturen festgestellt werden, die von unabhängig voneinander angesetzten Anteilen derselben Hautprobe gewachsen waren. Bei einem dieser vier Patienten war dies sogar für drei verschiedene Klone der Fall. Ein weiterer starker Hinweis für das *in vivo* Vorhandensein von klonalen Veränderungen in Hautfibroblasten konnte durch die Arbeit von Mouthuy und Dutrillaux (1982) erbracht werden. Hier wurde das Vorhandensein von Zellen mit der gleichen Veränderung sogar in zwei Hautproben beobachtet, welche mit einem zeitlichen Abstand von einem Jahr entnommen worden waren. Dies ist besonders interessant, da es darauf hinweist, dass sich die *in vivo* vorhandenen Klone innerhalb des Organismus anscheinend so weit ausbreiten, dass sie sogar in voneinander zeitlich und räumlich unabhängigen Hautanteilen nachweisbar sind (Mouthuy und Dutrillaux, 1982). Solch eine Beobachtung konnte in der vorliegenden Studie jedoch nicht gemacht werden.

Selbstverständlich kann für die Klone, die nur in einer Zellkulturflasche gefunden wurden, nicht ausgeschlossen werden, dass es sich hier lediglich um *in vitro* Vermehrungen einer einzigen Ursprungszelle handelt. Dennoch sind die insgesamt sechs Fälle, bei denen Zellen mit identischen Veränderungen in Kulturen von unabhängig voneinander angesetzten Anteilen derselben Hautprobe festgestellt wurden, ein starker Hinweis dafür, dass zumindest einige der insgesamt beobachteten klonalen Veränderungen auch *in vivo* präsent sind.

5.4 Verteilung der Bruchpunkte

Die durch die Bruchpunktanalyse gewonnenen Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Bruchpunkte nicht zufällig über die Chromosomen verteilt sind, sondern dass es bestimmte Chromosomen und sogar Chromosomenbanden gibt, die bevorzugt betroffen sind. Dies konnte sowohl bei einzelnen Patienten als auch im interindividuellen Vergleich beobachtet werden.

Studien, die Bruchpunktanalysen von *in vitro* bestrahlten Fibroblasten durchgeführt haben, berichten ebenfalls von einer nicht zufälligen Verteilung der strahleninduzierten Bruchpunkte (Lee und Kamra, 1981; Kano und Little, 1986). Arbeiten an bestrahlten Lymphozyten dagegen liefern widersprüchliche Ergebnisse (zusammengefasst von Johnson et al., 1999).

Auffällig war, dass das Y-Chromosom im Retrospektivkollektiv kein einziges Mal an Bruchereignissen beteiligt war. Das Fehlen von Bruchereignissen an diesem Chromosom ist bereits von mehreren anderen Autoren beschrieben worden (Buckton, 1976; Barrios et al., 1989; Rubin et al., 1992).

In der Studie von Kano und Little (1986) an *in vitro* bestrahlten Fibroblasten wurden insgesamt 12 Banden angegeben, die bevorzugt von Bruchereignissen betroffen waren. Besonders häufig war dabei die Bande 1p22, die interessanterweise auch in der vorliegenden Studie zu den „hot spots“ gehörte. Diese Bande ist im Zusammenhang mit Chromosomenaberrationen bei malignem Melanom beschrieben worden (Balaban et al., 1984). Insgesamt ist das Chromosom 1, ebenso wie Chromosom 6, bei malignem Melanom besonders häufig an Rearrangements beteiligt (Nelson et al., 2000). Beide Chromosomen sind auch in der vorliegenden Studie gehäuft von Bruchereignissen betroffen. Dies könnte im Zusammenhang stehen mit dem gehäuften Auftreten maligner Melanome nach Knochenmarktransplantation (Curtis et al., 1997).

Interessanterweise gehörte auch die chromosomale Lokalisation 11q23 zu den in der vorliegenden Studie beobachteten Bruchpunkthäufungen. Diese Bande ist häufig an chromosomalen Aberrationen bei sekundären Leukämien nach Bestrahlung beteiligt (Huret, 1998). Des Weiteren sind Deletionen und/oder komplette Verluste der Chromosomen 5 und 7 im

Zusammenhang mit Chromosomenaberrationen bei therapieinduzierten Leukämien beschrieben (Rowley et al., 1977; Le Beau et al., 1986; Rubin et al., 1991; Pedersen-Bjergaard et al., 2000). Während Chromosom 5 in der vorliegenden Studie nicht gehäuft betroffen war, fanden sich an Chromosom 7 drei Banden, die besonders häufig an Aberrationen beteiligt waren (7p15, 7q11, 7q22).

Von den insgesamt 24 in der vorliegenden Studie gehäuft von Bruchereignissen betroffenen Banden gehörten elf zu den fragile sites (1p22, 1q25, 2q31, 7q11, 7q22, 9q22, 11p15, 11q23, 16p13, 19q13, 22q13). Da inzwischen jedoch insgesamt 117 fragile sites beschrieben sind (Sutherland et al., 1996), könnte diese Übereinstimmung auch zufallsbedingt sein.

Besonders interessant ist der Vergleich der in der vorliegenden Studie beobachteten Bruchpunkthäufungen mit Banden, die im Zusammenhang mit den Chromosomeninstabilitätssyndromen eine wichtige Rolle spielen. So fällt einerseits auf, dass besonders solche Banden gehäuft betroffen waren, auf denen Gene für die verschiedenen Chromosomeninstabilitätssyndrome lokalisiert sind (siehe Tabelle 17). Andererseits konnte beobachtet werden, dass eine der insgesamt vier Banden, welche bei der Ataxia teleangiectatica bevorzugt von Bruchereignissen betroffen sind, auch in der vorliegenden Studie gehäuft auftrat (14q32).

Es stellt sich die Frage, wie sich diese Gemeinsamkeiten interpretieren lassen. Einerseits könnte man vermuten, dass es sich bei den hier untersuchten Patienten zum Teil um heterozygote Träger der Chromosomeninstabilitätssyndrome handelt. Dies ist nicht ganz unwahrscheinlich, da beispielsweise bei heterozygoten Trägern der Ataxia teleangiectatica ein gehäuftes Auftreten maligner Erkrankungen beschrieben ist (Swift et al., 1991). In diesem Zusammenhang ist interessant, dass bei zwei der untersuchten Patienten bereits vor der Ganzkörperbestrahlung Chromosomenaberrationen in den Fibroblastenkulturen aufgetreten sind, was als Ausdruck einer erhöhten Bruchneigung der Chromosomen angesehen werden könnte (unter 5.2.1 diskutiert).

Eine andere Erklärung jedoch könnte sein, dass Bestrahlung auf ganz ähnliche Art und Weise wirkt wie die Chromosomeninstabilitätssyndrome, nämlich indem besonders solche Gene betroffen sind, die eine Schlüsselrolle bei der Reparatur von DNA-Schäden übernehmen (siehe Tabelle 17). Somit wäre die Übereinstimmung bezüglich der betroffenen Bruchpunkte Ausdruck eines verwandten Pathomechanismus. Dies könnte ein wertvoller Hinweis für die noch nicht vollständig geklärte biologische Wirkung von Strahlung sein und würde sehr gut zu der bereits von Huang et al. (2003) geäußerten Vermutung passen, dass Bestrahlung einen ähnlichen Zustand der chromosomalen Instabilität induziert wie er für die Chromosomeninstabilitätssyndrome typisch ist (siehe auch nächstes Kapitel).

In der folgenden Tabelle 17 (modifiziert nach Miller und Therman, 2001 und aktualisiert nach der OMIM-Datenbank) sind verschiedene Chromosomeninstabilitätssyndrome mit dem jeweils betroffenen Gen, dessen Lokalisation sowie dem Genprodukt bzw. der Genfunktion aufgeführt. Genlokalisierungen, die mit in der vorliegenden Studie gehäuft aufgetretenen Banden übereinstimmen, sind fettgedruckt.

Tabelle 17: Genetische Grundlagen einiger Chromosomeninstabilitätssyndrome. Fettgedruckte Banden gehören zu den in der vorliegenden Studie beobachteten „hot spots“

Syndrom	Gen	Lokalisation	Produkt, Funktion
Bloom	<i>BLM</i>	15q26.1	DNA-Helikase
Fanconi A	<i>FANCA</i>	16q24.3	DNA-Reparatur
Fanconi B	<i>FANCB</i>	Xp22.31	
Fanconi C	<i>FANCC</i>	9q22.3	
Fanconi D1	<i>FANCD1</i>	13q12.3	
Fanconi D2	<i>FANCD2</i>	3p25.3	
Fanconi E	<i>FANCE</i>	6p21~p22	
Fanconi F	<i>FANCF</i>	11p15	
Fanconi G	<i>FANCG</i>	9p13	
Ataxia teleangiectatica	<i>ATM</i>	11q22.3	
Nijmegen breakage	<i>NBS</i>	8q21	DSB-Reparatur

Legende: DNA: Desoxyribonukleinsäure; DSB = Doppelstrangbruch

Tabelle 17 ist modifiziert nach: Miller O.J., Therman E.: Human Chromosomes. Springer-Verlag, New York, 4. Auflage, S. 359 (Table 24.1), copyright des Springer-Verlages (2001).

5.5 Entwicklung der zytogenetischen Aberrationen im zeitlichen Verlauf

Erstmalig konnte durch die vorliegende Studie die Entwicklung von zytogenetischen Aberrationen in Hautfibroblasten ganzkörperbestrahlter und knochenmarktransplantierte Patienten im Verlauf über einen längeren Zeitraum beschrieben werden.

Die zwei wesentlichen Ergebnisse dieser Verlaufsbeobachtung sind:

1. In dem prospektiv innerhalb des ersten Jahres nach Bestrahlung untersuchten Kollektiv unterschied sich weder der Prozentsatz aberranter Zellen noch die durchschnittliche Anzahl von Bruchpunkten pro aberranter Zelle zu den zwei Untersuchungszeitpunkten nach Bestrahlung signifikant voneinander.
2. Der Prozentsatz aberranter Zellen war im Kollektiv >23 Monate nach Bestrahlung signifikant höher als im Prospektivkollektiv zum Zeitpunkt 12 Monate nach Bestrahlung.

Diese Beobachtungen weisen darauf hin, dass das Ausmaß der durch die Ganzkörperbestrahlung in den Hautfibroblasten induzierten zytogenetischen Aberrationen innerhalb des ersten Jahres relativ konstant bleibt, um danach im Laufe der Zeit anzusteigen.

Zunächst stellt sich jedoch die Frage, ob die hier postulierte Zunahme der Aberrationen mit der Zeit tatsächlich vorhanden ist. Diese Schlussfolgerung muss vor allem deshalb kritisch betrachtet werden, weil sie nicht durch eine prospektive Untersuchung am gleichen Patientenkollektiv, sondern durch den Vergleich zweier unterschiedlicher Patientenkollektive zustande gekommen ist. Im Gegensatz zum Prospektivkollektiv handelt es sich beim Retrospektivkollektiv um eine exklusive „survivor“-Gruppe, die die Transplantation schon mehrere Jahre überlebt hat. Der Unterschied zwischen den zwei Kollektiven könnte somit auch durch interindividuelle Unterschiede bedingt sein. Um diese potentielle Fehlerquelle auszuschließen, müssten weitere follow-up-Untersuchungen am prospektiven Kollektiv durchgeführt werden.

Andererseits ist es möglich, dass die Unterschiede zwischen den zwei Kollektiven auf Faktoren bei der Zellkultur zurückzuführen sind. So ist denkbar, dass Zellen mit besonders schweren Aberrationen aufgrund der starken Schädigung zunächst nicht proliferationsfähig sind, und ihnen erst durch den mehrjährigen Einfluss von Reparaturmechanismen ein Wachstum ermöglicht wird. Das hieße, dass zu den früheren Zeitpunkten nach Bestrahlung zwar stark geschädigte Zellen *in vivo* vorhanden sind, diese jedoch in der Kultur nicht anwachsen und somit nur die weniger stark geschädigten Zellen zur Auswertung kommen. Das tatsächliche (aber nicht feststellbare) Ausmaß der Aberrationen wäre demnach zum Zeitpunkt zwölf Monate nach Bestrahlung nicht niedriger, sondern höher als im Retrospektivkollektiv.

Angenommen jedoch, die beobachtete Zunahme des Prozentsatzes aberranter Zellen mit der Zeit nach Bestrahlung ist nicht auf interindividuelle Unterschiede zwischen den zwei Kollektiven oder auf Faktoren bei der Zellkultur zurückzuführen, sondern spiegelt die tatsächliche Entwicklung der Aberrationen *in vivo* wider, so stellt sich die Frage nach der Ursache für dieses Phänomen.

Vorstellbar ist, dass die Zunahme der zytogenetischen Aberrationen auf die klonale Expansion bestimmter aberranter Zellen zurückzuführen ist, welche durch spezifische Chromosomenaberrationen einen Wachstumsvorteil erlangt haben und sich so im Laufe der Zeit stärker vermehren als ebenfalls vorhandene gesunde Zellen. Solch eine Wachstumsdynamik ist aus *in vitro* Untersuchungen bekannt, in denen Fibroblastenkulturen von *in vivo* bestrahlter Haut über einen längeren Zeitraum kultiviert wurden (Mouthuy und Dutrillaux, 1982; Honda et al., 1993).

Eine andere Möglichkeit ist, dass neue Chromosomenaberrationen als Spätfolge der Bestrahlung erst entstehen. So ist aus Verlaufsuntersuchungen an *in vitro* bestrahlten Fibroblasten bekannt, dass es mit zunehmender Zeit nach Bestrahlung zu einer erhöhten Rate neu entstandener Chromosomenaberrationen kommen kann (Martins et al., 1993; Kadhim et al., 1998). Dieses

Phänomen wird als „strahleninduzierte chromosomale Instabilität“ bezeichnet und ist Ausdruck der heute gültigen Vorstellung, dass Bestrahlung nicht nur einmalig wirkt, sondern zu einer langfristigen Destabilisierung des Genoms führt, welche auch noch in den Folgegenerationen der ursprünglich bestrahlten Zellen zu genetischen Veränderungen wie beispielsweise einer erhöhten Rate an Mutationen und Chromosomenaberrationen führt (Kronenberg, 1994; Little, 1998; Little, 2000; Huang et al., 2003). Das Phänomen der strahleninduzierten chromosomalen Instabilität ist jedoch bisher hauptsächlich in *in vitro* Untersuchungen beobachtet worden (zusammengefasst von Little, 2000). In der vorliegenden Studie gibt es neben der Zunahme der aberranten Zellen noch weitere Hinweise, dass solch eine strahleninduzierte chromosomale Instabilität bei ganzkörperbestrahlten und knochenmarktransplantierten Patienten in den Hautfibroblasten auch *in vivo* vorliegt. So konnte relativ häufig das Phänomen der Karyotypevolution (Auftreten von zusätzlichen Anomalien bei einem bereits aberranten Karyotyp) beobachtet werden, was darauf hinweist, dass sich die Aberrationen nach der Bestrahlung intraklonal weiterentwickeln (Kronenberg, 1994; Huang et al., 2003). In diesem Zusammenhang besonders interessant ist auch die Beobachtung, dass die komplexeste Translokation mit insgesamt fünf Bruchereignissen bei der Patientin beobachtet wurde, deren Ganzkörperbestrahlung mit 216 Monaten am längsten zurücklag. Eine weitere 4-Bruchtranslokation wurde bei einem anderen Patienten des Retrospektivkollektivs beobachtet. Die komplexen Translokationen im Prospektivkollektiv sowie in der Studie von Rubin et al. (1992), in der die längste Zeitspanne zwischen Bestrahlung und Hautprobenentnahme 13 Monate betrug, umfassten jedoch nur drei Bruchereignisse.

Bisher wurden prospektive Verlaufsuntersuchungen zu Chromosomenaberrationen nach *in vivo* Bestrahlung zu mehreren Zeitpunkten nach Bestrahlung und in größerem Umfang nur an Zellen des hämatopoetischen Systems durchgeführt. Dabei berichtet der Großteil der Studien von einem über viele Jahre hinweg weitgehend konstant bleibenden Ausmaß an strahleninduzierten stabilen Chromosomenaberrationen (Lucas 1997; Lindholm et al., 1998; Lloyd et al., 1998; Salomaa et al., 1998) und konnte somit die Vorstellung über eine auch *in vivo* vorliegende strahleninduzierte chromosomale Instabilität bisher nicht bestätigen (Salomaa et al., 1998). In diesen Studien wurden allerdings an und für sich gesunde Personen untersucht, die aufgrund der Atombombenabwürfe oder durch Unfälle bestrahlt worden waren. In den Blutlymphozyten ganzkörperbestrahlter KMT-Patienten jedoch konnte, passend zu den Ergebnissen der vorliegenden Studie, eine Zunahme stabiler Chromosomenaberrationen mit der Zeit beobachtet werden (Baker et al., 1986; Heinze et al., 1995).

Der genaue Mechanismus, wie es zur strahleninduzierten chromosomalen Instabilität kommt, ist noch nicht genau geklärt. Es wird diskutiert, ob es sich um einen ähnlichen Pathomechanismus

wie bei den angeborenen Chromosomeninstabilitätssyndromen handelt (Huang et al., 2003). Interessanterweise konnte die in der vorliegenden Studie durchgeführte Bruchpunktanalyse Hinweise hierfür liefern (vgl. 5.4).

Eine *in vivo* vorhandene strahleninduzierte chromosomale Instabilität wäre eine verlockende Erklärung für die langen Latenzzeiten beim Auftreten von Sekundärmalignomen nach Strahlenbelastung. Das Maximum der DNA-schädigenden Wirkung wäre nämlich nicht schon direkt nach Strahleneinwirkung und in konstanter Weise vorhanden, sondern würde sich durch den dynamischen Prozess der chromosomalen Instabilität im Laufe der Zeit erst entwickeln. Somit würde mit zunehmender Zeit auch die Wahrscheinlichkeit höher, dass kritische Gene betroffen sind, die bei der malignen Transformation eine Rolle spielen.

5.6 Einfluss klinischer Faktoren auf das Ausmaß der zytogenetischen Aberrationen

Es konnte gezeigt werden, dass im Prospektivkollektiv der Prozentsatz aberranter Zellen und im Retrospektivkollektiv die durchschnittliche Anzahl der Bruchpunkte pro aberranter Zelle bei Patienten mit akuten Leukämien signifikant höher war als bei Patienten mit anderen Diagnosen. Bei den anderen untersuchten klinischen Parametern ergaben sich jedoch keine signifikanten Unterschiede.

Diese Beobachtungen weisen darauf hin, dass die Ganzkörperbestrahlung im Rahmen der Knochenmarktransplantation bei Patienten mit akuten Leukämien ein höheres Ausmaß an zytogenetischen Aberrationen in den Hautfibroblasten induziert als bei Patienten mit anderen Grunderkrankungen. Eine mögliche Erklärung hierfür wäre zum Beispiel die aggressivere chemotherapeutische Vorbehandlung dieser Patienten im Vergleich zu anderen Diagnosegruppen. Denkbar ist, dass es durch diese im Vorfeld verabreichte starke Chemotherapie zu einer strahlenverstärkenden Wirkung kommt. Eine andere Möglichkeit jedoch wäre, dass das Krankheitsgeschehen der akuten Leukämien genetisch gekoppelt ist mit einer besonders hohen Chromosomenbrüchigkeit beziehungsweise mit eingeschränkten DNA-Reparaturmechanismen. In diesem Zusammenhang interessant ist die Beobachtung, dass bei einer ALL-Patientin bereits vor Durchführung der Konditionierung Chromosomenaberrationen in den Zellkulturen gefunden wurden (vgl. 5.2.1), was die Vorstellung über den Einfluss einer genetischen Komponente unterstützt.

Aufgrund der niedrigen Fallzahlen sind die hier vorliegenden Ergebnisse natürlich kritisch zu betrachten und könnten auch rein zufällig durch interindividuelle Unterschiede zustande gekommen sein, die nichts mit der Grunderkrankung zu tun haben. Hiergegen spricht allerdings,

dass es in beiden unabhängig voneinander untersuchten Kollektiven zu signifikanten Unterschieden zwischen den Diagnosegruppen kam.

Die Frage, ob ein direkter Zusammenhang zwischen dem Ausmaß des zytogenetischen Schadens in den Hautfibroblasten und dem Auftreten von Zweittumoren besteht – insbesondere von Hauttumoren, die zu den häufigsten Tumoren nach SZT gehören (Curtis et al., 1997; Kolb et al., 1999) – konnte in der vorliegenden Studie nicht beantwortet werden. Hierzu sind größere Patientenzahlen und längere follow-up-Zeiträume von Prospektivgruppen erforderlich. Allerdings ist auffällig, dass bei einer (Lfd.-Nr.: 101, von den Gesamtanalysen ausgeschlossen) der insgesamt drei Patienten, die einen Zweittumor entwickelten, die komplexeste Translokation mit insgesamt fünf Bruchereignissen auftrat (auch unter Kap. 5.5 im Zusammenhang mit der Frage nach einer *in vivo* vorhandenen chromosomalen Instabilität diskutiert). Dies könnte als Hinweis dafür gedeutet werden, dass ein stärkeres Ausmaß an Aberrationen das Risiko für die Entwicklung eines Zweittumors erhöht. Geht man von solch einem Zusammenhang aus, so ließe sich aus den Ergebnissen bezüglich der Diagnosegruppen die Hypothese ableiten, dass für Patienten mit akuten Leukämien ein im Vergleich zu anderen Diagnosegruppen erhöhtes Zweittumorrisiko besteht. In epidemiologischen Studien konnte gezeigt werden, dass das Risiko für solide Tumoren nach KMT von der Erstdiagnose abhängig ist und für Patienten mit akuten Leukämien am höchsten zu sein scheint (Curtis et al., 1997). Bhatia et al. (2001) berichten von einem erhöhten Risiko für ALL-, AML-, aber auch CML-Patienten, andere Autoren jedoch geben keine Risikogruppen in Bezug auf die Erstdiagnose an (Kolb et al., 1999). Sollte sich in weiteren prospektiven Studien bestätigen, dass Patienten mit akuten Leukämien ein im Vergleich zu anderen Diagnosegruppen höheres Ausmaß an zytogenetischen Aberrationen in den Hautfibroblasten aufweisen und dass dies mit einem erhöhten Zweittumorrisiko einhergeht, so könnte eine Konsequenz für den klinischen Alltag darin bestehen, die Nachsorge im Hinblick auf die Zweittumorsuche bei dieser Patientengruppe besonders gründlich durchzuführen.

6 Zusammenfassung

Durch die stetig optimierten Behandlungsschemata der letzten Jahre stellt die Knochenmark- bzw. Stammzelltransplantation für immer mehr Patienten mit malignen Erkrankungen des hämatopoetischen Systems eine Chance auf Heilung dar. Das hat jedoch zur Folge, dass nun die Problematik möglicher Spätfolgen dieser intensiven Therapiemaßnahmen in den Vordergrund rückt, insbesondere die meist Jahrzehnte nach der Transplantation auftretenden Zweittumoren.

Seit langem weiß man, dass Bestrahlung ein karzinogenes Potential besitzt und bei exponierten Personen Chromosomenaberrationen in verschiedenen Geweben induzieren kann. Der Zusammenhang zwischen Chromosomenaberrationen und malignen Tumoren wird unter anderem dadurch deutlich, dass für viele primäre und auch einige therapieinduzierte sekundäre Tumoren spezifische chromosomale Veränderungen beschrieben sind, die mit diesen Erkrankungen assoziiert sind. Die zytogenetischen Aberrationen, die bei Patienten nach Ganzkörperbestrahlung im Rahmen einer Knochenmark- bzw. Stammzelltransplantation in den Hautfibroblasten induziert werden, sind jedoch bisher erst in einer Studie mit geringer Patientenzahl untersucht worden.

Durch die vorliegende, in größerem Umfang durchgeführte Arbeit wurde erstmalig auch die Entwicklung dieser Aberrationen im Verlauf über einen längeren Zeitraum untersucht. Außerdem wurde eine genaue Bruchpunktanalyse sowie eine Korrelation des zytogenetischen Schadens mit klinischen Parametern durchgeführt.

Hierzu wurden Hautbiopsien von 38 Patienten zytogenetisch ausgewertet, welche im Rahmen einer allogenen Knochenmark- oder Stammzelltransplantation eine Konditionierung mit Ganzkörperbestrahlung erhielten (Ausnahmen: Lfd.-Nr.: 204 und 207). Bei dem aus 20 Patienten bestehenden Prospektivkollektiv wurden Hautbiopsien vor, 3-6 und 12 Monate nach Bestrahlung entnommen, bei den 18 retrospektiv untersuchten Patienten betrug die Zeitspanne zwischen Bestrahlung und Hautprobenentnahme zwischen 23 und 216 Monaten.

Es konnte gezeigt werden, dass die intensiven Therapiemaßnahmen im Rahmen einer Knochenmark- bzw. Stammzelltransplantation stabile, strukturelle Chromosomenaberrationen klonalen Charakters in Fibroblasten der Haut induzieren, die bis hin zu einem Zeitraum von 18 Jahren nach Knochenmarktransplantation persistieren können.

Die durchgeführte Bruchpunktanalyse ergab, dass die strahleninduzierten Bruchpunkte nicht zufällig über die Chromosomen verteilt sind, sondern dass es bestimmte Chromosomen bzw. Chromosomenbanden gab, die bevorzugt betroffen waren. Besonders interessant war die Häufung an Banden, auf denen Gene für die Chromosomeninstabilitätssyndrome lokalisiert sind.

Dies gab Anlass zu der Vermutung, dass Bestrahlung einen ähnlichen Zustand der chromosomalen Instabilität induziert wie er für diese Erkrankungen typisch ist.

Durch die Verlaufsbeobachtung der zytogenetischen Aberrationen konnten Hinweise dafür erbracht werden, dass die Veränderungen in den Hautfibroblasten innerhalb des ersten Jahres nach Bestrahlung relativ konstant bleiben, um danach im Laufe der Zeit anzusteigen. Dies kann als Hinweis auf eine *in vivo* vorhandene chromosomale Instabilität interpretiert werden, was wiederum die aus der Bruchpunktanalyse gewonnenen Ergebnisse unterstützt. Da man sich die strahleninduzierte chromosomale Instabilität als einen dynamischen, mit der Zeit komplexer werdenden Zustand der chromosomalen Destabilisierung vorzustellen hat, wurde dieses Phänomen als mögliche Erklärung für die langen Latenzzeiten beim Auftreten von Zweittumoren nach Strahlenbelastung vorgeschlagen.

Es wurde untersucht, ob es einen Zusammenhang zwischen klinischen Parametern und dem Ausmaß der zytogenetischen Aberrationen gab. Hierbei stellte sich heraus, dass das Ausmaß des induzierten zytogenetischen Schadens besonders bei Patienten mit akuten Leukämien hoch war. Ob ein hohes Ausmaß an Aberrationen mit einem erhöhten Zweittumorrisiko einhergeht und man Patienten mit akuten Leukämien diesbezüglich als Risikogruppe definieren kann, kann allerdings erst durch weitere Untersuchungen mit höheren Patientenzahlen und längeren follow-up-Zeiträumen geklärt werden. Für zukünftige Untersuchungen ist außerdem in Erwägung zu ziehen, die klassische G-Bandentechnik mit neueren Untersuchungsverfahren, wie z.B. mFISH oder SKY, zu ergänzen, um die Bruchpunkte genau definieren zu können. Ziel könnte sein, die involvierten Gene zu beschreiben.

7 Literaturverzeichnis

Alsbeih G., Malone S., Lochrin C., Girard A., Fertil B., Raaphorst G.P. (2000): Correlation between normal tissue complications and *in vitro* radiosensitivity of skin fibroblasts derived from radiotherapy patients treated for variety of tumors. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 46(1): 143-152

Amenomori T., Honda T., Otake M., Tomonaga M., Ichimaru M. (1988): Growth and Differentiation of Circulating Hemopoietic Stem Cells with Atomic Bomb Irradiation-induced Chromosome Abnormalities. *Exp. Hematol.* 16: 849-854

Andreassen C.N., Alsner J., Overgaard J. (2002): Does variability in normal tissue reactions after radiotherapy have a genetic basis - where and how to look for it? *Radiother. Oncol.* 64(2): 131-140

Baker M.C., Lawler S.D., Harris H., Barrett A., Powles R.L. (1986): Radiation damage in patients treated by total-body irradiation, bone marrow grafting, and cyclosporin. *Radiat. Res.* 105: 413-424

Balaban G., Herlyn M., Guerry IV D., Bartolo R., Koprowski H., Clark W.H., Nowell P.C. (1984): Cytogenetics of human malignant melanoma and premalignant lesions. *Cancer Genet. Cytogenet.* 11: 429-439

Barrios L., Miró R., Caballín M.R., Fuster C., Guedea F., Subias A., Egozcue J. (1989): Cytogenetic Effects of Radiotherapy: Breakpoint Distribution in Induced Chromosome Aberrations. *Cancer Genet. Cytogenet.* 41: 61-70

Bayreuther K., Rodemann H.P., Hommel R., Dittmann K., Albiez M., Francz P.I. (1988): Human skin fibroblasts *in vitro* differentiate along a terminal cell lineage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 5112-5116

Bender M.A., Gooch P.C. (1962): Persistent chromosome aberrations in irradiated human subjects. *Radiat. Res.* 16: 44-53

Benn P.A. (1977): Specific break points in chromosomally abnormal human fibroblast subpopulations. *Cytogenet. Cell Genet.* 19: 118-135

Bhatia S., Louie A.D., Bhatia R., O'Donnell M., Fung H., Kashyap A., Krishnan A., Molina A., Nademanee A., Niland J.C., Parker P.A., Snyder D.S., Spielberger R., Stein A., Forman S.J. (2001): Solid cancers after bone marrow transplantation. *J. Clin. Oncol.* 19: 464-471

Boveri T. (1914): *Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren.* Gustav Fischer

Braselmann H., Kulka U., Baumgartner A., Eder C., Müller I., Figel M., Zitzelsberger H. (2005): SKY and FISH analysis of radiation-induced chromosome aberrations: A comparison of whole and partial genome analysis. *Mutat. Res.* 578: 124-133

Buckton K.E., Jacobs P.A., Court Brown W.M., Doll R. (1962): A study of the chromosome damage persisting after x-ray therapy for ankylosing spondylitis. *Lancet* 1: 676-682

Buckton K.E., Court Brown W.M., Smith P.G. (1967): Lymphocyte survival in men treated with X-rays for ankylosing spondylitis. *Nature* 214: 470-473

Buckton K.E. (1976): Identification with *G* and *R* banding of the position of breakage points induced in human chromosomes by *in vitro* X-irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 29(5): 475-488

Buckton K.E. (1983): Chromosome aberrations in patients treated with X-irradiation for ankylosing spondylitis. In: Ishihara T. and Sasaki M.S. (eds.): *Radiation-induced Chromosome Aberration in Man.* Alan R. Liss, New York: 491-511

Burnet N.G., Nyman J., Turesson I., Wurm R., Yarnold J.R., Peacock J.H. (1994): The relationship between cellular radiation sensitivity and tissue response may provide the basis for individualising radiotherapy schedules. *Radiother. Oncol.* 33: 228-238

Carbonell F., Ganser A., Fliedner T.M., Arnold R., Kubanek B. (1983): The fate of cells with chromosome aberrations after total-body irradiation and bone marrow transplantation. *Radiat. Res.* 93: 453-460

Chauveinc L., Dutrillaux A.M., Validire P., Padoy E., Sabatier L., Couturier J., Dutrillaux B. (1999): Cytogenetic Study of Eight New Cases of Radiation-induced Solid Tumors. *Cancer Genet. Cytogenet.* 114: 1-8

Court Brown W.M., Buckton K.E., Langlands A.O., Woodcock G.E. (1967): The identification of lymphocyte clones, with chromosome structural aberrations, in irradiated men and women. *Int. J. Radiat. Biol. Relat. Stud. Phys. Chem. Med.* 13: 155-169

Curtis R.E., Rowlings P.A., Deeg H.J., Shriner D.A., Socié G., Travis L.B., Horowitz M.M., Witherspoon R.P., Hoover R.N., Sobocinski K.A., Fraumeni J.F., Boice J.D. (1997): Solid cancers after bone marrow transplantation. *N. Engl. J. Med.* 336: 897-904

Deeg H.J., Socié G. (1998): Malignancies after hematopoietic stem cell transplantation: many questions, some answers. *Blood* 91(6): 1833-1844

Edwards A.A., Savage J.R.K. (1999): Is there a simple answer to the origin of complex chromosome exchanges? *Int. J. Radiat. Biol.* 75(1): 19-22

Edwards A.A. (2002): Modelling radiation-induced chromosome aberrations. *Int. J. Radiat. Biol.* 78(7): 551-558

Engel E., Flexner J.M., Engel-de Montmollin M.L., Frank H.E. (1964): Blood and skin chromosomal alterations of a clonal type in a leukemic man previously irradiated for a lung carcinoma. *Cytogenetics* 3: 228-251

Frankenberg-Schwager M. (1989): Review of repair kinetics for DNA damage induced in eukaryotic cells in vitro by ionizing radiation. *Radiotherapy and Oncology* 14: 307-320

Fritsch P. (2004): *Dermatologie, Venerologie.* Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2. Auflage

Geara F.B., Peters L.J., Ang K.K., Wike J.L., Brock W.A. (1992): Radiosensitivity measurement of keratinocytes and fibroblasts from radiotherapy patients. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 24: 287-293

Glover T.W. (2006): Common fragile sites. *Cancer Lett.* 232(1): 4-12

Goh K.O. (1968): Total-Body Irradiation and Human Chromosomes: Cytogenetic Studies of the Peripheral Blood and Bone Marrow Leukocytes Seven Years after Total-Body Irradiation. *Radiat. Res.* 35: 155-170

Goh K.O. (1975): Total-Body Irradiation and Human Chromosomes, IV. Cytogenetic Follow-Up Studies 8 and 10 1/2 Years after Total-Body Irradiation. *Radiat. Res.* 62: 364-373

Gratwohl A. (2002): Neue Entwicklungen der Transplantation hämatopoietischer Stammzellen. *Ther. Umsch.* 59(11): 571-576

Gratwohl A., Baldomero H., Passweg J., Frassoni F., Niederwieser D., Schmitz N., Urbano-Ispizua A. (2003): Hematopoietic stem cell transplantation for hematological malignancies in Europe. *Leukemia* 17: 941-959

Greulich K.M., Kreja L., Heinze B., Rhein A.P., Weier H.-U.G., Brückner M., Fuchs P., Molls M. (2000): Rapid detection of radiation-induced chromosomal aberrations in lymphocytes and hematopoietic progenitor cells by mFISH. *Mutat. Res.* 452: 73-81

Gümüs G., Sunguroglu A., Tükün A., Sayin D.B., Bökesoy I. (2002): Common fragile sites associated with the breakpoints of chromosomal aberrations in hematologic neoplasms. *Cancer Genet. Cytogenet.* 133: 168-171

Harnden D.G., Benn D.A., Oxford J.M., Taylor A.M.R., Webb T.P. (1976): Cytogenetically marked clones in human fibroblasts cultured from normal human subjects. *Somatic Cell Genet.* 2: 55-62

Heinze B., Arnold R., Rutzen-Loesevitz L., Fliedner T.M. (1995): The role of stable chromosome aberrations as biological indicators of radiation effect: studies in patients after total body irradiation and bone marrow transplantation. *Stem Cells* 13(suppl.1): 191-198

Holm L.-E. (1990): Cancer occurring after radiotherapy and chemotherapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 19: 1303-1308

Honda T., Sadamori N., Itoh M., Kusumi O. (1993): Clonal fibroblastic cell lines established from a heavily exposed atomic bomb survivor. *Mutat. Res.* 291: 125-133

Huang L., Snyder A.R., Morgan W.F. (2003): Radiation-induced genomic instability and its implications for radiation carcinogenesis. *Oncogene* 22: 5848-5854

Huret J.L. (1998): 11q23 rearrangements in therapy related leukemias. *Atlas Genet. Cytogenet. Oncol. Haematol.* URL:
<http://www.infobiogen.fr/services/chromcancer/Anomalies/11q23secondLeukID1131.html>

Huret J.L. (2003): 21q22 rearrangements in treatment related leukemia. *Atlas Genet. Cytogenet. Oncol. Haematol.* URL:
<http://www.infobiogen.fr/services/chromcancer/Anomalies/21q22TreatRelLeukID1296.html>

ISCN (1995): An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Mitelman F. (ed.), S. Karger, Basel

Johnson K.L., Brenner D.J., Nath J., Tucker J.D., Geard C.R. (1999): Radiation-induced breakpoint misrejoining in human chromosomes: random or non-random? *Int. J. Radiat. Biol.* 75(2): 131-141

Jung H., Streffer C. (2003): Strahlenkarzinogenese. In: Freyschmidt J. und Schmidt T. (Hrsg.): *Handbuch diagnostische Radiologie. Bd. 1: Strahlenphysik, Strahlenbiologie, Strahlenschutz.* Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York: 235-247

Kadhim M.A., Marsden S.J., Wright E.G. (1998): Radiation-induced chromosomal instability in human fibroblasts: temporal effects and the influence of radiation quality. *Int. J. Radiat. Biol.* 73: 143-148

Kano Y., Little J.B. (1984): Persistence of X-ray-induced chromosomal rearrangements in long-term cultures of human diploid fibroblasts. *Cancer Res.* 44: 3706-3711

Kano Y., Little J.B. (1985): Mechanisms of human cell neoplastic transformation: relationship of specific abnormal clone formation to prolonged lifespan in x-irradiated human diploid fibroblasts. *Int. J. Cancer* 36: 407-413

Kano Y., Little J.B. (1986): Site-specific chromosomal rearrangements induced in human diploid cells by x-irradiation. *Cytogenet. Cell Genet.* 41: 22-29

Knippers R. (2001): *Molekulare Genetik*. Thieme Verlag, 8.Auflage

Kolb H.J., Socié G., Duell T., Van Lint M.T., Tichelli A., Apperley J.F., Nekolla E., Ljungman P., Jacobsen N., van Weel M., Wick R., Weiss M., Prentice H.G. (1999): Malignant neoplasms in long-term-survivors of bone marrow transplantation. *Ann. Intern. Med.* 131: 738-744

Kreja L., Greulich K.M., Fliedner T.M., Heinze B. (1999): Stable chromosomal aberrations in haemopoietic stem cells in the blood of radiation accident victims. *Int. J. Radiat. Biol.* 75(10): 1241-1250

Kronenberg A. (1994): Radiation-induced genomic instability. *Int. J. Radiat. Biol.* 66(5): 603-609

Lawrence T.S., Blackstock A.W., McGinn C. (2003): The mechanism of action of radiosensitization of conventional chemotherapeutic agents. *Semin. Radiat. Oncol.* 13 (1): 13-21

Lea D.E. (1946): *Actions of Radiation on Living Cells*. Cambridge University Press, Cambridge

Le Beau M.M., Albain K.S., Larson R.A., Vardiman J.W., Davis E.M., Blough R.R., Golomb H.M., Rowley J.D. (1986): Clinical and Cytogenetic Correlations in 63 Patients With Therapy-Related Myelodysplastic Syndromes and Acute Nonlymphocytic Leukemia: Further Evidence for Characteristic Abnormalities of Chromosomes No. 5 and 7. *J. Clin. Oncol.* 4: 325-345

Lee C.L.Y., Kamra O.P. (1981): The pattern of radiation-induced transmissible aberrations in a human cell culture. *Human Genetics* 57: 380-384

Leitlinien in der Radioonkologie: Ganzkörper-Strahlenbehandlung (Stand: Juni 2003). Deutsche Gesellschaft für Medizinische Physik (DGMP)-Bericht Nr. 18, Koordinatoren: Quast U., Sack H., Hrsg.: Arbeitskreis „Ganzkörperbestrahlung“ der DGMP e.V.

Lindholm C., Tekkel M., Veidebaum T., Iius T., Salomaa S. (1998): Persistence of translocations after accidental exposure to ionizing radiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 74(5): 565-571

Linge C. (2004): Establishment and maintenance of normal human keratinocyte cultures. *Methods Mol. Med.* 107: 1-12

Little J.B. (1998): Radiation-induced genomic instability. *Int. J. Radiat. Biol.* 74(6): 663-671

Little J.B. (2000): Radiation carcinogenesis. *Carcinogenesis* 21(3): 397-404

Littlefield L.G., Mailhes J.B. (1975): Observations of de novo clones of cytogenetically aberrant cells in primary fibroblast cell strains from phenotypically normal women. *Am. J. Hum. Genet.* 27: 190-197

Lloyd D.C., Moquet J.E., Oram S., Edwards A.A., Lucas J.N. (1998): Accidental intake of tritiated water : a cytogenetic follow-up case on translocation stability and dose reconstruction. *Int. J. Radiat. Biol.* 73: 543-547

Lucas J.N. (1997): Dose reconstruction for individuals exposed to ionizing radiation using chromosome painting. *Radiat. Res.* 148: S33-S38

Lucas J.N., Awa A.A., Straume T., Poggensee M., Kodama Y., Nakano M., Ohtaki K., Weier H.-U., Pinkel D., Gray J., Littlefield G. (1992): Rapid translocation frequency analysis in humans decades after exposure to ionizing radiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 62: 53-63

Martins M.B., Sabatier L., Ricoul M., Pinton A., Dutrillaux B. (1993): Specific chromosome instability induced by heavy ions: a step towards transformation of human fibroblasts. *Mutat. Res.* 285: 229-237

Martins M.B., Sabatier L., Ricoul M., Gerbault-Seureau M., Dutrillaux B. (1994): Clonal rearrangements in human irradiated fibroblasts. *Mutat. Res.* 308: 169-175

Martland H.S. (1931): The occurrence of malignancy in radioactive persons: a general review of data gathered in the study of the radium dial painters, with special reference to the occurrence of osteogenic sarcoma and the interrelationship of certain blood diseases. *Am. J. Cancer* 15: 2435

McKinlay Gardner R.J., Sutherland G.R. (2004): *Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling*. Oxford University Press, New York, 3. Auflage

Miller O.J., Therman E. (2001): *Human Chromosomes*. Springer-Verlag, New York, 4. Auflage

Mitelman F., Kaneko Y., Trent J.M. (1990): Report of the committee on chromosome changes in neoplasia. *Cytogenet. Cell Genet.* 55: 358-386

Mitelman F., Martens F., Johansson B. (1997): A breakpoint map of recurrent chromosomal rearrangements in human neoplasia. *Nat. Genet.* 15: 417-474

Mouthuy M., Dutrillaux B. (1982): Cytogenetic study of skin fibroblasts in a case of accidental acute irradiation. *Mutat. Res.* 95: 19-30

Nagasawa H., Little J.B. (1983): Comparison of kinetics of X-ray-induced cell killing in normal, ataxia telangiectasia and hereditary retinoblastoma fibroblasts. *Mutat. Res.* 109: 297-308

Nakano M., Kodama Y., Ohtaki K., Itoh M., Delongchamp R., Awa A.A., Nakamura N. (2001): Detection of stable chromosome aberrations by FISH in A-bomb survivors: comparison with previous solid Giemsa staining data on the same 230 individuals. *Int. J. Radiat. Biol.* 77(9): 971-977

Natarajan A.T., Obe G. (1978): Molecular mechanisms involved in the production of chromosomal aberrations. I. Utilization of *Neurospora* endonuclease for the study of aberration production in G2 stage of the cell cycle. *Mutat. Res.* 52: 137-149

Nelson M.A., Radmacher M.D., Simon R., Aickin M., Yang J.-M., Panda L., Emerson J., Roe D., Adair L., Thompson F., Bangert J., Leong S.P.L., Taetle R., Salmon S., Trent J. (2000): Chromosome abnormalities in malignant melanoma: clinical significance of non-random chromosome abnormalities in 206 cases. *Cancer Genet. Cytogenet.* 122: 101-109

Norman A., Sasaki M.S., Ottoman R.E., Fingerhut A.G. (1966): Elimination of chromosome aberrations from human lymphocytes. *Blood* 27: 706-714

Obe G., Johannes C., Schulte-Frohlinde D. (1992): DNA double-strand breaks induced by sparsely ionizing radiation and endonucleases as critical lesions for cell death, chromosomal aberrations, mutations and oncogenic transformation. *Mutagenesis* 7: 3-12

Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), McKusick-Nathans Institute for Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, MD) and National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine (Bethesda, MD), (2000). URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>

Pape H. (1996): Knochenmarktransplantation: Die Rolle der Strahlentherapie. *Schweiz. Rundsch. Med. Prax.* 85(23): 749-752

Pedersen-Bjergaard J., Andersen M.K., Christiansen D.H. (2000): Therapy-related acute myeloid leukemia and myelodysplasia after high-dose chemotherapy and autologous stem cell transplantation. *Blood* 95(11): 3273-3278

Poppe B., Van Limbergen H., Van Roy N., Vandecruys E., De Paepe A., Benoit Y., Speleman F. (2001): Chromosomal aberrations in Bloom syndrome patients with myeloid malignancies. *Cancer Genet. Cytogenet.* 128: 39-42

Quine W.M.E. (1896): The remedial application of bone marrow. *JAMA* 26: 1012-1013

Revell S.H. (1955): A new hypothesis for chromatid exchanges. In: Bocq Z.M. and Alexander P. (eds.): *Proceedings of the Radiobiology Symposium 1954*, Liege. Butterworths, London: 234-253

Rosen E.M., Fan S., Rockwell S., Goldberg I.D. (1999): The molecular and cellular basis of radiosensitivity: implications for understanding how normal tissues and tumors respond to therapeutic radiation. *Cancer Invest.* 17(1): 56-72

Rowley J.D. (1977): A possible role for non-random chromosomal changes in human hematologic malignancies. In: de la Chapelle A. and Sorsa M. (eds.): *Chromosomes Today* 6. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam: 345-359

Rowley J.D., Golomb H.M., Vardiman J. (1977): Nonrandom Chromosomal Abnormalities in Acute Nonlymphocytic Leukemia in Patients Treated for Hodgkin Disease and Non-Hodgkin Lymphomas. *Blood* 50(5): 759-770

Rubin C.M., Arthur D.C., Woods W.G., Lange B.J., Nowell P.C., Rowley J.D., Nachman J., Bostrom B., Baum E.S., Suarez C.R., Shah N.R., Morgan E., Maurer H.S., McKenzie S.E., Larson R.A., Le Beau M.M. (1991): Therapy-Related Myelodysplastic Syndrome and Acute Myeloid Leukemia in Children: Correlation Between Chromosomal Abnormalities and Prior Therapy. *Blood* 78(11): 2982-2988

Rubin C.M., Nesbit Jr. M.E., Kim T.H., Kersey J.H., Arthur D.C. (1992): Chromosomal abnormalities in skin following total body or total lymphoid irradiation. *Genes Chrom. Cancer* 4: 141-145

Salomaa S., Holmberg K., Lindholm C., Mustonen R., Tekkel M., Veidebaum T., Lambert B. (1998): Chromosomal instability in *in vivo* radiation exposed subjects. *Int. J. Radiat. Biol.* 74(6): 771-779

Santos G.W. (1983): History of Bone Marrow Transplantation. *Clin. Haematol.* 12: 611-639

Savage J.R.K., Bigger T.R.L. (1978): Aberration distribution and chromosomally marked clones in x-irradiated skin. In: Evans H.J. and Lloyd D.C. (eds.): *Mutagen-Induced Chromosome Damage in Man*. Edinburgh University Press, Edinburgh: 155-169

Savage J.R.K., Watson G.E., Bigger T.R.L. (1973): The participation of human chromosome arms in radiation-induced chromatid exchange. In: Warham J. and Lewis K.R. (eds.): *Chromosomes Today*. Wiley, New York: 267-276

Sax K. (1938): Chromosome aberrations induced by x-rays. *Genetics* 23: 494-516

Schilsky R.L. (1992): Biochemical pharmacology of chemotherapeutic drugs used as radiation enhancers. *Semin. Oncol.* 19 (suppl. 11): 2-7

Schröck E., du Manoir S., Veldman T., Schoell B., Wienberg J., Ferguson-Smith M.A., Ning Y., Ledbetter D.H., Bar-Am I., Soenksen D., Garini Y., Ried T. (1996): Multicolor spectral karyotyping of human chromosomes. *Science* 273: 494-497

Silberstein E.B., Ewing C.J., Bahr G.K., Kereiakes J.G. (1974): The human lymphocyte as a radiobiological dosimeter after total body irradiation. *Radiat. Res.* 59: 658-664

Simmers R.N., Sutherland G.R., West A., Richards R.I. (1987): Fragile sites at 16q22 are not at the breakpoint of the chromosomal rearrangement in acute myelomonocytic leukemia. *Science* 236: 92-94

Speicher M.R., Ballard S.G., Ward D.C. (1996): Karyotyping human chromosomes by combinatorial multi-fluor FISH. *Nat. Genet.* 12: 368-375

Sutherland G.R., Baker E., Richards R.I. (1996): Fragile Sites. *Encyclopedia Mol. Biol. Mol. Med.* 2: 313-318

Sutherland G.R., Simmers R.N. (1988): No statistical association between common fragile sites and non-random chromosome breakpoints in cancer cells. *Cancer Genet. Cytogenet.* 31: 9-15

Swift M., Morrell D., Massey R.B., Chase C.L. (1991): Incidence of cancer in 161 families affected by ataxia-telangiectasia. *N. Engl. J. Med.* 325: 1831-1836

Tamm I., Kikuchi T., Wang E., Pfeffer L.M. (1984): Growth rate of control and beta-interferon-treated human fibroblast populations over the course of their in vitro life span. *Cancer Res.* 44(6): 2291-6

Taylor A.M.R. (2001): Chromosome instability syndromes. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 14(3): 631-644

Thomas E.D. (1999): Bone Marrow Transplantation: A Review. *Semin. Hematol.* 36 (suppl. 7): 95-103

Tönnies H., Huber S., Kühl J.-S., Gerlach A., Ebell W., Neitzel H. (2003): Clonal chromosomal aberrations in bone marrow cells of Fanconi anemia patients: gains of the chromosomal segment 3q26q29 as an adverse risk factor. *Blood* 101(10): 3872-3874

Tucker J.D., Senft J.R. (1994): Analysis of Naturally Occurring and Radiation-Induced Breakpoint Locations in Human Chromosomes 1, 2 and 4. *Radiat. Res.* 140: 31-36

Tureson I., Nyman J., Holmberg E., Oden A. (1996): Prognostic factors for acute and late skin reactions in radiotherapy patients. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 36(5): 1065-1075

Upton A.C. (1975): Physical carcinogenesis: radiation, history and sources. In: Becker F.F. (ed.): *Cancer: a comprehensive treatise*. Plenum Press, New York: 387

Visfeldt J. (1966): Clone formation in tissue culture. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 68: 305-312

v. Frieben A. (1902): Demonstration eines Canceroid des rechten Handrückens, das sich nach lang dauernder Einwirkung von Röntgenstrahlen entwickelt hatte. *Fortschr. d. Röntgenstr.* 6: 106

Welsch U. (2003) : *Sobotta Lehrbuch Histologie*. Urban & Fischer Verlag München, Jena, 1. Auflage

Witherspoon R.P., Fisher L.D., Schoch G., Martin P., Sullivan K.M., Sanders J., Deeg H.J., Doney K., Thomas D., Storb R., Thomas E.D. (1989): Secondary cancers after bone marrow transplantation for leukemia or aplastic anemia. *N. Engl. J. Med.* 321: 784-789

Yunis J.J., Soreng A.L. (1984): Constitutive Fragile Sites and Cancer. *Science* 226: 1199-1204

Zaslav A.-L., Stamberg J., Shende A. (1988): Persistent chromosome damage induced by localized radiotherapy for lymphoma. *Cancer Genet. Cytogenet.* 30: 245-251

8 Abkürzungsverzeichnis

ALL	akute lymphatische Leukämie
AML	akute myeloische Leukämie
CCD-Kamera	charge coupled device-Kamera
Ci	Curie
CML	chronische myeloische Leukämie
CMPS	chronisches myeloproliferatives Syndrom
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
G-Banden	Giemsa-Banden
GKB	Ganzkörperbestrahlung
GvHD	Graft-versus-Host-Disease (Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion)
Gy	Gray
HLA	humane Leukozytenantigene
ISCN	International System for Human Cytogenetic Nomenclature
KG	Körpergewicht
KMT	Knochenmarktransplantation
MDS	myelodysplastisches Syndrom
mFISH	multicolor Fluoreszenz in situ Hybridisierung
MLL	myeloid/lymphoid oder mixed lineage leukemia
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom
PTLD	posttransplant lymphoproliferative disorder
rpm	rotations per minute
SZT	Stammzelltransplantation
SKY	Spectral Karyotyping
TLI	total lymphoid irradiation
ZNS	zentrales Nervensystem

Danksagung

In erster Linie danke ich Frau Prof. Dr. med. R. Arnold, Leiterin der Abteilung für Knochenmarktransplantation, für die Bereitstellung des interessanten Dissertationsthemas und die Ermöglichung der Durchführung dieser Arbeit.

Danken möchte ich auch Frau Prof. Dr. med. G. Thiel für ihre Unterstützung und fachliche Beratung während der ersten Betreuungsphase.

Herrn PD Dr. med. G. Massenkeil danke ich dafür, dass er die Patientenrekrutierung ermöglichte und mir bei der Auswertung der klinischen Daten behilflich war.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. med. P. Zscheschang, die mir eine große Hilfe bei der Auswertung der zytogenetischen Daten war. Ihr Engagement und die wertvollen Ratschläge haben diese Arbeit wesentlich gefördert.

Frau Dr. C. Bommer danke ich für ihre Unterstützung bei der Auswertung der Karyogramme.

Insbesondere Frau Elke Schümann, aber auch allen namentlich nicht genannten Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen des Instituts für Medizinische Genetik danke ich für ihre freundliche und kontinuierliche Hilfsbereitschaft bei labortechnischen Fragen sowie für die angenehme Arbeitsatmosphäre.

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides Statt, die vorliegende Dissertationsschrift selbständig und ohne die unzulässige Hilfe Dritter verfasst zu haben. Die Arbeit stellt auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten dar. Die verwendeten Hilfsmittel sowie die Literatur sind vollständig angegeben.

Berlin, im April 2006

Julia Pross