

# 1 Einleitung

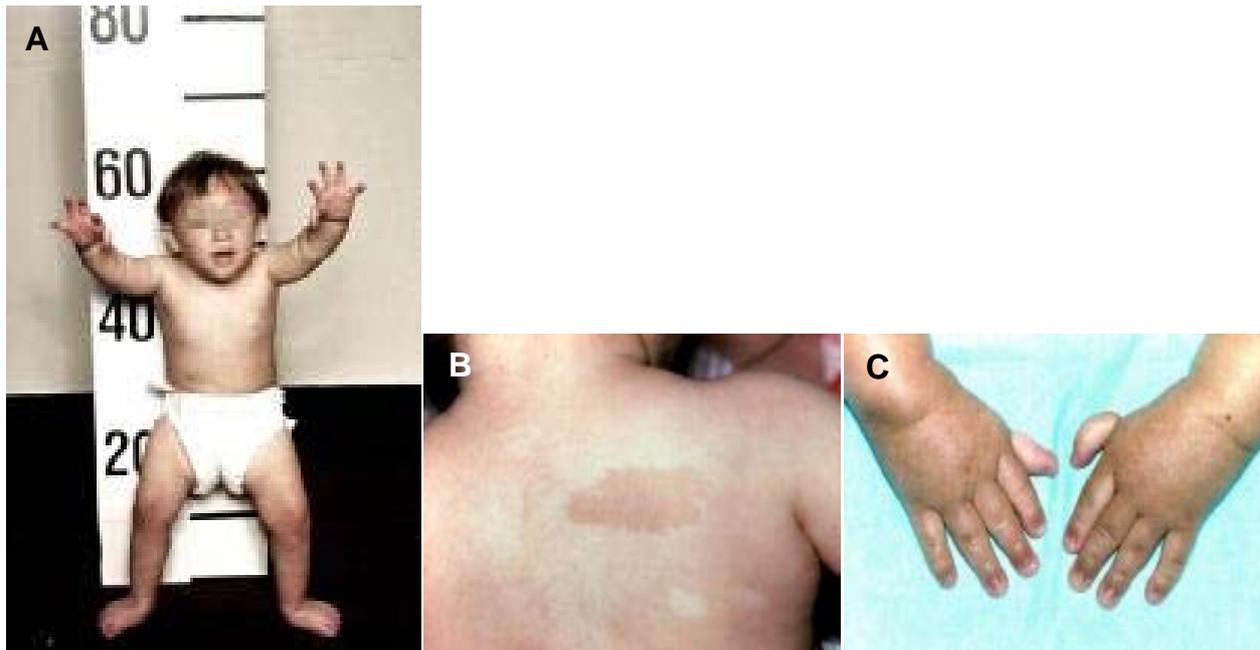
## 1.1 Fanconi Anämie

Die Fanconi Anämie ist eine autosomal rezessive und X-chromosomal gebundene Erkrankung und wurde 1927 erstmals von dem Pädiater Guido Fanconi beschrieben. Er berichtete über eine Familie mit drei betroffenen Kindern, die eine Kombination aus spezifischen somatischen Anomalien und einer progressiven aplastischen Anämie aufwiesen (Fanconi, 1927). Seither wurde von über 1 300 weiteren Fällen mit Fanconi Anämie berichtet (Alter, 2003, Review).

Die Fanconi Anämie (FA) gehört zu einer Gruppe von Erkrankungen, welche mit erhöhter chromosomaler Instabilität im Vergleich zu Normalkontrollen einhergehen. Hierzu gehören die Ataxia Telangiectasia (AT), das Nijmegen Breakage Syndrom (NBS), das Bloom Syndrom (BS) und das Werner Syndrom (WS). Patienten die an diesen Erkrankungen leiden, haben aufgrund der erhöhten Chromosomeninstabilität ein erhöhtes Risiko Neoplasien zu entwickeln (German, 1983).

Der Phänotyp einzelner FA Patienten einer Familie kann sehr unterschiedlich sein (Koc et al., 1999). Ein Drittel der FA Patienten weisen keine typischen kongenitalen Veränderungen auf und werden erst als FA-Betroffene diagnostiziert, wenn hämatologische Probleme auftreten (Giampietro et al., 1997). Die Erstdiagnose der Fanconi Anämie wird in einem Durchschnittsalter von 7 Jahren gestellt (Alter, 2003, Review). Sie tritt in allen ethnischen Gruppen auf, ihre Häufigkeit wird auf etwa 1/350 000 Geburten geschätzt (Auerbach et al., 1989; Verlander et al., 1995).

Das Spektrum an Malformationen ist sehr variabel, viele typische Diagnosemerkmale können fehlen, was die letztendliche Sichtdiagnose erschwert. Zu den phänotypischen Hauptauffälligkeiten dieser Patienten zählen ein ausgeprägter prä- und postnataler Minderwuchs, Mikrozephalie und Skelettfehlbildungen, im besonderen Radialhypo- oder aplasien, d.h. Fehlbildungen des Daumens bzw. des Radialstrahles (Abbildung 1.1) (Alter et al., 1983). Hinzu kommen Pigmentstörungen der Haut in Form von Café-au-lait Flecken (Abbildung 1.1) (Alter et al., 1983), urogenitale, renale und kardiale Anomalien (Young et al., 1994). Die für die FA typischen Fehlbildungen sowie deren durchschnittliche Häufigkeit zeigt Tabelle 1.1.



**Abbildung 1.1:** (aus: Alter und Young, 1993): Phänotypische Auffälligkeiten der Fanconi Anämie.

**A:** Ein 3 Jahre alter Patient mit Fanconi Anämie. Phänotypisch imponieren Minderwuchs, Mikrozephalie, Radialhypoplasie, dislozierte Hüften und Fußdeformitäten. Auf der rechten Seite des Abdomens ist noch die Eingriffsstelle der Reimplantation des Ureters zu erkennen.

**B:** Typischer Café-au-lait-Fleck sowie Stellen mit Hypopigmentierung der Haut an der rechten Schulter des Patienten.

**C:** Radialhypoplasie. Die Daumen sind lediglich durch einen Bindegewebsstrang mit der Hand verbunden und sind somit funktionsunfähig.

**Tabelle 1.1:** Durchschnittliche Häufigkeit von Fehlbildungen bei der Fanconi Anämie (aus: Tischkowitz et al., 2004).

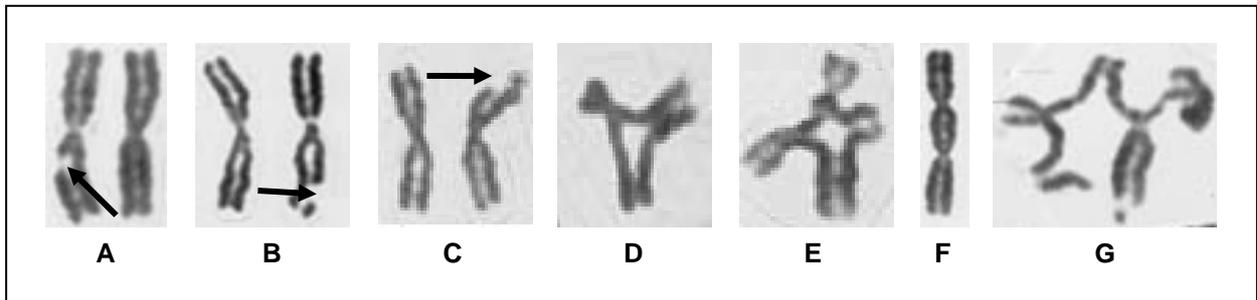
| Malformation   | Häufigkeit (%)                |
|--|-------------------------------|
| Skelettfehlbildungen   | 71                            |
| Hautpigmentierungsstörungen (Hyper- oder Hypopigmentierung)        | 64                            |
| Minderwuchs  | 63                            |
| Fehlbildungen der Augen (Mikrophthalmie)                           | 38                            |
| Fehlbildungen des Harnwegssystems                                  | 34                            |
| Fehlbildungen der männlichen Geschlechtsorgane                     | 20 (der männlichen Patienten) |
| Mentale Retardierung   | 16                            |
| Gastrointestinale Fehlbildungen (z.B. Anorectal-, Duodenalatresie) | 14                            |
| Kardiale Fehlbildungen   | 13                            |
| Fehlbildungen des Gehörorgans                                      | 11                            |
| Fehlbildungen des zentralen Nervensystems (z.B. Hydrozephalus)     | 8                             |
| Keine Fehlbildungen  | 30                            |

Die häufigsten klinischen Auffälligkeiten betreffen jedoch das blutbildende System, da die Fanconi Anämie eine Erkrankung mit Knochenmarkversagen ist. FA Patienten zeigen eine hohe Inzidenz von aplastischer Anämie, myelodysplastischen Syndrom (MDS) und akuter myeloischer Leukämie (AML). Bei der Geburt liegen meist noch keine Blutbildveränderungen vor. Die ersten Anzeichen eines Knochenmarkversagens sind eine Makrozytose, gefolgt von aplastischer Anämie. Diese ist kennzeichnend durch eine Thrombozytopenie und der Gefahr von Blutungen, Granulozytopenie mit erhöhter Infektneigung und Anämie mit den typischen Symptomen Müdigkeit, Schwäche und Luftnot. Diese hämatologischen Funktionsstörungen treten üblicherweise in einem Durchschnittsalter von etwa 7 Jahren auf (Auerbach et al., 1991; Butturini, 1994), können aber auch schon früher, bei der Geburt, oder in seltenen Fällen sehr spät im Alter von etwa 40 Jahren auftreten (Young et al., 1994). Die Mehrzahl der Patienten stirbt an akuter myeloischer Leukämie, für die die Patienten ein stark erhöhtes Risiko besitzen (Rosenberg et al., 2003). Es konnte gezeigt werden, dass angeborene Anomalien mit dem frühen Auftreten hämatologischer Erkrankungen korrelieren (Rosenberg et al., 2004). Bei einigen FA Patienten wird die Diagnose erst sehr spät gestellt, da die beschriebenen hämatologischen oder phänotypischen Merkmale zunächst fehlen können. Die Fanconi Anämie ist somit keine Krankheit, die sich auf das Kindesalter beschränkt.

Für die Fanconi Anämie typisch ist die Überempfindlichkeit der Zellen gegenüber alkylierenden, DNA-strangvernetzenden Agenzien (crosslinking agents) wie Mitomycin C und Diepoxybutan (Sasaki et al., 1973; Auerbach et al., 1976; Ishida et al., 1982; Auerbach et al., 1989), wodurch es zum gehäuften Auftreten von Chromosomenbrüchen kommt. Durch diese Chromosomenbrüchigkeitstestung kann eine zuverlässige Diagnose der Fanconi Anämie gewährleistet werden (d'Andrea et al., 1997; Auerbach et al., 1998; Buchwald et al., 1998). Außerdem können in Metaphasen von Fanconi Anämie Patienten aufgrund der erhöhten Instabilität spezifische Chromosomenaberrationen, so genannte Radialfiguren nicht homologer Chromosomen, detektiert werden (Abbildung 1.2, D und E). Weitere, für die Fanconi Anämie typische Chromosomenbrüche, zeigt Abbildung 1.2.

FA Zellen besitzen zusätzlich eine, wenn auch nur mäßige, Überempfindlichkeit gegenüber ionisierender Strahlung (Bigelow, 1979; Gluckman, 1990; Noll et al., 2001)

und oxidativem Stress (Joenje et al., 1981; Joenje et al., 1983; Schindler et al., 1988; Saito et al., 1993).



**Abbildung 1.2:** FA-typische Chromosomenbrüche.

**A:** Chromatidgap; **B + C:** Deletion; **D:** Triradiale Chromatidaustauschfigur; **E:** Quadriradiale Chromatidaustauschfigur; **F:** Dizentrisches Chromosom; **G:** Komplexe Umbauten.

Durch die erhöhte chromosomale Instabilität und nicht korrekte DNA Reparatur kommt es zu einer Akkumulation von Mutationen in den betroffenen Zellen der FA Patienten und somit zu einer deutlich erhöhten Tumorinzidenz. Bei den Neoplasien von Fanconi Anämie Patienten, die in der Literatur beschrieben sind, handelt es sich hauptsächlich um akute myeloische Leukämien, Lebertumoren, Schleimhauttumoren und Tumoren des Kopf-Halsbereiches (Alter et al., 1983; Alter, 1996; Auerbach et al., 2001; Carvalho et al., 2002; Öksüzoglu et al., 2002; Alter, 2003). Bei mehr als 20% der FA Patienten, die in der Literatur beschrieben sind, wurde die Diagnose der FA erst nach dem Auftreten solider Tumoren gestellt (Alter, 2003). Alle Arten von soliden Tumoren zusammen entstehen bei Fanconi Anämie Patienten mit einer Rate, die 48 mal größer ist als die erwartete der allgemeinen Bevölkerung und die Krebsrisikorate beträgt 2% pro Jahr im Alter von 24 Jahren (Rosenberg et al., 2003). Zwei Studien zeigen ein Risiko für die Entwicklung eines Myelodysplastischen Syndroms (MDS), einer Akuten Myeloischen Leukämie (AML) oder beidem bei Fanconi Patienten von 52% auf (Butturini et al., 1994; Gillio et al., 1997).

Viele Patienten entwickeln klonale chromosomale Aberrationen in Knochenmarkszellen (Alter, 1996). Die genaue Bedeutung und der prognostische Wert dieser Aberrationen sind bislang ungeklärt (Alter, 1996; Maarek et al., 1996; Alter et al., 2000). Jedoch ist das Auftreten einer klonalen chromosomalen Aberration oft der erste Schritt zur Entwicklung eines myelodysplastischen Syndroms oder einer akuten myeloischen Leukämie.

### 1.1.1 Behandlung der Fanconi Anämie

Die Behandlung der Fanconi Anämie ist der anderer erworbener aplastischer Anämien ähnlich. Entsprechend der Fanconi Anämie Richtlinien wird eine Behandlung dann empfohlen, wenn der Hämoglobinwert kleiner 8 g/dl, die Anzahl der neutrophilen Granulozyten kleiner als  $1000/\text{mm}^3$  oder die Anzahl der Thrombozyten kleiner als  $30,000/\text{mm}^3$  ist (Alter, 2005). Es erfolgt eine symptomatische, unterstützende Behandlung des Knochenmarkversagens. Diese besteht zum Beispiel aus der Gabe von Bluttransfusionen oder Zytokinen wie dem Granulozyten-Makrophagen koloniestimulierenden Faktor GM-CSF (Guinan et al., 1994) und dem Granulozyten koloniestimulierenden Faktor G-CSF (Rackoff et al., 1996). Androgene können eingesetzt werden um die Ausschüttung von Erythropoietin zu stimulieren, jedoch ist deren Ansprechen wie auch das der Zytokine nur sehr gering bei FA Patienten. Um das durch Androgene ausgelöste schnellere Körperwachstum zu verzögern, werden in Kombination mit diesen abwechselnd Corticosteroide verabreicht. Sie sollen unter anderem die durch die Thrombozytopenie verursachte erhöhte Blutungsneigung verringern. Treten klonale chromosomale Aberrationen auf, sollten die beschriebenen Wirkstoffe nicht gegeben werden wegen des potentiellen Risikos dadurch die Leukämieentstehung zu unterstützen. Die Behandlung der Wahl ist die allogene Stammzelltransplantation mit einem HLA-identischen Familienspender. Spenderzellen können entweder aus dem Knochenmark, dem peripheren Blut nach Mobilisation oder aus dem Nabelschnurblut gewonnen werden. Der Zeitpunkt der Transplantation ist abhängig vom hämatologischen, zytogenetischen und klinischen Zustand jedes einzelnen Patienten.

### 1.1.2 FA-Komplementationsgruppen und Interaktion der FA-Proteine mit BRCA-Proteinen

Ein wichtiger Schritt zur Aufklärung des Primärdefekts bei der Fanconi Anämie ist die Identifizierung verschiedener Komplementationsgruppen, welche durch einen Defekt zur Ausbildung des Phänotyps führen. Bislang sind 12 Komplementationsgruppen (Tabelle 1.2) der Fanconi Anämie bekannt (FANCA, FANCB, FANCC, FANCD1, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCJ, FANCL, FANCM) (Gibson et al., 1993; Lo Ten Foe et al., 1996; de Winter et al., 1998; de Winter et al., 2000a; de Winter et al., 2000b; Timmers et al., 2001; Howlett et al., 2002; Meetei et al., 2003; Meetei et

al., 2004; Levitus et al., 2004; Meetei et al., 2005). FANCH gehört der FANCA-Komplementationsgruppe an und ist somit als eigene Komplementationsgruppe nicht vorhanden (Joenje et al., 2000). Bis zu 70% der FA Patienten weisen die Komplementationsgruppe FANCA auf (Levitus et al., 2004). Es besteht nur eine geringe Korrelation zwischen den phänotypischen Auffälligkeiten und der Komplementationsgruppe. So findet man beispielsweise Fehlbildungen des Gehörorgans häufiger bei Patienten mit der Komplementationsgruppe FANC-G (Faivre et al., 2000). Elf der Gene konnten bisher kloniert werden (Levitus et al., 2004; Meetei, Levitus et al., 2004; Meetei et al., 2005), eine genaue Auflistung zeigt Tabelle 1.2.

**Tabelle 1.2:** Komplementationsgruppen der Fanconi Anämie.

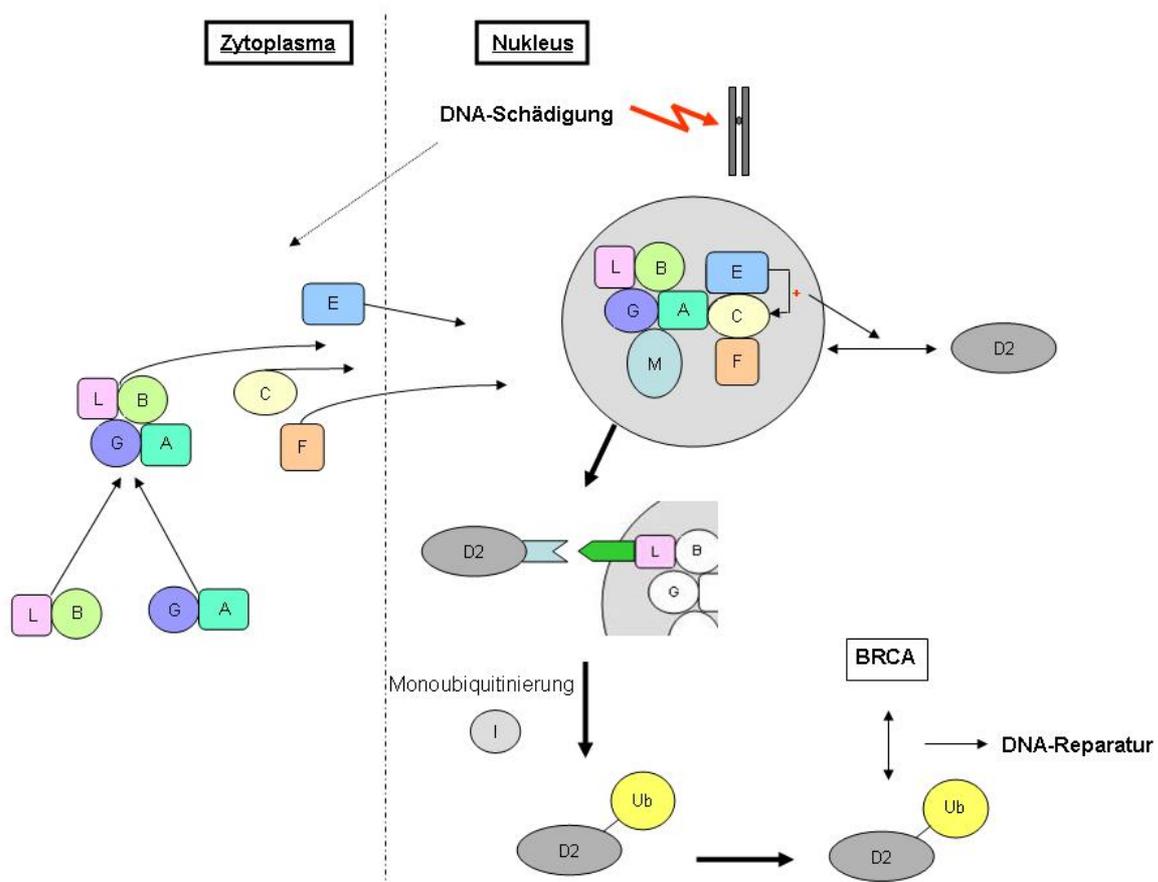
| Gen     | Locus         | Genprodukt/MW (kDa) | % der FA Patienten* |
|---------|---------------|---------------------|---------------------|
| FANCA   | 16q24.3       | FANCA/163           | 65-70               |
| FANCB   | Xp22.2        | FAAP/95             | < 1                 |
| FANCC   | 9q22.3        | FANCC/63            | 8-10                |
| FANCD1  | 13q12.3       | BRCA2/380           | 3                   |
| FANCD2  | 3p25.3        | FANCD2/155,162      | 3                   |
| FANCE   | 6p21.2 - 21.3 | FANCE/60            | 3                   |
| FANCF   | 11p15         | FANCF/40            | 2                   |
| FANCG   | 9p13          | FANCG/68            | 8-10                |
| FANCI/J | 17q22         | BRIP1/141           | 1                   |
| FANCL   | 2p16.1        | FANCL/43            | < 1                 |
| FANCM   | 14q21.3       | FANCM/250           | < 1                 |

\* aus: Bagby et al., 2004.

BRCA1 und BRCA2 spielen unterschiedliche Rollen in der DNA-Reparatur und der chromosomalen Stabilität und weisen eine tumorsuppressive Wirkung auf (Scully et al., 2002; Venkitaraman, 2002; Pierce et al., 2001). Keimzellmutationen in den BRCA1 und BRCA2 Tumorsuppressorgenen sind für annähernd 5-10% aller Mammacarcinomfälle verantwortlich (Miki et al., 1994; Wooster et al., 1995; Tavtigian et al., 1996).

Bisherige Daten zeigen, dass FA Proteine bei der DNA-Reparatur eine wichtige Rolle zu spielen scheinen. Wie in Abbildung 1.3 ersichtlich gehen FANCA und FANCG im Zytoplasma eine Bindung ein und interagieren mit einem Komplex aus FANCB und FANCL. Im Nukleus verbinden sich diese mit dem nur dort vorkommenden FANCM, wofür die Bindung von FANCF, -E, und -C zur Stabilisierung dieses Komplexes

entscheidend ist, um den so genannten Kernkomplex zu bilden (Levitus et al., 2006). FANCE spielt eine wichtige Rolle bei der Herstellung der Interaktion zwischen dem Bindungspartner FANCC des Kernkomplexes und dem FANCD2 Protein (Gordon et al., 2005). Der Kernkomplex wird für die Monoubiquitinierung (Aktivierung) des FANCD2 Proteins benötigt (Garcia-Higuera, 2001), wofür außerdem die Anwesenheit von FANCI entscheidend ist. FANCL fungiert als Ligase für die Monoubiquitinierung von FANCD2 (Meetei, Yan et al., 2004). Durch Abwesenheit, beziehungsweise Defekt eines FA Proteins, kann die Ausbildung des Komplexes nicht vollständig erfolgen. Das aktivierte FANCD2 interagiert mit BRCA-Proteinen in einem komplexen Netzwerk. Einer der wichtigsten Zwecke dieses Netzwerks ist die Reparatur defekter DNA. Besteht in dieser Kette von Abfolgen ein Defekt oder liegt in den verschiedenen FA Proteinen eine Mutation vor, so kommt es zu erhöhter chromosomaler Instabilität und zu einem erhöhten Risiko für die Entstehung von Neoplasien (Taniguchi et al., 2002; Witt et al., 2002).



**Abbildung 1.3:** Schematische Darstellung des FA-BRCA Pathways. Erläuterung im Text.

## 1.2 Aplastische Anämie

Als aplastische Anämie (AA) oder Panzytopenie bezeichnet man eine Verminderung der Erythrozyten, Granulozyten- und Thrombozytenzahl im peripheren Blut und ihrer zellulären Vorstufen im Knochenmark. Die Ursachen der Erkrankung sind zu 70% idiopathisch. Eine Form der angeborenen aplastischen Anämie stellt die Fanconi Anämie dar.

Zwei von drei Kriterien der folgenden Tabelle (Tabelle 1.3) müssen erfüllt sein um definitionsgemäß von einer AA zu sprechen:

**Tabelle 1.3:** Einteilung der aplastischen Anämie aus: Herold G, 2006.

| 3 Schweregrade                | Granulozyten     | Thrombozyten      | Retikulozyten     |
|-------------------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| Nichtschwere AA (nSAA)        | < 1 500/ $\mu$ l | < 50 000/ $\mu$ l | < 60 000/ $\mu$ l |
| Schwere AA (SAA)              | < 500/ $\mu$ l   | < 20 000/ $\mu$ l | < 20 000/ $\mu$ l |
| Sehr (very) schwere AA (vSAA) | < 200/ $\mu$ l   | < 20 000/ $\mu$ l | < 20 000/ $\mu$ l |

Das Knochenmark bei aplastischer Anämie zeigt in der Knochenmarkbiopsie eine Markhypoplasie (<30%). Die Letalität bei Erwachsenen non-FA Patienten ohne Therapie beläuft sich auf 70%. Die Therapie besteht aus der symptomatischen Behandlung sowie der allogenen Knochenmark- oder Stammzelltransplantation.

## 1.3 Myelodysplastisches Syndrom

Myelodysplastische Syndrome (MDS) sind eine Gruppe erworbener, heterogener, eng miteinander verwandter hämatologischer Erkrankungen. Charakteristisch ist eine ineffektive, morphologisch atypische, dysplastische Hämatopoese. Die Ineffektivität spiegelt sich wieder in einem gesteigerten Zellzyklus mit Vermehrung unreifer Zellen, die jedoch eine defekte Reifungskapazität aufweisen. Es findet sich eine Zytopenie, zellreiches dysplastisches Knochenmark und ein oft erhöhter Blastenanteil. Die charakteristischen morphologischen Veränderungen in Knochenmark und Blut können auf eine oder zwei Zellreihen beschränkt bleiben, häufig sind jedoch alle Zellreihen involviert. Das mediane Erkrankungsalter bei non-FA Patienten liegt bei etwa 70 Jahren, wobei die Ätiologie in über 90% der Fälle unklar ist. Benzole, Zytostatika oder ionisierende Strahlung können ebenso zur Induktion eines MDS führen. Das

Durchschnittsalter für das Auftreten eines Myelodysplastischen Syndroms und/oder einer Akuten Myeloischen Leukämie bei FA Patienten beträgt 14,5 Jahre (Alter, 2003). Die French American British Group (FAB) erarbeitete 1982 ein Klassifikationssystem, das die klinisch und prognostisch heterogene Gruppe von Erkrankungen basierend auf morphologischen Kriterien und der Blastenzahl in Knochenmark und peripherem Blut in fünf Untergruppen einteilt (Tabelle 1.4) (Bennett JM, 1982):

**Tabelle 1.4:** FAB-Klassifikation der MDS.

| Subtyp   | Blastenanteil peripheres Blut | Blastenanteil Knochenmark | Weitere Kriterien                              |
|--|-------------------------------|---------------------------|--|
| Refraktäre Anämie (RA)                         | < 1%                          | < 5%                      |  |
| Refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten (RARS) | < 1%                          | < 5%                      | > 15% Ringsideroblasten im Knochenmark         |
| Refraktäre Anämie mit Blastenüberschuß (RAEB)  | < 5%                          | 5-20%                     |  |
| RAEB in Transformation (RAEB-t)                | > 5%                          | 21-30%                    | Fakultativ Auerstäbchen                        |
| Chronische myelomonozytäre Leukämie (CMML)     | < 5%                          | < 20%                     | Periphere Blutmonozytose > 10 <sup>3</sup> /µl |

RAEB-t ist die Vorstufe einer akuten myeloischen Leukämie. Von dieser spricht man ab einem Blastenanteil von 30%. Pathogenetische Grundlage des MDS ist eine klonale Proliferation einer genetisch aberranten Vorläuferzelle (pluripotente Stammzelle). Zytogenetische Anomalien sind in einem hohen Prozentsatz von non-FA MDS nachweisbar, die häufigsten chromosomalen Anomalien sind -5, 5q-, -7, 7q-, +8, 11q- und 20q-. Defekte des Chromosoms 7 (Monosomie 7 und Deletion 7q) zeichnen sich durch ein aggressives Krankheitsbild aus.

Die Therapie der MDS besteht aus der symptomatischen Behandlung, Chemotherapie und der allogenen Knochenmark- bzw. Stammzelltransplantation. Die Erkrankung verläuft bei Kindern sehr progressiv und mündet nach unterschiedlich langem Verlauf in eine akute Leukämie.

## 1.4 Akute myeloische Leukämie

Unter akuten Leukämien versteht man eine maligne klonale Neoplasie der hämatopoetischen Zellen mit diffuser autonomer Proliferation einer leukämisch transformierten Stammzelle mit Ausschwemmung unreifzelliger Blasten ins Blut. Der leukämische Klon entstammt bei der akuten myeloischen Leukämie (AML) der myeloischen Reihe. Kennzeichnend ist die Unfähigkeit der leukämischen Zellen, über ein bestimmtes Reifestadium (Myeloblast oder Promyelozyt) hinaus auszureifen. Eine AML wird bei einem Nachweis von 30% Myeloblasten im Knochenmark diagnostiziert. Die Ursachen der AML sind vielfältig. Zu ihnen gehören unter anderem Schädigungen des Erbgutes durch ionisierende Strahlen, Benzole und Zytostatika. Syndrome mit chromosomalen Anomalien, wie vor allem das Down-Syndrom, zeigen ein erhöhtes Leukämierisiko, ebenso die myelodysplastischen Syndrome. Die Häufigkeit der AML gipfelt bei non-FA Patienten im höheren Lebensalter. Bei der Fanconi Anämie ist die AML die bisher am häufigsten beschriebene Leukämieform und tritt in jüngeren Lebensjahren auf.

Das Krankheitsbild ist geprägt von Abgeschlagenheit, Anfälligkeit gegenüber Infekten und Blutungen aufgrund von Anämie, Granulozytopenie und Thrombozytopenie, sowie von Lymphknotenschwellungen und Knochenschmerzen. Die Leukozytenzahl ist für die Diagnosestellung nicht wegweisend, sondern allein die unreifzelligen Elemente im Blut und Knochenmark sichern die Diagnose. Anhand morphologischer Kriterien erstellte die FAB Mitte der 70er-Jahre ein Zellklassifikationssystem. Danach werden 8 Subtypen (M0-M7) der AML unterschieden, die sich in Zellgröße, Zellkernform, Kernchromatinstruktur, Nukleolen, Zytoplasmaanteil, Basophilie und Vakuolisierung unterscheiden. Ergänzt wurden die Einteilungskriterien durch zytochemische Färbetechniken, die mit PAS, POX und unspezifischer Esterase eine Differenzierung zwischen lymphatischer und myeloischer Zellreihe erlauben und neben den morphologischen Kriterien zur Subklassentypisierung herangezogen werden.

Typisch für die AML bei non-FA Personen ist das Auftreten verschiedener chromosomaler Aberrationen. Die wichtigsten zytogenetischen Anomalien bei der AML und die FAB-Klassifikation nach morphologischen Kriterien sind in Tabelle 1.5 zusammengefasst (nach Bennet et al., 1976). Balancierte Translokationen, wie sie für

die AML von non-FA Patienten typisch sind, konnten bei FA Patienten mit AML bisher nicht gefunden werden (Auerbach und Allen, 1991).

**Tabelle 1.5:** FAB-Klassifikation der AML nach morphologischen Kriterien mit den wichtigsten zytogenetischen Anomalien.

| AML-Subtyp               |   | % von AML   | Chromosomale Anomalie*  |
|--------------------------|---|-------------|---|
| <b>M0</b>                | Akute undifferenzierte Leukämie                                     | 5           |   |
| <b>M1</b>                | AML ohne Ausreifung   | 15          | inv(3), t(6;9), t(9;22)   |
| <b>M2</b>                | AML mit Ausreifung  | 25          | inv(3), t(6;9), t(9;22), t(8;21), +4, t(9;11), inv(16), del(16) |
| <b>M3</b><br><b>M3V</b>  | Promyelozyten-Leukämie (APL)<br>Variante mikrogranuläre APL         | Zusammen 10 | t(15;17)  |
| <b>M4</b><br><b>M4Eo</b> | Akute myelomonozytäre Leukämie<br>- mit Eosinophilie                | Zusammen 25 | +4, t(9;11), t(8;16), inv(16), del(16)                          |
| <b>M5</b>                | Akute monozytäre Leukämie<br>a) undifferenziert<br>b) differenziert | 10          | t(9;11), t(8;16), del 11q                                       |
| <b>M6</b>                | Akute Erythroleukämie   | 5           | del(20)   |
| <b>M7</b>                | Akute megakaryozytäre Leukämie                                      | 5           | +21   |

\* Weitere Anomalien, die bei der AML von non-FA Personen vorkommen, sind: -5, 5q-, 6p-, -7, 7p-, t(1;7), +8, +11.

Mit Hilfe der Chemotherapie ist es das Ziel, eine komplette Remission zu erreichen, das heißt, die Normalisierung von Blutbild und Knochenmark. Durch eine anschließende Konsolidierungstherapie sollen weitere Leukämiezellen vernichtet werden. Danach erfolgt die remissionserhaltende Chemotherapie. Durch den Einsatz dieser Therapie in Kombination mit einer Knochenmarktransplantation sind Dauerheilungen möglich.

## 1.5 Übersicht zytogenetischer Befunde bei Fanconi Anämie Patienten

Bei den bisher beschriebenen klonalen chromosomalen Aberrationen bei FA Patienten handelt es sich hauptsächlich um Imbalancen von Chromosom 1, 5 und 7 (Auerbach et al., 1991). Untersuchungen von Alter (1996) zeigen, dass zusätzlich die Chromosomen

2, 6, 8 und 21 gehäuft Veränderungen bei FA Patienten aufweisen. Patienten mit einer zytogenetischen Aberration im Knochenmark zeigen ein 5-Jahres Überleben von nur 0,40 im Vergleich zu FA Patienten ohne Klon (0,94) (Alter, 2000). Das Auftreten eines MDS ist mit einer noch schlechteren Prognose als das Auftreten einer klonalen Aberration verbunden (Alter, 2000).

Bei der AML von Non-FA Patienten sind die häufigsten bekannten Aberrationen in Zellen des Knochenmarks balancierte Translokationen. Bei FA Patienten mit AML hingegen wurden diese balancierten Translokationen bisher nicht nachgewiesen. Bisherige Daten ließen keine Rückschlüsse zur Signifikanz bzw. zum prognostischen Wert der chromosomalen Aberrationen bei FA Patienten zu (Auerbach et al., 1991; Alter et al., 2000).

## **1.6 Zielstellung der Arbeit**

Im Rahmen dieser Arbeit soll erstmals zusätzlich zur konventionellen Zytogenetik und aufgrund der erhobenen Daten der vergleichenden genomischen Hybridisierung (Comparative Genomic Hybridization, CGH) ein Interphase Fluoreszenz in situ Hybridisierungs (I-FISH) Panel etabliert und getestet werden, mit dem es möglich ist, die gefundenen chromosomalen Imbalancen bei FA Patienten qualitativ sowie quantitativ gezielt untersuchen und frühzeitig detektieren zu können. Die Analysen erfolgen anhand eines Interphase-FISH Assays, welcher erstmalig für Chromosom 3 und 7 bei FA Patienten eingesetzt wird. Mit der Interphase-FISH ist es möglich, aberrante Zellklone zu erfassen, deren Anteil weniger als 10% der Zellpopulation ausmacht (Gebhart et al., 1993; Gebhart et al., 1995). Die I-FISH als eine schnelle und zuverlässige Analysemethode erlaubt zudem Untersuchungen auf Einzelzellniveau.

Während die CGH bisher hauptsächlich als Analysemethode bei soliden Tumoren angewandt wurde (Forozan et al., 1997; Struski et al., 2002), erfolgten nur wenige Studien, die sich die CGH bei malignen hämatologischen Erkrankungen zunutze machten (Mohamed et al., 1993; Bentz, Döhner et al., 1995; Bentz, Huck et al., 1995; Nacheva et al., 1995; Gribble et al., 1999; Scholz et al., 2001; Casas et al., 2004). Bisher liegen keine Studien vor, in welchen die CGH zusammen mit der I-FISH systematisch als Analysemethoden bei FA Patienten eingesetzt wurden.

An Knochenmarkproben sowie Proben des peripheren Blutes werden im Verlauf I-FISH Analysen durchgeführt und anschließend miteinander verglichen. Es soll untersucht werden, ob es möglich ist, aberrante Zellklone von Chromosom 3 allein durch Untersuchung der mononukleären Zellen des peripheren Blutes zu detektieren ohne häufige Knochenmarkuntersuchungen durchführen zu müssen.

Die erhobenen Daten der I-FISH werden dann mit den Daten der konventionellen Zytogenetik (CC) und den Daten der CGH verglichen und deren sinnvoller Einsatz zur Untersuchung klonaler Chromosomenaberrationen bei FA Patienten herausgearbeitet.

Weiterhin sollen Zusammenhänge zwischen dem Auftreten klonaler chromosomaler Aberrationen, dem Risiko zur Entwicklung eines MDS oder einer AML und dem Überleben der FA Patienten aufgezeigt werden.