

Aus dem Institut für Humangenetik  
(Direktor: Prof. Dr. med. Reiner Siebert)  
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel  
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**ZYTOGENETIK NIEDRIGMALIGNER LYMPHOME DER B-ZELL-  
REIHE: RELEVANZ DER STIMULATION MIT DEM CPG-  
OLIGONUKLEOTID DSP30 IN KOMBINATION MIT INTERLEUKIN-2**

Inauguraldissertation  
zur  
Erlangung der Doktorwürde  
der Medizinischen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von  
KATHARINA WÜLFING  
aus Hamburg

Kiel, 2013

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Jenderny

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. Kneba

Tag der mündlichen Prüfung: 09.12.2013

Zum Druck genehmigt, Kiel, den 30.09.2013

gez.: Prof. Dr. R. Siebert

INHALTSVERZEICHNIS

**INHALTSVERZEICHNIS**

|  |           |
|--|-----------|
| <b>INHALTSVERZEICHNIS</b> .....  | <b>I</b>  |
| <b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b> .....   | <b>IV</b> |
| <b>TABELLENVERZEICHNIS</b> .....   | <b>V</b>  |
| <b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b> .....   | <b>VI</b> |
| <b>1 Einleitung und Hintergrund</b> .....  | <b>1</b>  |
| 1.1 Chronisch lymphatische Leukämie und verwandte B-Zell-Neoplasien.....                                 | 2         |
| 1.1.1 Chronisch lymphatische Leukämie .....  | 2         |
| 1.1.2 Prolymphozytenleukämie .....   | 3         |
| 1.1.3 Lymphoplasmozytisches Lymphom/Morbus Waldenström .....   | 3         |
| 1.1.4 Haarzelleukämie .....  | 4         |
| 1.2 Die Zytogenetik maligner Lymphome.....   | 4         |
| 1.2.1 Strukturelle und numerische Chromosomenaberrationen .....  | 4         |
| 1.2.2 Primäre und sekundäre Chromosomenaberrationen.....   | 5         |
| 1.3 Chromosomenaberrationen bei der chronisch lymphatischen<br>Leukämie.....                             | 6         |
| 1.3.1 Häufige Chromosomenaberrationen der chronisch<br>lymphatischen Leukämie .....                      | 6         |
| 1.3.2 Translokationen.....   | 7         |
| 1.4 Diagnostik genetischer Aberrationen .....  | 8         |
| 1.5 Einsatz von DSP30 in Kombination mit IL2.....  | 9         |
| 1.6 Fragestellung .....  | 10        |
| <b>2 Material und Methoden</b> .....   | <b>12</b> |
| 2.1 Untersuchungsmaterial .....  | 12        |
| 2.2 Untersuchungsmaterial für die Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung an<br>einzelnen Fällen ..... | 14        |
| 2.3 Materialien für die Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung.....                                   | 14        |
| 2.3.1 Geräte .....   | 14        |
| 2.3.2 Reagenzien .....   | 14        |
| 2.3.3 Puffer und Lösungen .....  | 16        |

INHALTSVERZEICHNIS

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| 2.3.4    | DNA - Sonden .....   | 16        |
| 2.4      | Methoden.....  | 18        |
| 2.4.1    | Prinzip der Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung.....   | 18        |
| 2.4.2    | Markierung und Reinigung von DNA-Sonden.....   | 18        |
| 2.4.3    | Präparation der markierten DNA-Sonden.....   | 19        |
| 2.4.4    | Herstellung von Auftropfpräparaten für die Fluoreszenz <i>in situ</i><br>Hybridisierung .....                                      | 19        |
| 2.4.5    | Hybridisierung von Sonden- und Ziel-DNA und Fertigstellung<br>der Präparate .....  | 20        |
| 2.5      | Auswertung und Dokumentation.....  | 20        |
| 2.6      | Statistische Tests.....  | 20        |
| <b>3</b> | <b>Ergebnisse .....</b>  | <b>21</b> |
| 3.1      | Genetische Untersuchung mittels Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung<br>und konventioneller Chromosomenanalyse .....          | 21        |
| 3.1.1    | Induktion von Mitosen durch DSP30/IL2 und durch TPA.....   | 21        |
| 3.1.2    | Nachweis von Tumorklonen durch Fluoreszenz <i>in situ</i><br>Hybridisierung und konventionelle Chromosomenanalyse .....            | 22        |
| 3.1.3    | Vergleich der Ergebnisse der Fluoreszenz <i>in situ</i><br>Hybridisierung mit denen der konventionellen<br>Chromosomenanalyse..... | 23        |
| 3.1.4    | Ergebnisse der konventionellen Chromosomenanalyse.....   | 24        |
| 3.1.4.1  | Numerische Chromosomenaberrationen .....   | 24        |
| 3.1.4.2  | Strukturelle unbalancierte Chromosomenaberrationen .....   | 26        |
| 3.1.4.3  | Translokationen .....  | 27        |
| 3.1.5    | Ergebnisse der Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung.....  | 28        |
| 3.1.5.1  | Ergebnisse der Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung mit<br>fünf DNA-Sonden.....   | 28        |
| 3.1.5.2  | Tumorzellgehalt der untersuchten Gewebe .....  | 31        |
| 3.2      | Ergebnisse der retrospektiv durchgeführten Fluoreszenz <i>in situ</i><br>Hybridisierung .....                                      | 31        |
| 3.3      | Zusammenfassung der Ergebnisse .....   | 32        |
| <b>4</b> | <b>Diskussion.....</b>   | <b>34</b> |

INHALTSVERZEICHNIS

|           |  |            |
|-----------|--|------------|
| 4.1       | Vergleich der Mitosestimulanzen DSP30/IL2 und TPA .....  | 34         |
| 4.2       | Klonale Befunde nach Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung und<br>konventioneller Chromosomenanalyse ..... | 35         |
| 4.2.1     | Die Häufigkeit klonaler Befunde im Vergleich zu<br>themenverwandten Studien.....                               | 35         |
| 4.2.2     | Klonalitätsraten durch den Einsatz der unterschiedlichen<br>Nachweisverfahren.....                             | 36         |
| 4.2.3     | Erfassung von fünf Aberrationen nach Fluoreszenz <i>in situ</i><br>Hybridisierung (Standarddiagnostik) .....   | 37         |
| 4.3       | Diagnostische Informationen durch konventionelle<br>Chromosomenanalyse .....                                   | 40         |
| 4.3.1     | Translokationen.....   | 40         |
| 4.3.2     | Numerische Aberrationen.....   | 41         |
| 4.3.3     | Deletionen in 11q, 13q und 17p in der konventionellen<br>Chromosomenanalyse.....                               | 41         |
| 4.3.3     | Weitere rekurrente strukturelle Aberrationen.....  | 43         |
| 4.3.3.1   | Deletion in 7q .....   | 43         |
| 4.3.3.2   | Deletion in 8p21~22 .....  | 44         |
| 4.3.3.3   | Deletion in 4q34~35 .....  | 44         |
| 4.3.3.4   | Deletion in 18p11.3 .....  | 45         |
| 4.3.3.5   | Deletion in 9p24 .....   | 46         |
| 4.3.3.6   | Deletion 6q21 und 6q27 .....   | 47         |
| 4.4       | Diagnostische Informationen durch Fluoreszenz <i>in situ</i><br>Hybridisierung .....                           | 48         |
| <b>5</b>  | <b>Zusammenfassung .....</b>   | <b>49</b>  |
| <b>6</b>  | <b>Endnoten .....</b>  | <b>51</b>  |
| <b>7</b>  | <b>Literaturverzeichnis.....</b>   | <b>56</b>  |
| <b>8</b>  | <b>Anhang .....</b>  | <b>68</b>  |
| <b>9</b>  | <b>Vorstellung der Ergebnisse .....</b>  | <b>104</b> |
| <b>10</b> | <b>Danksagung .....</b>  | <b>105</b> |
| <b>11</b> | <b>Lebenslauf.....</b>   | <b>106</b> |

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

**ABBILDUNGSVERZEICHNIS**

|                      |   |    |
|----------------------|---|----|
| <b>Abbildung 1-5</b> | Anzahl der Fälle mit den jeweiligen Aberrationen (nachgewiesen durch beide Verfahren oder nur durch KCA bzw. FISH)..... | 24 |
| <b>Abbildung 6</b>   | Konventionelle Chromosomenanalyse mittels R-Banden im Fall A20 .....  | 26 |
| <b>Abbildung 7</b>   | Translokation t(14;18) in der FISH.....   | 29 |
| <b>Abbildung 8</b>   | IgH/BCL2-Fusion im Fall A20: rot – BCL-Genort, grün – IgH-Genort .....  | 29 |
| <b>Abbildung 9</b>   | Graphische Darstellung der Deletionen in 11q, 13q und 17p in der durch die KCA ermittelten Größe .....                  | 43 |

TABELLENVERZEICHNIS

**TABELLENVERZEICHNIS**

|                   |  |    |
|-------------------|--|----|
| <b>Tabelle 1</b>  | Definitionen einiger Chromosomenaberrationen (nach Shaffer et al., ISCN 2013).....   | 5  |
| <b>Tabelle 2</b>  | Inzidenzen der häufigsten Chromosomenaberrationen bei chronisch lymphatischer Leukämie; ermittelt durch FISH und KCA .....   | 7  |
| <b>Tabelle 3</b>  | Puffer und Lösungen .....  | 16 |
| <b>Tabelle 4</b>  | Eingesetzte DNA - Sonden.....  | 17 |
| <b>Tabelle 5</b>  | Anzahl der Fälle mit aberranten Metaphasen in den Zellkulturen von DSP30/IL2 und TPA .....   | 21 |
| <b>Tabelle 6</b>  | Anzahl der aberranten Metaphasen pro Fall in den Zellkulturen von DSP30/IL2 und TPA .....  | 22 |
| <b>Tabelle 7</b>  | Anzahl der Fälle mit und ohne Nachweis eines Klonen in der FISH und in der KCA .....   | 23 |
| <b>Tabelle 8</b>  | Vergleich von Ergebnissen der FISH mit denen der KCA .....   | 23 |
| <b>Tabelle 9</b>  | Rekurrente numerische Chromosomenaberrationen in der KCA .....   | 25 |
| <b>Tabelle 10</b> | Strukturelle unbalancierte Chromosomenaberrationen in der KCA .....  | 27 |
| <b>Tabelle 11</b> | Einsatz der verschiedenen DNA-Sonden für 13q14 und die Ergebnisse .....  | 29 |
| <b>Tabelle 12</b> | Inzidenz der durch FISH diagnostizierten Aberrationen und die Häufigkeit ihres Auftretens alleine und in Kombination mit anderen Aberrationen, aufgeführt für die Gesamtheit aller Fälle und anschließend für die einzelnen Diagnosegruppen..... | 30 |
| <b>Tabelle 13</b> | Zusammenfassung der Ergebnisse der retrospektiven FISH .....   | 31 |
| <b>Tabelle 14</b> | Verteilung der einzelnen Aberrationen <b>unter allen untersuchten Fällen</b> (284 Fälle) im Vergleich mit den entsprechenden Werten dreier Vergleichsstudien (nachgewiesen durch FISH).....  | 39 |
| <b>Tabelle 15</b> | Verteilung der einzelnen Aberrationen <b>innerhalb der klonalen Fallgruppe</b> (158 klonale Fälle) im Vergleich mit den entsprechenden Werten dreier Vergleichsstudien (nachgewiesen durch FISH) .....   | 39 |

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

|         |   |
|---------|---|
| Abb.    | Abbildung   |
| add     | Addition (unklares genetisches Material)  |
| AIHA    | Autoimmunhämolytische Anämie  |
| AML     | Akute myeloische Leukämie   |
| ATM-Gen | bei der <i>Ataxia teleangiectatica</i> mutiertes Gen                              |
| BCL-Gen | B-Zell-Leukämie-/Lymphom-Gen  |
| bp      | Basenpaare  |
| CCD     | Charge-coupled Device (spezieller Bildsensor für optische Geräte)                 |
| CD      | Cluster of differentiation (Unterscheidungsgruppen von Zell-Oberflächenmerkmalen) |
| CDK6    | Cyclin-abhängige Kinase 6   |
| cen     | Zentromer   |
| cep     | chromosome enumeration probe (=DNA-Sonde zum Auszählen von Chromosomen)           |
| CGH     | vergleichende Genomhybridisierung   |
| CLL     | chronisch lymphatische Leukämie   |
| CML     | chronisch myeloische Leukämie   |
| CpG     | Cytosin-phosphatidyl-Guanosin   |
| DAL     | differentially expressed in adenocarcinoma of the lung                            |
| DAPI    | 4',6-Diamidino-2-phenylindoldihydrochlorid  |
| dATP    | Desoxyadenosintriphosphat   |
| dCTP    | Desoxycytidintriphosphat  |
| del     | Deletion (Verlust chromosomalen Materials)  |
| der     | derivatives (verändertes) Chromosom   |
| dic     | dizentrisches Chromosom   |
| DNA     | Desoxyribonukleinsäure  |
| dNTP    | Desoxynucleosidtriphosphat  |
| dTTP    | Desoxythymidintriphosphat   |
| dup     | Duplikation (Verdopplung genetischen Materials)                                   |
| dUTP    | Desoxyuridintriphosphat   |



ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

|         |   |
|---------|---|
| FDX-Gen | Ferredoxin-Gen  |
| FISH    | Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung                               |
| FL      | follikuläres Lymphom  |
| HZL     | Haarzelleukämie   |
| i       | Isochromosom (Chromosom mit zwei gleichen kurzen oder langen Armen)     |
| LPL     | lymphoplasmozytisches Lymphom   |
| Ig      | Immunglobulin   |
| IgH     | Immunglobulin-Schwerkette   |
| IgVH    | variable Region der Immunglobulin-Schwerkette                           |
| IL2     | Interleukin-2   |
| ins     | Insertion (eingefügtes Chromosomenmaterial)                             |
| inv     | Inversion (Chromosomenmaterial um 180° gedreht)                         |
| I-κB    | Inhibitor des Nekrose-Faktor Kappa B                                    |
| JAK2    | Janus Kinase 2  |
| Kap.    | Kapitel   |
| kb      | Kilobasenpaare  |
| KCA     | konventionelle Chromosomenanalyse                                       |
| kD      | Kilodalton  |
| LPE     | lymphoproliferative Erkrankung  |
| LPL     | lymphoplasmozytisches Lymphom   |
| M       | Mol (Stoffmenge [mol/l])  |
| mar     | Markerchromosom (zytogenetisch nicht klassifizierbares Chromosom)       |
| Mb      | Megabasenpaare  |
| MDP     | myelodysplastisches Syndrom   |
| MDR     | minimal deletierte Region   |
| MHC     | Major Histocompatibility Complex<br>(=Haupthistokompatibilitätskomplex) |
| MiR     | Mikro-RNAs  |
| mM      | Millimol (Stoffmenge [mmol/l])  |
| MZL     | Marginalzonenlymphom  |
| n       | Anzahl  |
| NaAc    | Natriumacetat   |

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

|          |   |
|----------|---|
| NaCl     | Natriumchlorid (Kochsalz)   |
| NaOH     | Natronlauge   |
| NFκB     | Nekrose-Faktor Kappa B  |
| NHL      | Non-Hodgkin-Lymphom   |
| p        | kurzer Arm eines Chromosoms   |
| Pat.-Nr. | Patientennummer(n) (im Rahmen dieser Arbeit<br>vergebene Kennnummern für die ausgewerteten Fälle)           |
| PDL 2    | programmed death ligand 2 (= Programmierter Zelltod<br>Bindeprotein 2)                                      |
| PHA      | Phytohämagglutinin  |
| PLL      | Prolymphozytenleukämie  |
| PMBL     | primär mediastinales B-Zell-Lymphom   |
| q        | langer Arm eines Chromosoms   |
| RB       | Retinoblastom-Gen   |
| REAL     | Revised-European-American-Lymphoma-Klassifikation   |
| s.       | siehe   |
| SA       | spectrum aqua (= Spektrum „Wasser-farben“)  |
| SAA      | Standardarbeitsanweisungen des Instituts für<br>Humangenetik des UK-SH (Campus Kiel)                        |
| SG       | spectrum green (= Spektrum Grün)  |
| SLL      | small lymphocytic lymphoma  |
| SMZL     | splenisches Marginalzonenlymphom  |
| SO       | spectrum orange (= Spektrum Orange)   |
| SSC      | sodium citrate buffer   |
| t        | Translokation   |
| Tab.     | Tabelle   |
| TPA      | 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-Acetat   |
| TRAIL    | TNF-related apoptosis inducing ligant<br>(= Tumornekrosefaktor verwandter Apoptose<br>induzierender Ligand) |
| u.       | und   |
| UK-SH    | Universitätsklinikum Schleswig-Holstein   |
| UpM      | Umdrehungen pro Minute  |
| WHO      | Weltgesundheitsorganisation   |

## Einleitung und Hintergrund

### **1 Einleitung und Hintergrund**

Der Zusammenhang zwischen chromosomalen Veränderungen und der Entstehung maligner Tumore wurde bereits 1914 von dem deutschen Biologen Theodor Boveri vermutet (Boveri, 1914). Bestätigt werden konnte dies jedoch erst sehr viel später durch die dazu erforderlichen technischen Voraussetzungen. Heutzutage ist die Kenntnis chromosomaler Veränderungen in der Diagnostik vieler Tumorerkrankungen unverzichtbar und beeinflusst in hohem Maße die Prognoseabschätzung sowie die Wahl von Therapien (Harder et al., 1998).

Die chronisch lymphatische Leukämie (CLL) als ein maligner Tumor des lymphatischen Systems gehört mit einem Anteil von 7 % zu den häufigsten malignen Lymphomen und ist in den USA und Europa die häufigste Leukämieform bei älteren Menschen (Vroblová et al., 2009).

Die klinische Manifestation der CLL ist äußerst heterogen. Es gibt sehr langsam wachsende Tumore mit einem milden Krankheitsverlauf und einer kaum eingeschränkten Lebenserwartung. Aber es treten auch sehr aggressive Tumore auf, deren Wachstum medikamentös kaum beeinflussbar ist und die innerhalb kürzester Zeit nach Diagnosestellung zum Tode führen (Rozman und Montserrat, 1995; Vroblová et al., 2009).

Um das klinische Stadium des jeweiligen Patienten zu definieren sowie die Indikation für eine Therapie zu stellen, haben sich zwei Einteilungssysteme etabliert, die nebeneinander Bestand haben. Das 1975 durch Rai et al. begründete Einteilungssystem (Rai et al., 1975) wird in den USA überwiegend angewandt. In Europa hat sich die 1981 durch Binet et al. begründete Einteilung durchgesetzt (Binet et al., 1981). Beide Stadieneinteilungen dienen der Prognoseabschätzung der CLL, sind jedoch insbesondere während der Anfangsphase der CLL ungenügend und eignen sich nicht zur individuellen Risiko- und Prognoseabschätzung (Döhner et al., 2000; Vroblová et al., 2009).

Seit den letzten Jahren werden zunehmend bereits zu einem frühen Zeitpunkt der Erkrankung genetische Veränderungen für die Einschätzung einer individuellen Prognose berücksichtigt (Stilgenbauer et al., 2007; Montserrat und Moreno, 2009; Zenz et al., 2011). Dabei hat sich gezeigt, dass einige Chromosomenveränderungen eher für einen günstigen Verlauf der Erkrankung sprechen, während andere auf eine

## Einleitung und Hintergrund

schwere Verlaufsform hinweisen. So ist z.B. der Verlust von Chromosomenmaterial im Bereich des kurzen Armes eines Chromosom 17 (TP53-Deletion) mit einer ungünstigen Prognose assoziiert. Der Nachweis einer TP53-Deletion hat therapeutische Konsequenzen. Betroffene Patienten weisen oft ein Therapieversagen bei Standardchemotherapie auf, während sie gut auf alternative Therapieprotokolle ansprechen (Lozanski et al., 2004).

### 1.1 Chronisch lymphatische Leukämie und verwandte B-Zell-Neoplasien

In der vorliegenden Arbeit werden vornehmlich chronisch lymphatische Leukämien analysiert. Differentialdiagnostisch werden lymphoplasmozytische Lymphome (LPL) und verwandte B-Zell-Neoplasien berücksichtigt, die hier unter der Bezeichnung „B-Zell-niedrigmalignes-non-Hodgkin-Lymphom“ (B-NHL) zusammengefasst werden. Darunter finden sich Fälle mit Prolymphozytenleukämie (PLL), Haarzelleukämie (HZL), Fälle mit Verdacht auf CLL (V. a. CLL) und nicht näher differenzierten lymphoproliferativen Erkrankungen (LPE). In den nachfolgenden Abschnitten werden kurze Definitionen dieser Entitäten, basierend auf der aktuellen WHO-Klassifikation, aufgeführt (Quelle: Swerdlow et al., 2008; Ott et al., 2009).

#### 1.1.1 Chronisch lymphatische Leukämie

CLL-Lymphozyten sind monoklonale kleine, runde Zellen der B-Zell-Reihe, die Knochenmark, Lymphknoten und das periphere Blut infiltrieren. Sie zeigen eine nur sehr geringe Proliferation und scheinen eine erheblich verlängerte Überlebenszeit zu haben (Dameshek, 1967; Rubin et al., 1969). Möglicherweise ist bei Patienten mit einem progressiven Verlauf die Proliferationsrate aber höher (Messmer et al., 2005). Bei der CLL werden die Zelloberflächenmarkermoleküle CD5 und CD23 exprimiert. Die zunehmende Verdrängung der normalen B-Zellen durch die immuninkompetenten CLL-Zellen im Krankheitsverlauf hat häufig eine Hypogammaglobulinämie zur Folge. Dies, eine gleichzeitig bestehende Neutropenie, sowie weitere Faktoren führen wiederum zu einer erhöhten Anfälligkeit des Patienten gegenüber Infekten, die meist bakterieller Art sind und nicht selten einen tödlichen Verlauf nehmen (Dearden, 2008; Morrison, 2009). Die Ausprägung des Antikörpermangelsyndroms korreliert mit dem Krankheitsstadium (Colovic et al., 2001; Morrison, 2007).

## Einleitung und Hintergrund

Autoimmunphänomene sind häufige Begleiterscheinungen der CLL. Am häufigsten sind hier die autoimmunhämolytischen Anämien (AIHA), gefolgt von Immunthrombozytopenien (Kipps und Carson, 1993; Dearden, 2008). Des Weiteren ist das Risiko des Auftretens von Zweitneoplasien bei Patienten mit CLL erhöht (Dasanu und Alexandrescu, 2007; Tsimberidou et al., 2009).

Wird die typische CLL-Morphologie im Tumorgewebe bei einem Patienten nachgewiesen, ohne dass eine Infiltration von Knochenmark und peripherem Blut vorliegt, so wird dies als kleinzelliges lymphozytisches Lymphom (Small lymphocytic lymphoma = SLL) bezeichnet.

### 1.1.2 Prolymphozytenleukämie

Die Prolymphozytenleukämie (PLL) zeichnet sich durch die Präsenz eines hohen Anteils an Prolymphozyten aus, der zwischen 10 und 55 % liegt (Melo et al., 1986; Robak und Robak, 2007). Charakteristisch ist eine sehr hohe Ausschwemmung von Leukozyten ins periphere Blut (bis zu 100.000/ $\mu$ l) sowie eine Infiltration von Knochenmark und Milz. Morphologisch zeichnen sich ihre Zellen durch eine mittlere Größe, runde Form und prominente Nukleoli aus. In 80 % der Fälle handelt es sich um B-Lymphozyten. Auch immunphänotypisch bestehen bei einem Drittel der Fälle Abweichungen. So kann zum Beispiel das Oberflächenmarkermolekül CD5 fehlen. Ein aggressiver Krankheitsverlauf ist häufig (Jaffe et al., 2001).

### 1.1.3 Lymphoplasmozytisches Lymphom/Morbus Waldenström

In den verschiedenen Klassifikationssystemen der malignen Lymphome werden unterschiedliche Nomenklaturen für die nach der WHO als „lymphoplasmozytisches Lymphom“ (LPL) klassifizierte Lymphomentität vorgegeben. In dieser Arbeit wird auf andere Synonyme wie „Immunozytom“ verzichtet und ausschließlich die Nomenklatur der derzeit aktuellen WHO-Klassifikation genutzt.

Das LPL gehört wie die CLL/SLL zur Gruppe der kleinzelligen lymphatischen B-Zell-Neoplasien, es ist allerdings weniger häufig als die CLL und macht nur ca. 2 % aller malignen Lymphome aus. Es treten verstärkt lymphozytoide Lymphozyten und Plasmazellen auf und der Zelloberflächenmarker CD5 wird nicht exprimiert. In der Regel besteht eine Infiltration von Knochenmark, Lymphknoten und Milz. Das periphere Blut kann ebenfalls infiltriert sein (Shaheen et al., 2008). Wenn ein IgM-

## Einleitung und Hintergrund

Paraprotein nachweisbar ist, bezeichnet man die Erkrankung als Morbus Waldenström. Im Blut kommt es in diesem Falle durch den erhöhten Proteingehalt häufig zu einer Hyperviskosität (Harris et al., 1994; Stone, 2009).

### 1.1.4 Haarzelleukämie

Die Haarzelleukämie (HZL) macht einen Anteil von nur ca. 2 % der lymphatischen Leukämien aus. Ihre Zellen sind typischerweise kleine B-Lymphozyten mit einem ovalen, eingebuchteten Zellkern und reichlich Zytoplasma, das haarförmige Ausläufer bildet (Netea et al., 2008). Bei den meisten Patienten besteht eine Leukopenie, daher gestaltet sich die Diagnosestellung oft schwierig. Die Zellen infiltrieren das Knochenmark und die Milz, wodurch es zu einer ausgeprägten Splenomegalie kommen kann (Wanko und de Castro, 2006), die unter Umständen eine Splenektomie erforderlich macht (Burke et al., 1976).

## 1.2 Die Zytogenetik maligner Lymphome

### 1.2.1 Strukturelle und numerische Chromosomenaberrationen

Bei den chromosomalen Veränderungen (=Chromosomenaberrationen) unterscheidet man numerische von strukturellen Aberrationen (s. **Tabelle 1**) (Read und Strachan, 2005).

Einleitung und Hintergrund

**Tabelle 1** Definitionen einiger Chromosomenaberrationen (nach Shaffer et al., ISCN 2013)

| <b>Strukturelle Chromosomenaberrationen</b> |  |
|---|--|
| <b>Aberration</b>                           | <b>Definition</b>  |
| <b><u>Deletion:</u></b>                     | Verlust eines Chromosomen-Abschnittes. Es gibt terminale und interstitielle Deletionen.  |
| <b><u>Translokation</u></b>                 | Eine Translokation ist ein gegenseitiger Austausch von Chromosomensegmenten. Voraussetzung sind Chromosomenbrüche zwischen zwei oder mehreren Chromosomen. Es gibt Translokationen, die balanciert oder unbalanciert sind. Des Weiteren gibt es verschiedene Translokationstypen, z.B. reziproke Translokation, Ganzarm-Translokation, Robertson'sche Translokation. |
| <b><u>Duplikation</u></b>                   | Verdoppelung eines Chromosomen-Abschnittes   |
| <b><u>Inversion</u></b>                     | Chromosomenbruch mit anschließendem Einbau des Chromosomenbruchstückes in gegensätzlicher räumlicher Ausrichtung (180°-Drehung). Es gibt pericentrische Inversionen (jeweils ein Chromosomenbruch im kurzen und langen Arm eines Chromosoms) und paracentrische Inversionen (beide Chromosomenbrüche im kurzen oder langen Arm eines Chromosoms).                    |
| <b>Numerische Chromosomenaberrationen</b>   |  |
| <b>Aberration</b>                           | <b>Definition</b>  |
| <b><u>Trisomie</u></b>                      | Zugewinn eines kompletten Chromosoms   |
| <b><u>Monosomie</u></b>                     | Verlust eines kompletten Chromosoms  |

1.2.2 Primäre und sekundäre Chromosomenaberrationen

Primäre Chromosomenaberrationen sind genetische Veränderungen, die zu einem frühen Zeitpunkt der Lymphomentstehung auftreten. Es handelt sich in der Regel um balancierte Translokationen, wie z.B. die t(8;14)(q24;q32) der Burkitt-Lymphome, die 1976 durch Zech et al. erstmals beschrieben wurde (Zech et al., 1976).

Die primären Chromosomenveränderungen sind für viele Lymphomsubtypen charakteristisch (Fonatsch, 1993; Jaffe et al., 2001). Sie wurden 1997 im REAL Klassifikationssystem berücksichtigt. Seit 2001 ist das WHO-Klassifikationssystem international gültig (mit der aktuellen Version von 2008). Bei der CLL konnte bisher keine tumorspezifische primäre Chromosomenaberration nachgewiesen werden.

Zur Entstehung eines malignen Lymphoms müssen im Rahmen der Tumorevolution jedoch noch weitere sogenannte sekundäre Chromosomenaberrationen hinzutreten.

## Einleitung und Hintergrund

Diese sind in der Regel nicht spezifisch für eine bestimmte Neoplasie, erhöhen aber maßgeblich ihr malignes Potential (Vogelstein und Kinzler, 1993). Im Gegensatz zu den primären handelt es sich bei den sekundären Chromosomenaberrationen häufiger um Zugewinne oder Verluste von genetischem Material als um balancierte Chromosomenaberrationen wie Translokationen. Zugewinne an genetischem Material können durch numerische Chromosomenaberrationen wie Trisomien oder durch strukturelle Chromosomenveränderungen wie Duplikationen verursacht sein und weisen auf Protoonkogene hin. Analog dazu können Verluste als Monosomien oder im Rahmen struktureller Aberrationen z.B. durch Deletionen manifest werden und sind hinweisend auf Tumorsuppressorgene (Harder et al., 1998).

Bei der CLL treten als typische wiederkehrende Chromosomenaberrationen die Trisomie 12, Deletionen der Chromosomenregionen 6q21/6q27, 11q22.3, 13q14, 17p13 sowie strukturelle Aberrationen im Bereich 14q32 (IgH-Locus) auf.

In der Routinediagnostik der CLL mit der Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung (FISH) ist es daher allgemein etabliert, entsprechende DNA-Sonden für die genannten Genregionen einzusetzen. Die verwendeten Sonden decken damit die häufigsten genetischen Aberrationen der CLL ab. Abweichende, seltenere Aberrationen bleiben durch die FISH mit den Standardsonden jedoch verborgen, sofern kein ergänzendes Diagnostikverfahren – wie beispielsweise die konventionelle Chromosomenanalyse (KCA) – herangezogen wird.

### 1.3 Chromosomenaberrationen bei der chronisch lymphatischen Leukämie

#### 1.3.1 Häufige Chromosomenaberrationen der chronisch lymphatischen Leukämie

Über die Häufigkeit charakteristischer Aberrationen der CLL – zum einen durch konventionelle Chromosomenanalyse (KCA), zum anderen durch Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung (FISH) diagnostiziert – gibt **Tabelle 2** Auskunft.



Einleitung und Hintergrund

**Tabelle 2** Inzidenzen der häufigsten Chromosomenaberrationen bei chronisch lymphatischer Leukämie; ermittelt durch FISH und KCA

| <b>Chromosomen-aberration</b> | <b>Inzidenz durch FISH diagnostiziert</b>             | <b>Inzidenz durch KCA diagnostiziert</b> |
|-------------------------------|---|--|
| <b>13q14 Deletion</b>         | 55 % (Stilgenbauer et al., 2002; Döhner et al., 2000) | 10 % (Döhner et al., 1999)               |
| <b>11q Deletion</b>           | 18 % (Stilgenbauer et al., 2002; Döhner et al., 2000) | 8 % (Döhner et al., 1999)                |
| <b>12q Trisomie</b>           | 16 % (Stilgenbauer et al., 2002; Döhner et al., 2000) | 19 % (Döhner et al., 1999)               |
| <b>17p Deletion</b>           | 7 % (Stilgenbauer et al., 2002; Döhner et al., 2000)  | 4 % (Döhner et al., 1999)                |
| <b>6q Deletion</b>            | 6 % (Stilgenbauer et al., 2002)                       | 6 % (Döhner et al., 1999)                |
| <b>t(14q32)</b>               | 4 % (Döhner et al., 2000)                             | 5 % (Haferlach et al., 2007a)            |

FISH=Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung, KCA=Konventionelle Chromosomenanalyse

1.3.2 Translokationen

Bis vor kurzem sind nur wenige Translokationen bei der CLL beschrieben worden. Eine dieser Translokationen ist die t(14;19)(q32;q13) (Döhner et al., 1999; Cavazzini et al., 2008, Martín-Subero et al., 2007). Sie ist jedoch nicht spezifisch für die CLL, sondern tritt auch bei anderen Neoplasien auf. Erst durch den Einsatz neuer Mitosestimulantien für die KCA an CLL-Zellen (s. Kapitel 1.5) konnten Mayr et al. bei 33 von 96 (34 %) Patienten Translokationen nachweisen. Die beobachteten Translokationen sind sehr variabel, ihre beteiligten Bruchpunkte wiederholen sich hingegen zu 70 % und sind z.T. als Translokationspartner in anderen Kombinationen bei unterschiedlichen Tumoren beschrieben worden. In mehr als einem Drittel der Fälle liegen die Bruchpunkte in Bereichen, an denen bei der CLL typischerweise Deletionen auftreten, wie z.B. in 13q14 oder 11q22.3. Andere Bruchpunkte liegen in Regionen, die häufig bei anderen Lymphomentitäten von Aberrationen betroffen sind, wie z.B. 1p, 1q, 2p, 6p und 18q (Mayr et al., 2006). Diese vermehrte Beteiligung derselben Chromosomenregionen lässt die dortige Existenz von Genen vermuten, die bei der Entstehung oder Progression des Tumors von Bedeutung sein könnten.

Translokationen stellen einen wichtigen Prognosefaktor bei CLL dar. Sie sind assoziiert mit einer kurzen Überlebenszeit (Mayr et al., 2006; Van Den Neste et al., 2007) sowie mit schlechtem Therapieansprechen (Van Den Neste et al., 2007; Cavazzini et al., 2008).

## Einleitung und Hintergrund

### 1.4 Diagnostik genetischer Aberrationen

Bei der genetischen Untersuchung der CLL sind hauptsächlich zwei diagnostische Methoden von Bedeutung: Die konventionelle Chromosomenanalyse (KCA) sowie die Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung (FISH).

Da sich die KCA bis vor kurzem aufgrund der schlechten Teilungsfähigkeit der CLL-Zellen *in vitro* nicht zur Routinediagnostik von chromosomalen Aberrationen bewährt hat, wurde die FISH-Technik eingesetzt. Der Vorteil des Hybridisierungsverfahrens liegt vor allem darin, dass die Zellen in der Interphase des Zellzyklus untersucht werden können und somit die aufwändige Induktion von Mitosen entfällt (Döhner et al., 2000). Außerdem ist im Gegensatz zur KCA der Nachweis kleinerer Aberrationen von der Größe weniger hundert Kilobasenpaare möglich, die mikroskopisch nicht sichtbar sind (Döhner et al., 1999).

In der Routinediagnostik kommen in der Regel standardisierte Sätze von FISH-Sonden zum Einsatz, durch die bei über 80 % der Patienten mit CLL genetische Aberrationen aufgedeckt werden (Döhner et al., 2000).

Ein entscheidender Nachteil der FISH-Diagnostik liegt jedoch darin, dass nur diejenigen Aberrationen gefunden werden können, für deren Genbereich entsprechende Sonden eingesetzt werden (Döhner et al., 1999). Es besteht keine Möglichkeit, weitere Aberrationen, komplexe genetische Veränderungen oder auch balancierte Translokationen aufzudecken (Van Den Neste et al., 2007).

Um einen umfassenden Überblick über das Spektrum genetischer Aberrationen von CLL-Zellen zu erhalten, ist die KCA erforderlich. Daher ist die Verbesserung der Verfahren zur Induktion von Metaphasen bei CLL-Lymphozyten von besonderem Interesse (Haferlach et al., 2007a).

In der Vergangenheit wurden die unterschiedlichsten Mitogene zur Erzeugung der erforderlichen Metaphasen verwendet, z.B. Phytohämagglutinin (PHA) (Gahrton et al., 1980) oder 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-Acetat (TPA) (Juliussen und Gahrton, 1990; Larramendy et al., 1998). Die Mitoserate war jedoch trotz der angewandten B-Zell-Mitogene gering (Gahrton et al., 1980) und genetische Aberrationen konnten in nur 40 bis 50 % diagnostiziert werden (Juliussen und Gahrton, 1990). In einer Studie konnte gezeigt werden, dass in vielen der chromosomal unauffälligen Fälle die untersuchten Metaphasen gar nicht den CLL-Lymphozyten zuzuordnen waren,

## Einleitung und Hintergrund

sondern normalen Lymphozyten (Autio et al., 1987).

Durch den Einsatz des Mitosestimulans CD40L konnte eine deutlich größere Rate an Mitosen erzielt werden. Das Molekül CD40L wird physiologischerweise zum Beispiel auf der Oberfläche von T-Lymphozyten exprimiert und führt durch Bindung an das Oberflächenmolekül CD40 auf B-Lymphozyten zu deren Aktivierung und mitotischen Teilung (s. Endnote 1). Um CLL-Zellen über ihre CD40-Moleküle zu aktivieren, setzten Buhmann et al. in einer Studie Fibroblasten ein, die im Labor spezifisch aufgearbeitet und mit CD40L transfiziert worden waren. Durch die Zugabe dieser Fibroblasten zu den Lymphomzellen konnten in 93 % der Fälle Mitosen gewonnen werden. Im Vergleich zu den früher eingesetzten Methoden konnte die Mitoserate somit erheblich gesteigert werden (Buhmann et al., 2002). Die Stimulation mit CD40L ist allerdings durch die erforderlichen Zell-Kokulturen sehr aufwändig und für den Gebrauch in der Routinediagnostik daher problematisch (Dicker et al., 2006)<sup>1</sup>.

Ein neuer Ansatz zur Verbesserung der Mitosengewinnung ist der Einsatz von DSP30 in Kombination mit Interleukin-2 (IL2) (Dicker et al., 2006; Haferlach et al., 2007a). Allerdings sind hierzu bislang erst wenige Untersuchungen an CLL-Zellen durchgeführt worden. Die Verwendung dieses neuen Verfahrens in der KCA an Zellen der CLL und zusätzlich noch weiterer niedrigmaligner Lymphome der B-Zell-Reihe ist Thema dieser Arbeit. Im folgenden Abschnitt wird die Methode beschrieben.

### 1.5 Einsatz von DSP30 in Kombination mit IL2

DSP30 ist ein spezielles synthetisch hergestelltes CpG-Oligonukleotid – ein kurzes DNA-Stück bestehend aus 27 DNA-Bausteinen. Es enthält Cytosin-phosphatidyl-Guanosin-Dinukleotide (= CpG-Dinukleotide) in folgendem Muster: 5'-TCGTCGCTGTCTCCGCTTCTTCTTGCC-3'.

Die unmethylierten CpG-Motive wirken stimulierend auf die Proliferation von B-Lymphozyten – dem Effekt ähnelnd, der auch durch die Inkubation von B-Lymphozyten mit bakterieller DNA zu erzielen ist (Liang et al., 1996; Decker et al., 2000b). In der menschlichen DNA liegen die 5'-CpG-3'-Motive im Gegensatz zu denen der Prokaryonten weitgehend methyliert vor. Die Methylierung ist als Mechanismus zur Herunterregulation von Genexpressionen bekannt.

DSP30 ist ein Antisense-Oligonukleotid. Hierunter versteht man kurzkettige,

## Einleitung und Hintergrund

synthetisch hergestellte Nukleinsäuren, deren Basensequenz gegenläufig bzw. komplementär zu einer funktionalen mRNA ist. Im Falle von DSP30 bezieht sich die Komplementarität auf einen Teilbereich der rev-Region innerhalb des Genomes des Humanen Immundefizienz-Virus (HIV).

In einer Studie von Liang et al. zeigte sich, dass das Oligonukleotidmuster von DSP30 ein besonders effektiver Stimulus für die Proliferation sowohl von normalen B-Lymphozyten, als auch von CLL-Zellen ist (Liang et al., 1996). Ursächlich hierfür ist die Interaktion zwischen CpG-Oligonukleotiden und einem speziellen Oberflächenmolekül der Lymphozyten, dem sogenannten Toll-like-Rezeptor 9, die eine Signalkaskade auslöst und die Zellen in die Mitose führt (Krieg und Kline, 2000).

Durch die Kombination von DSP30 mit IL2 – einem wichtigen Zellbotenstoff mit vielfältiger Funktion – kann eine weitere Steigerung des stimulatorischen Effektes auf die CLL-Lymphozyten erreicht werden (Decker et al., 2000a; Decker et al., 2002). Mangels spezifischer Oberflächenrezeptoren für diesen Zellbotenstoff führt die alleinige Inkubation von B-Lymphozyten mit IL2 in Abwesenheit von Nukleotiden nicht zur Proliferation. Die proliferationsfördernde Wirkung entwickelt sich nur im Synergismus mit DSP30, da die CpG-Oligonukleotide eine Expression hochaffiner Rezeptoren für IL2 induzieren (Liang et al., 1996, Decker et al., 2000a).

### 1.6 Fragestellung

In der vorliegenden Arbeit sollten zwei Methoden zur genetischen Untersuchung von CLL-Zellen miteinander verglichen werden: Die derzeit in der Routinediagnostik hauptsächlich angewandte FISH an Interphasekernen und die KCA unter Verwendung von DSP30 in Kombination mit IL2 zur Metaphasengewinnung. Neben der Untersuchung von CLL-Zellen wurden zusätzlich Fälle mit verwandten niedrigmalignen B-Zell-Neoplasien berücksichtigt.

Es sollte erarbeitet werden, in welchem Verfahren die meisten Aberrationen diagnostiziert werden, und ob bestimmte Aberrationen sich besser in einem der beiden Verfahren darstellen lassen. Schließlich sollte die prognostische Relevanz der jeweils nur durch eine der beiden Methoden diagnostizierten Aberrationen beurteilt werden.

Durch diese Vergleiche sollten die Vor- und Nachteile der Verwendung der KCA herausgestellt werden und eine Beurteilung bezüglich ihrer Eignung zum Einsatz in

### Einleitung und Hintergrund

der genetischen Routinediagnostik der CLL und verwandter niedrigmaligner B-Zell-Neoplasien abgegeben werden.

Bei der Auswertung der Daten fiel auf, dass einige der chromosomalen Bruchpunkte, die nur in der KCA entdeckt wurden, häufiger an Inbalancen beteiligt waren als andere. Die zugehörigen Aberrationen lagen in Genbereichen, die mit den üblicherweise in der Routinediagnostik eingesetzten FISH-Sonden nicht untersucht werden. Im zweiten praktischen Teil dieser Arbeit sollten die betroffenen Fälle in diesen Genbereichen retrospektiv noch einmal spezifisch durch den Einsatz geeigneter DNA-Sonden analysiert werden.

#### Folgende Fragestellungen sollten beantwortet werden:

- 1) Werden durch den Einsatz des Mitosestimulans DSP30/IL2 die CLL-Zellen zur Proliferation angeregt, so dass die KCA an Metaphasechromosomen möglich ist?
- 2) Wie viele und welche genetischen Aberrationen werden jeweils mit der FISH und mit der KCA diagnostiziert?
- 3) Wäre ein paralleler Einsatz beider Verfahren sinnvoll?
- 4) Können die Bruchpunkte, die zunächst nur durch die KCA diagnostiziert werden konnten, durch den gezielten Einsatz entsprechender Sonden auch durch Interphase-FISH gefunden werden?

## Material und Methoden

### **2 Material und Methoden**

#### 2.1 Untersuchungsmaterial

In der vorliegenden Arbeit wurden die zytogenetischen Untersuchungsergebnisse von insgesamt 305 Patienten ausgewertet, die in der Zeit von Februar 2005 bis Mai 2007 im Institut für Humangenetik des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein (UK-SH) (Campus Kiel) im Rahmen der Routinediagnostik erhoben wurden (s. **Tabelle A1**). In 284 Fällen konnten durch die Zellkultivierung Mitosen erzielt werden, und sie waren sowohl mittels FISH als auch mittels KCA untersucht worden (Patientennummern/Pat.-Nr: A1-D96).

Die FISH an Interphase-Kernen war nach den Standardarbeitsanweisungen des Instituts für Humangenetik des UK-SH (Campus Kiel) durchgeführt worden, entsprechend der Literaturdaten (Buhmann et al., 2002; Schoch et al., 2002). Es waren DNA-Sonden zur Erfassung folgender genetischer Aberrationen eingesetzt worden: Deletion 11q22.3 (ATM, FDX), Trisomie 12q13 (CHOP), Deletion 13q14 (D13S319, D13S25, RB1), Aberrationen in der IgH-Region von 14q32 (IgH) und Deletion 17p13 (TP53).

Der Einsatz der drei verschiedenen DNA-Sonden zur Detektion von del(13q14) war bei den 284 untersuchten Patienten nicht einheitlich gewesen. Für die vor Mitte des Jahres 2006 untersuchten Fälle war vorwiegend die Sonde RB1 eingesetzt worden. Insgesamt war RB1 bei 215 Fällen (76 % aller untersuchten Patienten) eingesetzt worden, davon 199 mal alleine, zwei mal in Kombination mit D13S319 und 14 mal in Kombination mit D13S319 und D13S25. Für die FISH Routinediagnostik ab Mitte des Jahres 2006 waren zunehmend mehr die DNA-Sonden D13S319 und D13S25 eingesetzt worden. D13S319 war in insgesamt 85 Fällen (30 %) eingesetzt worden, D13S25 in 83 Fällen (29 %). Beide Sonden zusammen waren bei 69 Fällen verwendet worden. In weiteren 14 Fällen waren die beiden Sonden gemeinsam mit RB1 und in zwei Fällen D13S319 in Kombination mit RB1 eingesetzt worden.

Für sechs Patientenfälle, bei denen zum damaligen Zeitpunkt die zytogenetische Untersuchung nur mittels der KCA und nicht durch die FISH vorgenommen worden war, wurde im Rahmen dieser Arbeit retrospektiv die FISH-Untersuchung mit den oben genannten DNA-Sonden durchgeführt.

### Material und Methoden

Für die KCA waren zum Erhalt von Metaphasen Zellkulturen angelegt worden. Eine Kultur unter Einsatz der Kombination des Mitosestimulans DSP30 mit IL2 war für alle Patientenfälle angesetzt worden. Daneben war für die meisten Fälle parallel eine Kultur mit dem Mitosestimulans TPA angelegt worden. Anschließend waren die erzielten Metaphasechromosomen präpariert und aufgesucht worden. Dabei war gemäß der Standardarbeitsanweisungen (SAA) des Instituts für Humangenetik des UK-SH (Campus Kiel) vorgegangen worden, die den in einschlägiger Literatur beschriebenen Vorgehensweisen entsprechen (Dicker et al., 2006; Haferlach et al., 2007b).

Das Probenmaterial war zu einem Teil aus Knochenmarksbiopsien, zu einem Teil aus Lymphknotengewebe und zu einem anderen aus dem peripheren Blut gewonnen worden und mit Einverständnis der Patienten von verschiedenen medizinischen Instituten bzw. Einrichtungen aus ganz Deutschland und aus Leicester (England) zur Diagnostik eingesandt worden.

Die histopathologischen Befunde waren an Zellmaterial erhoben worden, das auch für die zytogenetische Untersuchung verwandt worden war. Die Befundung war durchgeführt worden durch das Institut für Hämatopathologie der Universität Kiel (damaliger Direktor: Prof. Dr. H. H. Wacker/ seit 2008 Prof. Dr. W. Klapper); das Institut für Pathologie der Universität Lübeck (Direktor: Prof. Dr. A. Feller); das Institut für Pathologie der Universität Würzburg (Direktor: Prof. Dr. H. K. Müller-Hermelink); dem Institute of Cancer Research, Section of Haemato Oncology, Leicester, England (Prof. Dr. M. Dyer) sowie durch einige weitere pathologische Institute.

Ausgewertet wurden 261 Patienten, bei denen eine CLL diagnostiziert wurde. Außerdem wurden noch 10 Fälle mit der Diagnose eines lymphoplasmozytischen Lymphoms (LPL) und 34 Patienten mit verwandten B-Zell-Lymphomen berücksichtigt, die in dieser Arbeit unter der Bezeichnung „Niedrig malignes B-Non-Hodgkin-Lymphom“ (B-NHL) zusammengefasst wurden und Fälle mit Haarzelleukämie (HZL), Prolymphozytenleukämie (PLL) und Fälle mit Verdacht auf CLL (V. a. CLL) bzw. nicht näher differenzierter lymphoproliferativer Erkrankung (LPE) umfassen.

Der Altersmedian der Patienten lag bei 64 Jahren (Range 36 – 93). Das Verhältnis Männer zu Frauen betrug 2 : 1 (204 Männer, 101 Frauen). In **Tabelle A1** (s. Anhang)

## Material und Methoden

sind zu den 305 Patientenfällen die in dieser Arbeit vergebenen Patientennummern, die Alters- und Geschlechtsangaben, sowie die histopathologischen Diagnosen aufgeführt.

### 2.2 Untersuchungsmaterial für die Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung an einzelnen Fällen

Die im zweiten Teil dieser Arbeit durchgeführten FISH-Untersuchungen erfolgten an Probenmaterial, das nach der zytogenetischen Diagnostik verblieben und in Carnoys Fixativ bei -20°C asserviert war.

Von den Genbereichen, in denen ausschließlich durch die KCA Aberrationen gefunden worden waren, wurden diejenigen ausgesucht, die mindestens 7 (2 %) der 305 Fälle dieser Arbeit betrafen. So wurden fünf Genbereiche festgelegt, für die entsprechende FISH – Sonden bei den betroffenen Patienten eingesetzt wurden. Insgesamt wurde Zellmaterial von 35 Patienten mittels Interphase-FISH untersucht. In **Tabelle A2** (s. Anhang) werden die 35 untersuchten Patienten mit dem Ergebnis der KCA und den Bruchpunkten, für die FISH-Sonden eingesetzt wurden, aufgeführt.

### 2.3 Materialien für die Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung

#### 2.3.1 Geräte

VP 2000 Processor (VYSIS, Deutschland)

Brutschrank: Function line (Heraeus Instruments GmbH, Deutschland)

Fluoreszenzmikroskop: Axioskop (Zeiss, Deutschland)

ISIS Software (MetaSystems, Altusheim)

Microcon YM-30 Zentrifugen Filtereinheit (Millipore)

Thermomixer comfort (Eppendorf, Deutschland)

Wasserbad 3042 (Köttermann Labortechnik, Deutschland)

Zentrifugen: Biofuge 22R (Heraeus Instruments GmbH, Deutschland)

PicoFuge® Microcentrifuge (Stratagene, USA)

Mikro 200R (Hettich, Deutschland)

#### 2.3.2 Reagenzien

BioPrime® DNA Labeling System (Invitrogen, Karlsruhe)

Cot-1 DNA® (Invitrogen, Karlsruhe)



Material und Methoden

DAPI-Stammlösung (4,6 Diaminidino-2-phenylindole) (Serva, Heidelberg)  
Dextransulfat (Oncor, Heidelberg)  
dUTP-Spectrum orange (= dUTP SO) (Abbott GmgH Diagnostika, Wiesbaden)  
dUTP-Spectrum green (= dUTP SG) (Abbott GmgH Diagnostika, Wiesbaden)  
dUTP-Spectrum aqua (= dUTP SA) (Abbott GmgH Diagnostika, Wiesbaden)  
Essigsäure (100 %) (Merck, Darmstadt)  
Ethanol (Merck, Darmstadt)  
Formamid (Life Technologies, Eggenstein)  
Igepal (Sigma, Deisenhofen)  
Natriumacetat (Merck, Darmstadt)  
Natriumcitrat (Merck, Darmstadt)  
Paraformaldehyd (Serva, Heidelberg)  
Pepsin (Sigma, Deisenhofen)  
Photokleber: Rubber cement-Fixogum (Marabu, Tamm)  
Salzsäure (Merck, Darmstadt)

Material und Methoden

2.3.3 Puffer und Lösungen

**Tabelle 3** Puffer und Lösungen

| <b>Puffer bzw. Lösung</b> | <b>Herstellung</b>   |
|---------------------------|--|
| Carnoy's Fixativ          | Methanol : Essigsäure = 3 : 1  |
| DAPI – Lösung             | 0,2 mg DAPI-Stammlösung in<br>100 ml Aqua dest.  |
| dNTP-Mix (10x)            | 10 mM dATP<br>10 mM dCTP<br>10 mM dGTP<br>10 mM dTTP<br>1 mM UTP-X (X = SO, SG, SA)<br>steriles Wasser     |
| Mastermix                 | 50 % Formamid<br>10 % Dextran-Sulfat<br>2 x SSC<br>pH 7,5  |
| Paraformaldehydlösung     | 1 g Paraformaldehyd<br>60 ml Aqua dest.<br>5 Tropfen 10 N NaOH<br>10 ml 100 mM MgCl <sub>2</sub><br>pH 7,5 |
| SSC (20x)                 | 3 M NaCl<br>0,3 M Natriumcitrat<br>pH 7,0  |
| Verdauungslösung          | 5 mg Pepsin<br>0,5 ml N HCL<br>99 ml Aqua dest.  |
| Waschpuffer I             | 2 ml 20xSSC<br>300 µl Igepal   |
| Waschpuffer II            | 10 ml 20xSSC<br>100 µl Igepal  |

2.3.4 DNA - Sonden

Zur Detektion von Chromosomenbruchpunkten wurden im Rahmen dieser Arbeit zum Teil kommerzielle DNA-Sonden der Firma Abbott eingesetzt, die bereits vom Hersteller direkt mit den Fluoreszenzfarbstoffen markiert worden waren. Weitere Sonden wurden im Institut für Humangenetik der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel hergestellt und mit den Fluoreszenzfarbstoffen Spectrum orange, Spectrum aqua und Spectrum green der Firma Abbott markiert. In **Tabelle 4** werden die untersuchten Chromosomenregionen mit den entsprechenden verwendeten DNA-Sonden aufgeführt.

Material und Methoden

**Tabelle 4** Eingesetzte DNA - Sonden

| DNA - Sonde   | F        | Chromosomen-region        | Gen/Marker   | Assoziation mit maligner Neoplasie        | Referenzen  |
|---|----------|---------------------------|--|---|---|
| b515A4/RPCI3-450D5 (H)  | G/<br>O  | 6q21/<br>6q27             | 6q21: b515A4<br>6q27: in der Region RMD1 (=Region der minimalen Deletion 1) u.a. PDCD2 | Pankreas-karzinom/B-Zell-Lymphome         | Abe et al., 1999; Steinemann et al., 2003                                 |
| CEP6 (K)  | A        | 6p11.1-q11.1 (=6cen)      | D6Z1/ Alpha Satellit   | -   | www.abbott.de   |
| RPCI5-1099C19, CTD-104C4 (H)  | G/<br>O  | 7q21                      | Cyclin-abhängige-Kinase-6-Gen (CDK6)   | Splenisches Marginalzonenlymphom (MZL)    | Corcoran et al., 1999; Hayette et al., 2003                               |
| RPCI11-89M8 (H)/ cep8 (K)   | G/<br>O  | 8p21.3/<br>8cen           | TRAIL-R1/<br>TRAIL-2   | B-Zell-Lymphome                           | Rubio-Moscardo et al., 2005   |
| RPCI11-6J24, RPCI11-125K10, RPCI11-39K24, RPCI11-140C18, RPCI11-574F11(H)                                     | G/<br>O  | 9p24                      | PDL2/JAK2  | Hodgkin-Lymphome                          | Martín-Subero et al., 2002; Joos et al., 2003; Martín-Subero et al., 2006 |
| RPCI11-806L2, RPCI11-914P23 (H)   | G/<br>O  | 18p11.32                  | RPCI11-806L2, RPCI11-914P23  | T-PLL                                     | Dürig et al., 2007  |
| <b>DNA-Sonde in der Routinediagnostik</b><br>(eingesetzt für die retrospektive Untersuchung von sechs Fällen) | <b>F</b> | <b>Chromosomen-region</b> | <b>Gen/Marker</b>  | <b>Assoziation mit maligner Neoplasie</b> | <b>Referenzen</b>   |
| RPCI11-241D13/ RPCI11-420H22 (H)  | O/<br>G  | 11q22.3                   | (Ataxia telangiectasia mutated) ATM/FDX  | CLL                                       | Austen et al., 2005; Austen et al., 2007                                  |
| D13S319/D13S25 (H)  | G/<br>O  | 13q14.3                   | D13S319 / D13S25   | Multipler Myelom, CLL                     | Sáez et al., 2006; Ouillette et al., 2008; www.abbott.de                  |
| dual color, break apart probe (CHOP prox/CHOP dist), (Abbott, USA), (K)                                       | O/<br>G  | 12q13                     | CHOP   | CLL                                       | www.abbott.de   |
| LSI® IgH, dual color, break apart (K)   | O/<br>G  | 14q32                     | IgH  | B-Zell-Malignome                          | www.abbott.de   |
| LSI® p53 (K)  | O/<br>G  | 17p13.1                   | TP53   | Diverse Tumore                            | Lane, 1992; Zenz et al., 2008; www.abbott.de                              |
| cep17 (K)   | A        | 17cen                     | D17Z1  | -   | -   |

H = im Hause hergestellte DNA-Sonde; K = kommerzielle DNA-Sonde; F = Fluoreszenzfarbstoff; O = Spectrum orange; G = Spectrum green; A = Spectrum aqua; LSI = Locus signal identifier; CEP = centromere enumeration probe

## Material und Methoden

### 2.4 Methoden

#### 2.4.1 Prinzip der Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung

Zur Verifizierung bestimmter chromosomaler Aberrationen, die in der KCA aufgefallen waren, wurden Zellen von 35 Patienten mit Hilfe der FISH untersucht. Dabei wurde gemäß der Standardarbeitsanweisungen (SAA) des Instituts für Humangenetik des UK-SH (Campus Kiel) vorgegangen.

Die FISH-Technik beruht auf der spezifischen Anlagerung fluoreszenzmarkierter DNA-Sonden an komplementäre Sequenzen innerhalb der zellulären DNA.

Die Ziel-DNA und die markierte DNA-Sonde werden durch Hitzeeinwirkung zu Einzelsträngen denaturiert. Anschließend werden die erhaltenen Einzelstränge zur Renaturierung bei 37 °C inkubiert. Dabei kommt es zur Hybridisierung der Sonde an die zelluläre DNA. Durch Waschvorgänge werden anschließend ungebundene Sonden sowie unspezifische Anlagerungen entfernt. Die Hybridisierungen der Sonden-DNA lässt sich aufgrund ihrer Markierung mit fluoreszierenden Farbstoffen unter einem Fluoreszenzmikroskop nachweisen.

#### 2.4.2 Markierung und Reinigung von DNA-Sonden

Zur Markierung der verwendeten Sonden-DNA mit Spectrum orange (SO), Spectrum green (SG) bzw. Spectrum aqua (SA) wurde das „BioPrime® DNA Labeling System nach Anleitung des Herstellers Invitrogen (Karlsruhe) eingesetzt.

1 µg der zu markierenden DNA wurde in 24 µl Aqua dest. gelöst und mit 20 µl Random Primer 5 min bei 100 °C im Wasserbad inkubiert. Nach 2 minütiger Abkühlung auf Eis wurde 5 µl 10x dNTP-Mix mit Spectrum green, Spectrum orange oder mit Spectrum aqua markiertem dUTP dazugegeben.

Anschließend wurde 1 µl Klenow Fragment vorsichtig eingespült und das Gemisch kurz anzentrifugiert. Es folgte die Inkubation im Brutschrank bei 37 °C. Am nächsten Tag wurde 5 µl Stopp Puffer zugegeben und wieder anzentrifugiert.

Zur anschließenden Aufreinigung wurde die markierte DNA in eine Microconsäule überführt, die in ein 1,5 ml Röhrchen eingesetzt worden war. Dann wurde zweimal hintereinander nach der Zugabe von je 300 µl Wasser 10 min. bei 14.000 UpM zentrifugiert und der Durchfluss verworfen. Im Anschluss wurden 50 µl Wasser auf die Säule pipettiert und diese umgedreht in ein sauberes Röhrchen gegeben. Nach

## Material und Methoden

einer 5-minütigen Zentrifugation bei 5000 UpM wurde die gereinigte markierte DNA zurück in das zu Anfang verwendete Röhrchen pipettiert und bei  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  gelagert.

### 2.4.3 Präparation der markierten DNA-Sonden

Zum Nachweis von Bruchpunkten in bestimmten Genbereichen wurden jeweils Gemische aus mehreren Einzelsonden (s. **Tabelle 4** in Kap. 2.3.4) hergestellt.

Die Herstellung der Sondengemische erfolgte so weit wie möglich im Dunkeln, damit die Fluoreszenzfarbstoffe ihre Leuchtkraft nicht vorzeitig abgeben konnten.

Jeweils  $10\text{ }\mu\text{l}$  der markierten Sonden,  $5\text{ }\mu\text{l}$  Cot-1 DNA®,  $5,5\text{ }\mu\text{l}$  NaAc und  $150\text{ }\mu\text{l}$  Ethanol absolut wurden zusammenpipettiert. Anschließend wurde 30 min bei 17.000 rpm und einer Temperatur von  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  zentrifugiert. Nach Entfernung des Überstandes wurde das hergestellte Pellet luftgetrocknet und in  $10\text{ }\mu\text{l}$  Mastermix überführt.

### 2.4.4 Herstellung von Auftropfpräparaten für die Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung

Die zu untersuchenden Zellen der 35 Patienten waren in Carnoys Fixativ (Methanol : Eisessig = 3 : 1) bei  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  gelagert worden. Das Aufbringen der Zellsuspensionen auf handelsübliche Objektträger fand in einer Thermotron-Klimakammer statt, in der mit einer Umgebungstemperatur von  $22\text{ }^{\circ}\text{C}$  und einer Luftfeuchtigkeit von 38 % optimale Bedingungen für die Trocknung der Meta- und Interphasezellen herrschte.

Die Zellsuspension wurde kurz anzentrifugiert, um eine gleichmäßige Verteilung von Zellen innerhalb der Lösung zu erhalten und dann mit einer Pipette auf abgegrenzte Bereiche des Objektträgers einzelne Tropfen aufgetropft. Nach der Trocknung wurden mit Hilfe eines Lichtmikroskopes in den entsprechenden Bereichen Areale aufgesucht und mit einem Diamantschreiber markiert, die für die Fluoreszenzmikroskopie gute Voraussetzungen boten. Kriterien hierfür waren gute Zellmorphologie, hohe Zelldichte, möglichst wenig Überlagerung einzelner Zellen sowie Areale mit Metaphasen.

Anschließend wurden die Objektträger in einen Objektträgerständer in das Gerät „VP 2000 Processor“ gestellt. In diesem Gerät wurden automatisch gemäß der Standardarbeitsanweisungen (SAA) mehrere Arbeitsschritte vollzogen, darunter die Inkubation in einer Verdaulösung, verschiedene Waschvorgänge mit Aqua dest., Fixierung in Paraformaldehydlösung und Dehydratation in aufsteigender

## Material und Methoden

Alkoholreihe. Es folgte eine 30-minütige Trocknung.

### 2.4.5 Hybridisierung von Sonden- und Ziel-DNA und Fertigstellung der Präparate

Von der Sondenlösung wurde 1,3 µl auf die zuvor markierten Areale der Objektträger pipettiert, mit einem runden Deckgläschen abgedeckt und mit Photokleber (Fixogum) sorgfältig abgedichtet. Zur Denaturierung der Sonden- und Ziel-DNA wurden die Präparate für 7 min bei 75 °C inkubiert und anschließend über Nacht bei 37 °C in einer feuchten Kammer hybridisiert.

Nach der Hybridisierung wurde das Fixogum entfernt, die Deckgläschen etwas angefeuchtet und von den Objektträgern abgehoben. Dies erfolgte möglichst schnell, um nur wenig Licht an die Präparate zu lassen und ein Austrocknen zu verhindern.

Anschließend wurden die Präparate zuerst 2 min lang in Waschpuffer I bei 71 °C und dann für 1 min in Waschpuffer II bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurde kurz mit 2x SSC gespült. Zur Gegenfärbung der Zellkerne mit einem blauen Fluoreszenzfarbstoff wurden die Objektträger für 10 min in DAPI-Lösung getaucht und dann erneut mit 2x SSC gespült. Nach Beschichtung mit zwei Tropfen Antifade-Lösung wurden die Präparate mit einem Deckglas abgedeckt.

Aufbewahrt wurden die fertigen Präparate in abgedunkelten Objektträger-Mappen.

### 2.5 Auswertung und Dokumentation

Zur Auswertung der hergestellten FISH-Präparate wurde das Fluoreszenzmikroskop Axioskop (Zeiss/Deutschland) verwendet. Die Bilddokumentation wurde digital mit Hilfe einer CCD-Kamera und der ISIS-Software (MetaSystems) vollzogen. Dabei wurden pro Fall jeweils mindestens 100 Zellen ausgewertet und die Ergebnisse anschließend durch einen zweiten Auswerter (Dr. S. Gesk) nachkontrolliert.

### 2.6 Statistische Tests

Mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS® (Version 19), des McNemar-Tests und des Wilcoxon-Vorzeichentests für verbundene Stichproben wurden die Daten zur Metaphasengewinnung durch die Mitosestimulantien DSP30/IL2 und TPA auf signifikante Unterschiede überprüft. Frau Dr. A. Caliebe aus dem Institut für Medizinische Informatik und Statistik des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel kontrollierte die Ergebnisse der statistischen Tests.

Ergebnisse

**3 Ergebnisse**

**3.1 Genetische Untersuchung mittels Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung und konventioneller Chromosomenanalyse**

**3.1.1 Induktion von Mitosen durch DSP30/IL2 und durch TPA**

Insgesamt konnten in 284 der 305 Fälle (93 %) Metaphasen gewonnen werden. Bei all diesen Fällen wurde auch die FISH durchgeführt. Aufgrund ausbleibender Zellproliferation konnte bei 21 Fälle (7 %<sup>2</sup>) keine KCA durchgeführt werden. In Anbetracht der fehlenden Vergleichsmöglichkeit wurden diese nur durch FISH untersuchten Fälle in der Auswertung der Ergebnisse nicht weiter berücksichtigt. Da die Ergebnisse vor 2013 erhoben wurden, erfolgte die Beschreibung des Karyotyps in der **Tabelle A2** und der **Tabelle A4** nach der alten zytogenetischen Nomenklatur (Shaffer et al., ISCN 2009). Als klonale Aberration wurden in der KCA auch Einzelzellaberrationen gewertet, wenn sich die Aberration mittels FISH bestätigte.

Bei 242 Fälle wurden die Ergebnisse nach Stimulation mit DSP30/IL2 und nach Stimulation mit dem herkömmlichen Mitosestimulans TPA miteinander verglichen (s. **Tabelle A3** im Anhang). In der Kultur mit DSP30/IL2 konnten in 87 % (n=210 von 242) der Fälle Metaphasen gewonnen werden, in der von TPA in 79 % (n=191 von 242). Die dabei durchschnittlich ausgewertete Zahl an Metaphasen betrug für DSP30 8,9 und für TPA 6,2 pro Fall. Der Anteil erfolgreich stimulierter Fälle, der in der KCA einen klonalen Befund lieferte, war durch DSP30/IL2 (46 %, n=112) hochsignifikant größer als durch TPA (29 %, n=69) (p-Wert =  $6,08 \times 10^{-8}$ <sup>3</sup>, s. **Tabelle 5**). Auch die durchschnittlich pro Fall erhaltene Anzahl aberranter Metaphasen war durch DSP30/IL2 mit 3,5 hochsignifikant größer als durch TPA mit 1,2 (p-Wert =  $1,09 \times 10^{-13}$ , s. **Tabelle 6**)<sup>4</sup>.

**Tabelle 5** Anzahl der Fälle mit aberranten Metaphasen in den Zellkulturen von DSP30/IL2 und TPA

|  |      | Aberrante Metaphasen in TPA-Kultur |            | Gesamt      |
|--|------|------------------------------------|------------|-------------|
|  |      | ja                                 | Nein       |             |
| Aberrante Metaphasen in DSP30/IL2-Kultur | ja   | 55                                 | 57         | 112 (46 %)  |
|  | nein | 14                                 | 116        | 130 (54 %)  |
| Gesamt                                   |      | 69 (29 %)                          | 173 (71 %) | 242 (100 %) |
| p-Wert <sup>3</sup>                      |      | $6,08 \times 10^{-8}$              |            |             |

Ergebnisse

**Tabelle 6** Anzahl der aberranten Metaphasen pro Fall in den Zellkulturen von DSP30/IL2 und TPA

|                            | <b>DSP30/IL2</b>         | <b>TPA</b> |
|----------------------------|--------------------------|------------|
| <b>Mittelwert</b>          | 3,5                      | 1,2        |
| <b>Median</b>              | 0                        | 0          |
| <b>Maximum</b>             | 27                       | 20         |
| <b>Minimum</b>             | 0                        | 0          |
| <b>3. Quartil</b>          | 6                        | 1          |
| <b>p-Wert</b> <sup>4</sup> | 1,09 x 10 <sup>-13</sup> |            |

3.1.2 Nachweis von Tumorklonen durch Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung und konventionelle Chromosomenanalyse

Von den 284 Fällen konnten 242 Patienten mit einer CLL, 9 Fälle mit einem LPL und 33 Patienten mit anderen niedrig malignen B-NHL mittels FISH und KCA miteinander verglichen werden. Durch die FISH wurden in 158 von 284 Fällen (56 %) genetische Aberrationen diagnostiziert<sup>5</sup> und in der KCA bei 152 Fällen (54 %).<sup>6</sup> Die Kombination beider Verfahren erhöhte die Rate klonal befundeter Fälle auf 66 % (n=188) (s. **Tabelle 7**).

Der durch die KCA erhobene zytogenetische Befund ergab in 132 Fällen<sup>7</sup> keine genetischen Veränderungen. Bei 27 % (n=36 von 132)<sup>8</sup> dieser Patienten wurden jedoch in der parallel durchgeführten FISH-Untersuchung Aberrationen nachgewiesen. In 18 weiteren Fällen<sup>9</sup>, die sowohl durch die FISH als auch durch die KCA klonal befundet worden waren, konnten einzelne Aberrationen nur durch die FISH aufgefunden werden. Insgesamt ergab die FISH in 19 % (n=54) aller untersuchten Fälle (n=284) Aberrationen, die nicht von der KCA erfasst wurden.<sup>10</sup>

In insgesamt 126 Fällen wurden durch die FISH keine Aberrationen gefunden<sup>11</sup>. Bei 24 % dieser Fälle (n=30)<sup>12</sup> ergaben die Ergebnisse der KCA dennoch einen klonalen Befund. Bei weiteren 61 Fällen<sup>13</sup>, die sowohl durch die KCA als auch durch die FISH klonal befundet worden waren, zeigten sich mittels KCA zusätzliche Aberrationen, die durch die FISH nicht erkannt worden waren. Insgesamt wurden in 32 % (n=91) aller untersuchten Fälle (n=284) durch die KCA mehr genetische Veränderungen identifiziert als durch die FISH (s. **Tabelle A4**). In 84 % (n=76) dieser Fälle handelte es sich bei den nur durch die KCA diagnostizierten Aberrationen um Ereignisse in Bereichen, für die in der FISH-Routinediagnostik keine DNA-Sonden eingesetzt worden waren.



Ergebnisse

**Tabelle 7** Anzahl der Fälle mit und ohne Nachweis eines Klones in der FISH und in der KCA

|                         |      | Klonnachweis in der FISH |            | Gesamt      |
|-------------------------|------|--------------------------|------------|-------------|
|                         |      | ja                       | nein       |             |
| Klonnachweis in der KCA | ja   | 122                      | 30         | 152 (54 %)  |
|                         | nein | 36                       | 96         | 132 (46 %)  |
| Gesamt                  |      | 158 (56 %)               | 126 (44 %) | 284 (100 %) |

3.1.3 Vergleich der Ergebnisse der Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung mit denen der konventionellen Chromosomenanalyse

Die Ergebnisse der genetischen Untersuchungen aller 284 Fälle zusammengenommen ergaben mittels FISH eine Summe von 191<sup>14</sup> und mittels KCA eine Summe von 325 Aberrationen<sup>15</sup>. Die durchschnittlich gefundene Anzahl der identifizierten Veränderungen betrug für die FISH 0,7 (bezogen auf 284 Fälle; Median: 1, Range: 0-3) und für die KCA 1,1 (Median: 1, Range: 0-10).

In **Tabelle 8** werden die Aberrationen, für die in der FISH DNA-Sonden eingesetzt wurden, bezüglich ihrer jeweils in FISH und KCA diagnostizierten Häufigkeit gegenübergestellt. Daneben wird die Häufigkeit für die Kombination beider Verfahren aufgeführt. Die **Abbildungen 1-5** veranschaulichen, in welchem Ausmaß sich die einzelnen Aberrationen von jeweils nur einem der beiden Verfahren bzw. von zugleich beiden diagnostizieren ließen.

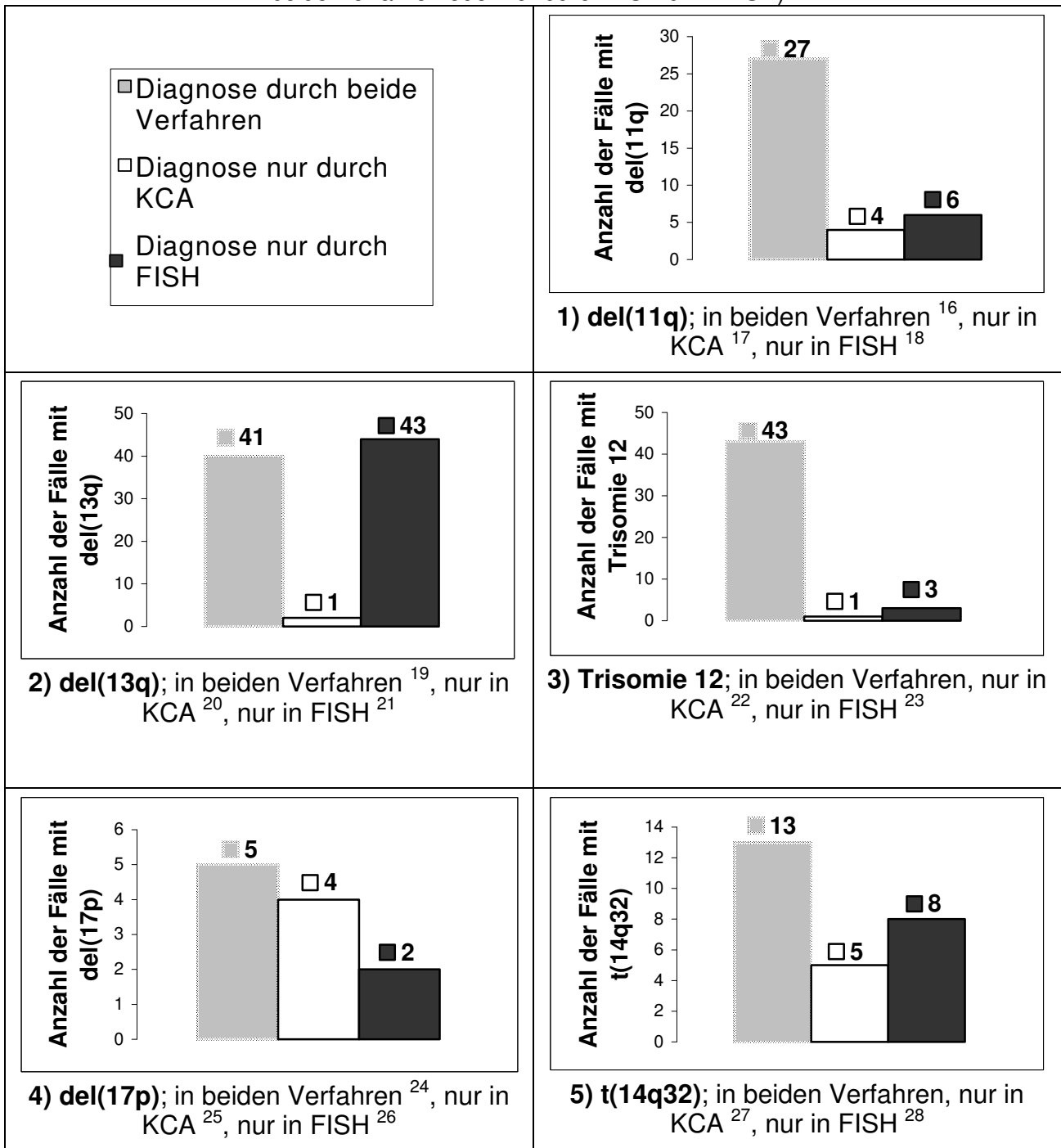
**Tabelle 8** Vergleich von Ergebnissen der FISH mit denen der KCA

| Aberration      | Diagnostiziert durch FISH |      | Diagnostiziert durch KCA |      | Diagnostiziert durch die Kombination beider Verfahren |      |
|-----------------|---------------------------|------|--------------------------|------|---|------|
|                 | n                         | %    | n                        | %    | n   | %    |
| <b>del(11q)</b> | 33                        | 12 % | 31                       | 11 % | 37  | 13 % |
| <b>+12</b>      | 46                        | 16 % | 44                       | 15 % | 47  | 17 % |
| <b>del(13q)</b> | Gesamt: 84                | 30 % | 42                       | 15%  | 85  | 30 % |
|                 | <u>RB1</u> : 52           | 24 % |                          |      |   |      |
|                 | <u>D13S319</u> : 40       | 47 % |                          |      |   |      |
|                 | <u>D13S25</u> : 38        | 46 % |                          |      |   |      |
| <b>t(14q32)</b> | 21                        | 7 %  | 18                       | 6 %  | 26  | 9 %  |
| <b>del(17p)</b> | 7                         | 2 %  | 9                        | 3 %  | 11  | 4 %  |
| <b>Gesamt</b>   | 191                       |      | 144                      |      | 206   |      |

del=Deletion, t=Translokationsereignis, +=Trisomie, n=Anzahl, \*=alle Sonden aus dem Bereich 13q14

Ergebnisse

**Abbildung 1-5** Anzahl der Fälle mit den jeweiligen Aberrationen (nachgewiesen durch beide Verfahren oder nur durch KCA bzw. FISH)



3.1.4 Ergebnisse der konventionellen Chromosomenanalyse

3.1.4.1 Numerische Chromosomenaberrationen

In **Tabelle 9** sind die wiederholt in der KCA diagnostizierten numerischen Chromosomenaberrationen zusammengefasst. **Abbildung 6** zeigt das im Rahmen der KCA erstellte Karyogramm des Falles B20 mit einer Trisomie 12.

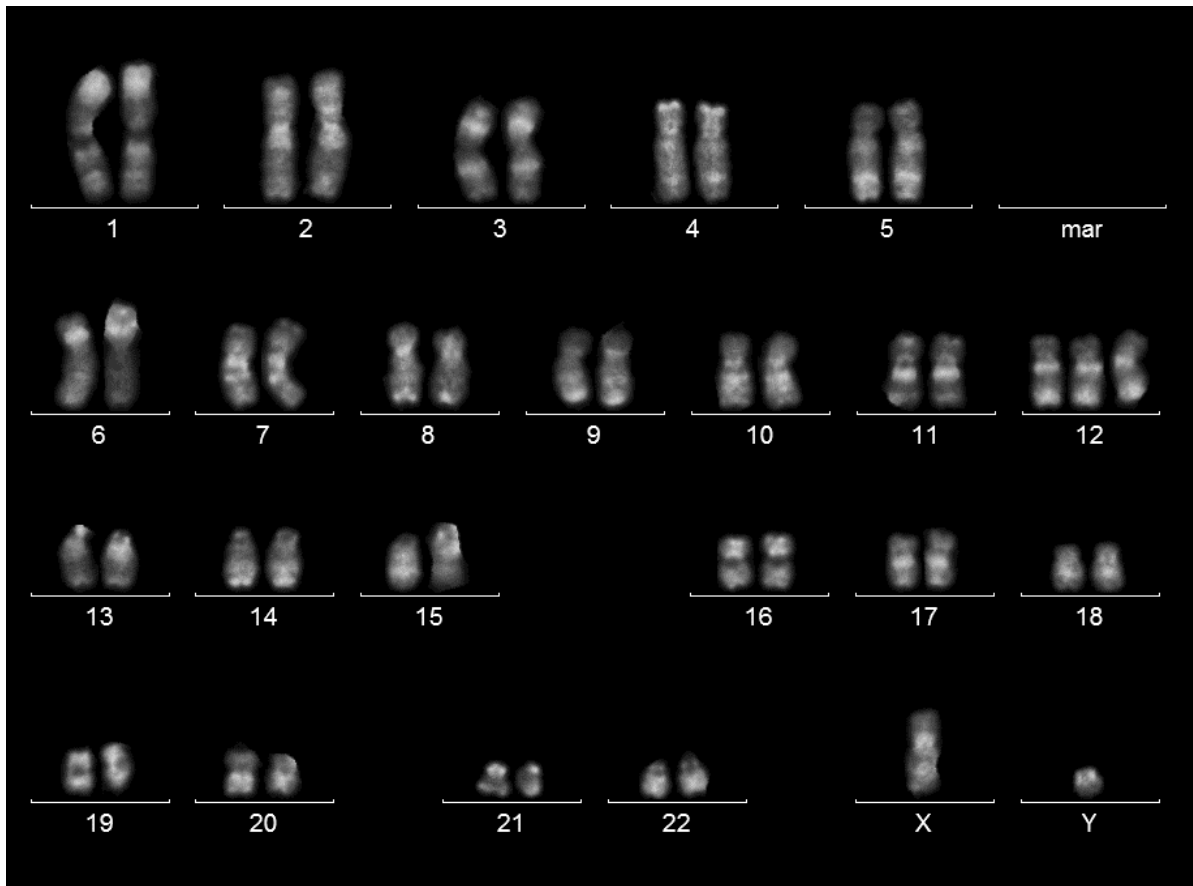
Ergebnisse

**Tabelle 9** Rekurrente numerische Chromosomenaberrationen in der KCA

| <b>Betroffenes Chromosom (Chrom.)</b> | <b>Inzidenzrate von Trisomien (bezogen auf alle 284 Fälle)</b> | <b>Inzidenzrate von Monosomien (bezogen auf alle 284 Fälle)</b> | <b>Anmerkung</b>   |
|---------------------------------------|--|---|--|
| <b>Chrom. 12</b>                      | 14 % (n=40)  | -   | In 4 weiteren Fällen wurde ein Zugewinn von 12q nachgewiesen. <sup>29</sup>  |
| <b>Markerchrom.</b>                   | 2,5 % (n=7)  | -   | -  |
| <b>Chrom. 19</b>                      | 2,5 % (n=7)  | -   | Die Fälle mit einer Trisomie 19 (n=6) zeigten auch eine Trisomie 12. Bei einem weiteren Fall handelt es sich um eine partielle Trisomie 19 ohne begleitende Trisomie 12. |
| <b>Chrom. Y</b>                       | -  | 3 % der untersuchten männlichen Fälle (n=6 von n=204)           | Der Altersmedian der Fälle betrug 67,5 (Range 53 - 78). <sup>30</sup>  |
| <b>Chrom. 18</b>                      | 1 % (n=4)  | -   | 3 der Fälle wiesen noch einen Zugewinn anderer Chromosomen auf. <sup>31</sup>  |
| <b>Chrom. 3</b>                       | 1 % (n=3)  | <1 % (n=1)  | -  |
| <b>Chrom. 9</b>                       | <1 % (n=1)   | 1 % (n=3)   | -  |
| <b>Chrom. 17</b>                      | -  | <1 % (n=2)  | -  |
| <b>Chrom. X</b>                       | <1 % (n=1)   | <1 % (n=2)  | -  |
| <b>Chrom. 4</b>                       | <1 % (n=2)   | -   | -  |
| <b>Chrom. 5</b>                       | <1 % (n=2)   | -   | -  |
| <b>Chrom. 7</b>                       | <1 % (n=2)   | <1 % (n=1)  | -  |
| <b>Chrom. 8</b>                       | <1 % (n=2)   | -   | -  |

Ergebnisse

**Abbildung 6** Konventionelle Chromosomenanalyse mittels R-Banden im Fall B20  
(nach ISCN 2013: 47,XY,+12)



3.1.4.2 Strukturelle unbalancierte Chromosomenaberrationen

Die wiederholt in der KCA diagnostizierten unbalancierten strukturellen Chromosomenaberrationen sind in **Tabelle 10** zusammengefasst.

Ergebnisse

**Tabelle 10** Strukturelle unbalancierte Chromosomenaberrationen in der KCA

| <b>Betroffene Genregion</b> | <b>Inzidenzrate struktureller Verluste genetischen Materials</b> | <b>Inzidenzrate anderer Aberrationen in dieser Region</b>             | <b>Anmerkung</b>  |
|-----------------------------|--|---|---|
| <b>13q14</b>                | 14 % (n=41)  | Monosomie 13:<br><1 % (n=1)   | Häufigste strukturelle Aberration <sup>32</sup>                     |
| <b>11q22~24</b>             | 11 % (n=30)  | Monosomie 11:<br><1% (n=1)  | Zweithäufigste strukturelle Aberration <sup>33</sup>                |
| <b>6q21~22/<br/>6q27</b>    | 5% (n=13)  | Monosomie 6:<br><1% (n=1)   | Retrospektive FISH der Region im Rahmen dieser Arbeit <sup>34</sup> |
| <b>7q21</b>                 | 3 % (n=6)  | Trisomie 7:<br><1 % (n=2) ,<br>Monosomie 7:<br><1% (n=1)              | Retrospektive FISH der Region <sup>35</sup>                         |
| <b>17p13</b>                | 3 % (n=7)  | Monosomie 17:<br><1 % (n=2)   | s. Endnote <sup>36</sup>  |
| <b>8p21~22</b>              | 2 % (n=6)  | Trisomie 8:<br><1 % (n=2)   | Retrospektive FISH der Region <sup>37</sup>                         |
| <b>4q34~35</b>              | 2 % (n=5)  | -   | s. Endnote <sup>38</sup>  |
| <b>18p11.32</b>             | 2 % (n=6)  | Trisomie 18:<br>1 % (n=4),<br>partielle<br>Trisomie 18:<br><1 % (n=1) | Retrospektive FISH der Region <sup>39</sup>                         |
| <b>9p23~24</b>              | 1 % (n=3)  | Monosomie 9:<br>1 % (n=3),<br>partielle<br>Trisomie 9:<br><1 % (n=1)  | Retrospektive FISH der Region <sup>40</sup>                         |

Jeweils bezogen auf alle 284 Fälle. Für nähere Angaben zu den jeweiligen Verlustmechanismen s. Endnoten.

### 3.1.4.3 Translokationen

Es wurden 43 reziproke (zytogenetisch balanciert erscheinende) Translokationen gezählt, die sich auf 13 % (n=37) der untersuchten Fälle verteilten. <sup>41</sup> Insgesamt 67 unbalancierte Translokationen fanden sich bei 13 % (n=40) der untersuchten Fälle. <sup>42</sup> Bei 23 % aller Fälle (66 von 284 Fälle) lagen balancierte und/oder unbalancierte Translokationen vor <sup>43</sup>.

Drei Chromosomenregionen waren wiederholt an Translokationen beteiligt. Der für die schweren Ketten der Immunglobuline kodierende IgH-Genlocus auf der Chromosomenbande 14q32 war bei 16 der untersuchten Fälle in reziproke

## Ergebnisse

Translokationen eingebunden und in zwei Fällen in unbalancierte<sup>44</sup> (insgesamt 18 Fälle, 6 %) <sup>45</sup>.

Die Chromosomenregion 13q14 war mit 5<sup>46</sup> der untersuchten Fälle die am zweithäufigsten an reziproken Translokationen beteiligte Region. Die zugehörigen Partnergene der jeweiligen Translokationen unterschieden sich hier in allen Fällen. In einem weiteren Fall war die Region 13q14 an einer unbalancierten Translokation beteiligt (A21) (insgesamt 6 Fälle, 2 %).

Die Genregion 22q11 der leichten  $\lambda$ -Ketten war in zwei Fällen<sup>47</sup> an reziproken Translokationen und in einem Fall (A47) an einer unbalancierten beteiligt (insgesamt 3 Fälle, 1 %).

### 3.1.5 Ergebnisse der Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung

#### 3.1.5.1 Ergebnisse der Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung mit fünf DNA-Sonden

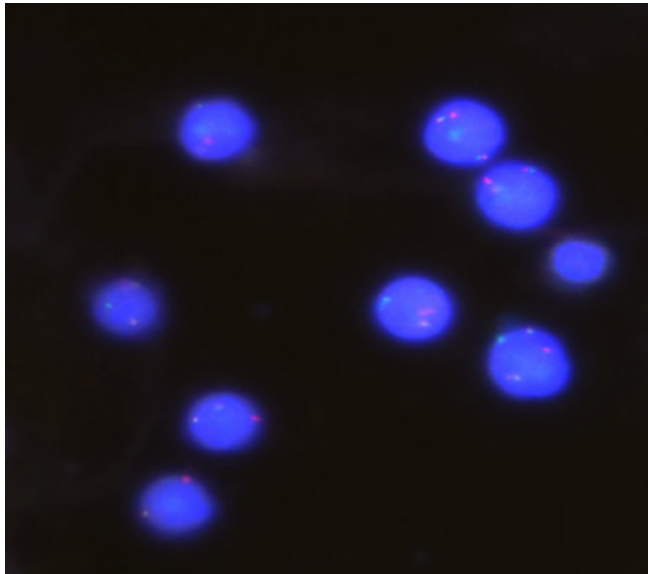
Die Inzidenzen der einzelnen durch FISH nachgewiesenen Aberrationen sowie die Häufigkeiten ihres alleinigen Auftretens und ihres Auftretens in Kombinationen mit jeweils anderen Aberrationen sind für alle 284 Patienten und anschließend aufgetrennt in die Diagnosegruppen „CLL“, „B-NHL“ und „LPL“ in der Reihenfolge ihres Auftretens in **Tabelle 12** zusammengefasst.

Bei den 284 Patienten war die häufigste durch FISH diagnostizierte genetische Veränderung die Deletion 13q, gefolgt von der Trisomie 12, der Deletion 11q, Translokationen in 14q32 (s. **Abbildungen 7 und 8**) und schließlich der Deletion 17p (s. **Tabelle 12**).<sup>48</sup>

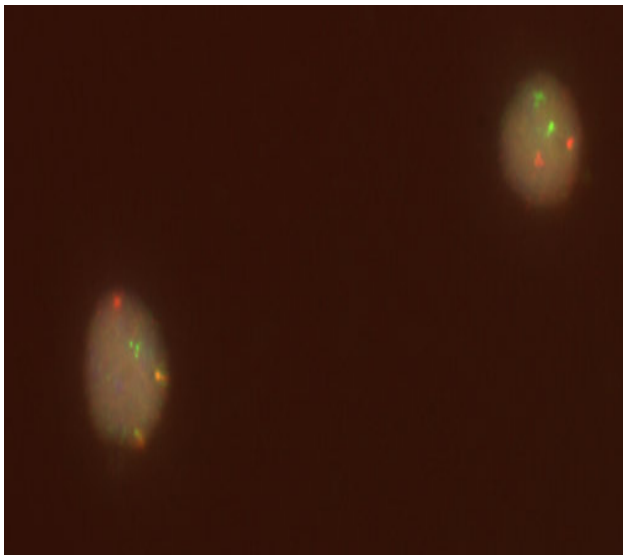
Die Detektionsraten der Deletion 13q variierten abhängig vom unterschiedlichen Einsatz der drei FISH-Sonden für die Chromosomenregion 13q14 (s. **Tabelle 11**).

Ergebnisse

**Abbildung 7** Translokation t(14;18) in der FISH



**Abbildung 8** IgH/BCL2-Fusion im Fall A20: rot – BCL-Genort, grün – IgH-Genort



**Tabelle 11** Einsatz der verschiedenen DNA-Sonden für 13q14 und die Ergebnisse

| <b>Eingesetzte FISH-Sonde</b> | <b>Zahl der untersuchten Fälle</b> | <b>Zahl der Fälle mit Aberrationen</b> | <b>Anteil aberranter Fälle</b> |
|-------------------------------|------------------------------------|--|--------------------------------|
| <b>RB1</b>                    | 215                                | 52                                     | 24 %                           |
| <b>D13S319</b>                | 85                                 | 40                                     | 47 %                           |
| <b>D13S25</b>                 | 83                                 | 38                                     | 46 %                           |

Ergebnisse

**Tabelle 12** Inzidenz der durch FISH diagnostizierten Aberrationen und die Häufigkeit ihres Auftretens alleine und in Kombination mit anderen Aberrationen, aufgeführt für die Gesamtheit aller Fälle und anschließend für die einzelnen Diagnosegruppen

| <b>Inzidenz der genetischen Aberrationen unter allen 284 Fällen</b>          |                           |                                   |          |     |          |          |          |
|--|---------------------------|-----------------------------------|----------|-----|----------|----------|----------|
| Aberration   | Inzidenz<br>gesamt<br>(n) | Keine<br>weiteren<br>Aberrationen | del(11q) | +12 | del(13q) | t(14q32) | del(17p) |
| del(13q)   | 84 (30 %)                 | 61                                | 13       | 6   | -        | 4        | 1        |
| +12  | 46 (16 %)                 | 31                                | 3        | -   | 6        | 7        | 0        |
| del(11q)   | 33 (12 %)                 | 17                                | -        | 3   | 13       | 0        | 0        |
| t(14q32)   | 21 (7 %)                  | 10                                | 0        | 7   | 4        | -        | 0        |
| del(17p)   | 7 (2 %)                   | 6                                 | 0        | 0   | 1        | 0        | -        |
| Summe  | 191                       | -                                 | -        | -   | -        | -        | -        |
| <b>Inzidenz der genetischen Aberrationen unter den CLL – Fällen (n=242)</b>  |                           |                                   |          |     |          |          |          |
| Aberration   | Inzidenz<br>gesamt<br>(n) | Keine<br>weiteren<br>Aberrationen | del(11q) | +12 | del(13q) | t(14q32) | del(17p) |
| del(13q)   | 78 (32 %)                 | 57                                | 12       | 5   | -        | 4        | 1        |
| +12  | 39 (16 %)                 | 25                                | 3        | -   | 5        | 7        | 0        |
| del(11q)   | 32 (13 %)                 | 17                                | -        | 3   | 12       | 0        | 0        |
| t(14q32)   | 16 (7 %)                  | 5                                 | 0        | 7   | 4        | -        | 0        |
| del(17p)   | 5 (2 %)                   | 4                                 | 0        | 0   | 1        | 0        | -        |
| Summe  | 170                       | -                                 | -        | -   | -        | -        | -        |
| <b>Inzidenz der genetischen Aberrationen unter den B-NHL – Fällen (n=33)</b> |                           |                                   |          |     |          |          |          |
| Aberration   | Inzidenz<br>gesamt<br>(n) | Keine<br>weiteren<br>Aberrationen | del(11q) | +12 | del(13q) | t(14q32) | del(17p) |
| +12  | 7 (21 %)                  | 6                                 | 0        | -   | 1        | 0        | 0        |
| del(13q)   | 6 (18 %)                  | 4                                 | 1        | 1   | -        | 0        | 0        |
| t(14q32)   | 4 (12 %)                  | 4                                 | 0        | 0   | 0        | -        | 0        |
| del(17p)   | 2 (6 %)                   | 2                                 | 0        | 0   | 0        | 0        | -        |
| del(11q)   | 1 (3 %)                   | 0                                 | -        | 0   | 1        | 0        | 0        |
| Summe  | 20                        | -                                 | -        | -   | -        | -        | -        |
| <b>Inzidenz der genetischen Aberrationen unter den LPL – Fällen (n=9)</b>    |                           |                                   |          |     |          |          |          |
| Aberration   | Inzidenz<br>gesamt<br>(n) | Keine<br>weiteren<br>Aberrationen | del(11q) | +12 | del(13q) | t(14q32) | del(17p) |
| t(14q32)   | 1 (11%)                   | 1                                 | 0        | 0   | 0        | -        | 0        |
| In dieser Gruppe traten keine weiteren Aberrationen auf.                     |                           |                                   |          |     |          |          |          |

Die Summen der Häufigkeiten des Auftretens alleine und in Kombinationen (in einer Zeile oder Spalte der Tabelle) stimmen nicht unbedingt mit den „Inzidenzen gesamt“ der jeweiligen Aberration überein, da z.T. mehr als eine Kombination pro Fall auftrat.



Ergebnisse

3.1.5.2 Tumorzellgehalt der untersuchten Gewebe

Um Informationen über den Grad der Tumordinfiltration der analysierten Fälle zu erhalten, wurde in der vorliegenden Arbeit der durch die FISH-Untersuchung jeweils ermittelte Anteil klonaler Zellen ausgewertet. Der durchschnittliche Grad der Tumordinfiltration aller durch FISH klonal befundeter Fälle betrug 58 %. Bei den Fällen, die nur im Befund der FISH klonale Ergebnisse lieferten, nicht jedoch in der KCA, lag die Tumordinfiltrationsrate bei 55 %.

3.2 Ergebnisse der retrospektiv durchgeführten Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung

Im experimentellen Teil dieser Arbeit sollte der Frage nachgegangen werden, ob die Bruchpunkte, die zunächst nur durch die KCA diagnostiziert werden konnten, durch den gezielten Einsatz entsprechender Sonden auch durch FISH gefunden werden können.

In **Tabelle 13** werden die Ergebnisse der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten retrospektiven FISH zusammengefasst. Eine ausführliche Darstellung der Ergebnisse erfolgt in **Tabelle A5** im Anhang.

**Tabelle 13** Zusammenfassung der Ergebnisse der retrospektiven FISH

| <b>Untersuchte Genregion</b> | <b>Anteil der durch FISH bestätigten Fälle mit strukturellen Genverlusten</b> | <b>Anteil der durch FISH bestätigten Fälle mit numerischen Aberrationen</b> |
|------------------------------|---|---|
| <b>6q21/6q27</b>             | 10 von 13 <sup>49</sup>   | <u>Monosomie 6</u> : 0 von 1  |
| <b>7q21</b>                  | 1 von 5   | <u>Trisomie 7</u> : 2 von 2 ,<br><u>Monosomie 7</u> : 0 von 1 <sup>50</sup> |
| <b>8p21.3</b>                | 5 von 6 <sup>51</sup>   | <u>Trisomie 8</u> : 0 von 2 <sup>52</sup>                                   |
| <b>18p11.32</b>              | 3 von 5 <sup>53</sup>   | <u>Trisomie 18</u> : 4 von 4  |
| <b>9p24</b>                  | 0 von 2   | <u>Monosomie 9</u> : 1 von 4 <sup>54</sup><br><u>Trisomie 9</u> : 0 von 1   |

## Ergebnisse

### 3.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

Insgesamt konnten in 284 der 305 untersuchten Fälle (93 %) Metaphasen gewonnen werden. Bei all diesen Fällen wurde auch die FISH durchgeführt.

Zur Untersuchung der Effektivität des Mitosestimulans DSP30/IL2 erfolgte zusätzlich ein Vergleich mit dem herkömmlichen Mitosestimulans TPA. Insgesamt wurden 242 der 305 Fällen miteinander verglichen. In den Kulturen mit DSP30/IL2 wurden bei 87 % (n= 210) der Fälle Metaphasen gewonnen, in den Kulturen mit TPA in 79 % (n=191). Durchschnittlich konnten im Rahmen der Routinediagnostik nach Stimulation mit DSP30/IL2 8,9 Metaphasen pro Fall ausgewertet werden, nach Stimulation mit TPA 6,2 Metaphasen. Es wurden durch die Kultivierung mit DSP30/IL2 hochsignifikant mehr klonale Metaphasen gewonnen (46 %, n=112) als durch die TPA-Kultivierung (29 %, n=69) (p-Wert =  $6,08 \times 10^{-8}$ ). Die durchschnittlich pro Fall erzielte Anzahl aberranter Metaphasen war durch DSP30/IL2 mit 3,5 ebenfalls hochsignifikant höher als durch TPA mit 1,2 (p-Wert =  $1,09 \times 10^{-13}$ ).

Es wurden die diagnostischen Ergebnisse der parallel durchgeführten KCA und der FISH an 242 Fällen mit einer CLL, an 9 Fällen mit einem LPL und 33 Fällen mit anderen niedrigmalignen B-Zell-Lymphomen miteinander verglichen (n=284). In 54 % (n= 152) der Fälle konnten durch die KCA Chromosomenveränderungen gefunden werden, durch die FISH in 56 % (n=158). Durch die Kombination beider Verfahren erhöhte sich die Rate klonaler Befunde auf 66 % (n=188). Insgesamt fanden sich mittels KCA 325 Aberrationen und mittels FISH 191. Durch die KCA wurden 1,1 und durch die FISH durchschnittlich 0,7 genetische Veränderungen gefunden (bezogen auf 284 Fälle). Durch die FISH-Diagnostik fanden sich in 19 % (n=54) aller untersuchten Fälle Aberrationen, die nicht von der KCA erfasst wurden. Die KCA fand in 32 % (n=91) aller untersuchten Fälle mehr genetische Veränderungen als die FISH. Bei 84 % (n=76 von 91) dieser Fälle wiederum handelte es sich bei den nur durch die KCA diagnostizierten Aberrationen um Ereignisse in Bereichen, für die in der FISH-Routinediagnostik keine DNA-Sonden eingesetzt werden.

Die häufigste genetische Veränderung in der FISH-Diagnostik war die Deletion 13q (bei 30 % der Fälle, n=84), gefolgt von der Trisomie 12 (bei 16 % der Fälle, n=46), der Deletion 11q (12 %, n=33), Translokationen in 14q32 (7 %, n=21) und schließlich

## Ergebnisse

der Deletion 17p (2 %, n=7). Die Detektionsrate der Deletion 13q14 hing stark von der eingesetzten FISH-Sonde ab. Durch die Sonden D13S319 und D13S25 wurde sie bei 47 bzw. 46 %, durch die Sonde RB1 bei 24 % der jeweils untersuchten Fälle diagnostiziert.

Durch die KCA wurden sowohl insgesamt deutlich mehr Aberrationen als in der FISH gefunden (325 bzw. 191) als auch durchschnittlich pro Fall (1,1 bzw. 0,7). Komplex aberrante Karyotypen (drei oder mehr Aberrationen) wurden durch die KCA in 13 % (n=37 von 284) und durch die FISH in 0,4 % (n=1 von 284) der Fälle erhoben. Die Gesamtzahl reziproker Translokationen in der KCA betrug 43, verteilt auf 13 % (n=37 von 284) der untersuchten Fälle. Des Weiteren fanden sich 67 unbalancierte Translokationen, verteilt auf 13 % (n=40) der untersuchten Fälle. Insgesamt 23 % der untersuchten Fälle (66 von 284) wiesen Translokationen auf (balanciert und/oder unbalanciert). Mittels FISH konnten lediglich bei 7 % der Fälle reziproke Translokationen (n=21 von 284) unter Beteiligung des IgH-Locus im Bereich 14q32 nachgewiesen werden.

Im zweiten experimentellen Teil dieser Arbeit wurden zur Verifizierung einiger der in der KCA rekurrent diagnostizierten Aberrationen retrospektiv 46 FISH-Untersuchungen an 35 Patientenfällen durchgeführt. Es sollte der Frage nachgegangen werden, ob die Bruchpunkte, die zunächst nur durch die KCA diagnostiziert werden konnten, durch den gezielten Einsatz entsprechender Sonden auch durch FISH gefunden werden können. Für die Genregion 6q21/6q27 wurde in 10 von 14 Fällen die durch die KCA vordiagnostizierten Befunde bestätigt. Für die Region 7q21 in 3 von 8, für die Region 8p21.3 in 5 von 8 und für die Region 9p24 in einem von 7 Fällen und für die Region 18p11.32 in 7 von 9.

## Diskussion

### **4 Diskussion**

Die konventionelle Chromosomenanalyse (KCA) in der genetischen Diagnostik hämatologischer Neoplasien erlaubt einen Überblick über alle mikroskopisch sichtbaren genetischen Veränderungen. Hinderlich zur Durchführung der KCA an CLL-Zellen war bisher deren niedrige Proliferationsrate.

Ein vor kurzem eingeführtes Protokoll zur Kultivierung und Stimulation der B-Zellen in vitro mit DSP30 in Kombination mit Interleukin-2 (IL2) ermöglicht nun eine höhere Ausbeute an aberranten Metaphasen (Mayr et al., 2006; Dicker et al., 2006; Haferlach et al., 2007a).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte deshalb der Einsatz von DSP30/IL2 in der zytogenetischen Diagnostik der CLL und verwandter niedrig maligner B-Zell-Lymphome analysiert werden. Von Interesse war, ob hiermit die KCA in der Routinediagnostik möglich ist und zytogenetische Veränderungen, die mit dem CLL-FISH-Panel nicht nachgewiesen werden, jetzt mit der KCA besser identifiziert werden können.

#### 4.1 Vergleich der Mitosestimulanzien DSP30/IL2 und TPA

Die hochsignifikant größere Anzahl von Fällen mit aberranten Metaphasen in der DSP30/IL2-Kultur verglichen mit der TPA-Kultur zeigt die mitogene Potenz von DSP30/IL2. Die durchschnittliche Anzahl an aberranten Metaphasen pro Fall in der TPA-Kultur lässt mit nur 1,2 keine Aussage über die Existenz eines Klonen zu, da laut Definition mindestens zwei aberrante Metaphasen pro Fall nachweisbar sein müssten. In den Zellkulturen mit DSP30/IL2 mit durchschnittlich 3,5 aberranten Metaphasen pro Fall sind Nachweis und Beurteilung von Klonalitätsverhältnissen gut durchführbar. So konnte ein klonaler Befund wesentlich häufiger mittels DSP30/IL2 als nach Stimulation mit TPA erhoben werden [46 % (112 von 242 Fälle) versus 29 % (69 von 242 Fälle)]. Ähnliche Daten werden von Heerema et al. (2010) erhoben. In dieser Studie ergab die Stimulation der Blutproben von CLL-Patienten unter fast identischen Bedingungen den Nachweis eines klonalen Befundes in 64 % (147 von 229) der Fälle nach Stimulation allein mit DSP30 im Gegensatz zur Stimulation mit herkömmlichen B-Zell-Mitogenen [48 % (110 von 229) der Fälle]. Struski et al. (2009) berichten von Patienten mit niedrigmalignen Lymphomen, dass

## Diskussion

die Anzahl der Metaphasen pro Fall nach Stimulation mit DSP30/IL2 niedriger war als nach TPA. Sie konnten aber mit der neuen Methode ebenfalls signifikant häufiger aberrante Metaphasen nachweisen.

### 4.2 Klonale Befunde nach Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung und konventioneller Chromosomenanalyse

#### 4.2.1 Die Häufigkeit klonaler Befunde im Vergleich zu themenverwandten Studien

Die Rate klonaler Befunde unter den parallel mit beiden Verfahren untersuchten Fällen war durch die FISH mit 56 % höher als durch die KCA mit 54 %. Zu beachten ist dabei, dass bei einem Teil der analysierten Patientenfälle (n= 215) die Deletion 13q mit der DNA-Sonde RB1 nachgewiesen wurde. Während mit der DNA-Sonde RB1 lediglich in 24 % (52 von 215) der Patienten die Deletion 13q nachgewiesen werden konnte, erlauben die DNA-Sonden D13S319 und D13S25 den Nachweis in 47 % (40 von 85) und 46 % (38 von 83) der Patienten (s. **Tabelle 11**). Bei Annahme, dass der Nachweis der Deletion 13q sich mittels FISH durch eine geeignete DNA-Sonde anstelle der DNA-Sonde RB1 fast verdoppeln würde (104 anstelle 52 von 215), läge die Anzahl der durch FISH diagnostizierten Chromosomenveränderungen bei 243 (191 + 52). Somit wäre die Detektionsrate der Deletion 13q mittels FISH und die Gesamtrate klonaler Befunde durch die FISH wesentlich größer gewesen.

Andere Arbeitsgruppen zeigen insgesamt eine höhere Rate klonaler Befunde bei Patienten mit einer CLL mittels FISH und KCA. Haferlach et al. (2007a) wiesen klonale Befunde nach FISH bei 78 % und nach KCA bei 83 % der Patienten nach. In der Studie von Mayr et al. (2006) zeigten 81 % der Patienten klonale Befunde mittels FISH und 82 % mittels KCA. Der Grund für diese Abweichungen liegt möglicherweise bei den engeren Einschlusskriterien, die hier für die Aufnahme der Patientenfälle in die Auswertung jeweils festgelegt wurden. So wurden in der Studie von Haferlach et al. (2007a) nur Patienten mit einer CLL nach Immunphänotypisierung untersucht. Somit wurde nur Zellmaterial untersucht, in dem eine Tumordinfiltration zuvor gesichert worden war. In der Studie von Mayr et al. (2006) wurden nur Patienten untersucht, die die Diagnose-Richtlinien der CLL-Arbeitsgruppe des National Cancer Institutes erfüllten (Cheson et al., 1996).

## Diskussion

In der vorliegenden retrospektiv angelegten Arbeit wurden hingegen Proben von Patienten in die Auswertung aufgenommen, die den Diagnosegruppen „CLL“, „LPL“ oder „B-NHL“ zuzuordnen waren (s. Kap. 2.1). Dabei wurde die Diagnose überwiegend von den Einsendern gestellt. Eine laborinterne Auswahl der Patientenproben nach Diagnosekriterien bzw. nach Immunphänotypisierung erfolgte nicht. Alleine dadurch lässt sich der geringe Tumorzellgrad von 58 % erklären (s. Kap. 3.1.5.2). Bei niedriger Tumordinfiltration kann in der FISH-Diagnostik die Nachweisgrenze für klonale Befunde unterschritten werden (hier auf 5 % aberrante Zellen festgelegt), so dass ein unauffälliger Befund erhoben wird. Allerdings würde die Rate der durch FISH nachgewiesenen klonalen Befunde unter Berücksichtigung geeigneter DNA-Sonden zum Nachweis einer Deletion 13q den Häufigkeiten der anderen Arbeitsgruppe eher entsprechen (s. oben). Dann wäre die Detektionsrate mittels FISH trotz niedriger Tumordinfiltration sehr hoch. Da bei der KCA weniger Zellen für die Auswertung als in der FISH-Diagnostik zur Verfügung stehen, ist ein klonaler Befund hier unwahrscheinlicher. Eine niedrige Tumordinfiltration kann deshalb mit der Nichterfassung von genetischen Aberrationen in der KCA assoziiert sein.

### 4.2.2 Klonalitätsraten durch den Einsatz der unterschiedlichen Nachweisverfahren

Durch den parallelen Einsatz von FISH und KCA erhöhte sich die Rate klonaler Befunde von 56 % (FISH) und 54 % (KCA) auf 66 %. Diese Häufigkeit wäre ggf. höher, wenn für den Nachweis der Deletion 13q zusätzlich die DNA-Sonden D13S319 und/oder D13S25 eingesetzt worden wären (s. Kapitel 4.2.1). In einer vergleichbaren Studie berichten Kotkowska et al. (2011) ebenfalls, dass die Kombination beider Verfahren einen deutlichen Vorteil bietet. In ihrer CLL-Studie erhöhte sich die Rate klonaler Befunde von 85 % (FISH) und 75 % (KCA) auf 90 %.

Mittels FISH wurden insgesamt 191 genetische Veränderungen nachgewiesen und 325 mittels KCA.<sup>55</sup> Trotz der Annahme, dass durch die FISH mittels geeigneter DNA-Sonde zum Nachweis einer Deletion 13q ggf. mehr genetische Veränderungen nachweisbar gewesen wären, lag sowohl die Gesamtzahl der Aberrationen als auch die Rate an Aberrationen pro Fall durch die KCA höher als durch die FISH.<sup>56</sup> In der CLL-Studie von Haferlach et al. 2007a zeigte sich ebenfalls dieser Unterschied, hier

## Diskussion

konnten bei 506 Patienten mit einer CLL insgesamt 502 genetische Veränderungen in der FISH und 832 in der KCA nachgewiesen werden.

Von einem „komplex aberranten Karyotyp“ spricht man, wenn das Genom einer Zelle drei oder mehr genetische Veränderungen aufweist. Nur bei einem Patienten (0,4 %) wurden in der FISH-Routinediagnostik zugleich drei Aberrationen gefunden. Durch die KCA hingegen waren dies 13 % (n=37 von 284 Fällen) der untersuchten Fälle. CLL-Patienten mit einem komplex aberranten Karyotyp weisen häufig einen ungünstigen Krankheitsverlauf auf und es liegen häufig gleichzeitig weitere ungünstige Prognoseparameter vor (Dicker et al., 2005; Haferlach et al., 2007a; Dicker et al., 2006; Buhmann et al., 2002; Mayr et al., 2006; Kujawski et al., 2008).<sup>57</sup> Somit kann die KCA prognostisch ungünstige Chromosomenveränderungen nachweisen, welche die üblicherweise in der Routinediagnostik eingesetzten Sonden nicht erfassen.

### 4.2.3 Erfassung von fünf Aberrationen nach Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung (Standarddiagnostik)

Die jeweilige Prävalenzratio der fünf untersuchten genetischen Veränderungen weicht im direkten Vergleich von denen bereits publizierter Studien<sup>58</sup> ab. Die hier untersuchten Patientenfälle zeigten als häufigste nachgewiesene genetische Aberration die Deletion in 13q14, gefolgt von der Trisomie 12, der strukturellen Aberration im Bereich 14q32, der Deletion in 11q22.3 und der Deletion in 17p13. Es zeigt sich ein anderes Verteilungsmuster genetischer Veränderungen als bei den Fällen der Vergleichspublikationen. Der Anteil an Patienten mit Deletionen in 13q14 ist niedriger. Dies ist alleine dadurch zu erklären, dass überwiegend die DNA-Sonde RB1 eingesetzt wurde (s. Kapitel 4.1.2), (s. **Tabelle 14** und **Tabelle 15**).

Die Deletion 13q14 als Einzelaberration ist mit einer medianen Überlebenszeit von 133 bis 292 Monaten nach Diagnosestellung mit einem günstigen Krankheitsverlauf assoziiert (Döhner et al., 2000; Oscier et al., 2002). Die Deletion 13q korreliert überwiegend mit einem prognostisch günstigen mutierten Status der für die variablen Immunglobulinabschnitte kodierenden Genregion (IgVH) (Oscier et al., 2002). Eine neue Untersuchung bei 342 Patienten mit einer CLL weist daraufhin, dass die Größe der Deletion 13q14 und ihre Häufigkeit in Interphasekernen für die Prognose eine Rolle spielt. So konnten Dal Bo et al. (2011) nach FISH mit den DNA-Sonden

## Diskussion

D13S319 und RB1 nachweisen, dass eine Deletion 13q14 in <70 % der Interphasekerne mit einer guten Prognose assoziiert ist, wenn kein Verlust der RB1-Region vorlag, während eine zusätzliche Deletion der RB1-Region oder eine Deletion in  $\geq 70$  % der Interphasekerne unabhängig von einem RB1-Verlust mit einer intermediären Prognose korreliert. Aufgrund der prognostischen Heterogenität der 13q-Deletion sollte in der FISH-Standarddiagnostik eine Stufendiagnostik diskutiert werden, bei der zuerst die DNA-Sonde D13S319 eingesetzt wird und bei Vorliegen einer Deletion 13q eine weiterführende FISH-Untersuchung mit der DNA-Sonde RB1 erfolgt.

Patienten mit einer Trisomie 12 als Einzelzellaberration haben mit einer medianen Überlebenszeit von 114 bis 122 Monaten nach Diagnosestellung einen intermediären Krankheitsverlauf (Döhner et al., 2000; Oscier et al., 2002). Die Trisomie 12 ist häufiger mit einem prognostisch ungünstigen unmutierten IgVH-Status assoziiert (Jaffe et al., 2001; Oscier et al., 2002; Haferlach et al., 2007a). Untersuchungen haben ergeben, dass es bei der CLL mit einer Trisomie 12 und unmutierten IgVH-Status zwei Untergruppen gibt, eine ohne und eine mit einer erhöhten Rate an Mutationen im NOTCH1-Gen. Letztere korrelierte mit einem aggressiveren Krankheitsverlauf (Balatti et al., 2012, Del Giudice et al., 2012). Dies zeigt wiederholt die genetische Komplexität der CLL und dass neben der Anwendung der FISH-Standarddiagnostik weitere genetische Marker identifiziert werden müssen, um eine präzisere Verlaufseinschätzung zu ermöglichen.

Strukturelle Aberrationen im Bereich 14q32 (IgH-Locus), die mittels FISH nachgewiesen werden können, sind bei der CLL eher selten (ca. 7 %, s. **Tabelle 14**). Haferlach et al. (2010) wiesen in 7 % (27 von 399 unbehandelten Fällen) eine IgH-Translokation nach. Translokationspartner unter Mitbeteiligung des IgH-Locus sind hier am häufigsten das BCL2-Gen im Bereich 18q21 und das BCL3-Gen im Bereich 19q13 (Mitelman et al., 2012). Erste Daten sprechen dafür, dass eine CLL mit einer IgH-BCL2-Translokation einen aggressiveren Krankheitsverlauf zeigt als eine CLL mit einer IgH-BCL3-Translokation (Haferlach et al., 2010; Nguyen-Khac et al., 2011). Möglicherweise treten strukturelle Aberrationen im Bereich 14q32 erst im fortgeschrittenen Krankheitsverlauf auf. Im Rahmen einer FISH-Verlaufskontrolle untersuchten Cavazzini et al. (2012) 105 Patienten mit einer CLL. Insgesamt 15 Patienten zeigten eine Progression des Karyotyps, von denen 7 eine IgH-



Diskussion

Translokation aufwiesen. Alle 15 Patienten hatten nach klonaler Evolution eine schlechte Prognose mit einer medianen Überlebenszeit von 32 Monate.

Die Deletion 11q22.3 ist mit einer medianen Überlebenszeit von 79 Monaten und eher mit einem prognostisch ungünstigen unmutierten IgVH-Status assoziiert. Häufig zeigen Patienten mit einer Deletion 11q22.3 ausgeprägte Lymphknotenschwellungen (Döhner et al., 2000; Oscier et al., 2002).

Die Deletion 17p mit einer medianen Überlebenszeit von 32 Monaten ist die prognostisch ungünstigste Chromosomenaberration. Sie hat den größten unabhängigen Voraussagewert für das Überleben der CLL (Döhner et al., 2000).

**Tabelle 14** Verteilung der einzelnen Aberrationen **unter allen untersuchten Fällen** (284 Fälle) im Vergleich mit den entsprechenden Werten dreier Vergleichsstudien (nachgewiesen durch FISH)

|  | Prävalenz-<br>ratio in<br>vorliegender<br>Arbeit | Vergleichs-<br>wert aus<br>Dicker et<br>al., 2006 | Vergleichs-<br>wert aus<br>Haferlach et<br>al., 2007a | Vergleichs-<br>wert aus<br>Buhmann et<br>al., 2002 | Mittelwert der<br>drei Vergleichs-<br>publikationen |
|--|--|---|---|--|---|
| <b>del(11q)</b>                          | <b>12 %</b>                                      | 16 %  | 12 %  | 15 %   | <b>14 %</b>   |
| <b>+12</b>                               | <b>16 %</b>                                      | 13 %  | 14 %  | 19 %   | <b>15 %</b>   |
| <b>del(13q)</b>                          | <b>30 %</b>                                      | 64 %  | 57 %  | 59 %   | <b>60 %</b>   |
| <b>t(14q32)</b>                          | <b>7 %</b>                                       | 4 %   | 6 %   | -  | <b>5 %</b>  |
| <b>del(17p)</b>                          | <b>2 %</b>                                       | 5 %   | 7 %   | 4 %  | <b>5 %</b>  |
| Rate der<br>klonalen<br>Fälle<br>insges. | <b>56 %</b>                                      | 79 %  | 78 %  | 81 %   | <b>79 %</b>   |

**Tabelle 15** Verteilung der einzelnen Aberrationen **innerhalb der klonalen Fallgruppe** (158 klonale Fälle) im Vergleich mit den entsprechenden Werten dreier Vergleichsstudien (nachgewiesen durch FISH)

|                 | vorliegende<br>Arbeit | Dicker et al.,<br>2006 | Haferlach et<br>al., 2007a | Buhmann et<br>al., 2002 | Mittelwert der<br>drei<br>Vergleichs-<br>publikationen |
|-----------------|-----------------------|------------------------|----------------------------|-------------------------|--|
| <b>del(11q)</b> | <b>21 %</b>           | 20 %                   | 15 %                       | 18 %                    | <b>18 %</b>  |
| <b>+12</b>      | <b>29 %</b>           | 16 %                   | 17 %                       | 23 %                    | <b>19 %</b>  |
| <b>del(13q)</b> | <b>53 %</b>           | 73 %                   | 73 %                       | 73 %                    | <b>73 %</b>  |
| <b>t(14q32)</b> | <b>13 %</b>           | 5 %                    | 8 %                        | -                       | <b>6 %</b>   |
| <b>del(17p)</b> | <b>4 %</b>            | 7 %                    | 9 %                        | 5 %                     | <b>7 %</b>   |

## Diskussion

### 4.3 Diagnostische Informationen durch konventionelle Chromosomenanalyse

#### 4.3.1 Translokationen

Mittels KCA wurden 110 reziproke und unbalancierte Translokationen nachgewiesen, die sich auf 23 % aller Fälle (66 von 284 Fällen) verteilten. Mayr et al. (2006) konnten in 34 % (33 von 96 Fällen) reziproke und unbalancierte Translokationen nachweisen. Somit wurde die Häufigkeit von Translokationen bei der CLL bis vor einigen Jahren deutlich unterschätzt (Stilgenbauer et al., 2002; Novak et al., 2002). Translokationen haben eine prognostische Bedeutung: So fanden Mayr et al. (2006) bei unbehandelten CLL-Patienten mit einer Translokation (n=11, sechs Patienten mit einer balancierten, fünf Patienten mit einer unbalancierte Translokation) ein kürzeres medianes behandlungsfreies Intervall von 26 Monaten, während unbehandelte CLL-Patienten ohne Translokation (n=44) ein medianes behandlungsfreies Intervall von 110 Monaten aufwiesen, siehe auch Kapitel 1.3.2. Die KCA ist hier als sinnvolle Ergänzung zur FISH zu sehen. So beobachteten Mayr et al. (2006), dass unbehandelte Patienten mit einer mittels FISH nachgewiesenen Deletion 13 und zusätzlichen Translokationen, die mittels KCA detektiert wurden, ein kürzeres behandlungsfreies Intervall aufwiesen als Patienten mit einer isolierten Deletion 13q.

In der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt 43 reziproke Translokationen in 13 % der Fälle (37 von 284 Fällen) beobachtet. Haferlach et al. (2007a) konnten in 20 % der Patienten (99 von 500 Fällen) eine reziproke Translokation nachweisen. Analog zu den Befunden anderer Studien (Mayr et al., 2006; Haferlach et al., 2007a; Kotkowska et al., 2011) wurden auch in dieser Arbeit weniger spezielle rekurrente balancierte Translokationen gefunden als vielmehr viele unterschiedliche Konstellationen von reziproken Translokationen.<sup>59</sup>

Es ist nahezu unmöglich, mit Hilfe der FISH-Diagnostik die sehr variablen reziproken Translokationen in ihrer Gesamtheit zu erfassen. Mit der FISH-Standarddiagnostik wurden lediglich die 14q32-Translokationen (7 %, 21 von 284 Fällen) erfasst (s. **Tabelle 14**). Durch die KCA können die verschiedenen reziproken Translokationen einfach und sicher diagnostiziert werden.

## Diskussion

### 4.3.2 Numerische Aberrationen

Analog den Literaturangaben (Gahrton et al., 1980; Juliusson et al., 1990; Döhner et al., 1999, s. **Tabelle 2**) war die häufigste diagnostizierte numerische Aberration<sup>60</sup> die Trisomie 12. Sie war innerhalb der klonalen Fälle dieser Arbeit häufiger vertreten als in Vergleichsstudien (s. Kap. 4.2.3 u. s. **Tabelle 15**).

Die Untersuchung von Zellmaterial des Falles A69 erbrachte in der KCA den Befund einer Trisomie 12<sup>61</sup>, die parallel durchgeführte FISH konnte dies Ergebnis jedoch nicht bestätigen. Für die Untersuchung mittels FISH wurden Interphasezellen verwendet, welche offensichtlich keine Trisomie 12 aufwiesen. Eine mögliche Erklärung für diese Konstellation wäre, dass der Zeitpunkt der Entstehung der Aberration hier einherging mit der letzten *in vitro* erfolgten Zellteilung. Da die Trisomie 12 jedoch eine für die CLL sehr typische Aberration darstellt, ist es wahrscheinlicher, dass durch die Stimulation ein bereits zuvor existierender kleiner Tumorklon zur Proliferation gebracht worden ist.

Die Trisomie 19 trat als zweithäufigste numerische Aberration auf. Sie wurde überwiegend von einer Trisomie 12 begleitet.<sup>62</sup> Das Vorliegen einer isolierten Trisomie 19 oder einer Trisomie 12 zusammen mit der Trisomie 19 korreliert mit einem prognostisch günstigen mutierten IgVH-Status (Schwaenen et al., 2004; Dicker et al., 2006). Tritt die Trisomie 12 jedoch alleine auf, so liegt die Genregion überwiegend unmutiert vor, was mit einem eher aggressiven Krankheitsverlauf assoziiert ist (Jaffe et al., 2001; Dicker et al., 2006). Schlette et al. postulieren eine Korrelation von Trisomie 12 und von Aberrationen des Chromosoms 19 mit einer Expression des in der Region 19q13 gelegenen BCL3-Gens (Schlette et al., 2005). Sie wiesen bei 17 % (12 von 72) der untersuchten Patienten mit einer CLL eine BCL3-Expression nach. 75 % (n=9) dieser Patienten zeigten dabei eine Trisomie 12 und 17 % (n=2) zusätzlich eine Trisomie 19 bzw. eine Translokation (14;19)(q32;q13) mittels KCA.<sup>63</sup> Über eine unterschiedliche Prognose konnte die Arbeitsgruppe keine Aussage machen.

### 4.3.3 Deletionen in 11q, 13q und 17p in der konventionellen Chromosomenanalyse

Zum Nachweis von Deletionen ist die FISH sensitiver als die KCA (s. **Tabelle 8**), sie liefert allerdings keine Informationen über die Größe des Genverlustes. Durch den

### Diskussion

parallelen Einsatz der KCA konnte ein Teil der durch FISH diagnostizierten Deletionsereignisse nach ihrer Größe charakterisiert werden (s. **Abbildung 9**).

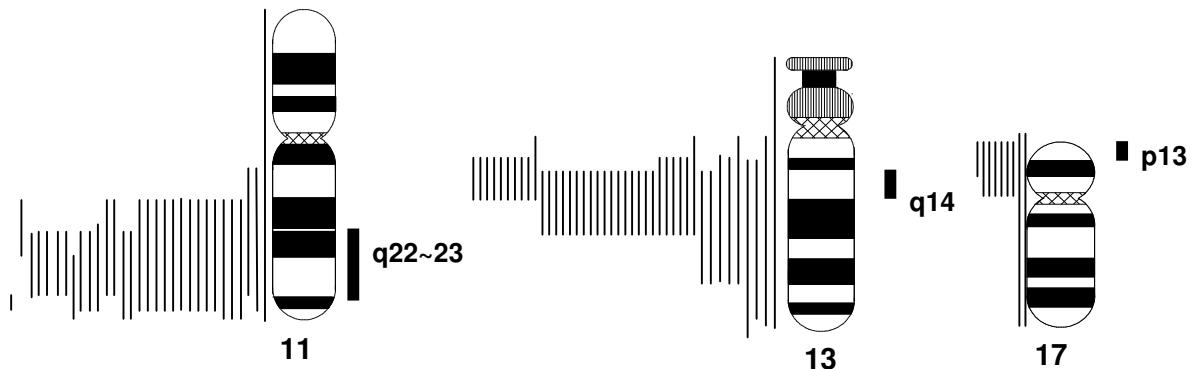
Besonders variabel in ihrer Ausdehnung zeigten sich die Deletionen um die Chromosomenbande 13q14 herum. Es ist bekannt, dass in dieser Region häufig kryptische Deletionen auftreten, die mikroskopisch nicht sichtbar sind und der KCA daher entgehen (Stockero et al., 2006). In 74 % (31 von 42) der Fälle, in denen durch die KCA ein Verlust der Chromosomenregion 13q14 gefunden wurde, betraf der Materialverlust darüber hinaus noch die angrenzende Region 13q21. Dieser Chromosomenabschnitt wiederum beherbergt eine 2,5 Mb-Region, in der regelmäßig Deletionen bei verschiedensten Tumorarten (Chen et al., 2001) wie z.B. Prostatakarzinom (Dong et al., 2000) und Brustkrebs (Kainu et al., 2000) gefunden werden. Die Region 13q21.33~22.2 wurde außerdem im Zusammenhang mit familiär auftretenden CLL-Fällen als Region von Kandidatengenen beschrieben (Ng et al., 2007). Es ist bisher jedoch kein Tumorsuppressorgen identifiziert worden, das in dieser Region typischerweise von Deletionen bei CLL, LPL oder B-NHL betroffen ist.

Die entsprechenden Befunde der KCA für Deletionen in 11q22.3 und 17p13 variierten bezüglich ihrer Ausdehnung in ähnlicher Weise wie die der Deletion 13q14. Bei mehr als der Hälfte der Fälle mit Deletionsereignissen der Region 11q22.3 (58 %) reichte der Verlust genetischen Materials bis in die Region 11q14 hinein (18 von 31 Fällen). Die KCA-Befunde zeigten bei der Deletion 17p13<sup>64</sup> in allen 8 von 9 Fällen miteinbezogene Verluste von mindestens der Nachbarregion 17p11, in einem weiteren Fall lag der Bruchpunkt in der Region 17p12. Fink et al. (2006) berichten ebenfalls, dass die Deletion 17p13 das Ergebnis der Entstehung eines Isochromosoms 17q war oder einer unbalancierten Translokation mit der Bruchpunktlokalisierung in der centromernahen Region 17p10 bis 17p12.

Der Einsatz der KCA bedeutet für alle drei beschriebenen Deletionen einen Zugewinn an Informationen gegenüber dem Einsatz der FISH. Im Gegensatz zur FISH, in der nur auf das Vorliegen einer bestimmten Aberration hin untersucht werden kann, verhalf der Einsatz der KCA zu Informationen über die Größe und die Art des Genverlustes. Es wurden Hinweise für weitere Genregionen, die möglicherweise für die Tumorenstehung relevante Gene beherbergen, gefunden.

Diskussion

**Abbildung 9** Graphische Darstellung der Deletionen in 11q, 13q und 17p in der durch die KCA ermittelten Größe



Die Linien auf der linken Seite der Chromosomen stellen die Deletionen mit ihrer jeweils durch die KCA bestimmten Größenausdehnung dar. Der breite Balken rechts der Chromosomen kennzeichnet den Bandenbereich des Chromosoms, in dem die Zielregion der jeweiligen FISH-Sonde lokalisiert ist.

#### 4.3.3 Weitere rekurrente strukturelle Aberrationen

##### 4.3.3.1 Deletion in 7q

Zur retrospektiven FISH der Region 7q21<sup>65</sup> wurde eine DNA-Sonde für den Genbereich eingesetzt, der das Protein CDK6 (=Cyklin-abhängige Kinase 6) kodiert. Diese Region ist v. a. für balancierte Translokationsereignisse bei splenischen Marginalzonenlymphomen (SMZL) (Corcoran et al., 1999; Hayette et al., 2003) und in wenigen Fällen auch bei der CLL bekannt (Hayette et al., 2003) mit der Folge einer Überexpression von CDK6.

Die – mit einer Ausnahme – ausgebliebene Bestätigung der Deletionen bei den Fällen dieser Arbeit deutet eher auf die Verluste anderer Gene in der Region 7q21 hin.<sup>66</sup> Es wäre denkbar, dass bisher noch unbekannte Tumorsuppressorgene im Bereich 7q21 lokalisiert sind, deren Verlust bei niedrigmalignen B-NHL wie der CLL eine Rolle spielen. Von Asou et al. sind für myeloische Erkrankungen wie z.B. die akute myeloische Leukämie (AML) und das myeloisch dysplastische Syndrom (MDS) drei mögliche Tumorsuppressorgene in der Region 7q21.3 gefunden worden (Asou et al., 2009).

Der Grund für die ausbleibende Bestätigung der durch die KCA beschriebenen Monosomie 7 in Fall A18 könnte ein sehr kleiner Subklon sein, da in der KCA nur eine einzige aberrante Metaphase beschrieben werden konnte. Das Ergebnis der KCA war aufgrund der begleitend auftretenden, durch FISH bestätigten Trisomie 12

## Diskussion

in die Auswertung aufgenommen worden, dennoch wurde streng nach Definition in der KCA keine klonale Monosomie 7 nachgewiesen.

Im Zusammenhang mit SMZL wird von Deletionsereignissen des 7q-Armes in unterschiedlicher Größe berichtet, und es ist hier fast immer die Region 7q32 betroffen, in der die Existenz sogenannter microRNA (miRNA) postuliert wird, die an der Regulation der Genexpression beteiligt ist (Ruiz-Ballesteros et al., 2007). Diese Genregion könnte bei der CLL und anderen niedrig malignen B-NHL eine Rolle spielen, da die in dieser Arbeit durch die KCA beschriebenen Verlustereignisse in 7q zu 71 % (5 von 7) der Fälle u. a. die Region 7q32 umfassten.

### 4.3.3.2 Deletion in 8p21~22

Zur gezielten FISH der Region 8p21~22 wurde im Rahmen dieser Arbeit eine Sonde (RPC111-89M8) eingesetzt, die sich speziell auf die Region 8p21.3 richtet.<sup>67</sup> In dieser Region wurde von Rubio-Moscardo et al. eine sogenannte „minimal deletierte Region“ (MDR) identifiziert, in der die TRAIL-Rezeptoren (=TRAIL-R) TRAIL-R1 und TRAIL-R2 kodiert werden (Rubio-Moscardo et al., 2005). TRAIL (= TNF-related apoptosis inducing ligand) sind wichtige Zytokine, die an der Induktion der Apoptose bei lymphatischen Zellen beteiligt sind. Ein Verlust oder eine Inaktivierung des für die Rezeptoren TRAIL-R1 und TRAIL-R2 dieser Zytokine kodierenden Genbereichs könnte entscheidend an der Pathogenese bzw. dem Progress der Tumorerkrankungen beteiligt sein (Fernández et al., 2004).

Deletionen der Region 8p21~22 sind als regelmäßige Aberrationen bereits für verschiedene Tumorentitäten beschrieben worden, wie z.B. das Prostatakarzinom und das Blasenkarzinom mit einer Inzidenzrate von ca. 60 % bzw. 25 % (Wolf et al., 2006). Daneben wurde die Aberration auch für verschiedene lymphatische Neoplasien beschrieben (Fernández et al., 2004).

Die Bestätigung der Deletionen mit nur einer Ausnahme (A42) ist – im Einklang mit den Befunden von Rubio-Moscardo et al. – gut vereinbar mit der Existenz von Tumorsuppressionsgenen in 8p21.3, die bei lymphatischen Neoplasien gezielt durch Deletionen inaktiviert werden (Rubio-Moscardo et al., 2005).

### 4.3.3.3 Deletion in 4q34~35

Genetische Verluste der Region 4q34~35, die mit einer Inzidenz von 2 % (n=5) in dieser Arbeit beobachtet wurden, sind bisher nicht regelmäßig bei B-NHL

## Diskussion

beschrieben worden, sondern lediglich vereinzelt, wie z.B. durch Cavazzini et al. für die CLL (Cavazzini et al., 2004).

In der Region 4q34~35 wird das FAT1-Protein kodiert, ein großes Zelladhäsionsmolekül der Cadherin-Familie, das für die Zell-Zell-Interaktion und für Entwicklungsprozesse wichtig ist (Dunne et al., 1995). Die Daten der vorliegenden Arbeit deuten daraufhin, dass das FAT1-Gen als Tumorsuppressionsgen durch die Deletionsereignisse ausgeschaltet sein könnte.

Bis auf Fall A50 wiesen vier betroffene Patientenfälle<sup>68</sup> einen komplexen Karyotyp auf. Zwei davon hatten mehr als einen Klon.<sup>69</sup> Es ist daher zu vermuten, dass der Genverlust in 4q34~35 nicht als frühe genetische Veränderung bei den Tumorklonen entsteht, sondern erst im Rahmen der weiteren Tumorevolution auftritt.

### 4.3.3.4 Deletion in 18p11.3

Die Chromosomenregion 18p11.3 ist bisher nicht regelmäßig im Zusammenhang mit genetischen Veränderungen bei CLL und anderen B-NHL beschrieben worden. Mit einem Auftreten bei 2 % (n=6) der im Rahmen dieser Arbeit analysierten Patientenfälle traten Verluste dieser Region jedoch auffallend häufig nach KCA auf und die retrospektive FISH verifizierte 60 % (3 von 5) der untersuchten Fälle.<sup>70</sup>

Im KCA-Befund eines unbestätigten Falles (A6) waren drei Tumorklone beschrieben worden, wobei der Subklon mit der Aberration in 18p11 am ehesten durch klonale Evolution aus einem anderen Klon hervorgegangen ist. Eine plausible Erklärung für das negative FISH-Ergebnis wäre, dass die Größe dieses Subklones unter der Nachweisgrenze der Untersuchung lag und er durch das Stimulationsverfahren zur Proliferation gekommen war.

Beschreibungen der Deletion 18p11.3 liegen für andere Neoplasien vor, wie nichtkleinzellige Lungenkarzinome (Tran et al., 1999), myelodysplastische Syndrome (Martínez-Ramírez et al., 2005), Meningeome und Ependymome (Singh et al., 2002), Brustkrebs (Kittiniyom et al., 2001) sowie primär kutane CD30-positive T-Zell-Lymphome (Prochazkova et al., 2003). Es konnte das Tumorsuppressorgen DAL-1 (= Differentially expressed in Adenocarcinoma of the Lung – 1) in der Region 18p11.3 lokalisiert werden, dessen Genprodukt Mitglied der Proteinfamilie 4.1 ist und dessen Ausschaltung an der Pathogenese von einigen Neoplasien, wie z.B. dem nichtkleinzelligen Lungenkarzinom und dem Meningeom beteiligt ist (Tran et al., 1999; Singh et al., 2002). Somit könnte die Ausschaltung von DAL-1 auch in der

## Diskussion

Pathogenese bei B-NHL eine Rolle spielen.

### 4.3.3.5 Deletion in 9p24

Zur retrospektiven FISH der Chromosomenregion 9p24 wurde eine institutseigene Sonde für die Genregion PDL2/JAK2 (Martín-Subero et al., 2006) eingesetzt.

JAK2 ist als Zielort von Mutationen und Translokationen bei myeloproliferativen Erkrankungen wie Polycytämia Vera, essentieller Thrombozytopenie und idiopathischer Myelofibrose bekannt. Kodiert wird von diesem Gen die JAK2-Kinase (= Januskinase 2), eine zytoplasmatische Tyrosinkinase, die eine wichtige Rolle in der Signaltransduktion verschiedener hämatologischer Wachstumsfaktorrezeptoren spielt (Baxter et al., 2005; Ihle et al., 2007).

Ein anderes in der Region 9p24 kodiertes Genprodukt ist PDL2 (= programmed cell death 1 ligand 2). Dieses Protein beteiligt sich durch Interaktion mit dem Oberflächenmolekül lymphatischer Zellen PD-1 (= programmed cell death 1) an der Regulation der T-Zell-Aktivierung. PDL2 ist in einigen lymphatischen Neoplasien durch unterschiedliche Mechanismen überexprimiert. Beschrieben wurde dies v. a. für das primäre mediastinale B-Zell-Lymphom (PMBL) (Staudt und Dave, 2005; Zhang et al., 2006) aber auch für Hodgkin Lymphome (Rosenwald et al., 2003).

Da bei den hier retrospektiv durchgeführten FISH-Untersuchungen nur in Fall A55 das KCA-Ergebnis bestätigt werden konnte, lagen die Bruchpunkte der strukturellen Aberrationen aller anderer Fälle mit daraus resultierenden Verlusten vermutlich an anderer Stelle. Bei dem bestätigten Fall handelt es sich um einen komplex aberranten Karyotyp mit einer Monosomie 9. Zwei andere Fälle mit Monosomie 9 (A18 und A52) blieben im FISH-Befund unerkannt, einer davon (A18) hatte in der KCA nur eine einzige Metaphase gezeigt, so dass streng definitionsgemäß kein Klon nachgewiesen ist (dieser Fall wurde wegen der durch beide Verfahren diagnostizierten Trisomie 12 in die Auswertung aufgenommen).

In der Tumorgenese von malignen Neoplasien beruht die Bedeutung der Gene JAK2 und PDL2 auf verschiedenen Aberrationen, die schließlich zu einer vermehrten Expression bzw. Aktivität der entsprechenden Genprodukte führt. Verlustereignisse dieser Gene sind hingegen nicht als regelmäßig auftretende Aberrationen in Neoplasien beschrieben worden. Dies steht im Einklang mit den Befunden der im Rahmen dieser Arbeit retrospektiv durchgeführten Diagnostik, die nur in einem Fall einen Verlust nachwies.



## Diskussion

Die Untersuchungsergebnisse von FISH und KCA zusammengenommen weisen darauf hin, dass Verluste genetischen Materials am kurzen Arm des Chromosom 9 zwar wiederkehrende genetische Aberrationen bei CLL und anderen B-NHL darstellen, die Gene für JAK2 und PDL2 in der Region 9p24 hiervon aber nicht betroffen sind.

Es sollte daher in zukünftigen Untersuchungen nach Tumorsuppressorgenen auf dem kurzen Arm des Chromosom 9 gesucht werden, deren Ausschaltung durch Deletionen an der Pathogenese der CLL und anderer B-NHL beteiligt sein könnte.

### 4.3.3.6 Deletion 6q21 und 6q27

Unter den 284 Fällen dieser Arbeit wiesen 5 % (14 von 284) der Fälle strukturelle genetische Verluste im Bereich des langen Armes von Chromosom 6 auf und wurden mittels retrospektiver FISH<sup>71</sup> untersucht. Bei 71 % (10 von 14) der Fälle wurden die Aberrationen verifiziert.<sup>72</sup>

Da für die Deletion in 6q21/6q27 z.T. keine ungünstige Prognose beschrieben wurde (Stilgenbauer et al., 1999), gehört die Diagnostik der betreffenden Genregionen nicht zur Standarddiagnostik bei CLL.

Im Gegensatz dazu wird jedoch in jüngerer Literatur die Gruppe der CLL-Patienten mit Deletionen des langen Armes von Chromosom 6 als eine sogenannte „intermediäre Risiko-Gruppe“ beschrieben mit Assoziation zu u.a. einer verkürzten Zeit zwischen Erstdiagnostik und erstem Therapiebedarf sowie zu einer verkürzten Überlebenszeit (Cuneo et al., 2004; Wang et al., 2011). Der Einschluss der Diagnostik der Deletion 6q in die Standarddiagnostik mittels FISH bei CLL ist essentiell (Reddy, 2006).

In der Region 6q21 wurde erstmals von Keller und Maniatis das Gen PRDM1 beschrieben, das für ein die Transkription unterdrückendes Zinkfingerprotein kodiert (Keller und Maniatis, 1991). PRDM1 spielt eine wichtige Rolle bei der B-Zell-Differenzierung zu Plasmazellen. Es wurde eine vermehrte Inaktivierung des Gens bei diffus großzelligen Lymphomen beschrieben, die zu einer gestörten B-Zell-Differenzierung führt und somit zur Lymphomentstehung beitragen kann (Tam et al., 2006; Pasqualucci et al., 2006). Aufgrund der häufigen Deletionen in 6q21 ist PRDM1 als mögliches Tumorsuppressorgen auch bei der CLL in Betracht zu ziehen.

In der Region 6q27 wurde das potentielle Tumorsuppressorgen „PDCD 2“ (= programmed cell death-2 = programmierter Zell-Tod-2) gefunden, das

## Diskussion

möglicherweise nicht direkt durch genetische Aberrationen ausgeschaltet wird, sondern als sogenanntes „Klasse-II-Tumorsuppressorgen“ über entsprechende Veränderungen von genetischen Steuerelementen (Steinemann et al., 2003).

### 4.4 Diagnostische Informationen durch Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung

Die FISH bietet viele Vorteile gegenüber anderen Untersuchungsmethoden. Neben dem relativ geringen Zeitaufwand ist v. a. ihre hohe Sensitivität hervorzuheben. Dies spiegelt sich gut in den Daten der vorliegenden Arbeit wieder.

Da für die Interphase-FISH keine Metaphasen benötigt werden, steht der Diagnostik i.d.R. eine große Zellmenge für die Untersuchung zur Verfügung. Die Wahrscheinlichkeit, bei geringer Tumordinfiltration des untersuchten Gewebes einen Tumorklon in der FISH-Diagnostik zu erfassen, ist daher höher als in der KCA. Dies erklärt den bei einigen Fällen ausgebliebenen Nachweis chromosomaler Aberrationen in der KCA, die in der FISH-Diagnostik bei einem niedrigen Prozentsatz der untersuchten Interphasezellen gefunden worden war.

Ein weiterer Vorteil der FISH ist, dass – im Gegensatz zur KCA – auch mikroskopisch nicht sichtbare (kryptische) strukturelle genetische Aberrationen erfasst werden können. Dies zeigte sich sehr eindrücklich in der Diagnostik der Deletion 13q14, die bei mehr als der Hälfte der betroffenen Fälle ausschließlich durch die FISH diagnostizierbar war.<sup>73</sup>

Ein Informationszugewinn bietet der Einsatz der FISH parallel zur KCA z.T. auch bei der Diagnostik von Translokationen zur Erfassung kleiner Verluste oder Zugewinne genetischen Materials, die der KCA wiederum nicht zugänglich sind. Voraussetzung ist allerdings der Einsatz einer Sonde für die entsprechende Region.<sup>74</sup> Bei sieben Patienten wären somit in der KCA Verlust- bzw. Zugewinnereignisse als balancierte Translokationen ohne Änderung der Genmenge fehlgedeutet worden.

Da nicht alle Chromosomenveränderungen mittels FISH erfasst werden können, ist die parallele Verwendung von KCA und FISH in der zytogenetischen Diagnostik der CLL und anderer niedrigmaligner B-NHL viel informativer als eines der Verfahren alleine.

## Zusammenfassung

### **5 Zusammenfassung**

In der genetischen Standarddiagnostik der chronisch lymphatischen Leukämie (CLL) war bisher der alleinige Einsatz der Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung (FISH) etabliert, in der nur gezielt gesuchte genetische Veränderungen gefunden werden können. Die konventionelle Chromosomenanalyse (KCA) liefert hingegen einen Überblick sämtlicher mikroskopisch sichtbarer chromosomaler Veränderungen, eignete sich aber aufgrund der geringen Proliferationsrate der CLL-Zellen nicht zum Einsatz in der Routinediagnostik.

Neuerdings kann durch den Einsatz des CpG-Oligonukleoids DSP30 in Kombination mit Interleukin-2 (IL2) die Proliferationsrate der CLL-Zellen gesteigert werden. Dieses Verfahren macht die KCA auch für die Routinediagnostik zugänglich. Bisher ist aber nicht ausreichend bekannt, welche Aberrationen mit der KCA unter Verwendung von DSP30/IL2 aufgedeckt werden können. Im ersten Teil der Arbeit sollten deshalb Ergebnisse nach KCA und FISH miteinander verglichen werden, die im Rahmen der Routineuntersuchung im Institut für Humangenetik des UK-SH (Kiel) erhoben worden waren.

Insgesamt konnten bei 284 der 305 Fälle (93 %) Metaphasen von 242 Patienten mit einer CLL und 42 Patienten mit verwandten niedrigmalignen B-Zell-Lymphomen gewonnen werden. Zusätzlich wurden in 242 der 284 Fälle die Ergebnisse nach Stimulation mit DSP30/IL2 und mit dem herkömmlichen Stimulationsverfahren TPA miteinander verglichen. Mit DSP30/IL2 wurde eine hochsignifikant stärkere Proliferationsrate der Tumorzellen erzielt. Ein klonaler Befund konnte mit DSP30/IL2 in 46 % der Fälle erhoben werden (mit TPA in 29 % der Fälle,  $p=6,08 \times 10^{-8}$ ). In 55 von 242 Fällen (23 %) konnte ausschließlich mit DSP30/IL2 und in 14 von 242 Fällen (6 %) ausschließlich mit TPA ein klonaler Befund erhoben werden.

Mittels KCA wurden in 152 von 284 Fällen (54 %) klonale Chromosomenveränderungen gefunden, mittels FISH in 158 von 284 Fällen (56 %). Mit beiden Verfahren erhöhte sich die Rate nachgewiesener Aberrationen auf 66 %. Die Gesamtrate klonaler Befunde durch die FISH wäre größer gewesen, wenn zum Nachweis der Deletion 13q nicht die überwiegend angewandte DNA-Sonde RB1, sondern die DNA-Sonden D13S319 oder D13S25 eingesetzt worden wären. Unabhängig davon lag die Rate an Aberrationen pro Fall durch die KCA höher als

### Zusammenfassung

durch die FISH. Insgesamt konnten mit der KCA 325 Aberrationen nachgewiesen werden, mit der FISH insgesamt 191 Aberrationen. Mittels KCA wurden in 66 von 284 Fällen (23 %) balancierte und/oder unbalancierte Translokationen beobachtet. Die FISH ermöglichte nur den Nachweis von Translokationen unter Beteiligung des IgH-Locus (14q32) (insgesamt 21 von 284 Fällen; 7 %). Nach KCA konnten in 37 von 284 Fällen (13 %) komplex aberrante Karyotypen nachgewiesen werden, mittels FISH lediglich einer von 284 Fällen (0,4 %). Komplex aberrante Karyotypen sind häufig mit einem ungünstigen Krankheitsverlauf assoziiert und können i.d.R. durch die in der Routinediagnostik eingesetzten DNA-Sonden nicht erkannt werden.

Im zweiten experimentellen Teil dieser Arbeit wurden retrospektiv 46 FISH-Untersuchungen an 35 Patientenfällen durchgeführt. Lediglich 57 % der durch die KCA gefundenen rekurrenten Aberrationen konnten mittels retrospektiver FISH in Interphasekernen verifiziert werden. Allerdings wurden Aberrationen bei niedriger Tumorinfiltrationsrate, submikroskopische Deletionen in 13q14 sowie Genverluste in vermeintlich balancierten Translokationen ausschließlich durch die FISH diagnostiziert. Befunde von KCA und retrospektiver FISH für die Regionen 7q21 und 9p24 deuten auf dortige bisher unbekannte Tumorsuppressorgene hin.

Erst die kombinierte Anwendung der KCA und FISH erlaubt eine umfassende Untersuchung genetischer Veränderungen bei der CLL. Ihr paralleler Einsatz sollte in der Routinediagnostik der CLL und verwandter niedrigmaligner B-Zell-Lymphome Standard werden. Als Stimulationsverfahren der Tumorzellen sollte DSP30/IL2 eingesetzt werden, da hiermit der Anteil klonaler Befunde erhöht wird.

## 6 Endnoten

---

<sup>1</sup> Die physiologische Proliferationsanregung normaler B-Lymphozyten erfolgt im Rahmen der humoralen Immunantwort auf verschiedene Antigene. Die meisten Antigene (Proteinantigene) erfordern eine Beteiligung von T-Helferzellen. Der erste Schritt zur Aktivierung ist in der Regel die Vernetzung von Ig-Rezeptoren der B-Lymphozytenmembran durch Antigene (=cross-linking). Darauf folgt ein intrazellulärer Signaltransduktionsweg und nach einer Prozessierung (=intrazelluläre Antigenverarbeitung) die Präsentation des Antigens auf sogenannten MHC-Klasse-II-Molekülen der Zelloberfläche. Es kommt zur verstärkten Expression von Kostimulatoren für T-Helferzellen – darunter die Moleküle CD80/CD86 und CD40 – und von verschiedenen hochaffinen Interleukinrezeptoren (=Rezeptoren für Zellbotenstoffe) (Zettl et al., 2005). Das MHC-gebundene Antigen bindet an den T-Zellrezeptor und gleichzeitig kommt es zur Interaktion zwischen den Molekülen CD80/CD86 und CD40 auf der B-Zellmembran mit CD28 bzw. CD40L (=CD154) auf der T-Zellmembran. Die T-Zelle produziert IL2 und weitere Interleukine, die an die hochaffinen Interleukinrezeptoren der B-Lymphozyten binden und deren Proliferation und Differenzierung initiieren (Zettl et al., 2005).

<sup>2</sup> S. Tab. A1: Fälle: E1-F9: 19 CLL-Fälle, ein LPL und eine Haarzelleleukämie.

<sup>3</sup> Errechnet mithilfe des McNemar-Tests.

<sup>4</sup> Errechnet mithilfe des Wilcoxon-Vorzeichentests für verbundene Stichproben.

<sup>5</sup> S. Tab. A4: A1-A61 u. B1-C36. Die klonalen Fälle teilten sich auf die einzelnen Diagnosegruppen wie folgt auf: 137 Fälle (87 %) mit CLL, einer mit LPL (0,6 %) und 20 (13 %) mit anderen B-NHL. Innerhalb der einzelnen Diagnosegruppen betrug der Anteil an klonalen Fällen bei der CLL 57 % (138 von 242), beim LPL 11 % (1 von 9) und beim B-NHL 61 % (20 von 33).

<sup>6</sup> S. Tab. A4: A1-B61. Die klonalen Fälle verteilten sich auf die einzelnen Diagnosegruppen wie folgt auf: 126 Fälle (83 %) mit CLL, 4 mit LPL (3 %) und 22 (14 %) mit anderen B-NHL. Innerhalb der einzelnen Diagnosegruppen betrug der Anteil klonaler Fälle bei der CLL 52 % (126 von 242), beim LPL 44 % (4 von 9) und beim B-NHL 67 % (22 von 33).

<sup>7</sup> Fälle: C1-D96.

<sup>8</sup> Fälle: C1-C36.

<sup>9</sup> Fälle: A2, A3, A8, A11, A25, A30, A36, A39, A41, A43, A46, A48, A55, A56, A59, A61, B32, B35.

<sup>10</sup> Die Aberration, die sich am häufigsten nur allein durch die FISH nachweisen ließ, war mit einem Auftreten bei 43 Fällen (und damit in ca. der Hälfte der von ihr betroffenen Fälle) die del(13q) (s. Abb. 1-5).

<sup>11</sup> Fälle: A62-A91 und D1-D96.

<sup>12</sup> Fälle: A62-A91.

<sup>13</sup> Fälle: A1-A61.

<sup>14</sup> Durch FISH diagnostizierte Anzahl der Aberrationen innerhalb der Fälle: eine Aberration bei 126 von 284 Patienten (44 %), 2 bei 31 (11 %) und 3 bei einem (0,4 %).

<sup>15</sup> Durch KCA diagnostizierte Anzahl der Aberrationen innerhalb der Fälle: eine Aberration bei 82 von 284 Patienten (29 %), 2 bei 33 (12 %), 3 bei 13 (5 %), 4 bei 10 (4 %) und 5 und mehr bei 14 Fällen (5 %).

In 22 (8 %) der untersuchten Fälle wurde mehr als ein genetischer Klon diagnostiziert (19 Fälle mit zwei Klonen, 2 Fälle mit 3 Klonen, 1 Fall mit 4 Klonen (A37)). Bei 19 Fällen deuteten jeweils z.T. gleiche genetische Veränderungen auf genetische Evolution von Subklonen aus einer gemeinsamen Ursprungszelle hin (s. A37). Bei 3 Patienten lagen 2 jeweils von Grund auf verschiedene Klone vor. Fall A6 mit 3 Klonen zeigte sowohl zwischen 2 der aberranten Zelllinien eine genetische Evolution, als auch eine aberrante Zelllinie, die unabhängig von den anderen war.

<sup>16</sup> Verlustmechanismen (durch KCA identifiziert): In allen Fällen Deletionen (unterschiedlicher Größe), bei Fall B59 wurde eine Deletion in 11q24 mittels KCA diagnostiziert. Mittels FISH konnte eine Deletion in 11q22.3 nachgewiesen werden, so dass mit großer Wahrscheinlichkeit eine größere Deletion vorliegt, die mittels KCA alleine nicht erkannt wurde.

## Endnoten

---

<sup>17</sup> Fälle: A22, A40, A48, A72. Aberrationsmechanismen: eine Deletion (A22), eine Monosomie 11 (A40) (s. Kap. 3.1.4.3), eine Addition (A48), eine unbalancierte Translokation (A72). Zu A22 u. A40: In der KCA konnte jeweils nur eine aberrante Mitose untersucht werden, daher können die del(11)(q23) bzw. die Monosomie 11 nicht als gesichert klonal angesehen werden. Die Fälle wurden aufgrund einer jeweils durch FISH bestätigten del(13q14) mitberücksichtigt.

<sup>18</sup> Fälle: A2, C3, C5, C9, C15, C22. Anmerkung: Der Tumorinfiltrationsgrad (durch FISH ermittelt) betrug in 4 Fällen jeweils über 60 % (in A2 und C5 nur 27 % bzw. 25 %). Zu A2: In der KCA zeigte sich eine balancierte Translokation mit Beteiligung von 11q22~23.

<sup>19</sup> Verlustereignisse (durch KCA identifiziert): Deletionsereignisse unterschiedlicher Größe in 40 Fällen und eine Monosomie (A21).

<sup>20</sup> Fall A55: del(13)(q12).

<sup>21</sup> Fälle: A3, A8, A25, A30, A36, A39, A41, A43, A46, A48, A59, B35, C1, C3, C4, C5, C6, C7, C9, C11, C12, C13, C14, C15, C16, C17, C18, C20, C21, C22, C23, C24, C25, C27, C28, C29, C30, C31, C32, C33, C34, C35, C36.

<sup>22</sup> Fall A69: Die Trisomie wurde ausschliesslich durch die KCA nachgewiesen, 53 % (8 von 15) der untersuchten Metaphasen wiesen dabei eine Trisomie 12 als alleinige Chromosomenaberration auf. Mittels KCA konnten insgesamt folgende Chromosomenveränderungen nachgewiesen werden: Zugewinnmechanismen: 40 Trisomien, 2 partielle Trisomien (A28, A31), eine den Bereich 12q13 umfassende Duplikation (A35), ein Isochromosom des langen Armes von Chromosom 12 (B31).

<sup>23</sup> Fälle: C2, C11, C26.

Zu C2: geringer Tumorinfiltrationsgrad von nur 5 % (durch FISH ermittelt). Zu C11: trotz 90 %igem Tumorinfiltrationsgrad in der FISH und 9 verfügbaren Metaphasen für die KCA hier keine Klonalität. Zu C26: Tumorinfiltrationsgrad von 42 %, jedoch nur 3 Metaphasen für die KCA.

<sup>24</sup> Verlustmechanismen: Eine Deletion (A6), 2 unbalancierte Translokationen (A13, A58), eine Addition (A29) und ein Isochromosom des langen Armes von Chromosom 17 (A52).

<sup>25</sup> Verlustmechanismen: Ein Isochromosom des langen Armes von Chromosom 17 (A9), 2 Monosomien (A21, A40), und eine Addition (A71).

Zu A21 u. A40: Für die KCA war nur eine klonale Metaphase verfügbar. Aufgrund begleitend auftretender Aberrationen, die durch FISH bestätigt werden konnten, wurden die Fälle in die Auswertung aufgenommen. Ein durch die Kulturbedingungen in vitro erzeugter sekundärer Verlust des Chromosoms kann nicht sicher ausgeschlossen werden.

<sup>26</sup> Fälle: A55, C10. Zu A55: Der Tumorinfiltrationsgrad (durch FISH ermittelt) betrug 85 % und in der KCA zeigten 40 von 44 ausgewerteten Metaphasen gleiche klonale Befunde, jedoch ohne del(17p13). Zu C10: Der Tumorinfiltrationsgrad betrug nur 11 %.

<sup>27</sup> Verlustmechanismen: 4 balancierte Translokationen (A16, A19, A55, A59), 1 unbalancierte Translokation (A63). Zu A16: Der Subklon zeigte eine durch klonale Evolution entstandene balancierte Translokation t(1;14)(p22;q32). Zu A19: Durch FISH nur Nachweis der begleitend auftretenden Trisomie 12. Zu A55: In der FISH wurden eine del(17p) nachgewiesen, welche der KCA-Diagnostik entgangen war. Zu A59: In der FISH konnte zusätzlich eine Deletion im Bereich 13q14 nachgewiesen werden.

<sup>28</sup> Fälle: A11, A56, A61, B32, C1, C2, C8, C19. Zu A11 u. B32: Die jeweils begleitend auftretende Trisomie 12 wurde durch beide Verfahren nachgewiesen. Zu A56 u. A61: Die KCA beschrieb an dieser Stelle eine Deletion. Zu C1: trotz durch FISH belegten Tumorinfiltrationsgrad von 50 % u. 20 durch KCA ausgewerteten Metaphasen weder Nachweis der Translokation, noch der begleitend auftretenden del(13q). Zu C2: die FISH zeigte einen geringen Tumorinfiltrationsgrad von nur 9 %. Zu C8 u. C19: Der KCA standen nur eine bzw. 2 Metaphasen zur Verfügung.

<sup>29</sup> Zugewinnmechanismen: 40 Trisomien, 2 partielle Trisomien (A28, A31), ein Isochromosom des langen Armes von Chromosom 12 (B31) und eine den Bereich 12q13 umfassende Duplikation (A35).

## Endnoten

<sup>30</sup> In 6 Fällen wurden gleichzeitig Metaphasen mit einem Y-Chromosom identifiziert. Fall A37 zeigte den Verlust des Y-Chromosoms in 3 Subklonen. Vorweggenommen sei an dieser Stelle, dass der Verlust des Y-Chromosoms als Zeichen des physiologischen Alterungsprozesses in Zellen des Knochenmarkes und des Blutes bekannt ist, und Verluste des Y-Chromosoms somit auch bei gesunden Probanden nachgewiesen werden. In der Altersgruppe 60 bis 70-jähriger gesunder Männer finden sich an einzelnen Zelllinien des Knochenmarks in ca. 20 % Verluste des Y-Chromosoms (Pierre und Hoagland 1972). Daher kann es sich in Anbetracht des Patientenalters der betroffenen Fälle auch um eine altersabhängige Chromosomenveränderung handeln.

<sup>31</sup> Vier Trisomien: A7 (+12), A41 (+12,+19), A65 (+X,+2mar), A74 (keine weiteren Zugewinne); eine partielle Trisomie: A26 (+3,+7); eine partielle Monosomie: A13 (keine weiteren Zugewinne).

<sup>32</sup> 40 unterschiedlich große Deletionen, unbalancierte Translokation: A28, Monosomie: A21.

<sup>33</sup> 27 Deletionen unterschiedlicher Größe, 2 Additionen: A48, B44, unbalancierte Translokation: A72, Monosomie: A40.

<sup>34</sup> Deletionen unterschiedlicher Größe der Region 6q21~22: A8, A26, A29, A45, A51, A67, A81; 2 Additionen (Region unbekannt bei A18, Verlust der Region 6q27 bei A84), Verluste beider Regionen (Addition bei A77, Isochromosom des kurzen Chromosomenarmes bei A68, unbalancierte Translokation bei A71 und A83), Monosomie mit Deletion in 6q21 bei A72 (in der Tabelle wurde nur die Monosomie berücksichtigt, Fälle n=14).

<sup>35</sup> Deletionen (A31, A55, A80, A82, A83), unbalancierte Translokation (A72), Trisomien (A11, A26), Monosomie (A18), Fall A80 wurde nicht mittels retrospektiver FISH untersucht.

<sup>36</sup> Deletion in einem Klon von A6 (ein zweiter Klon dieses Falles zeigte eine partielle Monosomie ohne Beteiligung der Region 17p13), 2 Isochromosomen des langen Chromosomenarmes (A9, A52), unbalancierte Translokationen (A13, A58), Additionen (A29, A71), Monosomien (A21, A40).

<sup>37</sup> Unbalancierte Translokation (A26), Deletionen (A42, A53, A57), Additionen (A48, A55), Trisomien (A17, A21).

<sup>38</sup> Dizentrisches Chromosom (A6), Ringchromosom (A50), Addition (A27), Deletion (A17), partielle Monosomie 4 (A52) mit Verlust des Bereiches vom p-Arm bis zur Bande 4q21. Bruchpunkt auf q-Arm bei Fall A21 unbekannt.

<sup>39</sup> Additionen (A39, A85), unbalancierte Translokationen (A13, A28, A63), dizentrisches Chromosom (A6), Trisomien (A7, A41, A65, A74), partielle Trisomie (A26), in der retrospektiven FISH wurde A26 und A28 nicht untersucht.

<sup>40</sup> Additionen (A17, A70), Addition und Deletion (A71), Monosomien (A18, A52, A55), partielle Trisomie (A42).

<sup>41</sup> In 4 Fällen (A1, A2, A16, A20) traten nebeneinander zwei reziproke Translokationen auf (Bei Fall A2 jedoch in jeweils verschiedenen Klonen), in einem Fall (A4) nebeneinander 3. Die restlichen 32 balancierten Translokationen traten als einzige Translokation eines Falles auf.

<sup>42</sup> Einige Fälle zeigten mehrere unterschiedliche unbalancierte Translokationen: A28, A71 (fünf unbalancierte Translokationen), A84 (vier unbalancierte Translokationen), A18, A42, A72 (drei unbalancierte Translokationen), A6, A26, A27, A29, A30, A47, A55, A63, A76, A82 (je 2 unbalancierte Translokationen). Die restlichen 24 Fälle wiesen je 1 unbalancierte Translokation auf.

<sup>43</sup> Es wurden in elf Fällen nebeneinander balancierte und unbalancierte Translokationen festgestellt (A2, A13, A23, A26, A28, A29, A32, A47, A55, A82, A83).

<sup>44</sup> Fälle: A32, A63.

<sup>45</sup> Bei den reziproken Translokationen wiederkehrende Partnerregionen: in 7 Fällen Region 18q21 (A20, A33, A53, B9, B15, B60, B61), in 2 Fällen Region 11q13 (A9, A55) und in 2 Fällen Region 8q24 (A26, A47). Weitere Partner bei reziproken Translokationen: 1p22 (A16), 11q23 (A34), 13q11~13 (A59), 19q13 (A19), 22q11 (A10) (Partner bei unbalancierte Translokationen: 11q13 (A32), 6p12 oder 6p21 (A63)).

<sup>46</sup> Fälle: A1, A3, A25, A43, A51.

<sup>47</sup> Fälle: A10, A88.

## Endnoten

<sup>48</sup> Anteil der Aberration del(13q14) (n=84) an der Gesamtzahl der Aberrationen (n=191): 44 %. Die Anteile von Trisomie 12: 24 % (n=46), von del(11q): 17 % (n=33), von Translokationen 14q32: 11 % (n=21) und von del(17p): 4 % (n=7).

<sup>49</sup> In drei Fällen (A26, A45, A81) lokalisierte die FISH Verluste sowohl in 6q21 als auch in 6q27, obwohl der KCA-Befund lediglich die Beteiligung der Region 6q21 und der Nachbarregionen bis hin zur Bande 6q26 beschrieben hatte. Der Fall A18 hatte im KCA-Befund nur eine klonale Metaphase gezeigt und der Klon war aufgrund der darüber hinaus auftretenden, durch FISH bestätigte genetische Veränderung (Trisomie 12) in die Auswertung aufgenommen worden.

<sup>50</sup> Fall A18 hatte im KCA-Befund nur eine klonale Metaphase gezeigt und der Klon war aufgrund der darüber hinaus auftretenden, durch FISH bestätigte genetische Veränderung (Trisomie 12) in die Auswertung aufgenommen worden.

<sup>51</sup> Fall A48: der KCA-Befund beschrieb eine Addition in der Nachbarbande 8p22~23.

<sup>52</sup> Bei Fall A21 mit einer Trisomie 8 war in der KCA die Untersuchung von nur einer Metaphase möglich gewesen (der Fall wurde aufgrund der durch FISH bestätigten begleitend auftretenden Trisomie 12 und Deletion 13q14 (bzw. Monosomie 13 in der KCA) in die Auswertung aufgenommen.

<sup>53</sup> Bei Fall A6 konnte die Deletion mittels FISH nicht bestätigt werden, allerdings zeigte in der KCA nur ein Subklon die Deletion.

<sup>54</sup> Der Fall A18 hatte im KCA-Befund nur eine klonale Metaphase gezeigt und der Klon war aufgrund der darüber hinaus auftretenden, durch FISH bestätigten genetischen Veränderung (Trisomie 12) in die Auswertung aufgenommen worden.

<sup>55</sup> Die genetischen Veränderungen der untersuchten Fälle mit mehr Aberrationen in der KCA als in der FISH lagen überwiegend (zu 84 %) in Regionen, für die keine FISH-Sonden in der Routinediagnostik eingesetzt worden waren. Somit war dies überwiegend nicht durch eine mangelhafte Sensitivität der FISH zu begründen.

<sup>56</sup> Bei 11 % der Fälle wurden in der FISH-Diagnostik mindestens zwei genetische Veränderungen gefunden und ihre durchschnittliche Anzahl pro Fall betrug 0,7. Im Vergleich dazu ergab der Befund der KCA für mehr als ein Viertel der Fälle (26 %) zumindest zwei Aberrationen und die durchschnittliche Anzahl pro Fall betrug 1,1.

<sup>57</sup> Dies sind u.a. ein unmutierter IgH-Status (Dicker et al., 2005), das Vorliegen der Deletion 17p (Haferlach et al., 2007), eine starke CD38-Expression (Dicker et al., 2006) und ein hohes klinisches (Binet-) Stadium (Buhmann et al., 2002). Es wird auch ein signifikanter negativer Einfluss auf die Overall-survival-Rate (OV = Gesamtüberlebensrate) beschrieben (Mayr et al., 2006) bzw. auf die klinischen Endpunkte TTFT (= time to first therapy = Zeit bis zur ersten Therapie) und TTST (= time to subsequent therapy = Zeit bis zur Anschluss therapie) (Kujawski et al., 2008).

<sup>58</sup> Dicker et al., 2006; Haferlach et al., 2007; Buhmann et al., 2002.

<sup>59</sup> Die in Publikationen als selten aber typisch beschriebene rekurrent bei CLL auftretende t(14;19)(q32;q13) (Michaux et al., 1997; Martín-Subero et al., 2007) wurde innerhalb der Fälle dieser Arbeit lediglich bei einem Patienten (A19) nachgewiesen. Der für die schweren Immunglobulinketten kodierende Genbereich 14q32 war jedoch noch in 15 weiteren Fällen an reziproken Translokationen beteiligt. Die – mit einer Inzidenz von 2 % (n=7) – am häufigsten diagnostizierte t(14;18)(q32;q21) ist bekannt vom folliculären Lymphom. Die – mit einer Inzidenz von <1 % (n=2) – zweithäufigste Translokation t(11;14)(q13;q32) tritt charakteristischerweise bei Mantelzelllymphomen auf. Die bei <1% (n=2) der untersuchten Fälle gefundene t(8;14)(q24;q32) spielt eine wichtige Rolle bei der Pathogenese des Burkittlymphoms (Willis und Dyer, 2000) sowie diffus großzelliger B-Zell-Lymphome (Hummel et al., 2006).

Trotz der sehr breiten Variabilität der reziproken Translokationen waren die beteiligten Bruchpunkte rekurrent. Nach der Chromosomenregion 14q32 war die aus Deletionen bei CLL bekannte Region 13q14 am zweithäufigsten betroffen. Andere in dieser Arbeit beobachtete rekurrente Bruchstellen sind aus charakteristischen reziproken Translokationen anderer Leukämie- und Lymphomformen bekannt und z.T. sind die betroffenen Gene bereits identifiziert.

<sup>60</sup> Die Trisomie 12 bzw. der Zugewinn der Region 12q wurde bei 17% der untersuchten Fälle durch die Kombination beider Verfahren diagnostiziert (Tabelle 8).



## Endnoten

---

<sup>61</sup> Insgesamt wurden für den Fall 15 Metaphasen untersucht, von denen 53 % (n=8) diese Klonalität aufwiesen.

<sup>62</sup> Insgesamt zeigten sich 6 Trisomien 19, die alle von einer Trisomie 12 begleitet wurden (A12, A14, A37, A41, A44, A60). Bei dem Fall A46 fand sich eine partielle Trisomie 19, bei der keine Trisomie 12 gefunden wurde. Des Weiteren wird in der Literatur eine Korrelation der Trisomie 19 zur Trisomie 18 beschrieben (Sellmann et al., 2007). Diese Konstellation wurde hier in einem Fall (A41) diagnostiziert.

<sup>63</sup> An dieser Stelle sei noch erwähnt, dass die Translokation (14;19)(q32;q13) - eine zwar seltene, aber für die CLL typische Translokation - ebenfalls mit der Trisomie 12 (Fall A19) korreliert (Michaux et al., 1997). Auf diese wird in der vorliegenden Arbeit später noch genauer eingegangen. Die Translokation (14;19)(q32;q13) korrelierte auch mit einer Überexpression des BCL3-Gens (Michaux et al., 1997).

<sup>64</sup> In der Genregion 17p13 wird u. a. das Tumorsuppressorgen P53 kodiert. Ein Verlust dieses Gens ist assoziiert mit einem aggressiven Krankheitsverlauf und einem schlechten Ansprechen auf die Therapie mit sogenannten Purinnukleosidanaloga (Döhner et al., 2000).

<sup>65</sup> Die Chromosomenregion 7q21 war bei insgesamt 9 Fällen (3 %) an genetischen Veränderungen beteiligt (5 Deletionen (A31, A55, A80, A82, A83), eine Monosomie (A18), eine unbalancierte Translokation (A72), zwei Trisomien (A11, A26)). Bei dem Fall A80 mit der interstitiellen Deletion 7q11q21 erfolgte keine FISH.

<sup>66</sup> Nur für den Fall A55, bei dem ein großes Stück des q-Chromosomenarmes (ab der Region 7q11) verloren gegangen war, bestätigte die nachträgliche FISH-Untersuchung einen Verlust des CDK6-Gens.

<sup>67</sup> Die Chromosomenregion 8p21~22 war bei 2 % (n=6) der untersuchten Fälle von Verlustereignissen genetischen Materials und zwei weiteren Fällen von einer Trisomie 8 betroffen.

<sup>68</sup> Fälle: A6, A17, A27, A52.

<sup>69</sup> Fall A6 zeigte einen Subklon, insgesamt lagen zwei unabhängige Klone vor, Fall A27 zeigte einen Subklon.

<sup>70</sup> Zum Einsatz kam dafür eine im Kieler Institut für Humangenetik entwickelten Sonde für 18p11.32. Die Chromosomenregion 18p11 war bei 6 der untersuchten Fälle (A6, A13, A28, A39, A63, A85) von Verlustereignissen genetischen Materials und in 5 weiteren Fällen (A7, A26, A41, A65, A74) von einer Trisomie 18 betroffen. A26 und A28 wurden nicht mittels retrospektiver FISH untersucht. Mittels retrospektiver FISH zeigten 3 von 5 untersuchten Fällen eine Deletion (A13, A39, A85), die Trisomie 18 wurde bestätigt bei A7, A41, A65 und A74 (dieser Fall zeigte zusätzlich noch eine Deletion ausschließlich in der retrospektiven FISH).

<sup>71</sup> Zum Einsatz kam dafür der Sonden-Assay „6q21/6q27“, um die als rekurrente Zielorte von Deletionen bei CLL bekannten Chromosomenregionen 6q21~23 und 6q25~27 (Stilgenbauer et al., 1999) zu erfassen.

<sup>72</sup> Bei einem der vier erfolglos auf Deletionen in 6q21/6q27 getesteten Fällen (A18) lag nur eine klonale Metaphase vor. Daher ist dieser Fall streng nach Definition kein klonaler Fall, und es ist nicht auszuschließen, dass die durch die KCA diagnostizierte Aberration erst in der Zellkultur entstanden ist und in den für die FISH verwendeten Interphasezellen noch nicht präsent ist. Der Fall wurde aufgrund der durch FISH bestätigten begleitend auftretenden Trisomie 12 mitgezählt.

<sup>73</sup> Betroffen waren 51 % der Patienten mit einer Deletion 13q (n=43 von 84, Abb.1-5) bzw. 15% der untersuchten Patienten (43 von 284).

<sup>74</sup> Für die FISH-Standarddiagnostik wurden Sonden zur Diagnostik von strukturellen Verlusten und Zugewinnen eingesetzt. Verlustereignisse konnten nur bei Translokationen, deren Bruchpunkte in genau diesen Genbereichen lagen, erfasst werden. Betroffen von derartigen Verlusten in vermeintlich balancierten Translokationen waren hier 5 von 7 Fällen mit Translokationen unter Beteiligung der Region 13q14 (A3, A25, A43, A51, A59; keine Verluste zeigten A1 u. A2) und einer von 4 Fällen mit Translokationen unter Beteiligung von 11q13 (A2; keine Verluste zeigten A9, A34 u. A55).

Literaturverzeichnis

**7 Literaturverzeichnis**

- Abe T, Makino N, Furukawa T, Ouyang H, Kimura M, Yatsuoka T, Yokoyama T, Inoue H, Fukushige S, Hoshi M, Hayashi Y, Sunamura M, Kobari M, Matsuno S, Horii A (1999): Identification of three commonly deleted regions on chromosome arm 6q in human pancreatic cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 25, 60-64
- Asou H, Matsui H, Ozaki Y, Nagamachi A, Nakamura M, Aki D, Inaba T (2009): Identification of a common microdeletion cluster in 7q21.3 subband among patients with myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *Biochem Biophys Res Commun* 383, 245-251
- Austen B, Powell JE, Alvi A, Edwards I, Hooper L, Starczynski J, Malcolm A, Taylor R, Fegan C, Moss P, Stankovic T (2005): Mutations in the ATM gene lead to impaired overall and treatment-free survival that is independent of IGVH mutation status in patients with B-CLL. *Blood* 106, 3175-3182
- Austen B, Skowronska A, Baker C, Powell JE, Gardiner A, Oscier D, Majid A, Dyer M, Siebert R, Taylor AM, Moss PA, Stankovic T (2007): Mutation status of the residual ATM allele is an important determinant of the cellular response to chemotherapy and survival in patients with chronic lymphocytic leukemia containing an 11q deletion. *J Clin Oncol* 25, 5448-5457
- Autio K, Elonen E, Teerenhovi L, Knuutila S (1987): Cytogenetic and immunologic characterization of mitotic cells in chronic lymphocytic leukemia. *Eur J Haematol* 39, 289-298
- Balatti V, Bottoni A, Palamarchuk A, Alder H, Rassenti LZ, Kipps TJ, Pekarsky Y, Croce CM (2012): NOTCH1 mutations in CLL associated with trisomy 12. *Blood* 119, 329-331
- Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, East C, Fourouclas N, Swanton S, Vassiliou GS, Bench AJ, Boyd EM, Curtin N, Scott MA, Erber WN, Green AR (2005): Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 365, 1054-1061
- Binet JL, Auquier A, Dighiero G, Chastang C, Piguët H, Goasguen J, Vaugier G, Potoron G, Colona P, Oberling F, Thomas M, Tchernia G, Jacquillat C, Boivin P, Lesty C, Duault MT, Monconduit M, Belabbes S, Gremy F (1981): A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer* 48, 198-206
- Boveri T (1914): *Zur Frage der Entstehung Maligner Tumoren*. Fischer-Verlag, Jena, Germany, 22
- Buhmann R, Kurzeder C, Rehklau J, Westhaus D, Bursch S, Hiddemann W, Haferlach T, Hallek M, Schoch C (2002): CD40L stimulation enhances the ability of conventional metaphase cytogenetics to detect chromosome aberrations in B-cell chronic lymphocytic leukemia cells. *Br J Haematol* 118, 968-975

Literaturverzeichnis

- Burke JS, Mackay B, Rappaport H (1976): Hairy cell leukemia (Leukemic reticuloendotheliosis) II. Ultrastructure of spleen. *Cancer* 37, 2267-2274
- Cavazzini F, Cuneo A, de Angeli C, Bardi A, Agostani P, Tammiso E, Rigolin GM, Castaldi G (2004): Abnormalities of chromosomes 1p34-36, 4p16, 4q35, 9q11-32 and +7 represent novel recurrent cytogenetic rearrangements in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk and Lymphoma* 45, 1197-1203
- Cavazzini F, Hernandez JA, Gozzetti A, Russo Rossi A, De Angeli C, Tiseo R, Bardi A, Tammiso E, Crupi R, Lenoci MP, Forconi F, Lauria F, Marasca R, Maffei R, Torelli G, Gonzalaz M, Martin-Jimenez P, Maria Hernandez J, Rigolin GM, Cuneo A (2008): Chromosome 14q32 translocations involving the immunoglobulin heavy chain locus in chronic lymphocytic leukaemia identify a disease subset with poor prognosis. *Br J Haematol* 142, 529-537
- Cavazzini F, Rizzotto L, Sofritti O, Daghia G, Cibien F, Martinelli S, Ciccone M, Saccenti E, Dabusti M, Elkareem AA, Bardi A, Tammiso E, Cuneo A, Rigolin GM (2012): Clonal evolution including 14q32/IGH translocations in chronic lymphocytic leukemia analysis of clinicobiologic correlations in 105 patients. *Leuk Lymphoma* 53, 83-88
- Chen C, Brabham WW, Stultz BG, Frierson Jr HF, Barrett JC, Sawyers CL, Isaacs JT, Dong J-T (2001): Defining a common region of deletion at 13q21 in human cancers. *Genes Chromosomes Cancer* 31, 333-344
- Cheson BD, Bennett JM, Grever M, Kay N, Keating MJ, O'Brien S, Rai KR (1996): National Cancer Institute sponsored Working Group guidelines for chronic lymphocytic leukemia: revised guidelines for diagnosis and treatment. *Blood* 87, 4990-4997
- Colovic N, Bogdanovic A, Martinovic-Cemerikic V, Jankovic G (2001): Prognostic significance of serum immunoglobulins in B-chronic lymphocytic leukemia. *Arch Oncol* 9, 79-82
- Corcoran MM, Mould SJ, Orchard JA, Ibbotson RE, Chapman RM, Boright AP, Platt C, Tsui L-C, Scherer SW, Oscier DG (1999): Dysregulation of cyclin dependent kinase 6 expression in splenic marginal zone lymphoma through chromosome 7q translocations. *Oncogene* 18, 6271-6277
- Cuneo A, Rigolin GM, Bigoni R, De Angeli C, Veronese A, Cavazzini F, Bardi A, Roberti MG, Tammiso E, Agostini P, Ciccone M, Della Porta M, Tieghi A, Cavazzini L, Negrini M, Castaldi G (2004): Chronic lymphocytic leukemia with 6q- shows distinct hematological features and intermediate prognosis. *Leukemia* 18, 476-483
- Dal Bo M, Rossi FM, Rossi D, Deambrogi C, Bertoni F, Del Giudice I, Palumbo G, Nanni M, Rinaldi A, Kwee I, Tissino E, Corradini G, Gozzetti A, Cencini E, Ladetto M, Coletta AM, Luciano F, Bulian P, Pozzato G, Laurenti L, Forconi F, Di Raimondo F, Marasca R, Del Poeta G, Gaidano G, Foà R, Guarini A, Gattei V (2011): 13q14 deletion size and number of deleted cells both influence prognosis in chronic lymphocytic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 50, 633-643

Literaturverzeichnis

- Dameshek W (1967): Chronic lymphocytic leukemia – an accumulative disease of immunologically incompetent lymphocytes. *Blood* 29, 566-584
- Dasanu CA, Alexandrescu DT (2007): Risk for second nonlymphoid neoplasms in chronic lymphocytic leukemia. *MedGenMed* 9, 35
- Dearden C (2008): Disease-specific complications of chronic lymphocytic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 450-456
- Decker T, Schneller F, Kronschnabl M, Dechow T, Lipford GB, Wagner H, Peschel C (2000a): Immunostimulatory CpG-oligonucleotides induce functional highaffinity IL-2 receptors on B-CLL cells: costimulation with IL-2 results in a highly immunogenic phenotype. *Exp Hematol* 28, 558-568
- Decker T, Schneller F, Sparwasser T, Tretter T, Lipford GB, Wagner H, Peschel C (2000b): Immunostimulatory CpG-oligonucleotides cause proliferation, cytokine production, and an immunogenic phenotype in chronic lymphocytic leukemia B cells. *Blood* 95, 999-1006
- Decker T, Schneller F, Hipp S, Miething C, Jahn T, Duyster J, Peschel C (2002): Cell cycle progression of chronic lymphocytic leukemia cells is controlled by cyclin D2, cyclin D3, cyclin-dependent kinase (cdk) 4 and the cdk inhibitor p27. *Leukemia* 16, 327–3341006
- Del Giudice I, Rossi D, Chiaretti S, Marinelli M, Tavolaro S, Gabrielli S, Laurenti L, Marasca R, Rasi S, Fangazio M, Guarini A, Gaidano G, Foà R (2012): NOTCH1 mutations in +12 chronic lymphocytic leukemia (CLL) confer an unfavorable prognosis, induce a distinctive transcriptional profiling and refine the intermediate prognosis of +12 CLL. *Haematologica*, 97, 437-441
- Dicker F, Schnittger S, Kern W, Haferlach T, Schoch C (2005): Complex aberrant karyotypes and unbalanced translocations in CLL correlate with an unmutated IgVH status: a study on 133 patients studied with chromosome banding analysis, interphase FISH, IgVG mutation status, ZAP-70 RNA expression and immunophenotyping. *Blood* 106, 2939
- Dicker F, Schnittger S, Haferlach T, Kern W, Schoch C (2006): Immunostimulatory oligonucleotide-induced metaphase cytogenetics detect chromosomal aberrations in 80% of CLL patients: a study of 132 CLL cases with correlation to FISH, IgVH status, and CD38 expression. *Blood* 108, 3152-3160
- Döhner H, Stilgenbauer S, Döhner K, Bentz M, Lichter P (1999): Chromosome aberrations in B-cell chronic lymphocytic leukemia: reassessment based on molecular cytogenetic analysis. *J Mol Med* 77, 266-281
- Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A, Leupolt E, Krober A, Bullinger L, Döhner K, Bentz M, Lichter P (2000): Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 343, 1910-1916
- Dong JT, Chen CC, Stultz BG, Isaacs JT, Frierson HF Jr (2000): Deletion at 13q21 is associated with aggressive prostate cancers. *Cancer Res* 60, 3880-3883

Literaturverzeichnis

- Dürig J, Bug S, Klein-Hitpass L, Boes T, Jöns T, Martín-Subero JI, Harder L, Baudis M, Dührsen U, Siebert R (2007): Combined single nucleotide polymorphism-based genomic mapping and global gene expression profiling identifies novel chromosomal imbalances, mechanisms and candidate genes important in the pathogenesis of T-cell prolymphocytic leukemia with inv(14)(q11q32). *Leukemia* 21, 2153-2163
- Dunne J, Hanby AM, Poulson R, Jones TA, Sheer D, Chin WG, Da SM, Zhao Q, Beverley PC, Owen MJ (1995): Molecular cloning and tissue expression of FAT, the human homologue of the drosophila fat gene that is located on chromosome 4q34-35 and encodes a putative adhesion molecule. *Genomics* 30, 207-223
- Fernández V, Jares P, Beà S, Salaverria I, Guino E, De Sanjosé S, Colomer D, Ott G, Montserrat E, Campo E (2004): Frequent polymorphic changes but not mutations of TRAIL receptors DR4 and DR5 in mantle cell lymphoma and other B-cell lymphoid neoplasms. *Haematologica* 89, 1322-1331
- Fink SR, Smoley SA, Stockero J, Paternoster SF, Thorland EC, Van Dyke DL, Shanafelt TD, Zent CS, Call TG, Kay NE, Dewald GW (2006): Loss of TP 53 is due to rearrangements involving chromosome region 17p10~p12 in chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 167, 177-181
- Fonatsch C (1993): Cytogenetics of malignant lymphoma. *Internist (Berl)* 34, 114-118
- Gahrton G, Robert KH, Friberg K, Zech L, Bird AG (1980): Nonrandom chromosomal aberrations in chronic lymphocytic leukemia revealed by polyclonal B-cell-mitogen stimulation. *Blood* 56, 640-647
- Haferlach C, Dicker F, Schnittger S, Kern W, Haferlach T (2007a): Comprehensive genetic characterization of CLL: a study of 506 cases analysed with chromosome banding analysis, interphase FISH, IgVH status and immunophenotyping. *Leukemia* 21, 2442-2451
- Haferlach C, Rieder H, Lillington DM, Dastugue N, Hagemeijer A, Harbott J, Stilgenbauer S, Knuutila S, Johansson B, Fonatsch C (2007b): Proposals for standardized protocols for cytogenetic analyses of acute leukemias, chronic lymphocytic leukemia, chronic myeloid leukemia, chronic myeloproliferative disorders, and myelodysplastic syndromes. *Genes Chromosomes Cancer* 46, 494-499
- Haferlach C, Dicker F, Weiss T, Schnittger S, Beck C, Grote-Metke A, Oruzio D, Kern W, Haferlach T (2010): Toward a comprehensive prognostic scoring system in chronic lymphocytic leukemia based on a combination of genetic parameters. *Genes Chromosomes Cancer*. 49, 851-859
- Harder S, Siebert R, Grote W, Schlegelberger S (1998): Bedeutung genetischer Aberrationen für die histopathologische und klinisch-prognostische Klassifikation maligner Lymphome. *Medgen* 10, 307-309

Literaturverzeichnis

- Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks PN, Chan JK, Cleary ML, Delsol G, De Wolf-Peeters C, Falini B, Gatter KC (1994): A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 84, 1361-1392
- Hayette S, Tigaud I, Callet-Bauchu E, Ffrench M, Gazzo S, Wahbi K, Callanan M, Felman P, Dumontet C, Magaud J-P, Rimokh R (2003): In B-cell chronic lymphocytic leukemias, 7q21 translocations lead to overexpression of the CDK6 gene. *Blood* 102, 1549-1550
- Heerema NA, Byrd JC, Dal Cin PS, Dell'Aquila ML, Koduru PR, Aviram A, Smoley SA, Rassenti LZ, Greaves AW, Brown JR, Rai KR, Kipps TJ, Kay NE, Van Dyke DL (2010): Stimulation of chronic lymphocytic leukemia cells with CpG oligodeoxynucleotide gives consistent karyotypic results among laboratories: a CLL Research Consortium (CRC) Study. *Cancer Genet Cytogenet* 203, 134-140
- Hummel M, Bentink S, Berger H, Klapper W, Wessendorf S, Barth T, Bernd H-W, Cogliatti SB, Dierlamm J, Feller AC, Hansmann M-L, Haralambieva E, Harder L, Hasenclever D, Kühn M, Lenze D, Lichter P, Martín-Subero JI, Möller P, Müller-Hermelink H-K, Ott G, Parwaresch RM, Pott C, Rosenwald A, Rosolowski M, Schwaenen C, Stürzenhofecker B, Szczepanowski M, Trautmann H, Wacker H-H, Spang R, Loeffler M, Trümper L, Stein H, Siebert R (2006): A biologic definition of burkitt's lymphoma from transcriptional and genomic profiling. *N Engl J Med* 354, 2419-2430
- Ihle JN, Gilliland DG (2007): Jak2: normal function and role in hematopoietic disorders. *Curr Opin Genet Dev* 17, 8-14
- Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW (2001): World Health Organization classification of tumours, pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues, IARC Press, Lyon, Frankreich
- Joos S, Granzow M, Hotgreve-Grez H, Siebert R, Harder L, Martín-Subero JL, Wolf J, Adamowicz M, Barth TF, Lichter P, Jauch A (2003): Hodgkin's lymphoma cell lines are characterized by frequent aberrations on chromosomes 2p and 9p including REL and JAK2. *Int J Cancer* 103, 489-495
- Juliusson G, Gahrton G (1990): Chromosome aberrations in B-cell chronic lymphocytic leukemia: pathogenetic and clinical implications. *Cancer Genet Cytogenet* 45, 143-160
- Kainu T, Juo SH, Desper R, Schaffer AA, Gillanders E, Rozenblum C, Freas-Lutz D, Weaver D, Stephan D, Bailey-Wilson J, Kallioniemi OP, Tirkkonen M, Syrjäkoski K, Kuukasjärvi T, Koivisto P, Karhu R, Holli K, Arason A, Johannesdottir G, Bergthorsson JT, Johannsdottir H, Egilsson V, Barkardottir RB, Johannsson O, Haraldsson K, Sandberg T, Holmberg E, Grönberg H, Olsson H, Borg A, Vehmanen P, Eerola H, Heikkilä P, Pyrhönen S, Nevanlinna H (2000): Somatic deletions in hereditary breast cancers implicate 13q21 as a putative novel breast cancer susceptibility locus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97, 9603-9608

Literaturverzeichnis

- Keller AD, Maniatis T (1991): Identification and characterization of a novel repressor of beta-interferon gene expression. *Genes Dev.* 5, 868-879
- Kipps T, Carson DA (1993): Autoantibodies in chronic lymphocytic leukemia and related systemic autoimmune diseases. *Blood* 81, 2475-2487
- Kittiniyom K, Gorse KM, Dalbague F, Lichy JH, Taubenberger JK, Newsham IF (2001): Allelic loss on chromosome band 18p11.3 occurs early and reveals heterogeneity in breast cancer progression. *Breast Cancer Res* 3, 192-198
- Kotkowska A, Wawrzyniak E, Blonski JZ, Robak T, Korycka Wolowiec A (2011): Chromosomal aberrations in chronic lymphocytic leukemia detected by conventional cytogenetics with DSP30 as a single agent: comparison with FISH. *Leuk Res* 35, 1032-1038
- Krieg AM, Kline JN (2000): Immune effects and therapeutic applications of CpG motifs in bacterial DNA. *Immunopharmacology* 48, 303-305
- Kujawski L, Ouillette P, Erba H, Saddler C, Jakubowiak A, Kaminski M, Shedden K, Malek SN (2008): Genomic complexity identifies patients with aggressive chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 112, 1993-2003
- Lane DP (1992): p53, guardian of the genome. *Nature* 358, 15-16
- Larramendy ML, Siitonen SM, Zhu Y, Hurme M, Vilpo JA, Knuutila S (1998): Optimized mitogen stimulation induces proliferation of neoplastic B cells in chronic lymphocytic leukemia: significance for cytogenetic analysis. *Cytogenet Cell Genet* 82, 215-221
- Liang H, Nishioaka Y, Reich CF, Pisetsky DS, Lipsky PE (1996): Activation of human B-cells by phosphorothioate oligodeoxynucleotides. *J Clin Invest* 98, 1119-1129
- Lozanski G, Heerema NA, Flinn IW, Smith L, Harbison J, Webb J, Moran M, Lucas M, Lin T, Hackbarth ML, Proffitt JH, Lucas D, Grever MR, Byrd JC (2004): Alemtuzumab is an effective therapy for chronic lymphocytic leukemia with p53 mutations and deletions. *Blood* 103, 3278-3281
- Martínez-Ramírez A, Urioste M, Melchor L, Blesa D, Valle L, Alvarez de Andrés S, Kok K, Calasanz MJ, Cigudosa JC, Benítez J (2005): Analysis of myelodysplastic syndromes with complex karyotypes by high-resolution comparative genomic hybridization and subtelomeric CGH array. *Genes Chromosomes Cancer* 42, 287-298
- Martín-Subero JI, Gesk S, Harder L, Sonoki T, Tucker PW, Schlegelberger B, Grote W, Novo FJ, Calasanz MJ, Hansmann ML, Dyer MJ, Siebert R (2002): Recurrent involvement of the REL and BCL11A loci in classical Hodgkin lymphoma. *Blood* 99, 1474-1477

Literaturverzeichnis

- Martín-Subero JI, Ibbotson R, Klapper W, Michaux L, Callet-Bauchu E, Berger F, Calasanz MJ, De Wolf-Peeters C, Dyer MJ, Felman P, Gardiner A, Gascoyne RD, Gesk S, Harder L, Horsman DE, Kneba M, Küppers R, Majid A, Parry-Jones N, Ritgen M, Salido M, Solé F, Thiel G, Wacker HH, Oscier D, Wlodarska I, Siebert R (2007): A comprehensive genetic and histopathologic analysis identifies two subgroups of B-cell malignancies carrying a t(14;19)(q32;q13) or variant BCL-3-translocation. *Leukemia* 21, 1532-1544
- Martín-Subero JI, Klapper W, Sotnikova A, Callet-Bauchu E, Harder L, Bastard C, Schmitz R, Grohmann S, Höppner J, Riemke J, Barth TF, Berger F, Bernd HW, Claviez A, Gesk S, Frank GA, Kaplanskaya IB, Möller P, Parwaresch RM, Rüdiger T, Stein H, Küppers R, Hansmann ML, Siebert R (2006): Chromosomal breakpoints affecting immunoglobulin loci are recurrent in Hodgkin and Reed-Sternberg cells of classical Hodgkin lymphoma. *Cancer Res* 66, 10332-10338
- Mayr C, Speicher MR, Kofler DM, Buhmann R, Strehl J, Busch R, Hallek M, Wendtner CM (2006): Chromosomal translocations are associated with poor prognosis in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 107, 742-751
- Melo JV, Catovsky D, Galton DA (1986): The relationship between chronic lymphocytic leukaemia and prolymphocytic leukaemia. I. Clinical and laboratory features of 300 patients and characterization of an intermediate group. *Br J Haematol* 63, 377-387
- Messmer BT, Messmer D, Allen SL, Kolitz JE, Kudalkar P, Cesar D, Murphy EJ, Koduru P, Ferrarini M, Zupo S, Cutrona G, Damle RN, Wasil T, Rai KR, Hellerstein MK, Chiorazzi N (2005): In vivo measurements document the dynamic cellular kinetics of chronic lymphocytic leukemia B cells. *J Clin Invest*, 755-764
- Michaux L, Dierlamm J, Wlodarska I, Bours V, Van Den Berghe H, Hagemeijer A (1997): t(14;19)/BCL3 rearrangements in lymphoproliferative disorders: a review of 23 cases. *Cancer Genet Cytogenet* 94, 36-43
- Mitelman F, Johansson B, Mertens F (Hrsg.) (2012): *Mitelman Database of chromosome Aberrations and Gene Fusions in Cancer*, <http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman>
- Montserrat E, Moreno C (2009): Genetic lesions in chronic lymphocytic leukemia: clinical implications. *Curr Opin Oncol* 21, 609-614
- Morrison VA (2007): Management of infectious complications in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 332–338
- Morrison VA (2009): Infectious complications in patients with chronic lymphocytic leukemia: pathogenesis, spectrum of infection, and approaches to prophylaxis. *Clin Lymphoma Myeloma* 9, 365–370
- Netea MG, Hoitink O, Kullberg BJ, van der Meer JW, Raymakers R (2008): Defective interferon-gamma production in patients with hairy cell leukaemia. *Neth J Med* 66, 340-343



Literaturverzeichnis

- Ng D, Toure O, Wei M-H, Arthur DC, Abbasi F, Fontaine L, Marti GE, Fraumeni Jr JF, Goldin LR, Caporaso N, Toro JR (2007): Identification of a novel chromosome region 13q21.33-q22.2 for susceptibility genes in familial chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 109, 916-925
- Nguyen-Khac F, Chapiro E, Lesty C, Grellet A, Luguët I, Radford-Weiss I, Lefebvre C, Fert-Ferrer S, Callet-Bauchu E, Lippert E, Raggieneau V, Michaux L, Barin C, Collonge-Rame MA, Mugneret F, Eclache V, Taviaux S, Dastugue N, Richebourg S, Struski S, Talmant P, Baranger L, Gachard N, Gervais C, Quilichini B, Settegrana C, Maloum K, Davi F, Merle-Béral H (2011): Specific chromosomal IG translocations have different prognoses in chronic lymphocytic leukemia. *Am J Blood Res* 1, 13-21
- Novak U, Oppliger Leibundgut E, Hager J, Mühlematter D, Jotterand M, Besse C, Leupin N, Ratschiller D, Papp J, Kearsey G, Aebi S, Graber H, Jaggi R, Lüthi JM, Meyer-Monard S, Lathrop M, Tobler A, Fey MF (2002): A high-resolution allelotype of B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL). *Blood* 100, 1787-1794
- Oscier DG, Gardiner AC, Mould SJ, Glide S, Davis ZA, Ibbotson RE, Corcoran MM, Chapman RM, Thomas PW, Copplestone JA, Orchard JA, Hamblin TJ (2002): Multivariate analysis of prognostic factors in CLL: clinical stage, IGVH gene mutational status, and loss or mutation of the p53 gene are independent prognostic factors. *Blood* 100, 1177-1184
- Ott G, Balague-Ponz O, de Leval L, de Jong D, Hasserjian RP, Elenitoba-Johnson KS (2009): Commentary on the WHO classification of tumors of lymphoid tissues (2008): indolent B cell lymphomas. *J Hematop* 2, 77-81
- Ouillette P, Erba H, Kujawski L, Kaminski M, Shedden K, Malek SN (2008): Integrated genomic profiling of chronic lymphocytic leukemia identifies subtypes of deletion 13q14. *Cancer Res* 68, 1012-1021
- Pasqualucci L, Compagno M, Houldsworth J, Monti S, Grunn A, Nandula SV, Aster JC, Murty VV, Shipp MA, Dalla-Favera R (2006): Inactivation of the PRDM1/BLIMP1 gene in diffuse large B cell lymphoma. *J Exp Med* 203:311-307
- Pierre RV, Hoagland HC (1972): Age-associated aneuploidy: loss of Y chromosome from human bone marrow cells with aging. *Cancer* 30, 889-894
- Prochazkova M, Chevret E, Beylot-Barry M, Sobotka J, Vergier B, Delaunay M, Turmo M, Ferrer J, Kuglik P, Merlio J-P (2003): Chromosomal imbalances: a hallmark of tumour relapse in primary cutaneous CD30+ T-cell lymphoma. *J Pathol* 201, 421-429
- Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, Chanana AD, Levy RN, Pasternack BS (1975): Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 46, 219-234
- Read AP, Strachan T (2005): *Molekulare Humangenetik*. 3. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Germany

Literaturverzeichnis

- Reddy KS (2006): Chronic lymphocytic leukaemia profiled for prognosis using a fluorescence in situ hybridisation panel. *Br J Haematol* 132, 705-722
- Robak T, Robak P (2007): Current treatment options in prolymphocytic leukemia. *Med Sci Monit* 13, 69-80
- Rosenwald A, Wright G, Leroy K, Yu X, Gaulard P, Gascoyne RD, Chan WC, Zhao T, Haioun C, Greiner TC, Wewisenburger DD, Lynch JC, Vose J, Armitage JO, Smeland EB, Kvaloy S, Holte H, Delabie J, Campo E, Montserrat E, Lopez-Guillermo A, Ott G, Muller-Hermelink HK, Connors JM, Braziel R, Grogan TM, Fisher RI, Miller TP, LeBlanc M, Chiorazzi M, Zhao H, Yang L, Powell J, Wilson WH, Jaffe ES, Simon R, Klausner RD, Staudt LM (2003): Molecular diagnosis of primary mediastinal B cell lymphoma identifies a clinically favorable subgroup of diffuse large B cell lymphoma related to Hodgkin lymphoma. *J Exp Med* 198, 851-862
- Rozman C, Montserrat E (1995): Chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 333, 1052-1057
- Rubin AD, Havemann K, Dameshek W (1969): Studies in chronic lymphocytic leukemia: further studies of the proliferative abnormality of the blood lymphocyte. *Blood* 33, 313-328
- Rubio-Moscardo F, Blesa D, Mestre C, Siebert R, Balasas T, Benito A, Rosenwald A, Climent J, Martinez JI, Schilhabel M, Karran EL, Gesk S, Esteller M, deLeeuw R, Staudt LM, Fernandez-Luna JL, Pinkel D, Dyer MJS, Martinez-Climent JA (2005): Characterization of 8p21.3 chromosomal deletions in B-cell lymphoma: TRAIL-R1 and TRAIL-R2 as candidate dosage-dependent tumor suppressor genes. *Blood* 106, 3214-3222
- Ruiz-Ballesteros E, Mollejo M, Mateo M, Algara P, Martínez P, Piris MA (2007): MicroRNA losses in the frequently deleted region of 7q in SMZL. *Leukemia* 201, 2547-2549
- Sáez B, Martín-Subero JI, Largo C, Martín MC, Odero MD, Prosper F, Siebert R, Calasanz MJ, Cigudosa JC (2006): Identification of recurrent chromosomal breakpoints in multiple myeloma with complex karyotypes by combined G-banding, spectral karyotyping, and fluorescence in situ hybridization analysis. *Cancer Genet Cytogenet* 169, 143-149
- Schlette E, Rassidakis GZ, Canoz O, Medeiros LJ (2005): Expression of bcl-3 in chronic lymphocytic leukemia correlates with trisomy 12 and abnormalities of chromosome 19. *Am J Clin Pathol* 123, 465-471
- Schoch C, Schnittger S, Bursch S, Gerstner D, Hochhaus A, Berger U, Hehlmann R, Hiddemann W, Haferlach T (2002): Comparison of chromosome banding analysis, interphase- and hypermetaphase-FISH, qualitative and quantitative PCR for diagnosis and for follow-up in chronic myeloid leukemia: a study on 350 cases. *Leukemia* 16, 53-59

Literaturverzeichnis

- Schwaenen C, Nessling M, Wessendorf S, Salvi T, Wrobel G, Radlwimmer B, Kestler HA, Haslinger C, Stilgenbauer S, Döhner H, Bentz M, Lichter P (2004): Automated array-based genomic profiling in chronic lymphocytic leukemia: development of a clinical tool and discovery of recurrent genomic alterations. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101, 1039–1044
- Sellmann L, Gesk S, Walter C, Ritgen M, Harder L, Martín-Subero JI, Schroers R, Siemer D, Nüchel H, Dyer MJS, Dührsen U, Siebert R, Dürig J, Küppers R (2007): Trisomy 19 is associated with trisomy 12 and mutated IGHV genes in B-chronic lymphocytic leukemia. *Br J Haematol* 138, 217-220
- Shaffer LG, Slovak ML, Campbell LJ (Hrsg.) (2009): *ISCN 2009: An international system for human cytogenetic nomenclature*, Karger Verlag AG, Basel, Schweiz
- Shaffer LG, McGowan-Jordan J, Schmid M (Hrsg.) (2013): *ISCN 2013: An international system for human cytogenetic nomenclature*, Karger Verlag AG, Basel, Schweiz
- Shaheen SP, Talwalkar SS, Medeiros LJ (2008): Multiple myeloma and immunosecretory disorders: an update. *Adv Anat Pathol* 15, 196-210
- Singh PK, Gutmann DH, Fuller CE, Newsham IF, Perry A (2002): DAL-1 and NF2 in intracranial and intraspinal ependymomas. *Mod Pathol* 15, 526-531
- Staudt LM, Dave S (2005): The biology of human lymphoid malignancies revealed by gene expression profiling. *Adv Immunol* 87, 163-208
- Steinemann D, Gesk S, Yanmin Z, Harder L, Pilarsky C, Hinzmann B, Martín-Subero JI, Calasanz MJ, Mungall A, Rosenthal A, Siebert R, Schlegelberger B (2003): Identification of candidate tumor-suppressor genes in 6q27 by combined deletion mapping and electronic expression profiling in lymphoid neoplasms. *Genes Chromosomes Cancer* 37, 421-426
- Stilgenbauer S, Bullinger L, Benner A, Wildenberger K, Bentz M, Döhner K, Ho AD, Lichter P, Döhner H (1999): Incidence and clinical significance of 6q deletions in B cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 13, 1331-1334
- Stilgenbauer S, Bullinger L, Lichter P, Döhner H (2002): Genetics of chronic lymphocytic leukemia: genomic aberrations and V(H) gene mutation status in pathogenesis and clinical course. *Leukemia* 16, 993-1007
- Stilgenbauer S, Sander S, Bullinger L, Benner A, Leupolt E, Winkler D, Krober A, Kienle D, Lichter P, Döhner (2007): Clonal evolution in chronic lymphocytic leukemia: acquisition of high-risk genomic aberrations. *Haematologica* 92,1242-1245
- Stockero KJ, Fink SR, Smoley SA, Paternoster SF, Shanafelt TD, Call TG, Zent CS, Van Dyke DL, Kay NE, Dewald GW (2006): Metaphase cells with normal G-bands have cryptic interstitial deletions in 13q14 detectable by fluorescence in situ hybridisation in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 166, 152-156

Literaturverzeichnis

- Stone MJ (2009): Waldenström's macroglobulinemia: hyperviscosity syndrome and cryoglobulinemia. *Clin Lymphoma Myeloma* 9, 97-99
- Struski S, Gervais C, Helias C, Herbrecht R, Audhuy B, Mauvieux L (2009): Stimulation of B-cell lymphoproliferations with CpG-oligonucleotide DSP30 plus IL-2 is more effective than with TPA to detect clonal abnormalities.. *Leukemia* 23, 617-619
- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW (2008): WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. IARC Press, Lyon
- Tam W, Gomez M, Chadburn A, Lee JW, Chan WC, Knowles DM (2006): Mutational analysis of PRDM1 indicates a tumor suppressor role in diffuse large B-cell lymphomas. *Blood* 107: 4090-4100
- Tran YK, Böglér O, Gorse KM, Wieland I, Green MR, Newsham (1999): A novel member of the NF2/ERM/4.1 superfamily with growth suppressing properties in lung cancer. *Cancer Res* 59, 35-43
- Tsimberidou AM, Wen S, McLaughlin P, O'Brien S, Wierda WG, Lerner S, Strom S, Freireich EJ, Medeiros LJ, Kantarjian HM, Keating MJ (2009): Other malignancies in chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma. *J Clin Oncol* 27, 904-910
- Van Den Neste E, Robin V, Francart J, Hagemeijer A, Stul M, Vandenberghe P, Delannoy A, Sonnet A, Deneys V, Costantini S, Ferrant A, Robert A, Michaux L (2007): Chromosomal translocations independently predict treatment failure, treatment-free survival and overall survival in B-cell chronic lymphocytic leukemia patients treated with cladribine. *Leukemia* 21, 1715-1722
- Vogelstein B und Kinzler KW (1993): The multistep nature of cancer. *Trends Genet* 9, 138-141
- Vroblová V, Smolej L, Vrbacky F, Jankovičová K, Hrudková M, Malý J, Krejsek J (2009): Biological prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia. *Acta Medica* 52, 3-8
- Wang DM, Miao KR, Fan L, Qiu HR, Fang C, Zhu DX, Qiu HX, Xu W, Li JY (2011) Intermediate prognosis of 6q deletion in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 52, 230-237
- Wanko SO, de Castro C (2006): Hairy cell leukemia: an elusive but treatable disease. *Oncologist* 11, 780-789
- Willis TG, Dyer MJ (2000): The role of immunoglobulin translocations in the pathogenesis of B-cell malignancies. *Blood* 96, 808-822

Literaturverzeichnis

- Wolf S, Mertens D, Pscherer A, Schroeter P, Winkler D, Gröne H-J, Hofele C, Hemminki K, Kumar R, Steineck G, Döhner H, Stilgenbauer S, Lichter P (2006): Ala228 variant of trail receptor 1 affecting the ligand binding site is associated with chronic lymphocytic leukemia, mantle cell lymphoma, prostate cancer, head and neck squamous cell carcinoma and bladder cancer. *Int J Cancer* 118, 1831-1835
- Zech L, Haglund U, Nilsson K, Klein G (1976): Characteristic chromosomal abnormalities in biopsies and lymphoid-cell lines from patients with Burkitt and non-Burkitt lymphomas. *Int J Cancer* 17, 47-56
- Zenz T, Benner A, Döhner H, Stilgenbauer S (2008): Chronic lymphocytic leukemia and treatment resistance in cancer: the role of the p53 pathway. *Cell Cycle* 7, 3810-3814
- Zenz T, Mertens D, Döhner H, Stilgenbauer S (2011): Importance of genetics in chronic lymphocytic leukemia. *Blood Rev*, 25: 131-137
- Zettl UK, Lehmitz R, Mix E (2005): *Klinische Liquordiagnostik*. 2. Auflage, De Gruyter-Verlag, Berlin, Germany, 108-116
- Zhang Y, Chung Y, Bishop C, Daughert B, Chute H, Holst P, Kurahara C, Lott F, Sun N, Welcher AA, Dong D (2006): Regulation of T cell activation and tolerance by BDL2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103, 11695-11700

Anhang

**8 Anhang**

**Tabelle A 1** Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Patientenfälle; aufgeführt mit Angaben zu Patientennummer, Geschlecht, Alter und histopathologischer Diagnose

| <b>Pat.-Nr.</b> | <b>Geschlecht</b> | <b>Alter (Jahre)</b> | <b>Material</b> | <b>Diagnose</b> |
|-----------------|-------------------|----------------------|-----------------|-----------------|
| <b>A1</b>       | m                 | 56                   | pB              | CLL             |
| <b>A2</b>       | m                 | 49                   | pB              | CLL             |
| <b>A3</b>       | w                 | 43                   | pB              | CLL             |
| <b>A4</b>       | m                 | 69                   | pB              | CLL             |
| <b>A5</b>       | m                 | 68                   | KM              | CLL             |
| <b>A6</b>       | w                 | 74                   | pB              | CLL             |
| <b>A7</b>       | m                 | 37                   | KM              | V. a. CLL       |
| <b>A8</b>       | m                 | 69                   | pB              | CLL             |
| <b>A9</b>       | m                 | 83                   | pB              | LPE             |
| <b>A10</b>      | m                 | 58                   | pB              | CLL             |
| <b>A11</b>      | m                 | 47                   | pB              | CLL             |
| <b>A12</b>      | m                 | 52                   | pB              | CLL             |
| <b>A13</b>      | m                 | 78                   | pB              | CLL             |
| <b>A14</b>      | m                 | 67                   | pB              | V. a. CLL       |
| <b>A15</b>      | m                 | 55                   | pB              | CLL             |
| <b>A16</b>      | w                 | 69                   | KM              | CLL             |
| <b>A17</b>      | m                 | 58                   | pB              | CLL             |
| <b>A18</b>      | m                 | 78                   | KM              | CLL             |
| <b>A19</b>      | m                 | 63                   | KM              | CLL             |
| <b>A20</b>      | w                 | 78                   | pB              | CLL             |
| <b>A21</b>      | m                 | 82                   | pB              | CLL             |
| <b>A22</b>      | m                 | 78                   | pB              | CLL             |
| <b>A23</b>      | w                 | 61                   | pB              | CLL             |
| <b>A24</b>      | w                 | 62                   | pB              | CLL             |
| <b>A25</b>      | w                 | 69                   | pB              | CLL             |
| <b>A26</b>      | m                 | 66                   | pB              | PLL             |
| <b>A27</b>      | m                 | 59                   | pB              | V. a. CLL       |
| <b>A28</b>      | m                 | 65                   | pB              | CLL             |
| <b>A29</b>      | m                 | 60                   | pB              | V. a. CLL       |
| <b>A30</b>      | m                 | 82                   | pB              | CLL             |
| <b>A31</b>      | w                 | 66                   | pB              | V. a. CLL       |
| <b>A32</b>      | m                 | 63                   | KM              | CLL             |
| <b>A33</b>      | m                 | 69                   | pB              | CLL             |
| <b>A34</b>      | w                 | 63                   | pB              | LPL             |
| <b>A35</b>      | w                 | 73                   | pB              | CLL             |
| <b>A36</b>      | w                 | 87                   | pB              | CLL             |
| <b>A37</b>      | m                 | 58                   | pB              | CLL             |
| <b>A38</b>      | m                 | 82                   | pB              | CLL             |
| <b>A39</b>      | m                 | 78                   | pB              | CLL             |

Anhang

| Pat.-Nr. | Geschlecht | Alter (Jahre) | Material | Diagnose  |
|----------|------------|---------------|----------|-----------|
| A40      | m          | 58            | KM       | CLL       |
| A41      | m          | 56            | pB       | CLL       |
| A42      | m          | 59            | pB       | CLL       |
| A43      | w          | 56            | pB       | CLL       |
| A44      | w          | 75            | KM       | V. a. CLL |
| A45      | m          | 56            | pB       | CLL       |
| A46      | w          | 64            | pB       | CLL       |
| A47      | w          | 59            | KM       | CLL       |
| A48      | m          | 72            | KM       | CLL       |
| A49      | w          | 78            | pB       | CLL       |
| A50      | m          | 64            | KM       | CLL       |
| A51      | m          | 62            | KM       | CLL       |
| A52      | m          | 53            | pB       | CLL       |
| A53      | m          | 69            | pB       | LPE       |
| A54      | w          | 74            | pB       | CLL       |
| A55      | w          | 82            | pB       | PLL       |
| A56      | m          | 53            | PB       | CLL       |
| A57      | m          | 60            | KM       | CLL       |
| A58      | m          | 63            | pB       | CLL       |
| A59      | m          | 63            | pB       | CLL       |
| A60      | m          | 75            | pB       | CLL       |
| A61      | w          | 84            | pB       | HZL       |
| A62      | w          | 68            | KM       | CLL       |
| A63      | m          | 52            | pB       | V. a. CLL |
| A64      | m          | 66            | KM       | CLL       |
| A65      | w          | 79            | KM       | CLL       |
| A66      | m          | 75            | pB       | CLL       |
| A67      | w          | 69            | KM       | CLL       |
| A68      | w          | 61            | KM       | V. a. CLL |
| A69      | w          | 44            | pB       | CLL       |
| A70      | w          | 64            | KM       | CLL       |
| A71      | m          | 44            | KM       | CLL       |
| A72      | w          | 55            | KM       | CLL       |
| A73      | m          | 55            | pB       | CLL       |
| A74      | w          | 69            | pB       | CLL       |
| A75      | w          | 74            | pB       | CLL       |
| A76      | m          | 61            | pB       | CLL       |
| A77      | m          | 64            | pB       | CLL       |
| A78      | m          | 69            | KM       | CLL       |
| A79      | m          | 60            | KM       | CLL       |
| A80      | m          | 81            | pB       | CLL       |
| A81      | m          | 44            | pB       | CLL       |
| A82      | m          | 71            | KM       | LPE       |
| A83      | m          | 69            | KM       | LPL       |

Anhang

| <b>Pat.<br/>-Nr.</b> | <b>Geschlecht</b> | <b>Alter<br/>(Jahre)</b> | <b>Material</b> | <b>Diagnose</b> |
|----------------------|-------------------|--------------------------|-----------------|-----------------|
| <b>A84</b>           | m                 | 54                       | KM              | LPL             |
| <b>A85</b>           | m                 | 69                       | KM              | LPL             |
| <b>A86</b>           | w                 | 81                       | pB              | CLL             |
| <b>A87</b>           | m                 | 78                       | pB              | CLL             |
| <b>A88</b>           | w                 | 63                       | KM              | CLL             |
| <b>A89</b>           | m                 | 73                       | pB              | V. a. CLL       |
| <b>A90</b>           | m                 | 53                       | KM              | CLL             |
| <b>A91</b>           | m                 | 72                       | pB              | LPE             |
| <b>B1</b>            | w                 | 62                       | pB              | LPE             |
| <b>B2</b>            | m                 | 72                       | KM              | CLL             |
| <b>B3</b>            | m                 | 73                       | pB              | CLL             |
| <b>B4</b>            | w                 | 51                       | KM              | CLL             |
| <b>B5</b>            | w                 | 60                       | pB              | CLL             |
| <b>B6</b>            | m                 | 67                       | pB              | CLL             |
| <b>B7</b>            | w                 | 58                       | KM              | CLL             |
| <b>B8</b>            | w                 | 46                       | pB              | CLL             |
| <b>B9</b>            | m                 | 72                       | KM              | CLL             |
| <b>B10</b>           | m                 | 69                       | pB              | HZL             |
| <b>B11</b>           | w                 | 74                       | pB              | CLL             |
| <b>B12</b>           | m                 | 54                       | KM              | CLL             |
| <b>B13</b>           | m                 | 67                       | pB              | CLL             |
| <b>B14</b>           | m                 | 75                       | pB              | CLL             |
| <b>B15</b>           | w                 | 58                       | pB              | CLL             |
| <b>B16</b>           | m                 | 73                       | pB              | CLL             |
| <b>B17</b>           | m                 | 67                       | KM              | CLL             |
| <b>B18</b>           | w                 | 83                       | pB              | CLL             |
| <b>B19</b>           | m                 | 63                       | KM              | CLL             |
| <b>B20</b>           | w                 | 66                       | pB              | CLL             |
| <b>B21</b>           | m                 | 49                       | pB              | CLL             |
| <b>B22</b>           | m                 | 66                       | pB              | CLL             |
| <b>B23</b>           | w                 | 53                       | pB              | CLL             |
| <b>B24</b>           | m                 | 80                       | KM              | CLL             |
| <b>B25</b>           | w                 | 82                       | pB              | CLL             |
| <b>B26</b>           | w                 | 47                       | pB              | CLL             |
| <b>B27</b>           | m                 | 64                       | pB              | CLL             |
| <b>B28</b>           | m                 | 72                       | pB              | CLL             |
| <b>B29</b>           | m                 | 68                       | pB              | CLL             |
| <b>B30</b>           | w                 | 57                       | pB              | CLL             |
| <b>B31</b>           | m                 | 56                       | pB              | CLL             |
| <b>B32</b>           | w                 | 62                       | pB              | CLL             |
| <b>B33</b>           | m                 | 61                       | pB              | CLL             |
| <b>B34</b>           | m                 | 71                       | pB              | CLL             |
| <b>B35</b>           | w                 | 86                       | pB              | LPE             |
| <b>B36</b>           | m                 | 82                       | PB              | CLL             |



Anhang

| <b>Pat.<br/>-Nr.</b> | <b>Geschlecht</b> | <b>Alter<br/>(Jahre)</b> | <b>Material</b> | <b>Diagnose</b> |
|----------------------|-------------------|--------------------------|-----------------|-----------------|
| <b>B37</b>           | m                 | 67                       | KM              | CLL             |
| <b>B38</b>           | m                 | 59                       | pB              | LPE             |
| <b>B39</b>           | w                 | 78                       | pB              | CLL             |
| <b>B40</b>           | m                 | 56                       | pB              | CLL             |
| <b>B41</b>           | w                 | 76                       | pB              | CLL             |
| <b>B42</b>           | w                 | 66                       | pB              | CLL             |
| <b>B43</b>           | w                 | 51                       | KM              | V. a. CLL       |
| <b>B44</b>           | m                 | 72                       | KM              | CLL             |
| <b>B45</b>           | w                 | 69                       | KM              | CLL             |
| <b>B46</b>           | w                 | 61                       | pB              | CLL             |
| <b>B47</b>           | m                 | 69                       | pB              | CLL             |
| <b>B48</b>           | w                 | 89                       | pB              | CLL             |
| <b>B49</b>           | w                 | 76                       | pB              | CLL             |
| <b>B50</b>           | m                 | 75                       | pB              | CLL             |
| <b>B51</b>           | m                 | 50                       | pB              | CLL             |
| <b>B52</b>           | m                 | 41                       | pB              | CLL             |
| <b>B53</b>           | m                 | 80                       | PB              | CLL             |
| <b>B54</b>           | m                 | 54                       | pB              | CLL             |
| <b>B55</b>           | m                 | 68                       | pB              | CLL             |
| <b>B56</b>           | m                 | 69                       | pB              | CLL             |
| <b>B57</b>           | w                 | 74                       | KM              | CLL             |
| <b>B58</b>           | w                 | 44                       | PB              | CLL             |
| <b>B59</b>           | m                 | 73                       | KM              | CLL             |
| <b>B60</b>           | w                 | 64                       | KM              | CLL             |
| <b>B61</b>           | m                 | 42                       | KM              | LPE             |
| <b>C1</b>            | m                 | 76                       | KM              | CLL             |
| <b>C2</b>            | m                 | 62                       | pB              | CLL             |
| <b>C3</b>            | m                 | 68                       | KM              | CLL             |
| <b>C4</b>            | m                 | 50                       | KM              | CLL             |
| <b>C5</b>            | m                 | 56                       | pB              | CLL             |
| <b>C6</b>            | m                 | 86                       | pB              | CLL             |
| <b>C7</b>            | m                 | 63                       | pB              | CLL             |
| <b>C8</b>            | w                 | 61                       | pB              | CLL             |
| <b>C9</b>            | m                 | 66                       | pB              | CLL             |
| <b>C10</b>           | m                 | 65                       | pB              | CLL             |
| <b>C11</b>           | m                 | 61                       | pB              | CLL             |
| <b>C12</b>           | m                 | 74                       | pB              | CLL             |
| <b>C13</b>           | m                 | 67                       | pB              | CLL             |
| <b>C14</b>           | w                 | 84                       | pB              | CLL             |
| <b>C15</b>           | m                 | 50                       | pB              | CLL             |
| <b>C16</b>           | w                 | 80                       | pB              | CLL             |
| <b>C17</b>           | m                 | 71                       | pB              | CLL             |
| <b>C18</b>           | m                 | 73                       | pB              | CLL             |
| <b>C19</b>           | w                 | 83                       | pB              | CLL             |

Anhang

| <b>Pat.<br/>-Nr.</b> | <b>Geschlecht</b> | <b>Alter<br/>(Jahre)</b> | <b>Material</b> | <b>Diagnose</b> |
|----------------------|-------------------|--------------------------|-----------------|-----------------|
| <b>C20</b>           | m                 | 64                       | pB              | V. a. CLL       |
| <b>C21</b>           | m                 | 56                       | pB              | CLL             |
| <b>C22</b>           | m                 | 75                       | KM              | CLL             |
| <b>C23</b>           | w                 | 62                       | pB              | CLL             |
| <b>C24</b>           | w                 | 52                       | pB              | CLL             |
| <b>C25</b>           | m                 | 56                       | pB              | CLL             |
| <b>C26</b>           | m                 | 42                       | pB              | LPE             |
| <b>C27</b>           | w                 | 61                       | pB              | CLL             |
| <b>C28</b>           | m                 | 59                       | KM              | CLL             |
| <b>C29</b>           | m                 | 60                       | KM              | CLL             |
| <b>C30</b>           | m                 | 56                       | KM              | CLL             |
| <b>C31</b>           | m                 | 55                       | KM              | CLL             |
| <b>C32</b>           | m                 | 66                       | KM              | CLL             |
| <b>C33</b>           | m                 | 80                       | KM              | CLL             |
| <b>C34</b>           | m                 | 61                       | pB              | V. a. CLL       |
| <b>C35</b>           | w                 | 74                       | pB              | CLL             |
| <b>C36</b>           | m                 | 68                       | pB              | CLL             |
| <b>D1</b>            | m                 | 49                       | pB              | LPE             |
| <b>D2</b>            | m                 | 60                       | KM              | CLL             |
| <b>D3</b>            | w                 | 54                       | pB              | CLL             |
| <b>D4</b>            | m                 | 60                       | pB              | LPE             |
| <b>D5</b>            | m                 | 54                       | KM              | CLL             |
| <b>D6</b>            | m                 | 74                       | KM              | CLL             |
| <b>D7</b>            | m                 | 64                       | pB              | CLL             |
| <b>D8</b>            | m                 | 58                       | KM              | CLL             |
| <b>D9</b>            | m                 | 62                       | pB              | CLL             |
| <b>D10</b>           | w                 | 63                       | pB              | CLL             |
| <b>D11</b>           | m                 | 58                       | KM              | CLL             |
| <b>D12</b>           | m                 | 50                       | pB              | LPE             |
| <b>D13</b>           | w                 | 53                       | pB              | CLL             |
| <b>D14</b>           | w                 | 68                       | pB              | CLL             |
| <b>D15</b>           | m                 | 51                       | pB              | CLL             |
| <b>D16</b>           | w                 | 68                       | pB              | CLL             |
| <b>D17</b>           | m                 | 43                       | KM              | CLL             |
| <b>D18</b>           | m                 | 64                       | KM              | CLL             |
| <b>D19</b>           | m                 | 48                       | pB              | CLL             |
| <b>D20</b>           | m                 | 67                       | pB              | CLL             |
| <b>D21</b>           | m                 | 43                       | pB              | CLL             |
| <b>D22</b>           | m                 | 67                       | pB              | CLL             |
| <b>D23</b>           | m                 | 52                       | pB              | CLL             |
| <b>D24</b>           | m                 | 83                       | pB              | CLL             |
| <b>D25</b>           | m                 | 71                       | pB              | V. a. CLL       |
| <b>D26</b>           | m                 | 62                       | KM              | CLL             |
| <b>D27</b>           | w                 | 42                       | pB              | CLL             |

Anhang

| Pat.-Nr. | Geschlecht | Alter (Jahre) | Material | Diagnose                |
|----------|------------|---------------|----------|-------------------------|
| D28      | m          | 45            | pB       | CLL                     |
| D29      | w          | 57            | pB       | CLL                     |
| D30      | m          | 68            | pB       | CLL                     |
| D31      | m          | 56            | KM       | CLL                     |
| D32      | m          | 58            | pB       | CLL                     |
| D33      | m          | 71            | KM       | CLL                     |
| D34      | w          | 93            | pB       | CLL                     |
| D35      | w          | 70            | pB       | CLL                     |
| D36      | m          | 55            | KM       | LPL, Morbus Waldenström |
| D37      | m          | 58            | pB       | CLL                     |
| D38      | w          | 54            | pB       | CLL                     |
| D39      | m          | 85            | pB       | CLL                     |
| D40      | m          | 83            | pB       | CLL                     |
| D41      | w          | 66            | pB       | CLL                     |
| D42      | w          | 65            | pB       | CLL                     |
| D43      | m          | 68            | pB       | CLL                     |
| D44      | m          | 77            | PB       | CLL                     |
| D45      | m          | 81            | pB       | CLL                     |
| D46      | m          | 52            | pB       | CLL                     |
| D47      | w          | 57            | pB       | CLL                     |
| D48      | m          | 57            | pB       | CLL                     |
| D49      | w          | 67            | pB       | CLL                     |
| D50      | w          | 86            | pB       | CLL                     |
| D51      | w          | 46            | pB       | CLL                     |
| D52      | m          | 78            | pB       | CLL                     |
| D53      | m          | 62            | pB       | CLL                     |
| D54      | w          | 77            | pB       | CLL                     |
| D55      | m          | 54            | KM       | CLL                     |
| D56      | m          | 65            | pB       | CLL                     |
| D57      | m          | 63            | KM       | CLL                     |
| D58      | w          | 75            | pB       | CLL                     |
| D59      | m          | 64            | pB       | V. a. CLL               |
| D60      | m          | 47            | pB       | CLL                     |
| D61      | w          | 81            | KM       | LPL                     |
| D62      | m          | 59            | KM       | CLL                     |
| D63      | m          | 74            | pB       | CLL                     |
| D64      | m          | 59            | pB       | CLL                     |
| D65      | m          | 53            | pB       | CLL                     |
| D66      | m          | 36            | pB       | CLL                     |
| D67      | w          | 85            | pB       | CLL                     |
| D68      | w          | 69            | pB       | CLL                     |
| D69      | m          | 69            | KM       | LPL                     |
| D70      | m          | 89            | pB       | CLL                     |
| D71      | w          | 63            | pB       | CLL                     |

Anhang

| <b>Pat.<br/>-Nr.</b> | <b>Geschlecht</b> | <b>Alter<br/>(Jahre)</b> | <b>Material</b> | <b>Diagnose</b> |
|----------------------|-------------------|--------------------------|-----------------|-----------------|
| D72                  | w                 | 68                       | pB              | CLL             |
| D73                  | w                 | 69                       | pB              | CLL             |
| D74                  | m                 | 77                       | pB              | CLL             |
| D75                  | w                 | 93                       | pB              | CLL             |
| D76                  | m                 | 68                       | pB              | CLL             |
| D77                  | w                 | 80                       | KM              | LPL             |
| D78                  | w                 | 62                       | KM              | LPL             |
| D79                  | m                 | 53                       | pB              | CLL             |
| D80                  | m                 | 64                       | KM              | LPE             |
| D81                  | m                 | 74                       | KM              | CLL             |
| D82                  | m                 | 52                       | pB              | CLL             |
| D83                  | m                 | 56                       | pB              | CLL             |
| D84                  | m                 | 58                       | pB              | CLL             |
| D85                  | m                 | 50                       | KM              | CLL             |
| D86                  | m                 | 70                       | KM              | CLL             |
| D87                  | m                 | 62                       | pB              | CLL             |
| D88                  | w                 | 78                       | KM              | CLL             |
| D89                  | m                 | 72                       | pB              | CLL             |
| D90                  | w                 | 64                       | pB              | CLL             |
| D91                  | m                 | 51                       | KM              | CLL             |
| D92                  | m                 | 56                       | pB              | CLL             |
| D93                  | m                 | 66                       | KM              | CLL             |
| D94                  | m                 | 66                       | KM              | CLL             |
| D95                  | w                 | 81                       | pB              | V. a. CLL       |
| D96                  | w                 | 64                       | KM              | LPE             |
| E1                   | m                 | 76                       | pB              | CLL             |
| E2                   | m                 | 56                       | pB              | CLL             |
| E3                   | w                 | 61                       | LK              | CLL             |
| E4                   | m                 | 63                       | pB              | CLL             |
| E5                   | w                 | 67                       | LK              | CLL             |
| E6                   | m                 | 91                       | pB              | CLL             |
| E7                   | m                 | 49                       | pB              | CLL             |
| E8                   | m                 | 72                       | pB              | CLL             |
| E9                   | w                 | 84                       | pB              | CLL             |
| E10                  | m                 | 52                       | pB              | CLL             |
| E11                  | m                 | 72                       | pB              | CLL             |
| E12                  | w                 | 62                       | pB              | CLL             |
| F1                   | m                 | 50                       | KM              | HZL             |
| F2                   | m                 | 52                       | pB              | CLL             |
| F3                   | m                 | 48                       | KM              | LPL             |
| F4                   | m                 | 81                       | pB              | CLL             |
| F5                   | m                 | 63                       | pB              | CLL             |
| F6                   | m                 | 70                       | pB              | CLL             |
| F7                   | w                 | 63                       | KM              | CLL             |

Anhang

| Pat.-Nr. | Geschlecht | Alter (Jahre) | Material | Diagnose |
|----------|------------|---------------|----------|----------|
| F8       | m          | 69            | LK       | CLL      |
| F9       | w          | 52            | pB       | CLL      |

Pat.-Nr.=Patienten-Nummer, w=weiblich, m=männlich, pB=peripheres Blut, KM=Knochenmark, LK=Lymphknoten, CLL=Chronisch lymphatische Leukämie, LPL=Lymphoplasmozytisches Lymphom, HZL=Haarzelleukämie, PLL=Prolymphozytenleukämie, LPE=Lymphoproliferative Erkrankung, V. a. CLL=Verdacht auf CLL

**Tabelle A 2** Patienten für Untersuchung mit Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung; Patienten-Nummer und Ergebnis der konventionellen Chromosomenanalyse

| Patienten-Nr. | Ergebnis der konventionellen Chromosomenanalyse   |
|---------------|---|
| A6            | 46,XX,del(17)(p11)[10]/45,XX,idem,dic(4;18)(q?31;p11)[2]/45,XX,der(14)t(14;17)(p11;p11),-17[3]/46,XX[3]   |
| A7            | 48,XY,+12,+18[5]/46,XY[16]  |
| A8            | 46,XY,?del(6)(q16q22)[4]/46,XY[14]  |
| A11           | 48,XY,+7,+12[19]/46,XY[1]   |
| A13           | 45,XY,t(3;8)(p24;q24),del(5)(q12q23),del(13)(q13q31),der(17)t(17;18)(p11;q11),-18[cp9]/46,XY[1]   |
| A17           | 46-47,XY,del(4)(q2?2),+8,add(9)(p?),del(11)(q22),del(13)(q?q?)[cp4]/46,XY[8]  |
| A18           | 46,X,-Y,add(6)(q),-7,-9,del(10)(q),+12,add(12)(p10),add(18)(q),+2mar[1]/46,XY[19]   |
| A21           | 46,XY,del(4)(q?q?),der(7)t(7;13)(p1?1;q14),+8,+12,-13,17[1]/46,XY[11]   |
| A26           | 48,X,-Y,+3,del(6)(q14q25~26),+7,der(8)del(8)(p22p23)del(8)(p12p12),t(8;14)(q24;q32),+18,der(18)t(1;18)(q11;p11.3)[19]/46,XY[1]                                    |
| A29           | 46,XY,del(6)(q16q22),add(17)(p11)[2]/46,idem,-add(17)(p11.2),der(16)t(16;18)(p13;q11)[4]/46,idem,t(5;14)(q14;p13)[17]/46,XY[7]                                    |
| A31           | 46,XX,del(7)(q21q36)[3]/46,idem,+12,der(12;14)(q10;q10)[5]/46,XX[1]   |
| A39           | 46,XY,del(11)(q14q23),add(18)(p11.3)[9]/46,XY[11]   |
| A41           | 49,XY,+12,+18,+19[cp17]/46,XY[2]  |
| A42           | 46~49,X,der(Y)t(Y;14)(q12;q12),inv(3)(p26q13),add(5)(q23),del(6)(p21),del(8)(p12p22),+9,add(9)(q12),del(11)(q22q23),del(14)(q21~22q24),+2~3mar,inc[cp12]/46,XY[8] |
| A45           | 46,XY,del(6)(q1?4q2?5),del(11)(q22q23)[10]46,XY[2]  |
| A48           | 82~85<4n>,XXYY,add(2)(p25),del(6)(q12q16),add(8)(p22~23),add(11)(q22~23),add(15)(q25),+mar,inc[cp11]/46,XY[3]   |
| A51           | 46,XY,del(6)(q16q24~25),del(11)(q14q24),del(13)(q13q21)[23]/  |

Anhang

| Patienten-Nr. | Ergebnis der konventionellen Chromosomenanalyse   |
|---------------|---|
|               | 46,idem,t(1;13)(p31;q13~14)[4]/46,XY[1]   |
| <b>A52</b>    | 43,X,-Y,-4,-9,del(15)(q12q23),i(17)(q10),der(19)t(4;19)(q21;p13)[11]/46,XY[8]   |
| <b>A53</b>    | 46,XY,del(8)(p11p22~23),t(14;18)(q32;q21)[10]/46,XY[10]   |
| <b>A55</b>    | 45~46,XY,+3,add(3)(p11),del(7)(q11),add(8)(p21),-9,t(11;14)(q13;q32),del(13)(q12),+1~2mar[cp40]/46,XY[4]  |
| <b>A57</b>    | 46,XY,del(8)(p12),del(11)(q22q23)[20]   |
| <b>A63</b>    | 46,XY,der(6)t(6;14)(p12;q32) or del(6)(p11p21)der(14)t(6;14)(p12;q32)inv(6)(p12p21) or ins(14;6)(q32;p21p12),der(18)t(3;18)(q26;p11)[16]/46,XY[1] |
| <b>A65</b>    | 50,XX,+X,+18,+2mar[cp18]  |
| <b>A67</b>    | 46,XX,del(6)(q14q24)[3]/46,XX[17]   |
| <b>A68</b>    | 46,XX,i(6)(p10)[4]/47,idem,+4[2]/46,XX[14]  |
| <b>A70</b>    | 46,XX,add(9)(p21)[2]/46,XX[22]  |
| <b>A71</b>    | 45,XY,-5,der(5)t(5;?9)(p15;p22),der(6)ins(6;?)(p12;?)t(5;6)(q23;q21),add(9)(p23),del(9)(p22),add(10)(p13),add(17)(p12)[7]/46,XY[20]               |
| <b>A72</b>    | 46,XX,der(7)t(7;11)(q21;q23),der(11)del(11)(q14q22)t(7;11)(q21;q23)[15]/45,XX,der(3)add(3)(p21)t(3;6)(q21;q21),-6,del(6)(q21)[2]/46,XX[5]         |
| <b>A74</b>    | 47,XX,+18[1]/46,XX[19]  |
| <b>A77</b>    | 46,XY,add(6)(q13~14)[5]/46,XY[12]   |
| <b>A81</b>    | 46,XY,del(6)(q14q26)[16]/46,XY[2]   |
| <b>A82</b>    | 46,XY,add(1)(p36),t(1;11)(q22~23;p12),del(7)(q21q34),add(20)(p11)[cp8]/46,XY[22]  |
| <b>A83</b>    | 45,XY,del(3)(p23p25),t(3;12)(p12;p12),der(6)t(6;14)(q12;q11),del(7)(q21q31),-14[2]/46,XY[17]  |
| <b>A84</b>    | 46,XY,add(6)(q24)[7]/46,XY[11]  |
| <b>A85</b>    | 46,XY,add(18)(p11)[6]/46,XY[24]   |

Anhang

**Tabelle A 3**

Ergebnisse der Induktion von Mitosen durch den Einsatz der Mitosestimulantien DSP30/IL2 und TPA

| Patientennummer | Durch DSP30/IL2 |                      |              |                        | Durch TPA  |                      |              |                        |
|-----------------|-----------------|----------------------|--------------|------------------------|------------|----------------------|--------------|------------------------|
|                 | Metaphasen      | Aberrante Metaphasen | n Metaphasen | n Aberrante Metaphasen | Metaphasen | Aberrante Metaphasen | n Metaphasen | n Aberrante Metaphasen |
| A1              | ja              | ja                   | 7            | 5                      | ja         | ja                   | 3            | 2                      |
| A2              | ja              | ja                   | 21           | 21                     | ja         | ja                   | 7            | 1                      |
| A3              | ja              | ja                   | 5            | 2                      | ja         | ja                   | 9            | 1                      |
| A6              | ja              | ja                   | 18           | 15                     | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| A7              | ja              | ja                   | 7            | 5                      | ja         | ja                   | 8            | 1                      |
| A8              | ja              | ja                   | 13           | 4                      | ja         | nein                 | 5            | 0                      |
| A9              | ja              | ja                   | 8            | 8                      | ja         | ja                   | 10           | 9                      |
| A10             | ja              | ja                   | 10           | 9                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| A11             | ja              | ja                   | 10           | 10                     | ja         | ja                   | 10           | 9                      |
| A12             | ja              | ja                   | 10           | 10                     | ja         | ja                   | 10           | 2                      |
| A13             | ja              | ja                   | 10           | 9                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| A14             | ja              | ja                   | 19           | 7                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| A15             | ja              | ja                   | 8            | 8                      | ja         | ja                   | 10           | 7                      |
| A16             | ja              | ja                   | 9            | 8                      | ja         | ja                   | 10           | 10                     |
| A17             | ja              | ja                   | 7            | 3                      | ja         | ja                   | 5            | 1                      |
| A18             | ja              | nein                 | 9            | 0                      | ja         | ja                   | 10           | 1                      |
| A19             | nein            | nein                 | 0            | 0                      | ja         | ja                   | 8            | 8                      |
| A20             | ja              | ja                   | 11           | 4                      | ja         | ja                   | 5            | 1                      |
| A21             | ja              | ja                   | 7            | 1                      | ja         | nein                 | 5            | 0                      |
| A22             | ja              | ja                   | 3            | 1                      | ja         | nein                 | 2            | 0                      |
| A25             | ja              | ja                   | 9            | 2                      | ja         | ja                   | 15           | 3                      |
| A26             | ja              | ja                   | 10           | 10                     | ja         | ja                   | 10           | 9                      |
| A27             | ja              | ja                   | 13           | 12                     | ja         | ja                   | 6            | 5                      |
| A28             | ja              | ja                   | 10           | 10                     | ja         | ja                   | 9            | 8                      |
| A29             | ja              | ja                   | 20           | 20                     | ja         | ja                   | 10           | 3                      |
| A30             | ja              | nein                 | 1            | 0                      | ja         | ja                   | 11           | 10                     |
| A32             | ja              | ja                   | 8            | 2                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |

Anhang

| Patientennummer | Durch DSP30/IL2 |                      |              |                        | Durch TPA  |                      |              |                        |
|-----------------|-----------------|----------------------|--------------|------------------------|------------|----------------------|--------------|------------------------|
|                 | Metaphasen      | Aberrante Metaphasen | n Metaphasen | n Aberrante Metaphasen | Metaphasen | Aberrante Metaphasen | n Metaphasen | n Aberrante Metaphasen |
| A33             | ja              | ja                   | 10           | 10                     | ja         | ja                   | 10           | 2                      |
| A34             | ja              | ja                   | 10           | 8                      | ja         | ja                   | 10           | 6                      |
| A35             | ja              | ja                   | 10           | 6                      | ja         | ja                   | 10           | 2                      |
| A36             | ja              | ja                   | 10           | 10                     | ja         | ja                   | 10           | 5                      |
| A37             | ja              | ja                   | 9            | 9                      | ja         | ja                   | 8            | 8                      |
| A39             | ja              | ja                   | 10           | 9                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| A40             | ja              | ja                   | 10           | 1                      | ja         | nein                 | 7            | 0                      |
| A41             | ja              | ja                   | 19           | 2                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| A42             | ja              | ja                   | 10           | 10                     | ja         | ja                   | 10           | 2                      |
| A43             | ja              | ja                   | 18           | 3                      | ja         | nein                 | 1            | 0                      |
| A44             | ja              | ja                   | 17           | 17                     | ja         | ja                   | 2            | 1                      |
| A45             | ja              | ja                   | 9            | 8                      | ja         | ja                   | 3            | 2                      |
| A46             | ja              | nein                 | 8            | 0                      | ja         | ja                   | 10           | 4                      |
| A47             | ja              | ja                   | 9            | 3                      | ja         | nein                 | 12           | 0                      |
| A48             | nein            | nein                 | 0            | 0                      | ja         | ja                   | 12           | 11                     |
| A49             | ja              | ja                   | 10           | 10                     | ja         | ja                   | 10           | 10                     |
| A51             | ja              | ja                   | 28           | 27                     | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| A54             | ja              | ja                   | 8            | 7                      | ja         | ja                   | 7            | 7                      |
| A55             | ja              | ja                   | 21           | 19                     | ja         | ja                   | 22           | 20                     |
| A56             | ja              | ja                   | 20           | 20                     | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| A58             | ja              | ja                   | 20           | 13                     | ja         | nein                 | 1            | 0                      |
| A59             | ja              | ja                   | 9            | 6                      | ja         | ja                   | 9            | 3                      |
| A60             | ja              | ja                   | 12           | 12                     | ja         | nein                 | 1            | 0                      |
| A61             | ja              | ja                   | 14           | 14                     | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| A62             | ja              | ja                   | 5            | 2                      | ja         | nein                 | 4            | 0                      |
| A63             | ja              | ja                   | 7            | 7                      | ja         | ja                   | 10           | 9                      |
| A64             | ja              | ja                   | 10           | 10                     | ja         | ja                   | 10           | 9                      |
| A67             | ja              | ja                   | 20           | 3                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |



Anhang

| Patientennummer | Durch DSP30/IL2 |                      |              |                        | Durch TPA  |                      |              |                        |
|-----------------|-----------------|----------------------|--------------|------------------------|------------|----------------------|--------------|------------------------|
|                 | Metaphasen      | Aberrante Metaphasen | n Metaphasen | n Aberrante Metaphasen | Metaphasen | Aberrante Metaphasen | n Metaphasen | n Aberrante Metaphasen |
| <b>A68</b>      | ja              | ja                   | 10           | 6                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| <b>A69</b>      | ja              | ja                   | 15           | 8                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>A70</b>      | ja              | ja                   | 13           | 1                      | ja         | ja                   | 11           | 1                      |
| <b>A71</b>      | ja              | nein                 | 15           | 0                      | ja         | ja                   | 6            | 1                      |
| <b>A73</b>      | ja              | ja                   | 12           | 9                      | ja         | nein                 | 2            | 0                      |
| <b>A74</b>      | ja              | ja                   | 10           | 1                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| <b>A75</b>      | ja              | ja                   | 14           | 14                     | ja         | nein                 | 6            | 0                      |
| <b>A76</b>      | ja              | ja                   | 9            | 2                      | ja         | nein                 | 2            | 0                      |
| <b>A77</b>      | ja              | ja                   | 9            | 5                      | ja         | nein                 | 8            | 0                      |
| <b>A80</b>      | nein            | nein                 | 0            | 0                      | ja         | ja                   | 11           | 3                      |
| <b>A81</b>      | ja              | ja                   | 10           | 10                     | ja         | ja                   | 8            | 6                      |
| <b>A82</b>      | ja              | ja                   | 22           | 8                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>A83</b>      | ja              | ja                   | 9            | 1                      | ja         | ja                   | 10           | 1                      |
| <b>A84</b>      | ja              | ja                   | 16           | 7                      | ja         | nein                 | 2            | 0                      |
| <b>A85</b>      | ja              | ja                   | 27           | 6                      | ja         | nein                 | 3            | 0                      |
| <b>A86</b>      | ja              | ja                   | 9            | 9                      | ja         | ja                   | 5            | 2                      |
| <b>A87</b>      | ja              | ja                   | 12           | 5                      | ja         | nein                 | 7            | 0                      |
| <b>A88</b>      | ja              | ja                   | 16           | 7                      | ja         | nein                 | 1            | 0                      |
| <b>A89</b>      | ja              | ja                   | 10           | 1                      | ja         | ja                   | 11           | 6                      |
| <b>A90</b>      | ja              | ja                   | 21           | 17                     | ja         | ja                   | 4            | 1                      |
| <b>B1</b>       | ja              | ja                   | 5            | 5                      | ja         | ja                   | 10           | 1                      |
| <b>B2</b>       | ja              | ja                   | 4            | 4                      | ja         | ja                   | 5            | 4                      |
| <b>B3</b>       | ja              | ja                   | 19           | 17                     | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>B4</b>       | ja              | ja                   | 19           | 19                     | ja         | nein                 | 1            | 0                      |
| <b>B5</b>       | ja              | ja                   | 20           | 4                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>B6</b>       | ja              | ja                   | 10           | 10                     | ja         | ja                   | 10           | 10                     |
| <b>B7</b>       | ja              | ja                   | 12           | 4                      | ja         | nein                 | 2            | 0                      |
| <b>B9</b>       | ja              | ja                   | 3            | 3                      | ja         | ja                   | 3            | 2                      |

Anhang

| Patientennummer | Durch DSP30/IL2 |                      |              |                        | Durch TPA  |                      |              |                        |
|-----------------|-----------------|----------------------|--------------|------------------------|------------|----------------------|--------------|------------------------|
|                 | Metaphasen      | Aberrante Metaphasen | n Metaphasen | n Aberrante Metaphasen | Metaphasen | Aberrante Metaphasen | n Metaphasen | n Aberrante Metaphasen |
| <b>B10</b>      | ja              | ja                   | 8            | 8                      | ja         | ja                   | 10           | 1                      |
| <b>B11</b>      | nein            | nein                 | 0            | 0                      | ja         | ja                   | 14           | 5                      |
| <b>B12</b>      | ja              | ja                   | 9            | 5                      | ja         | nein                 | 8            | 0                      |
| <b>B14</b>      | ja              | ja                   | 10           | 1                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| <b>B15</b>      | ja              | ja                   | 8            | 3                      | ja         | ja                   | 9            | 1                      |
| <b>B16</b>      | ja              | ja                   | 8            | 7                      | ja         | ja                   | 10           | 2                      |
| <b>B18</b>      | ja              | nein                 | 11           | 0                      | ja         | ja                   | 10           | 1                      |
| <b>B19</b>      | ja              | ja                   | 20           | 17                     | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>B20</b>      | ja              | ja                   | 11           | 11                     | ja         | ja                   | 1            | 1                      |
| <b>B21</b>      | ja              | ja                   | 12           | 1                      | ja         | nein                 | 8            | 0                      |
| <b>B22</b>      | ja              | ja                   | 13           | 10                     | ja         | ja                   | 5            | 4                      |
| <b>B23</b>      | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | ja                   | 10           | 1                      |
| <b>B24</b>      | ja              | ja                   | 10           | 9                      | ja         | ja                   | 10           | 5                      |
| <b>B25</b>      | ja              | ja                   | 10           | 2                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| <b>B27</b>      | ja              | ja                   | 3            | 3                      | ja         | ja                   | 12           | 1                      |
| <b>B28</b>      | nein            | nein                 | 0            | 0                      | ja         | ja                   | 9            | 5                      |
| <b>B29</b>      | ja              | ja                   | 3            | 2                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>B30</b>      | ja              | ja                   | 19           | 10                     | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>B31</b>      | ja              | nein                 | 8            | 0                      | ja         | ja                   | 9            | 2                      |
| <b>B32</b>      | ja              | ja                   | 14           | 12                     | ja         | nein                 | 2            | 0                      |
| <b>B33</b>      | ja              | ja                   | 3            | 1                      | ja         | ja                   | 16           | 2                      |
| <b>B34</b>      | ja              | ja                   | 10           | 7                      | ja         | ja                   | 10           | 2                      |
| <b>B35</b>      | ja              | ja                   | 15           | 8                      | ja         | nein                 | 2            | 0                      |
| <b>B36</b>      | ja              | ja                   | 11           | 7                      | ja         | nein                 | 7            | 0                      |
| <b>B37</b>      | ja              | ja                   | 9            | 5                      | ja         | ja                   | 10           | 3                      |
| <b>B38</b>      | ja              | ja                   | 13           | 4                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>B39</b>      | ja              | ja                   | 10           | 1                      | ja         | ja                   | 10           | 1                      |
| <b>B42</b>      | ja              | ja                   | 15           | 2                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |

Anhang

| Patientennummer | Durch DSP30/IL2 |                      |              |                        | Durch TPA  |                      |              |                        |
|-----------------|-----------------|----------------------|--------------|------------------------|------------|----------------------|--------------|------------------------|
|                 | Metaphasen      | Aberrante Metaphasen | n Metaphasen | n Aberrante Metaphasen | Metaphasen | Aberrante Metaphasen | n Metaphasen | n Aberrante Metaphasen |
| <b>B45</b>      | ja              | ja                   | 9            | 9                      | ja         | ja                   | 9            | 9                      |
| <b>B46</b>      | ja              | ja                   | 10           | 2                      | ja         | nein                 | 4            | 0                      |
| <b>B47</b>      | ja              | ja                   | 19           | 18                     | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>B48</b>      | ja              | ja                   | 6            | 6                      | ja         | ja                   | 9            | 3                      |
| <b>B49</b>      | ja              | ja                   | 20           | 17                     | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>B50</b>      | ja              | ja                   | 8            | 6                      | ja         | nein                 | 2            | 0                      |
| <b>B51</b>      | ja              | ja                   | 16           | 13                     | ja         | ja                   | 3            | 2                      |
| <b>B52</b>      | ja              | nein                 | 7            | 0                      | ja         | ja                   | 9            | 4                      |
| <b>B53</b>      | ja              | nein                 | 13           | 0                      | ja         | ja                   | 6            | 1                      |
| <b>B54</b>      | ja              | ja                   | 10           | 6                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>B55</b>      | ja              | ja                   | 2            | 1                      | ja         | ja                   | 2            | 1                      |
| <b>B56</b>      | ja              | ja                   | 5            | 2                      | ja         | nein                 | 4            | 0                      |
| <b>B57</b>      | ja              | ja                   | 14           | 6                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| <b>B58</b>      | ja              | ja                   | 7            | 1                      | ja         | nein                 | 3            | 0                      |
| <b>B61</b>      | ja              | ja                   | 9            | 2                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| <b>C2</b>       | ja              | nein                 | 18           | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>C3</b>       | ja              | nein                 | 7            | 0                      | ja         | nein                 | 13           | 0                      |
| <b>C5</b>       | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| <b>C6</b>       | ja              | nein                 | 1            | 0                      | ja         | nein                 | 1            | 0                      |
| <b>C7</b>       | nein            | nein                 | 0            | 0                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| <b>C8</b>       | nein            | nein                 | 0            | 0                      | ja         | nein                 | 1            | 0                      |
| <b>C9</b>       | ja              | nein                 | 11           | 0                      | ja         | nein                 | 6            | 0                      |
| <b>C10</b>      | ja              | nein                 | 8            | 0                      | ja         | nein                 | 5            | 0                      |
| <b>C12</b>      | ja              | nein                 | 1            | 0                      | ja         | nein                 | 16           | 0                      |
| <b>C13</b>      | ja              | nein                 | 7            | 0                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| <b>C14</b>      | ja              | nein                 | 19           | 0                      | ja         | nein                 | 1            | 0                      |
| <b>C15</b>      | ja              | nein                 | 5            | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>C16</b>      | ja              | nein                 | 5            | 0                      | ja         | nein                 | 9            | 0                      |

Anhang

| Patientennummer | Durch DSP30/IL2 |                      |              |                        | Durch TPA  |                      |              |                        |
|-----------------|-----------------|----------------------|--------------|------------------------|------------|----------------------|--------------|------------------------|
|                 | Metaphasen      | Aberrante Metaphasen | n Metaphasen | n Aberrante Metaphasen | Metaphasen | Aberrante Metaphasen | n Metaphasen | n Aberrante Metaphasen |
| <b>C17</b>      | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| <b>C18</b>      | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | nein                 | 5            | 0                      |
| <b>C19</b>      | ja              | nein                 | 1            | 0                      | ja         | nein                 | 1            | 0                      |
| <b>C20</b>      | ja              | nein                 | 11           | 0                      | ja         | nein                 | 2            | 0                      |
| <b>C21</b>      | ja              | nein                 | 2            | 0                      | ja         | nein                 | 15           | 0                      |
| <b>C22</b>      | ja              | nein                 | 11           | 0                      | ja         | nein                 | 2            | 0                      |
| <b>C23</b>      | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | nein                 | 8            | 0                      |
| <b>C25</b>      | ja              | nein                 | 6            | 0                      | ja         | nein                 | 9            | 0                      |
| <b>C26</b>      | ja              | nein                 | 2            | 0                      | ja         | nein                 | 1            | 0                      |
| <b>C27</b>      | ja              | nein                 | 2            | 0                      | ja         | nein                 | 12           | 0                      |
| <b>C28</b>      | nein            | nein                 | 0            | 0                      | ja         | nein                 | 6            | 0                      |
| <b>C29</b>      | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | nein                 | 6            | 0                      |
| <b>C30</b>      | ja              | nein                 | 18           | 0                      | ja         | nein                 | 2            | 0                      |
| <b>C31</b>      | ja              | nein                 | 3            | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>C32</b>      | ja              | nein                 | 4            | 0                      | ja         | nein                 | 5            | 0                      |
| <b>C33</b>      | ja              | nein                 | 17           | 0                      | ja         | nein                 | 3            | 0                      |
| <b>C35</b>      | ja              | nein                 | 1            | 0                      | ja         | nein                 | 3            | 0                      |
| <b>C36</b>      | ja              | nein                 | 3            | 0                      | ja         | nein                 | 3            | 0                      |
| <b>D1</b>       | ja              | nein                 | 5            | 0                      | ja         | nein                 | 26           | 0                      |
| <b>D2</b>       | ja              | nein                 | 5            | 0                      | ja         | nein                 | 5            | 0                      |
| <b>D3</b>       | ja              | nein                 | 1            | 0                      | ja         | nein                 | 2            | 0                      |
| <b>D4</b>       | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | nein                 | 16           | 0                      |
| <b>D5</b>       | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| <b>D6</b>       | ja              | nein                 | 3            | 0                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| <b>D10</b>      | ja              | nein                 | 4            | 0                      | ja         | nein                 | 15           | 0                      |
| <b>D11</b>      | ja              | nein                 | 20           | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>D12</b>      | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| <b>D13</b>      | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |

Anhang

| Patientennummer | Durch DSP30/IL2 |                      |              |                        | Durch TPA  |                      |              |                        |
|-----------------|-----------------|----------------------|--------------|------------------------|------------|----------------------|--------------|------------------------|
|                 | Metaphasen      | Aberrante Metaphasen | n Metaphasen | n Aberrante Metaphasen | Metaphasen | Aberrante Metaphasen | n Metaphasen | n Aberrante Metaphasen |
| D14             | ja              | nein                 | 1            | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| D15             | ja              | nein                 | 8            | 0                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| D17             | ja              | nein                 | 23           | 0                      | ja         | nein                 | 9            | 0                      |
| D20             | ja              | nein                 | 6            | 0                      | ja         | nein                 | 9            | 0                      |
| D21             | ja              | nein                 | 8            | 0                      | ja         | nein                 | 9            | 0                      |
| D23             | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| D24             | ja              | nein                 | 9            | 0                      | ja         | nein                 | 9            | 0                      |
| D25             | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| D26             | ja              | nein                 | 18           | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| D27             | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | nein                 | 20           | 0                      |
| D28             | nein            | nein                 | 0            | 0                      | ja         | nein                 | 19           | 0                      |
| D29             | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| D31             | ja              | nein                 | 9            | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| D32             | ja              | nein                 | 6            | 0                      | ja         | nein                 | 1            | 0                      |
| D33             | ja              | nein                 | 12           | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| D34             | ja              | nein                 | 7            | 0                      | ja         | nein                 | 7            | 0                      |
| D35             | ja              | nein                 | 6            | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| D36             | ja              | nein                 | 15           | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| D37             | ja              | nein                 | 2            | 0                      | ja         | nein                 | 12           | 0                      |
| D40             | ja              | nein                 | 6            | 0                      | ja         | nein                 | 13           | 0                      |
| D41             | nein            | nein                 | 0            | 0                      | ja         | nein                 | 2            | 0                      |
| D42             | ja              | nein                 | 12           | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| D43             | ja              | nein                 | 1            | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| D44             | nein            | nein                 | 0            | 0                      | ja         | nein                 | 20           | 0                      |
| D45             | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| D48             | ja              | nein                 | 8            | 0                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| D49             | ja              | nein                 | 5            | 0                      | ja         | nein                 | 14           | 0                      |
| D50             | nein            | nein                 | 0            | 0                      | ja         | nein                 | 19           | 0                      |

Anhang

| Patientennummer | Durch DSP30/IL2 |                      |              |                        | Durch TPA  |                      |              |                        |
|-----------------|-----------------|----------------------|--------------|------------------------|------------|----------------------|--------------|------------------------|
|                 | Metaphasen      | Aberrante Metaphasen | n Metaphasen | n Aberrante Metaphasen | Metaphasen | Aberrante Metaphasen | n Metaphasen | n Aberrante Metaphasen |
| D51             | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| D52             | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| D53             | ja              | nein                 | 9            | 0                      | ja         | nein                 | 1            | 0                      |
| D54             | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | nein                 | 6            | 0                      |
| D56             | nein            | nein                 | 0            | 0                      | ja         | nein                 | 4            | 0                      |
| D59             | ja              | nein                 | 5            | 0                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| D61             | ja              | nein                 | 15           | 0                      | ja         | nein                 | 5            | 0                      |
| D62             | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| D63             | ja              | nein                 | 4            | 0                      | ja         | nein                 | 6            | 0                      |
| D66             | ja              | nein                 | 13           | 0                      | ja         | nein                 | 4            | 0                      |
| D68             | ja              | nein                 | 14           | 0                      | ja         | nein                 | 8            | 0                      |
| D69             | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| D70             | ja              | nein                 | 9            | 0                      | ja         | nein                 | 8            | 0                      |
| D72             | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| D73             | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | nein                 | 12           | 0                      |
| D75             | ja              | nein                 | 9            | 0                      | ja         | nein                 | 2            | 0                      |
| D76             | ja              | nein                 | 14           | 0                      | ja         | nein                 | 4            | 0                      |
| D77             | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | nein                 | 2            | 0                      |
| D81             | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | nein                 | 1            | 0                      |
| D82             | ja              | nein                 | 14           | 0                      | ja         | nein                 | 2            | 0                      |
| D83             | ja              | nein                 | 5            | 0                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| D84             | ja              | nein                 | 10           | 0                      | ja         | nein                 | 9            | 0                      |
| D85             | ja              | nein                 | 3            | 0                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |
| D87             | ja              | nein                 | 19           | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| D89             | ja              | nein                 | 19           | 0                      | ja         | nein                 | 1            | 0                      |
| D90             | nein            | nein                 | 0            | 0                      | ja         | nein                 | 18           | 0                      |
| D92             | nein            | nein                 | 0            | 0                      | ja         | nein                 | 11           | 0                      |
| D93             | ja              | nein                 | 9            | 0                      | ja         | nein                 | 10           | 0                      |

Anhang

| Patientennummer | Durch DSP30/IL2 |                      |              |                        | Durch TPA  |                      |              |                        |
|-----------------|-----------------|----------------------|--------------|------------------------|------------|----------------------|--------------|------------------------|
|                 | Metaphasen      | Aberrante Metaphasen | n Metaphasen | n Aberrante Metaphasen | Metaphasen | Aberrante Metaphasen | n Metaphasen | n Aberrante Metaphasen |
| <b>D95</b>      | ja              | nein                 | 8            | 0                      | ja         | nein                 | 7            | 0                      |
| <b>D96</b>      | ja              | nein                 | 1            | 0                      | ja         | nein                 | 5            | 0                      |
| <b>E1</b>       | nein            | nein                 | 0            | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>E2</b>       | nein            | nein                 | 0            | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>E3</b>       | nein            | nein                 | 0            | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>E4</b>       | nein            | nein                 | 0            | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>E5</b>       | nein            | nein                 | 0            | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>E6</b>       | nein            | nein                 | 0            | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>E7</b>       | nein            | nein                 | 0            | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>E8</b>       | nein            | nein                 | 0            | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>E9</b>       | nein            | nein                 | 0            | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>E10</b>      | nein            | nein                 | 0            | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>E11</b>      | nein            | nein                 | 0            | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>E12</b>      | nein            | nein                 | 0            | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>F4</b>       | nein            | nein                 | 0            | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>F5</b>       | nein            | nein                 | 0            | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>F6</b>       | nein            | nein                 | 0            | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>F8</b>       | nein            | nein                 | 0            | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>F9</b>       | nein            | nein                 | 0            | 0                      | nein       | nein                 | 0            | 0                      |
| <b>SUMME</b>    | 210             | 112                  | 2158         | 840                    | 191        | 69                   | 1506         | 287                    |

Anhang

**Tabelle A 4** Ergebnisse der Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung und der konventionellen Chromosomenanalyse\* (n=normal, a=aberrant, - =nicht analysiert)

| Patienten-<br>Nummer<br>(Pat.-Nr.) | Ergebnisse der Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung<br>unter Verwendung der Sonden: |     |     |      |         |        |     |     |      | Ergebnis der konventionellen<br>Chromosomenanalyse  |
|------------------------------------|--|-----|-----|------|---------|--------|-----|-----|------|---|
|                                    | Diagnose   | ATM | FDX | CHOP | D13S319 | D13S25 | RB1 | IgH | TP53 |   |
| <b>A1</b>                          | CLL  | a   | a   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY,t(2;13)(p13;q14),del(11)(q14q25)[2]/<br>46,idem,del(1)(q22~23),t(4;7)(q2?4;q35)[5]/<br>46,XY[3]           |
| <b>A2</b>                          | CLL  | a   | a   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY,t(5;6)(q35;p12)[22] /<br>46,XY,add(4)(p15),t(6;11)(q14;q22~23)[5]/<br>46,XY[8]                            |
| <b>A3</b>                          | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XX,t(6;13)(p21~22;q14)[3]/46,XX[16]  |
| <b>A4</b>                          | CLL  | a   | a   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY,t(4;9)(q34;q34),del(11)(q13q23),<br>t(13;20)(q13;p12)[4]/46,idem,t(3;17)(p24;q23)[5]                      |
| <b>A5</b>                          | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XY,t(5;6)(q12;q24),del(7)(p12p21),<br>del(13)(q14q21)[16]/46,XY[2]   |
| <b>A6</b>                          | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | a    | 46,XX,del(17)(p11)[10]/45,XX,idem,<br>dic(4;18)(q?31;p11)[2]/45,XX,der(14)<br>t(14;17)(p11;p11),-17[3]/46,XX[3] |
| <b>A7</b>                          | V. a. CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 48,XY,+12,+18[5]/46,XY[16]  |
| <b>A8</b>                          | CLL  | n   | n   | n    | a       | -      | a   | n   | n    | 46,XY,?del(6)(q16q22)[4]/46,XY[14]  |
| <b>A9</b>                          | LPE  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | a   | n    | 46,XY,t(11;14)(q13;q32)[14]/46,idem,<br>i(17)(q10)[3]/46,XY[1]  |
| <b>A10</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | a   | n    | 47,XY,+3,t(14;22)(q32;q11)[9]/46,XY[11]   |
| <b>A11</b>                         | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | a   | n    | 48,XY,+7,+12[19]/46,XY[1]   |
| <b>A12</b>                         | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 48,XY,+12,+19[12]/46,XY[8]  |



Anhang

| Patienten-<br>Nummer<br>(Pat.-Nr.) | Ergebnisse der Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung<br>unter Verwendung der Sonden: |     |     |      |         |        |     |     |      | Ergebnis der konventionellen<br>Chromosomenanalyse  |
|------------------------------------|--|-----|-----|------|---------|--------|-----|-----|------|---|
|                                    | Diagnose   | ATM | FDX | CHOP | D13S319 | D13S25 | RB1 | IgH | TP53 |   |
| A13                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | a    | 45,XY,t(3;8)(p24;q24),del(5)(q12q23),del(13)(q13q31),<br>der(17)t(17;18)(p11;q11),-18[cp9]/46,XY[1] |
| A14                                | V. a. CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 48,XY,+12,+19[7]/46,XY[12]  |
| A15                                | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XY,+12[2]/48,idem,-1,der(?)t(1;?)(p21;?),<br>+mar[13]/46,XY[3]                                   |
| A16                                | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XX,t(2;6)(q13;q14),+12[10]/47,idem,<br>t(1;14)(p22;q32)[8]/46,XX[1]                              |
| A17                                | CLL  | a   | a   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46-47,XY,del(4)(q2?2),+8,add(9)(p?),<br>del(11)(q22),del(13)(q?q?)[cp4]/46,XY[8]                    |
| A18                                | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,X,-Y,add(6)(q),-7,-9,del(10)(q),+12,<br>add(12)(p10),add(18)(q),+2mar[1]/46,XY[19]               |
| A19                                | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XY,+12,t(14;19)(q32;q13)[16]   |
| A20                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | a   | n    | 46,XX,t(14;18)(q32;q21)[3]/46,idem,<br>t(1;13)(q10;q10)[2]/46,XX[11]                                |
| A21                                | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XY,del(4)(q?q?),der(7)t(7;13)(p1?1;q14),+8,+12,<br>-13,-17[1]/46,XY[11]                          |
| A22                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XY,del(11)(q23),del(13)(q12q31)[1]/46,XY[4]  |
| A23                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XX,t(2;4)(q27;q28),del(13)(q12q21),<br>add(16)(?p?11)[7]/46,XX[1]                                |
| A24                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XX,t(5;10)(p15;q25)[9]/46,idem,<br>del(13)(q14q21)[8]/46,XX[2]                                   |
| A25                                | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | n   | n   | n    | 46,XX,t(13;13)(q14;q32)[5]/46,XX[19]  |
| A26                                | PLL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | a   | n    | 48,X,-Y,+3,del(6)(q14q25~26),+7,der(8)del(8)<br>(p22p23)del(8)(p12p12),t(8;14)(q24;q32),+18,        |

Anhang

| Patienten-<br>Nummer<br>(Pat.-Nr.) | Ergebnisse der Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung<br>unter Verwendung der Sonden: |     |     |      |         |        |     |     |      | Ergebnis der konventionellen<br>Chromosomenanalyse   |
|------------------------------------|--|-----|-----|------|---------|--------|-----|-----|------|--|
|                                    | Diagnose   | ATM | FDX | CHOP | D13S319 | D13S25 | RB1 | IgH | TP53 |  |
|                                    |  |     |     |      |         |        |     |     |      | der(18)t(1;18)(q11;p11.3)[19]/46,XY[1]   |
| <b>A27</b>                         | V. a. CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XY,dup(5)(q12q31),del(13)(q13q33)[2]/<br>46,idem,add(4)(q34),add(22)(p13)[15]/46,XY[2]  |
| <b>A28</b>                         | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | a   | n   | n    | 45,X,der(Y;21)(q10;q10),t(1;6)(q21;p21~22),+12,<br>der(12)t(12;12)(p13;q13),<br>der(12)t(1;12)(q21;q12~13),<br>der(13;18)(q10;q10)del(13)(q14q21),+21,<br>dic(21;22)(p13;p13)[18]/46,XY[1] |
| <b>A29</b>                         | V. a. CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | a    | 46,XY,del(6)(q16q22),add(17)(p11)[2]/<br>46,idem,-add(17p11),der(16)t(16;18)(p13;q11)[4]/<br>46,idem,t(5;14)(q14;p13)[17]/46,XY[7]   |
| <b>A30</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 44,XY,add(2)(q2?4),-10,add(19)(q?21)[inc 10]/<br>46,XY[2]  |
| <b>A31</b>                         | V. a. CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX,del(7)(q21q36)[3]/46,idem,+12,<br>der(12;14)(q10;q10)[5]/46,XX[1]  |
| <b>A32</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | a   | n    | 46,XY,t(1;4)(q2?3;q2?8),<br>der(14)t(11;14)(q13;q32)[2]/46,XY[14]  |
| <b>A33</b>                         | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | a   | n    | 48,XY,+12,t(14;18)(q32;q21),+15[12]/46,XY[8]   |
| <b>A34</b>                         | LPL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | a   | n    | 46,XX,t(11;14)(q23;q32)[14]/46,XX[6]   |
| <b>A35</b>                         | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 45,XX,dic(12;14)(q24;p13)dup(12)(q12q23)[8]/<br>46,XX[12]  |
| <b>A36</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | -   | n   | n    | 46,XX,t(1;3)(q23;q27)[15] /46,XX[5]  |
| <b>A37</b>                         | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 48,XY,+12,+19[4]/47,idem,-Y[10]/46,idem,-Y,-<br>19[2]/45,idem,-Y,-12,-19   |
| <b>A38</b>                         | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XY,add(3)(q27),+12[19]/46,XY[1]   |

Anhang

| Patienten-<br>Nummer<br>(Pat.-Nr.) | Ergebnisse der Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung<br>unter Verwendung der Sonden: |     |     |      |         |        |     |     |      | Ergebnis der konventionellen<br>Chromosomenanalyse  |
|------------------------------------|--|-----|-----|------|---------|--------|-----|-----|------|---|
|                                    | Diagnose   | ATM | FDX | CHOP | D13S319 | D13S25 | RB1 | IgH | TP53 |   |
| <b>A39</b>                         | CLL  | a   | a   | n    | a       | a      | -   | n   | n    | 46,XY,del(11)(q14q23),add(18)(p11.3)[9]/<br>46,XY[11]   |
| <b>A40</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | -   | n   | n    | 44,XY,-3,-11,del(13)(q14q21),-17,+21[1]/<br>46,XY[16]   |
| <b>A41</b>                         | CLL  | n   | n   | a    | a       | a      | -   | n   | n    | 49,XY,+12,+18,+19[cp17]/46,XY[4]  |
| <b>A42</b>                         | CLL  | a   | a   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46~49,X,der(Y)t(Y;14)(q12;q12),inv(3)(p26q13),<br>add(5)(q23),del(6)(p21),del(8)(p12p22),+9,<br>add(9)(q12),del(11)(q22q23),del(14)(q21~22q24),<br>+2~3mar,inc[cp12]/46,XY[8] |
| <b>A43</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | -   | n   | n    | 46,XX,t(13;16)(q13~14;q12)[3]/46,XX[16]   |
| <b>A44</b>                         | V. a. CLL  | n   | n   | a    | a       | a      | -   | n   | n    | 48,XX,+12,del(13)(q13q14),+19[18]/46,XX[1]  |
| <b>A45</b>                         | CLL  | a   | a   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XY,del(6)(q1?4q2?5),del(11)(q22q23)[10]/<br>46,XY[2]   |
| <b>A46</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | a   | n   | n    | 46,X,-X,+19,der(19)t(X;19)(q21;q13.?1)[cp4]/<br>46,XX[14]   |
| <b>A47</b>                         | CLL  | n   | n   | a    | n       | n      | -   | a   | n    | 47,XX,t(8;14)(q24;q32),<br>+12,der(18)dup(18)(q11q21)t(18;22)(q21;q11),<br>der(22)t(18;22)(q21;q11)[3]/46,XX[18]  |
| <b>A48</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | -   | n   | n    | 82~85<4n>,XXYY,add(2)(p25),del(6)(q12q16),<br>add(8)(p22~23),add(11)(q22~23),add(15)(q25),<br>+mar,inc[cp11]/46,XY[3]   |
| <b>A49</b>                         | CLL  | a   | a   | a    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,X,-X,del(11)(q14q23),+12[17]/47,idem,+5[3]   |
| <b>A50</b>                         | CLL  | a   | a   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XY,r(4)(p15q28),del(11)(q14q24)[20]  |
| <b>A51</b>                         | CLL  | a   | a   | n    | a       | a      | -   | n   | n    | 46,XY,del(6)(q16q24~25),del(11)(q14q24),  |

Anhang

| Patienten-<br>Nummer<br>(Pat.-Nr.) | Ergebnisse der Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung<br>unter Verwendung der Sonden: |     |     |      |         |        |     |     |      | Ergebnis der konventionellen<br>Chromosomenanalyse  |
|------------------------------------|--|-----|-----|------|---------|--------|-----|-----|------|---|
|                                    | Diagnose   | ATM | FDX | CHOP | D13S319 | D13S25 | RB1 | IgH | TP53 |   |
|                                    |  |     |     |      |         |        |     |     |      | del(13)(q13q21)[23]/46,<br>idem,t(1;13)(p31;q13~14)[4]/46,XY[1]   |
| A52                                | CLL  | n   | n   |      | n       | n      | -   | n   | a    | 43,X,-Y,-4,-9,del(15)(q12q23),i(17)(q10),<br>der(19)t(4;19)(q21;p13)[11]/46,XY[8]   |
| A53                                | LPE  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | a   | n    | 46,XY,del(8)(p11p22~23),t(14;18)(q32;q21)[10]/<br>46,XY[10]   |
| A54                                | CLL  | n   | n   | a    | n       | n      | n   | n   | n    | 47,XY,+12[11]/47,idem,?del(13)(q21q21)[3]/<br>46,XX[1]  |
| A55                                | PLL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | a    | 45~46,XY,+3,add(3)(p11),del(7)(q11),<br>add(8)(p21),-9,t(11;14)(q13;q32),del(13)(q12),<br>+1~2mar[cp40]/46,XY[4]  |
| A56                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | a   | n    | 46,XY,del(14)(q24q32)[16]/46,idem,<br>del(13)(q14q21)[4]  |
| A57                                | CLL  | a   | a   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY,del(8)(p12),del(11)(q22q23)[20]   |
| A58                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | a    | 46-47,XY,der(17)t(?11;17)(p11;p11),<br>+mar[13]/46,XY[8]  |
| A59                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XY,t(13;14)(q11~13;q24~32)[9]/46,XY[9]   |
| A60                                | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XY,+12[9]/47~48,idem,+19[cp3]/46,XY[1]   |
| A61                                | HZL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | a   | n    | 46,XX,del(14)(q21q32.33)[14]  |
| A62                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XX,+4[2] /47,XX,+21[1]/46,XX[16]   |
| A63                                | V. a. CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY,der(6)t(6;14)(p12;q32) or<br>del(6)(p11p21)der(14)t(6;14)(p12;q32)inv(6)(p12p21)<br>or ins(14;6)(q32;p21p12),<br>der(18)t(3;18)(q26;p11)[16]/46,XY[1] |

Anhang

| Patienten-<br>Nummer<br>(Pat.-Nr.) | Ergebnisse der Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung<br>unter Verwendung der Sonden: |     |     |      |         |        |     |     |      | Ergebnis der konventionellen<br>Chromosomenanalyse  |
|------------------------------------|--|-----|-----|------|---------|--------|-----|-----|------|---|
|                                    | Diagnose   | ATM | FDX | CHOP | D13S319 | D13S25 | RB1 | IgH | TP53 |   |
| <b>A64</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XY,der(3)t(3;3)(p26;q13)[19]/46,XY[1]  |
| <b>A65</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 50,XX,+X,+18,+2mar[cp18]  |
| <b>A66</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 45,X,-Y[4]/46,XY[6]   |
| <b>A67</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX,del(6)(q14q24)[3]/46,XX[17]   |
| <b>A68</b>                         | V. a. CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX,i(6)(p10)[4]/47,idem,+4[2]/46,XX[14]  |
| <b>A69</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XY,+12[8]/46,XY[7]   |
| <b>A70</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX,add(9)(p21)[2]/46,XX[22]  |
| <b>A71</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 45,XY,-5,der(5)t(5;?9)(p15;p22),<br>der(6)ins(6;?)(p12;?)t(5;6)(q23;q21),<br>add(9)(p23),del(9)(p22),add(10)(p13),<br>add(17)(p12)[7]/46,XY[20]       |
| <b>A72</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX,der(7)t(7;11)(q21;q23),<br>der(11)del(11)(q14q22)t(7;11)(q21;q23)[15]/<br>45,XX,der(3)add(3)(p21)t(3;6)(q21;q21),<br>-6,del(6)(q21)[2]/46,XX[5] |
| <b>A73</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY,t(8;9)(q23~24;q22)[9]/46,XY[5]  |
| <b>A74</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XX,+18[1]/46,XX[19]  |
| <b>A75</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX,t(5;22)(q10;q10)[14]/46,XX[6]   |
| <b>A76</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY,add(4)(p1?),add(13)(q3?)[2]/46,XY[9]  |
| <b>A77</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY,add(6)(q13~14)[5]/46,XY[12]   |
| <b>A78</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 45,X,-Y[9]/46,XY[11]  |
| <b>A79</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY,del(9)(q21q31)[2]/46,idem,add(14)(q32)[1]/<br>46,XY,add(11)(p?)[2]46,XY[7]  |
| <b>A80</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XY,del(7)(q11q21)[2]/46,idem,add(7)(q34)[1]/   |

Anhang

| Patienten-<br>Nummer<br>(Pat.-Nr.) | Ergebnisse der Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung<br>unter Verwendung der Sonden: |     |     |      |         |        |     |     |      | Ergebnis der konventionellen<br>Chromosomenanalyse  |
|------------------------------------|--|-----|-----|------|---------|--------|-----|-----|------|---|
|                                    | Diagnose   | ATM | FDX | CHOP | D13S319 | D13S25 | RB1 | IgH | TP53 |   |
|                                    |  |     |     |      |         |        |     |     |      | 46,XY[8]  |
| A81                                | CLL  | n   | n   |      | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XY,del(6)(q14q26)[16]/46,XY[2]   |
| A82                                | LPE  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY,add(1)(p36),t(1;11)(q22~23;p12),<br>del(7)(q21q34),add(20)(p11)[cp8]/46,XY[22]                        |
| A83                                | LPL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 45,XY,del(3)(p23p25),t(3;12)(p12;p12),<br>der(6)t(6;14)(q12;q11),del(7)(q21q31),-14[2]/<br>46,XY[17]        |
| A84                                | LPL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XY,add(6)(q24)[7]/46,XY[11]  |
| A85                                | LPL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XY,add(18)(p11)[6]/46,XY[24]   |
| A86                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XX,+5[11]/46,XX[3]   |
| A87                                | CLL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XY,der(12)inv(12)(p11p13)or<br>add(12)(p11)del(12)(q24q24)[4]/<br>45,XY,dic(17;18)(p11;p11)[1]/46,XY[14] |
| A88                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX,t(8;22)(q24;q11)[7]/46,XX[10]   |
| A89                                | V. a. CLL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XX,t(7;9)(p2?2;q3?3)[7]/46,XX[14]  |
| A90                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY,ins(8;?)(q24;?)[18]/46,XY[13]   |
| A91                                | LPE  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XX,del(1)(q41q44)[8]/46,XX[12]   |
| B1                                 | LPE  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XX,+12[10]/46,XX[10]   |
| B2                                 | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XY,+12[9]/46,XY[1]   |
| B3                                 | CLL  | a   | a   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY,inv(9)(p12q13)c,del(11)(q14q25)[17]/<br>46,XY,inv(9)(p12q13)c[2]                                      |
| B4                                 | CLL  | a   | a   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX,del(11)(q14q24)[19]/46,XX[1]  |
| B5                                 | CLL  | a   | a   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX,del(11)(q14q24)[4]/46,XX[16]  |
| B6                                 | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XY,+12[20]   |

Anhang

| Patienten-<br>Nummer<br>(Pat.-Nr.) | Ergebnisse der Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung<br>unter Verwendung der Sonden: |     |     |      |         |        |     |     |      | Ergebnis der konventionellen<br>Chromosomenanalyse          |
|------------------------------------|--|-----|-----|------|---------|--------|-----|-----|------|---|
|                                    | Diagnose   | ATM | FDX | CHOP | D13S319 | D13S25 | RB1 | IgH | TP53 |   |
| B7                                 | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XX,+12[4]/46,XX[10]                                      |
| B8                                 | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XX,+12[5]/46,XX[1]                                       |
| B9                                 | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | a   | a   | n    | 47,XY,+12,del(13)(q14q21),t(14;18)(q32;q21)[5]/<br>46,XY[1] |
| B10                                | HZL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XY,+12[9]/46,XY[9]                                       |
| B11                                | CLL  | a   | a   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XX,del(11)(q14q24),del(13)(q14q21)[5]/46,<br>XX[9]       |
| B12                                | CLL  | a   | a   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY,del(11)(q21q24)[5]/46,XY[12]                          |
| B13                                | CLL  | a   | a   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XY,del(11)(q14q24),+12[18]                               |
| B14                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XY,del(13)(q13q21)[1]/46,XY[19]                          |
| B15                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | a   | n    | 46,XX,del(13)(q14q21),t(14;18)(q32;q21)[4]/<br>46,XX[13]    |
| B16                                | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XY,+12[9]/46,XY[9]                                       |
| B17                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XY,del(13)(q13q21)[17]/46,XY[3]                          |
| B18                                | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XX,+12[1]/46,XX[20]                                      |
| B19                                | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XY,+12[17]/46,XY[3]                                      |
| B20                                | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XX,+12[12]   |
| B21                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XY,del(13)(q14q21)[1]/46,XY[19]                          |
| B22                                | CLL  | a   | a   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY,del(11)(q14q24)[14]/46,XY[4]                          |
| B23                                | CLL  | a   | a   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX,del(11)(q22q23)[1]/46,XX[19]                          |
| B24                                | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XY,+12[14]/46,XY[6]                                      |
| B25                                | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | n   | n   | n    | 46,XX,del(13)(q14q21)[2]/46,XX[18]                          |
| B26                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XX,del(13)(q13q14)[2]/46,XX[12]                          |

Anhang

| Patienten-<br>Nummer<br>(Pat.-Nr.) | Ergebnisse der Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung<br>unter Verwendung der Sonden: |     |     |      |         |        |     |     |      | Ergebnis der konventionellen<br>Chromosomenanalyse       |
|------------------------------------|--|-----|-----|------|---------|--------|-----|-----|------|--|
|                                    | Diagnose   | ATM | FDX | CHOP | D13S319 | D13S25 | RB1 | IgH | TP53 |  |
| B27                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XY,del(13)(q14q21)[4]/46,XY[11]                       |
| B28                                | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XY,+12[5]/46,XY[4]                                    |
| B29                                | CLL  | a   | a   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XY,del(11)(q14q25),del(13)(q13q14)[2]/<br>46,XY[1]    |
| B30                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XX,del(13)(q14q21)[10]/46,XX[9]                       |
| B31                                | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY,i(12)(q10)[2]/46,XY[15]                            |
| B32                                | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | a   | n    | 47,XX,+12[12]/46,XX[4]                                   |
| B33                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XY,del(13)(q14q31)[3]/46,XY[16]                       |
| B34                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XY,del(13)(q14q31)[9]/46,XY[11]                       |
| B35                                | LPE  | a   | a   | n    | a       | a      | -   | n   | n    | 46,XX,del(11)(q13q24)[8]/46,XX[9]                        |
| B36                                | CLL  | a   | a   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY,del(11)(q22q24)[7]/46,XY[11]                       |
| B37                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XY,del(13)(q14q21)[8]/46,XY[11]                       |
| B38                                | LPE  | n   | n   | a    | n       | n      | -   | n   | n    | 47,XY,+12[3]/47,idem,t(14;18)(q32;q21)[1]/<br>46,XY[9]   |
| B39                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XX,del(13)(q13q14)[2]/46,XX[18]                       |
| B40                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XY,del(13)(q14q21)[5]/46,XY[11]                       |
| B41                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XX,del(13)(q12q14)[12]/46,XX[8]                       |
| B42                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XX,del(13)(q1?3q3?1)[2]/46,XX[13]                     |
| B43                                | V. a. CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | a   | n   | n    | 46,XX,del(13)(q13~14q21)[11]                             |
| B44                                | CLL  | a   | a   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY,add(11)(q22)[4]/46,XY[16]                          |
| B45                                | CLL  | a   | a   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XX,del(13)(q13q14)[10]/46,idem,<br>del(11)(q14q24)[8] |
| B46                                | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | a   | n   | n    | 46,XX,del(13)(q1?4q2?1)[2]/46,XX[12]                     |



Anhang

| Patienten-<br>Nummer<br>(Pat.-Nr.) | Ergebnisse der Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung<br>unter Verwendung der Sonden: |     |     |      |         |        |     |     |      | Ergebnis der konventionellen<br>Chromosomenanalyse  |
|------------------------------------|--|-----|-----|------|---------|--------|-----|-----|------|---|
|                                    | Diagnose   | ATM | FDX | CHOP | D13S319 | D13S25 | RB1 | IgH | TP53 |   |
| B47                                | CLL  | n   | n   | a    | n       | n      | -   | n   | n    | 47,XY,+12[18]/46,XY[1]  |
| B48                                | CLL  | a   | a   | a    | n       | n      | -   | n   | n    | 47,XX,del(11)(q22q24),+12[9]/46,XX[6]   |
| B49                                | CLL  | n   | n   | a    | n       | n      | -   | n   | n    | 47,XX,+12[17]/46,XX[3]  |
| B50                                | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | n   | n   | n    | 46,XY,?del(13)(q1?3q1?4)[6]/46,XY[4]  |
| B51                                | CLL  | a   | a   | n    | a       | a      | -   | n   | n    | 46,XY,del(11)(q14~22q24),<br>del(13)(q13q14)[15]/46,XY[4]   |
| B52                                | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | -   | n   | n    | 46,XY,del(13)(q1?3q1?4)[3]/46,XY,<br>del(11)(q2?3q2?4)[1]/46,XY[12]                                       |
| B53                                | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | n   | n   | n    | 46,XY,del(13)(q1?3q1?4)[1]/46,XY[18]  |
| B54                                | CLL  | a   | a   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY,del(11)(q14q24)[6]/46,XY[4]   |
| B55                                | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | -   | n   | n    | 46,XY,del(13)(q1?3q2?1)[2]/46,XY[2]   |
| B56                                | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | -   | n   | n    | 46,XY,?del(13)(q14q21)[2]/46,XY[7]  |
| B57                                | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XX,+12[6]/46,XX[18]  |
| B58                                | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | -   | n   | n    | 46,XX,del(13)(q14q21)[1]/46,XX[9]   |
| B59                                | CLL  | a   | a   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XY,del(11)(q24q24)[3]/46,XY[2]   |
| B60                                | CLL  | n   | n   | a    | n       | n      | -   | a   | n    | 47,XX,+12[9]/47, idem,<br>t(14;18)(q32;q21)[1]/46,XX[10]  |
| B61                                | LPE  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | a   | n    | 46,XY,t(14;18)(q32;q21)[1]/41,Y,-X,-9,-10,+12,<br>t(14;18)(q32;q21),-15,-16,-20,-22,+mar[1]/<br>46,XY[17] |
| C1                                 | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | a   | n    | 46,XY[20]   |
| C2                                 | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | n   | a   | n    | 46,XY[18]   |
| C3                                 | CLL  | a   | a   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XY[20]   |

Anhang

| Patienten-<br>Nummer<br>(Pat.-Nr.) | Ergebnisse der Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung<br>unter Verwendung der Sonden: |     |     |      |         |        |     |     |      | Ergebnis der konventionellen<br>Chromosomenanalyse |
|------------------------------------|--|-----|-----|------|---------|--------|-----|-----|------|--|
|                                    | Diagnose   | ATM | FDX | CHOP | D13S319 | D13S25 | RB1 | IgH | TP53 |  |
| C4                                 | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XY[2]   |
| C5                                 | CLL  | a   | a   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XY[20]  |
| C6                                 | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | n   | n   | n    | 46,XY,t(2;12)(q10;p10),add(7)(q21)x2[1]/46,XY[1]   |
| C7                                 | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XY[10]  |
| C8                                 | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | a   | n    | 46,XX[1]   |
| C9                                 | CLL  | a   | a   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XY[17]  |
| C10                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | a    | 46,XY[13]  |
| C11                                | CLL  | n   | n   | a    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XY[9]   |
| C12                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XY[17]  |
| C13                                | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | a   | n   | n    | 46,XY[17]  |
| C14                                | CLL  | n   | n   | n    | a       | -      | a   | n   | n    | 46,XY[20]  |
| C15                                | CLL  | a   | a   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XY[5]   |
| C16                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XX[14]  |
| C17                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XY[20]  |
| C18                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XY[15]  |
| C19                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | a   | n    | 46,XX[2]   |
| C20                                | V. a. CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | -   | n   | n    | 46,XY[13]  |
| C21                                | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | -   | n   | n    | 46,XY[17]  |
| C22                                | CLL  | a   | a   | n    | a       | a      | a   | n   | n    | 46,XY[13]  |
| C23                                | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | -   | n   | n    | 46,XX[18]  |
| C24                                | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | n   | n   | n    | 46,XX[16]  |
| C25                                | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | n   | n   | n    | 46,XY[15]  |
| C26                                | LPE  | n   | n   | a    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XY[3]   |

Anhang

| Patienten-<br>Nummer<br>(Pat.-Nr.) | Ergebnisse der Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung<br>unter Verwendung der Sonden: |     |     |      |         |        |     |     |      | Ergebnis der konventionellen<br>Chromosomenanalyse |
|------------------------------------|--|-----|-----|------|---------|--------|-----|-----|------|--|
|                                    | Diagnose   | ATM | FDX | CHOP | D13S319 | D13S25 | RB1 | IgH | TP53 |  |
| <b>C27</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | -   | n   | n    | 46,XX[14]  |
| <b>C28</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | -   | n   | n    | 46,XY[6]   |
| <b>C29</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | -   | n   | n    | 46,XY[16]  |
| <b>C30</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | -   | n   | n    | 46,XY[20]  |
| <b>C31</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | -   | n   | n    | 46,XY[3]   |
| <b>C32</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | n   | n   | n    | 46,XY[9]   |
| <b>C33</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | a   | n   | n    | 46,XY[20]  |
| <b>C34</b>                         | V. a. CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | -   | n   | n    | 46,XY[19]  |
| <b>C35</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | a   | n   | n    | 46,XX,t(1;19)(p21;q13)[1]/46,XX[4]                 |
| <b>C36</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | a       | a      | -   | n   | n    | 46,XY[6]   |
| <b>D1</b>                          | LPE  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[32]/46,XX[27]                                |
| <b>D2</b>                          | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[18]  |
| <b>D3</b>                          | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX[3]   |
| <b>D4</b>                          | LPE  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[30]  |
| <b>D5</b>                          | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[30]  |
| <b>D6</b>                          | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[23]  |
| <b>D7</b>                          | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[1]   |
| <b>D8</b>                          | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[27]  |
| <b>D9</b>                          | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[25]  |
| <b>D10</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX[19]  |
| <b>D11</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[20]  |
| <b>D12</b>                         | LPE  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[20]  |
| <b>D13</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX[20]  |

Anhang

| Patienten-<br>Nummer<br>(Pat.-Nr.) | Ergebnisse der Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung<br>unter Verwendung der Sonden: |     |     |      |         |        |     |     |      | Ergebnis der konventionellen<br>Chromosomenanalyse |
|------------------------------------|--|-----|-----|------|---------|--------|-----|-----|------|--|
|                                    | Diagnose   | ATM | FDX | CHOP | D13S319 | D13S25 | RB1 | IgH | TP53 |  |
| D14                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX,del(11)(q14q24)[1]                           |
| D15                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[18]  |
| D16                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XX,+mar[1]/46,XX[17]                            |
| D17                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[32]  |
| D18                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[18]  |
| D19                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[20]  |
| D20                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[15]  |
| D21                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[17]  |
| D22                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[17]  |
| D23                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[20]  |
| D24                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[18]  |
| D25                                | V. a. CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[20]  |
| D26                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[18]  |
| D27                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX[30]  |
| D28                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[20]  |
| D29                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX[20]  |
| D30                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[10]  |
| D31                                | CLL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XY[9]   |
| D32                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[7]   |
| D33                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[20]  |
| D34                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX[14]  |
| D35                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX[7]   |
| D36                                | LPL,   | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[15]  |

Anhang

| Patienten-<br>Nummer<br>(Pat.-Nr.) | Ergebnisse der Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung<br>unter Verwendung der Sonden: |     |     |      |         |        |     |     |      | Ergebnis der konventionellen<br>Chromosomenanalyse |
|------------------------------------|--|-----|-----|------|---------|--------|-----|-----|------|--|
|                                    | Diagnose   | ATM | FDX | CHOP | D13S319 | D13S25 | RB1 | IgH | TP53 |  |
|                                    | Morbus Walden-<br>ström  |     |     |      |         |        |     |     |      |  |
| <b>D37</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 45,XY,der(13;14)(q10;q10)c.                        |
| <b>D38</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX[14]  |
| <b>D39</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[11]  |
| <b>D40</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[19]  |
| <b>D41</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX[17]  |
| <b>D42</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX[12]  |
| <b>D43</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[2]   |
| <b>D44</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[21]  |
| <b>D45</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[20]  |
| <b>D46</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[18]  |
| <b>D47</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX[9]   |
| <b>D48</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[18]  |
| <b>D49</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XX,+8[1]/46,XX[18]                              |
| <b>D50</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX[19]  |
| <b>D51</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX[20]  |
| <b>D52</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[20]  |
| <b>D53</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[10]  |
| <b>D54</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX[16]  |
| <b>D55</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[16]  |
| <b>D56</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[4]   |
| <b>D57</b>                         | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX[20]  |

Anhang

| Patienten-<br>Nummer<br>(Pat.-Nr.) | Ergebnisse der Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung<br>unter Verwendung der Sonden: |     |     |      |         |        |     |     |      | Ergebnis der konventionellen<br>Chromosomenanalyse                   |
|------------------------------------|--|-----|-----|------|---------|--------|-----|-----|------|--|
|                                    | Diagnose   | ATM | FDX | CHOP | D13S319 | D13S25 | RB1 | IgH | TP53 |  |
| D58                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[18]  |
| D59                                | V. a. CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[20]  |
| D60                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[8]   |
| D61                                | LPL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XX[20]  |
| D62                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[20]  |
| D63                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[10]  |
| D64                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[16]  |
| D65                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[16]  |
| D66                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[17]  |
| D67                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX[13]  |
| D68                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX[22]  |
| D69                                | LPL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XY,t(11;14)(q13;q32)[1]/46,XY[19]                                 |
| D70                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY,t(X;6)(q12;q22)[1]/46,XY[16]                                   |
| D71                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX[15]  |
| D72                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX[20]  |
| D73                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX[22]  |
| D74                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[20]  |
| D75                                | CLL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XX[11]  |
| D76                                | CLL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XY[18]  |
| D77                                | LPL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX[12]  |
| D78                                | LPL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 47,XX,t(1;21)(p36;q11),del(13)(q12~13q34),<br>del(6)(q?)[1]/46,XX[4] |
| D79                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[18]  |

Anhang

| Patienten-<br>Nummer<br>(Pat.-Nr.) | Ergebnisse der Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung<br>unter Verwendung der Sonden: |     |     |      |         |        |     |     |      | Ergebnis der konventionellen<br>Chromosomenanalyse               |
|------------------------------------|--|-----|-----|------|---------|--------|-----|-----|------|--|
|                                    | Diagnose   | ATM | FDX | CHOP | D13S319 | D13S25 | RB1 | IgH | TP53 |  |
| D80                                | LPE  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY[17]  |
| D81                                | CLL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XY[11]  |
| D82                                | CLL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XY[16]  |
| D83                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XY,t(7;14)(q31;q13~21)[1]/46,XY,<br>add(17)(p11)[1]/46,XY[13] |
| D84                                | CLL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XY[19]  |
| D85                                | CLL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XY[13]  |
| D86                                | CLL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XY[19]  |
| D87                                | CLL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XY[19]  |
| D88                                | CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX,t(9;11)(p23;q23)[1]/46,XX[19]                              |
| D89                                | CLL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XY[20]  |
| D90                                | CLL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 47,XXX[1]/46,XX[18]  |
| D91                                | CLL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XY[20]  |
| D92                                | CLL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XY[11]  |
| D93                                | CLL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XY[19]  |
| D94                                | CLL  | n   | n   | n    | n       | n      | -   | n   | n    | 46,XY[40]  |
| D95                                | V. a. CLL  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX[15]  |
| D96                                | LPE  | n   | n   | n    | -       | -      | n   | n   | n    | 46,XX[6]   |

\*Die Anzahl analysierter Metaphasen, die in Tabelle A4 aufgeführt wird, stimmt mit der Anzahl analysierter Metaphasen in Tabelle A3 nicht immer überein, da bei der konventionellen Chromosomenanalyse z.T. auch unstimulierte Kulturen mitausgewertet wurden. Zusätzliche klonale Befunde ergaben sich in diesen Kulturen aber nicht.

Anhang

**Tabelle A 5**

Ergebnisse der retrospektiven Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung zur Verifizierung von Aberrationen, die in der konventionelle Chromosomenanalyse rekurrent bei verschiedenen Patienten diagnostiziert worden waren

| Pat.-Nr. | FISH-Sonde für Region:    |                  |                                   |                     |                      |
|----------|---------------------------|------------------|-----------------------------------|---------------------|----------------------|
|          | 6q21/<br>6q27             | 7q21 (CDK6)      | 8p21.3<br>(89M8)/8cen             | 9p24<br>(PDL2/JAK2) | 18p11.32             |
| A6       | -                         | -                | -                                 | -                   | normal               |
| A7       | -                         | -                | -                                 | -                   | Trisomie<br>18p11.32 |
| A8       | del. 6q21                 | -                | -                                 | -                   | -                    |
| A11      | -                         | Trisomie<br>7q21 | -                                 | -                   | -                    |
| A13      | -                         | -                | -                                 | -                   | del. 18p11.32        |
| A17      | -                         | -                | normal                            | normal              | -                    |
| A18      | normal                    | normal           | -                                 | normal              | -                    |
| A21      | -                         | -                | normal                            | -                   | -                    |
| A26      | del. 6q21 u.<br>del. 6q27 | Trisomie<br>7q21 | del. 8p21                         | -                   | -                    |
| A29      | del. 6q21                 | -                | -                                 | -                   | -                    |
| A31      | -                         | normal           | -                                 | -                   | -                    |
| A39      | -                         | -                | -                                 | -                   | del. 18p11.32        |
| A41      | -                         | -                | -                                 | -                   | Trisomie<br>18p11.32 |
| A42      | -                         | -                | normal                            | normal              | -                    |
| A45      | del. 6q21 u.<br>del. 6q27 | -                | -                                 | -                   | -                    |
| A48      | -                         | -                | Trisomie u.<br>Tetrasomie<br>8p21 | -                   | -                    |
| A51      | del. 6q21                 | -                | -                                 | -                   | -                    |
| A52      | -                         | -                | -                                 | normal              | -                    |
| A53      | -                         | -                | del. 8p21                         | -                   | -                    |
| A55      | -                         | del. 7q21        | del. 8p21                         | del. 9p24           | -                    |
| A57      | -                         | -                | del. 8p21                         | -                   | -                    |
| A63      | -                         | -                | -                                 | -                   | normal               |



Anhang

| Pat.-Nr.   | FISH-Sonde für Region:    |             |                       |                     |  |
|------------|---------------------------|-------------|-----------------------|---------------------|--|
|            | 6q21/<br>6q27             | 7q21 (CDK6) | 8p21.3<br>(89M8)/8cen | 9p24<br>(PDL2/JAK2) | 18p11.32                                 |
| <b>A65</b> | -                         | -           | -                     | -                   | Trisomie<br>18p11.32                     |
| <b>A67</b> | del. 6q21                 | -           | -                     | -                   | -  |
| <b>A68</b> | del. 6q21 u.<br>del. 6q27 | -           | -                     | -                   | -  |
| <b>A70</b> | -                         | -           | -                     | normal              | -  |
| <b>A71</b> | normal                    | -           | -                     | normal              | -  |
| <b>A72</b> | normal                    | normal      | -                     | -                   | -  |
| <b>A74</b> | -                         | -           | -                     | -                   | Trisomie<br>18p11.32 u.<br>del. 18p11.32 |
| <b>A77</b> | del. 6q21 u.<br>del. 6q27 | -           | -                     | -                   | -  |
| <b>A81</b> | del. 6q21 u.<br>del. 6q27 | -           | -                     | -                   | -  |
| <b>A82</b> | -                         | normal      | -                     | -                   | -  |
| <b>A83</b> | normal                    | normal      | -                     | -                   | -  |
| <b>A84</b> | del. 6q27                 | -           | -                     | -                   | -  |
| <b>A85</b> | -                         | -           | -                     | -                   | del. 18p11.32                            |

del.= Deletion, normal= keine Aberration gefunden, Pat.-Nr.= Patienten-Nummer, FISH= Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung, - = nicht analysiert

Vorstellung der Ergebnisse

**9 Vorstellung der Ergebnisse**

Die vorläufigen Ergebnisse dieser Arbeit wurden bereits zu folgenden Anlässen vorgestellt:

- Tagung der Gesellschaft für Humangenetik, 2008, Hannover; Ausstellung des Posters "Conventional chromosome analysis in mature B-cell leukemias using DSP30 and IL2 stimulation" (Wülfing et al., 2008, Medizinische Genetik 2008, P084, Seite 105)
- Tumorzytogenetische Arbeitstagung, 2008, Volpriehausen bei Göttingen

Danksagung

**10 Danksagung**

Für das Zustandekommen dieser Dissertationsarbeit möchte ich allen danken, die mir hierbei geholfen haben.

Herrn Prof. Dr. Reiner Siebert bin ich zu Dank verpflichtet für das Promotionsthema und die Möglichkeit, am Institut für Humangenetik des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein (Campus Kiel) zu promovieren.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. Lana Harder für die umsichtige Betreuung meiner Dissertation. Hervorzuheben sind hierbei neben der Einführung in das wissenschaftliche Thema die vielen Inspirationen, Zeit und Geduld sowie aufmunternden Worte, die mir sehr geholfen haben. Die Zusammenarbeit hat mir sehr viel Spaß gemacht.

Ein weiterer besonderer Dank gilt Frau PD Dr. Jutta Jenderny für ihre sorgfältige wissenschaftliche Betreuung mit großem Einsatz und für die viele mir gewidmete Zeit.

Mein weiterer Dank gilt Herrn Dr. Stefan Gesk für die Betreuung bei der Durchführung der FISH-Untersuchungen und den Mitarbeiterinnen des Institutslabors, Frau Claudia Becher und Frau Margret Ratjen für die Hilfe beim Erlernen der Arbeitstechniken im Labor.

Frau Dr. Amke Caliebe möchte ich für die Hilfe bei der statischen Auswertung danken.

Des Weiteren möchte ich meinen Eltern danken für ihre uneingeschränkte Unterstützung, die mir jederzeit gewährleistet war und ohne die weder meine Dissertation noch meine Universitätsausbildung jemals möglich gewesen wären.

Lebenslauf

**11 Lebenslauf**

**Persönliche Daten**

Name: Katharina Wülfing  
Geburtsort: Hamburg  
Nationalität: deutsch

**Schulbildung**

1990-1994 Grundschule Ohkamp, Hamburg  
1994-2003 Albert-Schweitzer-Gymnasium, Hamburg; Abschluss: Abitur

**Akademische Ausbildung**

04/2004-08/2004 Studium der Zahnmedizin, Universität Hamburg  
10/2004-02/2005 Studium der Humanmedizin, Universität Hamburg  
04/2005-10/2006 Studium der Humanmedizin, Universität Rostock;  
1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung  
10/2006-11/2010 Studium der Humanmedizin, Universität Kiel; Abschluss:  
2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung am 08.12.2010  
08/2009-08/2010 Praktisches Jahr:  
- 4 Monate Chirurgie: "Fundación Jiménez Díaz", Madrid  
(Spanien)  
- 4 Monate Dermatologie: Uniklinik Kiel  
- 4 Monate Innere Medizin: Westklinikum Rissen, Hamburg

**Berufsausübung**

Seit 06/2011 Assistenzärztin, Klinik für Dermatologie, Klinikum Kassel